



**UNIwersYTET MEDYCZNY**  
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Lek. Joanna Roguska

**Wpływ polimorfizmów genu *SIRT1* i ekspresji białka sirtuiny 1 na zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej u osób leczonych z powodu ostrych białaczek w okresie dzieciństwa i młodości.**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu

**Promotor:**  
dr hab. Ewa Barg

Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych

Wrocław 2021

*Serdeczne podziękowania dla Promotora  
dr hab. Ewy Barg  
za wsparcie oraz pomoc merytoryczną  
w przygotowaniu niniejszej rozprawy.*

*Pragnę podziękować wszystkim osobom,  
których zaangażowanie i pomoc  
umożliwiły realizację badań i powstanie tej pracy,  
a w szczególności dr Sylwii Płaczkowskiej.*

## I. Wprowadzenie.

1. Białko sirtuina1 – charakterystyka i funkcje w organizmie.
2. Zespół metaboliczny – kryteria rozpoznania u dorosłych i dzieci, charakterystyka.
3. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej.
4. Zaburzenia gospodarki lipidowej.
5. Nadciśnienie tętnicze.
6. Nadwaga i otyłość.
7. Polimorfizmy genu *SIRT1* związane z zaburzeniami warunkującymi zespół metaboliczny.
8. Ostra białaczka limfoblastyczna – kryteria diagnostyczne, charakterystyka, rokowanie.
9. Leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej
10. Charakterystyka preparatów diabetogennych stosowanych w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej
11. Wczesne i późne następstwa leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej
12. Potencjalne możliwości terapeutyczne sirtuiny1.

## II. Cel pracy.

## III. Materiały i metody.

## IV. Wyniki badań.

1. Porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej.
2. Analiza parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz parametrów antropometrycznych z uwzględnieniem czasu trwania ciąży.
3. Analiza parametrów w zależności od wartości ciśnienia tętniczego w grupie badanej i kontrolnej.
4. Retrospektywna analiza charakterystyki grupy badanej
5. Analiza stanu klinicznego pacjentów ze względu na zastosowany schemat leczenia i ryzyko nawrotu choroby.
6. Polimorfizmy genu *SIRT1*

## V. Omówienie wyników badań i dyskusja.

1. Charakterystyka kliniczna pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.

2. Ocena parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ALL.
3. Charakterystyka zmian ciśnienia tętniczego u osób leczonych z powodu ALL w porównaniu z grupą kontrolną.
4. Wybrane zależności scharakteryzowane u pacjentów grupy badanej w odniesieniu do sirtuiny1.
5. Wybrane polimorfizmy genu *SIRT1* jako markery predykcyjne zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u osób leczonych z powodu ALL.
6. Rola wybranych polimorfizmów genu *SIRT1* w procesie nowotworzenia jako potencjalnego czynnika ryzyka rozwoju ALL.

VI. Wnioski

VII. Wykaz skrótów.

VIII. Streszczenie

IX. Summary

X. Piśmiennictwo

## I. Wprowadzenie:

### 1. Białko sirtuina1 – charakterystyka i funkcje w organizmie

Białko sirtuina1 (Sir1) należy do rodziny deacetylaz histonowych zależnych od dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD). Sir1 zwane jest również białkiem długowieczności. Poza wpływem na procesy starzenia posiada ono jednak inne rozległe funkcje w regulacji szlaków metabolicznych w organizmie. Jest istotnym czynnikiem warunkującym prawidłową gospodarkę węglowodanową i lipidową ustroju, reguluje ciśnienie tętnicze, wspomaga utrzymanie prawidłowej masy ciała oraz wykazuje działanie przeciwnowotworowe [1]. Sirtuina1 ma wpływ na układ endokryny, reguluje transdukcję sygnału hormonów steroidowych, inaktywację i represję receptora steroidowego. Bierze udział w kontroli homeostazy gospodarki węglowodanowej w ustroju, regulując procesy sekrecji insuliny. Wpływa ochronnie na komórki  $\beta$ -trzustki. Poprzez modulację szlaku sygnałowego dla receptora insulinowego zmniejsza insulinooporność tkanek i zwiększa absorpcję glukozy w mięśniach. Sirtuina1 stymuluje także wydzielanie adiponektyny, zwiększa mobilizację lipidów tkanki tłuszczowej, redukuje procesy zapalne i kontroluje utlenianie kwasów tłuszczowych oraz produkcję i metabolizm glukozy w wątrobie [2]. Wysoka ekspresja tego białka w monocytach i makrofagach krwi redukuje procesy zapalne [3].

W organizmie białko sirtuina1 gromadzi się głównie w wątrobie, mięśniach, trzustce, tkance tłuszczowej oraz w jądrach i jajnikach. Zmniejszenie ilości tego białka może być związane z występowaniem zjawiska nietolerancji glukozy, insulinooporności i zespołu metabolicznego u ludzi [3]–[5].

Ekspresja białka sirtuiny1 warunkowana jest przez gen *SIRT1*, zlokalizowany na chromosomie 10q21.3. Gen *SIRT1* aktywuje receptor X (LXR) w wątrobie oraz białka  $\alpha$  i  $\beta$ , co odgrywa istotną rolę w metabolizmie lipidów. Produkt ekspresji genu *SIRT1* wzmacnia także proces glukoneogenezy i hamuje glikolizę wątrobową. Zmniejsza transkrypcję genów odpowiedzialnych za syntezę receptorów PPAR $\gamma$ , co powoduje redukcję lipogenezy w tkance tłuszczowej. Obecność niektórych polimorfizmów genu *SIRT1* może prawdopodobnie korelować z otyłością oraz występowaniem hiperglikemii [6], [7]. Badania przeprowadzone na zwierzętach udowadniają również, że doświadczalne podanie inhibitora genu *SIRT1* powodowało wzrost masy ciała, poziomu glukozy i lipidów w ustroju. Ponadto naturalna ekspresja białka sirtuiny1 w tkance tłuszczowej znacząco wzrosła w przypadku stosowania diety niskotłuszczowej i spadła w wyniku nadmiernej podaży lipidów [8]. Gen *SIRT1* odpowiada za regulację cyklu komórkowego, naprawę uszkodzonego DNA, apoptozę i różnicowanie komórek, neutralizację skutków stresu oksydacyjnego, zmniejszenie adipogenezy w tkance tłuszczowej, wpływa na metabolizm wątrobowy glukozy i tłuszczów oraz sekrecję insuliny w trzustce. Zmniejsza oporność tkanek na działanie hormonów hipoglikemizujących. Działa jako kooaktywator białka p300 i receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (PPAR $\gamma$ ), wpływa na receptory androgenowe (AR) i estrogenowe (ER), Ku70, NF $\kappa$ B, HES1. Ponadto promotor genu *SIRT1* pozostaje pod wpływem takich czynników jak białko p53 i FOXO3a. Sirtuina1 odgrywa rolę w patogenezie niektórych nowotworów złośliwych, m. in. białaczek i chłoniaków oraz innych zaburzeń hematologicznych, metabolicznych. Białko to pozostaje bowiem w ścisłym związku

funkcyjnym z supresorowym białkiem p53. Wpływa na kontrolę naprawy uszkodzonego DNA, inaktywując czynniki naprawcze np. Ku70 oraz białka proapoptotyczne BAX. Powoduje wyciszenie i hipermetylację w obrębie genów supresorowych oraz aktywację genów odpowiedzialnych za zjawisko oporności wielolekowej [9].

Wpływ na ilość sirtuiny1 w organizmie oraz dokładny mechanizm jej działania stwarza więc nadzieje na nowy model terapii u pacjentów z insulinoopornością i cukrzycą typu 2. Może także wpłynąć na poprawę rokowania w przypadku ostrych białaczek, zarówno skuteczności, jak i wczesnych oraz późnych niekorzystnych następstw leczenia onkologicznego [10].

## 2. Zespół metaboliczny – kryteria rozpoznania u dorosłych i dzieci, charakterystyka

Opisany po raz pierwszy w 1988 roku przez Reavena zespół metaboliczny, charakteryzuje skutki zdrowotne dla organizmu związane z nadwagą i otyłością, cukrzycą, dyslipidemią oraz nadciśnieniem tętniczym [11]. Do rozpoznania zespołu metabolicznego u pacjenta, muszą występować przynajmniej 3 z 5 pięciu podstawowych zaburzeń. Obwód pasa u mężczyzny przekraczający lub równy 94 cm, a u kobiety 80 cm świadczy o otyłości wisceralnej. Tkanka tłuszczowa nagromadzona w okolicy brzusznej stwarza największe ryzyko rozwoju chorób cywilizacyjnych. Kolejny parametr podlegający ocenie to ciśnienie tętnicze, za nieprawidłowe w diagnostyce zespołu metabolicznego uznajemy ciśnienie skurczowe równe lub większe 130 mm Hg lub rozkurczowe równe lub większe 85 mm Hg, bądź wcześniej rozpoznane i leczone nadciśnienie tętnicze. Zmiany w stężeniu trójglicerydów oraz HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol) stanowią kolejny oceniany parametr. U osób dorosłych za nieprawidłowe stężenie trójglicerydów (TG) należy uznać wartości większe niż 1,7 mmol/l (150 mg/dl) lub leczenie hipertriglicerydemii. Obniżone stężenie HDL-C to u kobiet poniżej 1,0 mmol/l (40 mg/dl), a u mężczyzn poniżej 1,3 mmol/l (50 mg/dl). Dodatkowo należy oznaczyć stężenie glukozy we krwi na czczo, za nieprawidłowe uznaje się stężenie większe lub równe 5,6 mmol/l (100 mg/dl) lub leczenie cukrzycy [12]. Do niedawna zespół metaboliczny opisywany był jedynie u osób dorosłych, obecnie coraz większą uwagę poświęca się diagnostyce przedstawionych zaburzeń w populacji rozwojowej. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego u dzieci i młodzieży określają te same parametry z wartościami przedstawionymi na siatkach centylowych w których za nieprawidłowe uznawane są te mieszczące się powyżej 90 percentyla dla wieku i płci [13]. Ujednolicenie kryteriów rozpoznania zespołu metabolicznego od lat budzi kontrowersje we wszystkich grupach wiekowych. Niezależnie jednak od zastosowanych kryteriów częstość występowania zespołu jest wysoka i ciągle wzrasta. W dwóch dużych polskich badaniach populacji osób dorosłych NETPOL-PLUS (Nadciśnienie Tętnicze w Polsce Plus Zaburzenia Lipidowe i Cukrzyca) oraz POL-MONICA (Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases), zespół metaboliczny stwierdzono odpowiednio u 518 z 2329 przebadanych osób w pierwszym wymienionym badaniu oraz u 20% mężczyzn i 19% kobiet w przedziale 35-64 lat w kolejnym. Częstość występowania schorzenia wzrasta wraz z wiekiem, najczęstszą nieprawidłowością u pacjentów było nadciśnienie tętnicze, najrzadziej rozpoznawana była hiperglikemia [14], [15]. Badanie BioSHaRE-EU Healthy Obese Project wykazuje także częstość występowania zespołu metabolicznego wśród osób w przedziale wiekowym 18-80 lat w innych państwach europejskich takich jak Estonia, Finlandia, Niemcy,

Włochy, Holandia, Norwegia, Wielka Brytania . Występowanie zaburzenia waha się od 42,7% (Włochy) do 78,2% (Finlandia) w populacji męskiej oraz od 24% (Włochy) do 64,8% (Finlandia) u kobiet [16]. W Polsce stwierdzono występowanie zespołu metabolicznego nawet u 14% otyłych dzieci na Śląsku, natomiast w populacji węgierskiej odnotowano go u 0,4% dzieci szczupłych oraz u 9% otyłych [17], [18]. Patogeneza zespołu metabolicznego wydaje się być równie trudna jak jego rozpoznanie. Nakładają się tutaj zarówno predyspozycje genetyczne jak i środowiskowe. Wśród wszystkich genotypów na wystąpienie zaburzenia najbardziej narażone będą osoby z warunkowanym oszczędnym fenotypem, który pomimo dostatku, ogranicza wydatkowanie i nastawiony jest na kumulację substancji odżywczych [19]. Badania skupiają się na ocenie genów insuliny, genów regulujących pracę wysp  $\beta$  trzustki oraz receptorów dla insuliny. Do genów regulujących funkcję wydzielniczą trzustki oraz wspomagającą działanie receptorów insulinowych należy gen *SIRT1*. Kumulacyjna ilość białka sirtuiny1 w organizmie może bowiem modulować szlaki produkcji i metabolizmu insuliny, a więc wpływać na insulinooporność oraz inne zmiany zachodzące w trakcie rozwoju zespołu metabolicznego [3]. Mechanizm ma prawdopodobnie charakter wielogenowy. Podlega on jednak dziedziczeniu, a dodatni wywiad rodzinny zwiększa ryzyko wystąpienia składowych zespołu metabolicznego [20]. Duże znaczenie przypisuje się również czynnikom wpływającym na płód w okresie prenatalnym. Nieprawidłowy styl życia ciężarnej, niewłaściwie kontrolowane zaburzenia metaboliczne w trakcie ciąży bezpośrednio oddziałują na rozwijający się organizm. Szczególnie niebezpieczna jest cukrzyca ciążowa stanowiąca zagrożenie nie tylko dla matki, ale również dla noworodka. Z badań wynika, że zbyt mała lub zbyt duża masa urodzeniowa płodu koresponduje z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz większym ryzykiem rozwoju chorób krążenia zarówno w okresie rozwojowym, jak również w życiu dorosłym. Najmniejsze ryzyko rozwoju insulinooporności i dyslipidemii występuje w przypadku masy urodzeniowej wahającej się w granicach 3-3,5 kg, istotnie rośnie u osób urodzonych z masą poniżej 2,5 kg i powyżej 4 kg [21]. Zbyt niskie lub zbyt wysokie stężenie glukozy w krwi łożyskowej powoduje uruchomienie mechanizmów adaptacyjnych u płodu, co zmienia odpowiedź receptorową na insulinę w poszczególnych narządach. W przypadku hipoglikemii ilość receptorów w mięśniach zmniejsza się, tak aby zredukować absorpcję glukozy do minimum i zapewnić odpowiednie jej stężenie dla mózgu i serca. Dodatkowo niedostateczna podaż białka może wpływać na nieprawidłowy rozwój wysp  $\beta$  trzustki. Hiperglikemia powoduje zwiększone wydzielanie insuliny przez trzustkę, co wpływa na potencjał wzrostowy organizmu oraz zmienia proporcję pomiędzy beztłuszczową masą ciała i tkanką tłuszczową. Dzieci urodzone przez matki, u których w czasie ciąży występowały nieprawidłowe stężenia glukozy we krwi, zaburzenia gospodarki lipidowej oraz zaburzenia elektrolitowe, nawet jeśli w dalszym życiu otrzymają właściwie zbilansowane substancje odżywcze predysponują do rozwoju zespołu metabolicznego [22].

Kolejnym etapem rozwojowym, w którym pojawia się zwiększona tendencja do zaburzeń związanych z zespołem metabolicznym jest okres dojrzewania. Naturalne zmiany hormonalne u nastolatków nasilają wówczas insulinooporność tkankową. Zwiększa się wydzielanie hormonu wzrostu i insulinopodobnych czynników wzrostu, co stymuluje anaboliczny potencjał insuliny. Jeśli nakładają się na powyższy okres inne niekorzystne czynniki środowiskowe jak hiperalimentacja, brak ruchu, leczenie środkami diabetogennymi ryzyko

opisywanych zaburzeń wzrasta nieliniowo [23]. Częstość występowania zespołu metabolicznego rośnie z wiekiem niezależnie od płci, tak więc oprócz uwarunkowań genetycznych i zmian wczesnodziecięcych, istotną rolę odgrywa styl życia i spożywanie wysokoprzetworzonej żywności z wysokim indeksem glikemicznym. Istotne jest więc poszukiwanie możliwości wczesnego zidentyfikowania osób z ryzykiem rozwoju zespołu metabolicznego. Produkt ekspresji genu *SIRT1* to białko, którego niskie stężenie predysponuje do rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Możliwość rozpoznania odpowiednich polimorfizmów genu *SIRT1* może pozwolić na wdrożenie wcześniejszej prewencji zespołu metabolicznego w grupie podwyższonego ryzyka. Dodatkowo ze względu na właściwości sirtuiny1 w organizmie, istotne jest badanie preparatów o działaniu sirtuiny1. Zwiększenie stężenia tego białka w organizmie wpływa korzystnie na zmniejszenie insulinooporności i poprawę gospodarki lipidowej. Jak dotąd zależność udowodniono w badaniach nad preparatem Resveratrol (3,5,4 – trihydroxystilbene), który podany we właściwych dawkach zwiększa ekspresję genu *SIRT1* [24].

### 3. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej

Patogenezę nieprawidłowego metabolizmu węglowodanów w większości przypadków stanowi nasilająca się insulinooporność tkankowa. Receptory insulinowe rozmieszczone są w różnej ilości na narządach organizmu regulując procesy absorpcji glukozy. Kaskada reakcji białek, których ekspresja warunkowana jest poligenetycznie, umożliwia prawidłowe odżywienie komórek. Oporność tkanek na insulinę związana jest ze zmniejszeniem ilości receptorów lub ich dezaktywacją, co powoduje zaburzenie homeostazy organizmu, prowadzące do rozwoju cukrzycy typu 2. Jednym z białek odpowiedzialnym za prawidłowy metabolizm węglowodanów jest sirtuina1, której ekspresja warunkowana jest przez gen *SIRT1*. Białko to gromadzi się w mięśniach szkieletowych, tkance tłuszczowej, wątrobie, trzustce oraz naczyniach krwionośnych w organizmie. W mięśniach szkieletowych wysokie stężenie sirtuiny1 zwiększa wrażliwość receptorów insulinowych oraz stymuluje biogenezę mitochondrialną, co umożliwia prawidłową absorpcję glukozy. W tkance tłuszczowej sirtuina1 stymuluje wydzielania adiponektyny i zwiększa oksydację kwasów tłuszczowych, zwiększając jednocześnie potencjał lipolityczny a zmniejszając lipogenny. W wątrobie wpływa na prawidłową glukoneogenezę i redukuje syntezę kwasów tłuszczowych. Poprawiając odpowiedź receptorów insulinowych zmniejsza endogenną syntezę insuliny, a jako deacetylaza receptorów steroidowych, redukuje ich aktywność, co ogranicza ich właściwości hiperglikemizujące. Mechanizm ten działa ochronnie na komórki  $\beta$  wysp trzustkowych. Dodatkowo sirtuina1 nie zmniejsza rezerw trzustkowych insuliny. Sirtuina1 hamuje procesy zapalne oraz redukuje reakcje wolnorodnikowe, co dodatkowo normalizuje gospodarkę węglowodanową organizmu [25], [26]. Zależność stężenia sirtuiny1 w organizmie oraz współwystępowania insulinooporności stało się więc przedmiotem wielu badań. Wykazano, że transgeniczne zwiększenie ekspresji genu *SIRT1* u myszy wpłynęło na poprawę tolerancji glukozy i zmniejszyło insulinooporność indukowaną genetycznie oraz środowiskowo [27]. Zastosowanie inhibitora nikotynoamidowego, represora genu *SIRT1*, spowodowało zwiększenie insulinooporności oraz masy ciała [28]. Polimorfizmy występujące w obrębie genu *SIRT1* warunkujące zmienne stężenie sirtuiny1 w organizmie mogą się



przyczyniać do rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej. Do takich polimorfizmów należy genotyp rs4746720 CC+TT, który szczególnie w powiązaniu z nieprawidłowymi nawykami żywieniowymi zwiększa ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 [29]. Kolejnym istotnym polimorfizmem jest homozygotyczność TT w allelu rs12778366, która w przypadku mutacji w obrębie mt-ND3, PGC1 $\alpha$  i UCP2 jest związana z występowaniem zaburzeń gospodarki węglowodanowej w organizmie [30]. Insulinooporność zaobserwowano także w przypadku homozygot AA w allelu rs10509291 genu *SIRT1* [31], [32]. Genotypy rs12778366 TT oraz rs10509291 AA ze względu na dużą częstość występowania wśród osób leczonych z powodu cukrzycy typu 2, stały się także przedmiotem opisywanych w niniejszej pracy badań. Istotne bowiem wydaje się jak najwcześniejsze wykrywanie predyspozycji do rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej, szczególnie w populacji osób, u których planuje się leczenie preparatami diabetogennymi. Do takich osób należą pacjenci leczeni z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL). W tej grupie wdrożenie profilaktyki zaburzeń węglowodanowych w postaci preparatów zwiększających ekspresję genu *SIRT1* i powodujących wzrost stężenia sirtuiny1 w organizmie, może uchronić zarówno przed wczesnymi jak i późnymi niekorzystnymi następstwami leczenia onkologicznego. Pomoże to także zwiększyć skuteczność leczenia podstawowego i uniknąć ewentualnych przerw w podawaniu kolejnych preparatów chemioterapeutycznych ze względu na nieprawidłową glikemię. Do preparatów zwiększających ekspresję genu *SIRT1* należy między innymi resveratrol. Zastosowanie tego preparatu u osób z insulinoopornością, może wspomagać regulację kontroli glikemii oraz wydzielania insuliny w organizmie poprzez wpływ na metabolizm szlaków sirtuiny1 [24].

#### 4. Zaburzenia gospodarki lipidowej

Zaburzenia gospodarki lipidowej to problem dotyczący nie tylko ludzi dorosłych, ale coraz częściej obejmujący także populację rozwojową. Do czynników indukujących dyslipidemię należą czynniki genetyczne (dodatni wywiad rodzinny), środowiskowe (nieprawidłowe nawyki żywieniowe, siedzący tryb życia). Nieprawidłowy lipidogram towarzyszy także niektórym schorzeniom endokrynologicznym, może być także indukowany niektórymi lekami, w tym onkologicznymi. Toteż pacjenci leczeni z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej stanowią grupę wysokiego ryzyka dyslipidemii, zarówno w trakcie, jak i po zakończeniu leczenia. Istotna jest więc wczesna identyfikacja czynników modulujących ten stan. Jednym z powyższych może być białko sirtuina1, którego poziom w organizmie warunkowany jest przez ekspresję genu *SIRT1*. Sirtuina1 ma bowiem bezpośredni wpływ na gospodarkę lipidową organizmu. Kumuluje się zarówno w tkance tłuszczowej, jak i w wątrobie, oddziałuje również na procesy zapalne w organizmie. W tkance tłuszczowej stymuluje transkrypcję genu *PPAR $\gamma$*  oraz *FOXO1*, co przyczynia się do wzmożonej oksydacji kwasów tłuszczowych, lipolizy oraz zwiększenia wydzielania adiponektyny. W wątrobie indukuje transkrypcję receptorów aktywatorów proliferatorów peroksysomów PGC1 $\alpha$  i PPAR $\alpha$  oraz wpływa na receptor jądrowy LXR (liver X receptor), co prowadzi do oksydacji kwasów tłuszczowych oraz poprawia metabolizm cholesterolu. Poprzez deacetylację receptorów glikokortykosteroidów i zmniejszenie ich aktywności oraz redukcję procesów

zapalnych, zmniejszając infiltrację makrofagów również wpływa na regulację homeostazy cholesterolu i trójglicerydów [26]. W badaniach na zwierzętach stwierdzono bowiem, że wyciszenie ekspresji genu *SIRT1* u transgenicznych myszy spowodowało zwiększenie stężenia trójglicerydów w ustroju, zmniejszenie ilości HDL i nadmierną kumulację LDL w wątrobie [32]. Zwiększenie transkrypcji genu *SIRT1* w tkance tłuszczowej zmniejsza adipogenezę, obniża poziom trójglicerydów, ułatwia mobilizację i redukcję nagromadzonych lipidów [6]. Nieprawidłowe wartości stężenia trójglicerydów i HDL-cholesterolu stanowią istotny wykładnik wystąpienia podwyższonego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Ważna jest więc identyfikacja polimorfizmów genetycznych stanowiących czynnik ryzyka rozwoju tych nieprawidłowości. Należąc do nich mogą polimorfizmy genu *SIRT1* rs7069102 i rs2273773 opisane m.in w populacji japońskiej. Wczesna diagnostyka osób narażonych na rozwój dyslipidemii nie tylko może ułatwić profilaktykę, ale poprawić skuteczność leczenia poprzez zastosowanie terapii celowanej w przypadku niskiego stężenia sirtuiny1 w organizmie [6]. W badaniach na myszach z hipercholesterolemią i hipertójglicerydemią, niedoborem apolipoproteiny E oraz w konsekwencji uszkodzeniem wątroby w stosunku do myszy kontrolnych, stwierdzono obniżoną transkrypcję geny *SIRT1* i upośledzony metabolizm sirtuiny1. Po zastosowaniu plejotropowej indolaminy – melatoniny, ekspresja *SIRT1* wzrosła, zmniejszył się stres oksydacyjny, parametry biochemiczne gospodarki lipidowej uległy poprawie, zmniejszyło się także morfologiczne uszkodzenie wątroby. Doustna suplementacja melatoniną może stanowić więc nowe, ochronne podejście do blokowania hipercholesterolemicznych zmian w wątrobie, obejmujących również mechanizm zależny od *SIRT1* [33].

## 5. Nadciśnienie tętnicze

Nadciśnienie tętnicze to oprócz nadwagi i otyłości najczęściej występująca składowa zespołu metabolicznego. Zmiany w naczyniach tętniczych często pojawiają się już w okresie rozwojowym, a pogłębiając się w dalszym życiu, znacząco podwyższają ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Wczesna protekcja układu krążenia szczególnie istotna jest u pacjentów onkologicznych, u których kardiotoksyczne leczenie chemioterapeutyczne stanowi dodatkowe obciążenie [34]. W przypadku leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej stosowanie antracyklin–niekorzystnie może wpływać na układ krążenia. Produkt ekspresji genu *SIRT1*- białko sirtuina1, posiada potencjał protekcyjny dla serca i naczyń krwionośnych. W naczyniach krwionośnych zwiększa wydzielanie i aktywuje eNOS (śródbłonkowa syntaza tlenu azotu). Wzrost stężenia endogennego tlenu azotu wpływa na zwiększenie potencjału wazodylatacyjnego naczyń. Dodatkowo w naczyniach pełni funkcję deacetylazy takich czynników, jak LKB1 (liver kinase B1), FOXO, NFκB (transcription nuclear factor κB) oraz p53. Zmniejsza stres oksydacyjny, co wzmacnia regenerację komórek śródbłonkowych. Ponadto stymuluje proliferację śródbłonka i mięśni gładkich, co w przypadku uszkodzenia i niedotlenienia tkanek pozwala na angiogenezę. Poprzez pozytywny wpływ na gospodarkę lipidową ustroju, zmniejszenie produkcji LDL w wątrobie, obniżenie poziomu trójglicerydów, redukuje ryzyko rozwoju miażdżycy, sztywności naczyń krwionośnych oraz powikłań zakrzepowych. Regulując ciśnienie krwi, zmniejsza obciążenie dla serca [35]. Dodatkowo stymulowana biogeneza mitochondrialna pozytywnie wpływa na komórki mięśniowe.

Stwierdzono, że wysoki poziom transkrypcji genu *SIRT1*, chroni funkcję wazodylatacyjną śródbłonna oraz zmniejsza ryzyko rozwoju miażdżycy nawet w przypadku diety wysokotłuszczowej. Wyciszenie genu *SIRT1* powoduje natomiast znaczący spadek właściwości dylatacyjnych w śródbłonku, pomimo prawidłowego poziomu acetylocholino i tlenku azotu [36]. Dodatkowo z ostatnich doniesień wynika, że sirtuina 1 może mieć wpływ na układ renina-angiotensyna-aldosteron. *SIRT1*, gen długowieczności, zmniejsza ekspresję receptora angiotensyny II typu 1 w komórkach mięśni gładkich naczyń. Aktywację sirtuiny 1 wykazano w badaniach nad resveratrolem (3,5,4'-trihydroksystilben), polifenolem znajdującym się w czerwonym winie [37].

Resveratrol znacząco zmniejszył ekspresję receptora angiotensyny II typu 1 na poziomie mRNA i białka w sposób zależny od dawki i czasu. Nadekspresja *SIRT1* zmniejszała ekspresję receptora angiotensyny II typu 1, podczas gdy nikotynamid, inhibitor *SIRT1*, zwiększał ekspresję receptora angiotensyny II typu 1. Aktywność genu receptora angiotensyny II typu 1 została zmniejszona przez resveratrol poprzez aktywację genu *SIRT1*, ale resveratrol nie wpływał na stabilność mRNA receptora angiotensyny II typu 1.

Hamowanie układu renina-angiotensyna może przyczyniać się, przynajmniej częściowo, do wydłużenia życia pacjentów. Resveratrol zmniejsza także ryzyko powikłań związanych z miażdżycą naczyń tętniczych, co również wpływa korzystnie na stan zdrowia człowieka [38]. Kolejnym istotnym dla układu krążenia stymulatorem ekspresji genu i aktywacji sirtuiny 1 może być siarkowodór ( $H_2S$ ). Odgrywa on rolę ochronną w patogenezie miażdżycy dzięki wielu szlakom. U myszy z miażdżycą leczenie  $H_2S$  zmniejszyło obszar blaszki miażdżycowej, nacieku makrofagów, zapalenia aorty i poziomu lipidów w osoczu. Leczenie  $H_2S$  zwiększało ekspresję mRNA *SIRT1* w aorcie i wątrobie, zwiększyło deacetylację sirtuiny 1 w śródbłonku i hepatocytach. Dzięki temu zmniejszono zapalenie śródbłonna, zahamowano wychwyt cholesterolu przez makrofagi i syntezę de novo cholesterolu w wątrobie [39]. Dodatkowo istotnym jest poszukiwanie polimorfizmów genu *SIRT1*, które warunkują genotyp ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. W badaniach przeprowadzonych w populacji japońskiej stwierdzono, że homozygotyczność GG w allelu rs7069102 koreluje ze zwiększoną predyspozycją rozwoju nadciśnienia i otyłości [6]. Polimorfizm CC rs2273773 również wiąże się ze wzrostem ryzyka nadciśnienia [6]. Wczesna identyfikacja predyspozycji genetycznych występowania nadciśnienia może pozwolić na włączenie działań profilaktycznych zmniejszających ryzyko wystąpienia tego schorzenia. W przypadku rozpoznania nadciśnienia tętniczego umożliwi efektywniejszą kontrolę stanu zdrowia pacjenta. Ostatecznie identyfikacja indywidualnych czynników warunkujących rozwój nadciśnienia tętniczego może ułatwić dobór odpowiednich leków i poprawić efektywność terapii.

## 6. Nadwaga i otyłość

Nieprawidłowo wysoka masa ciała to problem dotyczący coraz szerszej grupy społeczeństwa. Występuje on nie tylko wśród osób dorosłych, ale również z wzdostającą częstotliwością zaczyna dotyczyć dzieci i młodzieży. Przyczyn schorzenia jest wiele i często wzajemnie się na siebie nakładają. Nadmierna podaż kalorii w nieprawidłowo zbilansowanej diecie, wywołuje kumulację lipidów i zmiany narządowe w organizmie. Zaburzona gospodarka

węglowodanowa i lipidowa może być także składową innych jednostek chorobowych. Nieprawidłowości te występują także w części schorzeń o podłożu psychicznym, w niektórych schorzeniach układu endokrynologicznego oraz neurologicznego. Istotne są także uwarunkowania genetyczne i dodatni wywiad rodzinny. Podłoże genetyczne warunkujące występowanie nadmiernej masy ciała ma charakter plejotropowy. Zidentyfikowano wiele genów odpowiadających za nadwagę i otyłość. Istotną funkcję w regulacji prawidłowego poziomu lipidów i węglowodanów w ustroju spełnia białko sirtuina1. Ekspresja białka warunkowana jest przez gen *SIRT1*. Sirtuina1 gromadzi się w tkance tłuszczowej aktywując oksydację kwasów tłuszczowych, lipolizę i wydzielanie adiponektyny, dzięki wiązaniu z kompleksem transkrypcyjnym FOXO1-C/EBP $\alpha$ . Sirtuina1 jako deacetylaza zmniejsza aktywność karboksylazy CoA. Ułatwia to redukcję tkanki tłuszczowej, zmniejsza jej kumulację i reguluje prawidłowy metabolizm lipidów w ustroju. W wątrobie działając na receptor LXR wpływa na homeostazę syntezy cholesterolu. Dla zachowania prawidłowej masy ciała istotne jest także zmniejszenie insulinooporności tkankowej oraz deacetylacja receptorów glikokortykosterydowych warunkowana przez sirtuinę1 [5]. Badania potwierdzają, że niski poziom ekspresji genu *SIRT1* koreluje z otyłością i nadwagą. Analizując ludzką tkankę tłuszczową pobraną w trakcie liposukcji od osób z prawidłową masą ciała, nadwagą i otyłością, stwierdzono istotne różnice w transkrypcji genu *SIRT1* w zależności malejącej wraz ze wzrastającą masą ciała [40]. W podobnym badaniu na komórkach macierzystych tkanki tłuszczowej osób otyłych i z prawidłowym BMI, stwierdzono większą ekspresję genu *SIRT1* u osób szczupłych. U osób z wysokim  $\geq 40$  kg/m BMI stężenie sirtuiny1 było znacząco niższe w tkance tłuszczowej, szczególnie w tkance wisceralnej w porównaniu z tkanką podskórną, co może sugerować szczególny związek sirtuiny1 z rozwojem zespołu metabolicznego [41]. Inni badacze również wykazali ujemną korelację poziomu ekspresji *SIRT1* z indeksem masy ciała, obwodem talii, wisceralną tkanką tłuszczową i modelem homeostazy insulinooporności (HOMA IR). Dodatkowo dodatnia korelacja wystąpiła z poziomem adiponektyny. Wzrost stężenia sirtuiny1 w organizmie obserwowany jest w przypadku zastosowania diety niskokalorycznej z ograniczeniem tłuszczów zwierzęcych i cukrów prostych [42]. Pentamethylquercetin (PMQ), naturalna pochodna kwercetyny występująca w różnych jadalnych ziołach, to środek odwracający indukowaną u myszy dietą wysokotłuszczową regulację genów sygnałowych *SIRT1 / mTOR* (*SIRT1*, *mTOR*, *4EBP1*) oraz kluczowych genów adypogennych (*PPAR $\gamma$* , *SREBP1*, *HSL* i *Perilipin*). Zwierzęta otrzymujące pentamethylquercetin wykazywały znacznie mniejszy przyrost masy ciała, masę tkanki tłuszczowej i poziomy triglicerydów, cholesterolu całkowitego, cholesterolu lipoprotein o małej gęstości i glukozy, ale wyższe poziomy lipoprotein o dużej gęstości w osoczu. Pentamethylquercetin poprzez aktywację genu *SIRT1*, stanowi więc przykład potencjalnego preparatu, który mógłby być stosowany w leczeniu otyłości [43]. Tego typu związki mogłyby być również stosowane w profilaktyce otyłości u osób, szczególnie narażonych na nadwagę. Do tej populacji zaliczyć należy osoby, które mają genetycznie uwarunkowany niski poziom ekspresji genu *SIRT1* i jego odpowiednie polimorfizmy. Wysoką korelację występowania otyłości stwierdzono w przypadku polimorfizmu rs33957861 [44] Allele GG i AG występujące z wysoką częstością w polimorfizmie rs7895833, w porównaniu do allelu AA występującego rzadko w grupie badanej, prawdopodobnie predysponują do rozwoju wysokiego BMI. Stwierdzono to w

badaniu obejmującym grupę 120 otyłych dzieci w porównaniu z 120-osobową grupą kontrolną [45]. Szczególnie podatne na nadmierny przyrost masy ciała, okazać się mogą dzieci obciążone polimorfizmem *SIRT1* zwiększającym ryzyko wystąpienia otyłości, w przypadku zastosowania u nich leczenia onkologicznego z preparatami o potencjale diabetogennym. Choroba nowotworowa o ostrym przebiegu, jak ostra białaczka limfoblastyczna, dodatkowo ogranicza możliwość aktywności fizycznej. Dzięki zastosowaniu odpowiedniej profilaktyki lekowej preparatami regulującymi metabolizm sirtuiny1 można by było zminimalizować konsekwencje zdrowotne związane z wystąpieniem nadwagi i otyłości w okresie rozwojowym.

7. Polimorfizmy genu *SIRT1* związane z zaburzeniami warunkującymi zespół metaboliczny.

Gen *SIRT1* warunkuje ekspresję sirtuiny1. Odpowiednie stężenie tego białka w tkankach organizmu wpływa na regulację gospodarki węglowodanowej i lipidowej ustroju, prawidłowe ciśnienie tętnicze oraz właściwe BMI (body mass index). Opisuje się wiele polimorfizmów genu *SIRT1*, wśród nich także te związane z otyłością, cukrzycą typ 2, dyslipidemią i nadciśnieniem tętniczym.

Polimorfizm charakteryzowany pod kątem występowania nadwagi i otyłości to rs7895833. Wyizolowano dla niego genotypy AA, GA i GG. Genotyp GG polimorfizmu rs7895833 sprzyja występowaniu nieprawidłowej masy ciała u dzieci [46]. Allel G polimorfizmu rs7895833 koreluje z otyłością. Allel A może mieć natomiast znaczenie protekcyjne rozwoju nadmiernej masy ciała [45].

Jako czynnik predykcyjny rozwoju cukrzycy typu 2 przedstawia się niektóre genotypy polimorfizmu rs12778366 i rs10509291 genu *SIRT1*. W przypadku polimorfizmu rs12778366 genotyp TT koreluje z rozwojem zaburzeń gospodarki węglowodanowej [3]. W polimorfizmie rs10509291 w którym opisano genotypy AA i TT, genotyp AA predysponuje do rozwoju cukrzycy typu 2 [31].

Niektóre genotypy polimorfizmu rs2273773 predysponują do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Istotnie niższe skurczowe ciśnienie tętnicze wykazano w przypadku genotypów CC i CT w porównaniu z genotypem TT [13]. Allel C niesie ze sobą zwiększone ryzyko nadciśnienia tętniczego, a allel T zwiększone ryzyko zaburzeń gospodarki lipidowej. Polimorfizm rs2273773 genu *SIRT1* istotnie wpływa więc na nieprawidłowości metabolizmu indukujące rozwój zespołu metabolicznego [6].

8. Ostra białaczka limfoblastyczna – kryteria diagnostyczne, charakterystyka, rokowanie

Nowotwory to choroby występujące głównie u ludzi dorosłych. Z największą częstością diagnozowane są u osób w podeszłym wieku. Każdego roku w Polsce jednak około 1100-1200 dzieci rozpoczyna leczenie onkologiczne z powodu nowotworu złośliwego. Pośród pacjentów pediatrycznych najczęściej rozpoznawana jest ostra białaczka limfoblastyczną, która stanowi około 26% nowotworów dziecięcych. Kolejne pod względem zachorowalności są guzy ośrodkowego układu nerwowego (22%), a następnie chłoniaki (15%). Ostra białaczka limfoblastyczna diagnozowana jest głównie u małych dzieci w wieku 2-5 lat [34], [47]. Jest to

nowotwór, którego komórki wywodzą się z prekursorów komórek układu odpornościowego limfoblastów. Wyróżniamy dwie charakterystyczne linie komórkowe B i T. Jeśli patologiczne limfoblasty wywodzą się ze szpiku u pacjenta rozpoznawana jest białaczka. W przypadku zmian zlokalizowanych w węzłach chłonnych i tkankach pozawęzłowych, pacjent diagnozowany jest w kierunku chłoniaka. Etiopatogeneza białaczek nie została jednoznacznie wyjaśniona. Przyczyny rozwoju nowotworu mogą być zarówno genetyczne, jak i środowiskowe. Wysokie ryzyko rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej występuje w przypadku obecności genu *Philadelphia* translokacja t(9,22). Zwiększoną częstość tego nowotworu obserwuje się także w przypadku niektórych chorób genetycznych takich jak zespół Blooma, Downa czy w nerwiakowókniakowatości. Do czynników środowiskowych należy głównie długotrwała ekspozycja na promieniowanie jonizujące, czynniki chemiczne czy zakażenie wirusem HTLV-1 (ludzki wirus T-limfotropowy). Według klasyfikacji WHO z 2016 roku białaczki definiujemy na podstawie zmian genetycznych, molekularnych i immunofenotypowych. Choroba zazwyczaj rozwija się szybko i jeśli nie zostanie właściwie zdiagnozowana i leczona w ciągu zaledwie kilku tygodni może doprowadzić do śmierci pacjenta. Początkowo obserwowane jest głównie powiększenie węzłów chłonnych i śledziony, w następnej kolejności najczęściej pojawiają się bóle kości i stawów, potem dołącza gorączka i osłabienie. Często obserwowane są dolegliwości związane ze zmianami w morfologii krwi, z niedokrwistością, małopłytkowością i neutropenią. Może więc pojawić się duszność, bladość, przyspieszony rytm serca, krwawienia, wybroczyny, ostre infekcje, a nawet sepsa. Ze względu na dużą leukocytozę i zwiększoną lepkość krwi zdarzają się powikłania związane z okluzją naczyń w mózgu, płucach i innych narządach. Objawy neurologiczne mogą także wynikać z zajęcia ośrodkowego układu nerwowego przez chorobę. Limfadenopatia obwodowa oraz zmiany neurologiczne występują znacznie częściej w podtypie T ostrej białaczki limfoblastycznej. W przypadku zaobserwowania niepokojących objawów, wykonywany jest panel badań umożliwiających rozpoznanie choroby, ocenę ryzyka i wybranie najodpowiedniejszej metody leczenia. Podstawowym badaniem jest morfologia krwi, w której obserwuje się we wczesnym stadium leukopenię, następnie leukocytozę  $>100\ 000/\mu\text{l}$ , często również niedokrwistość, małopłytkowość i neutropenię. Następnie wykonywana jest biopsja aspiracyjna szpiku. W bioptacie obserwowana jest zwykle dominacja jednej linii komórek blastycznych i regresja pozostałych. Dodatkowo w cytometrii przepływowej ustalany jest immunofenotyp komórek białaczkowych, a za pomocą badań cytogenetycznych i molekularnych charakterystyczne mutacje. W celu oceny narządów wewnętrznych wykonywane są badania obrazowe. Ocena cytozy płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego podczas nakłucia lędźwiowego pozwala ocenić, czy nacieki białaczkowe obejmują centralny układ nerwowy. Po rozpoznaniu ostrej białaczki limfoblastycznej należy także ocenić stopień ryzyka, który warunkuje klasyfikację pacjenta do grupy wysokiego lub standardowego ryzyka. Czynnikiem niekorzystnego rokowania jest wiele, można je podzielić na wyjściowe, czyli pierwotne, jak leukocytoza w momencie rozpoznania:  $>30\ 000/\mu\text{l}$  w B-ALL i  $>100\ 000/\mu\text{l}$  w T-ALL, pacjent w stanie ciężkim, mutacja genetyczna: t(4;11), t(1;19), hipodiploidia, -7, del(17p), kariotyp złożony, zawierający więcej niż pięć mutacji, rearanżacja KMT2A, TCF3-PBX1. Najistotniejszym czynnikiem rokowniczym wtórnym jest natomiast odpowiedź na leczenie [48], [49].

Produkt ekspresji genu *SIRT1* oprócz istotnego udziału w regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej ustroju, posiada także powiązania metaboliczne z białkami bezpośrednio wpływającymi na kontrolę procesów nowotworowych w organizmie. Czynnikiem odpowiadającym za transkrypcję genu *SIRT1* są między innymi E2F1, FOXO3a i p53. Wzrost poziomu białka p53 w komórce stymuluje ekspresję genu *SIRT1* i zwiększa syntezę sirtuiny1. Mechanizm działa na zasadzie pętli zwrotnej. Mutacja i obniżony poziom białka p53 koreluje z niskim poziomem sirtuiny1 w komórce, co zaburza procesy naprawcze DNA. Nadmierny wzrost stężenia sirtuiny1 powoduje jednak rozpad białka p53 oraz jego usuwanie z komórki. Dodatkowo sirtuina1 pozostaje również w związku z białkami proapoptotycznymi BAX oraz czynnikiem przeciwnowotworowym Ku70, odpowiadającym za naprawę DNA [50]. Produkt ekspresji genu *SIRT1* w komórce posiada właściwości deacetylazy histonowej w miejscu promotorowym oraz reguluje poziom czynników transkrypcyjnych poprzez fosforylację. Zmniejsza głównie syntezę receptorów dla hormonów sterydowych, glikokortykosterydowych, mineralokortykosterydowych, estrogenowych, androgenowych, progesteronowych. Wpływa na procesy nowotworowe związane z zespołem metabolicznym, jak rak piersi, jajnika i prostaty. Wpływ ekspresji genu *SIRT1* na rozwój białaczek i chłoniaków nie został jeszcze wyjaśniony [51]. Niemniej pacjenci leczeni onkologicznie po wyleczeniu nowotworu pierwotnego posiadają dodatkowo zwiększone ryzyko rozwoju nowotworów drugich. Osoby leczone z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej jako późne następstwa rozwijają dodatkowo schorzenia z kręgu zespołu metabolicznego. Ważne jest więc wyjaśnienie związku wpływu ekspresji genu *SIRT1* jako deacetylazy receptorów glikokortykosterydowych u pacjentów poddanych leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej z wysokodawkowaną sterydoterapią na późniejsze życie: rozwój zespołu metabolicznego i nowotworów wtórnych. Niewiele doniesień jak dotąd porusza ten temat. Ekspresja genu *SIRT1* oraz szlaku regulowanego przez wzmacniacz Zeste homolog 2 (EZH2) może zmniejszać różnicowanie i promować proliferację niedojrzałych limfoblastów w rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej. Zastosowanie czynników regulujących nadekspresję genu *SIRT1* takich jak metalonina, kurkumina, metformina czy sulforafan, mogłoby znosić blok obejmujący różnicowanie limfocytów, co wpłynęłoby na ograniczenie rozwoju procesu nowotworowego. Wymaga to jednak dalszych badań, aby określić, które ze szlaków regulowanych przez sirtuiny1 po zastosowaniu tego typu preparatów zostaną zmienione oraz jaki będzie to miało wpływ na metabolizm ustroju. Melatonina zwiększa ekspresję genu *SIRT1* w tkance tłuszczowej i wątrobie, co poprawia gospodarkę węglowodanową i lipidową organizmu. Ilość informacji naukowych na ten temat sprawia, że mechanizm wydaje się skomplikowany [52]. Analizowano wpływ selektywnego małowcząsteczkowego inhibitora *SIRT1* na rozwój ostrej białaczki limfoblastycznej. Poziom ekspresji genu *SIRT1*, deacetylazy histonowej klasy III, był wyższy w komórkach pierwotnych ALL od pacjentów niż w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej osób zdrowych. Wyniki wykazały, że aktywowany przez tenovin-6 szlak białka p53, silnie hamował wzrost pierwotnych komórek ALL i uczulił je na chemioterapeutyki, etopozyd i cytarabinę. Środek indukował apoptozę w komórkach białaczkowych, zmniejszał ekspresję Mcl-1 i X-związanego inhibitora białka apoptozy (XIAP). Selektywne zmniejszenie ekspresji genu *SIRT1* u pacjentów ze zdiagnozowaną ostrą białaczką limfoblastyczną może stanowić perspektywę terapii celowanej. Istotne jest przeanalizowanie stężenia białka sirtuiny1 w tej

grupie chorych [53]. Aktywacja sygnalizacji cAMP w komórce nasila procesy powodujące destabilizację białka p53 w komórkach układu odpornościowego. Białko p53 odpowiada za naprawę uszkodzonego DNA w komórce lub skierowanie jej na szlak apoptozy, co wpływa na kontrolę i degradację uszkodzonych oraz zmienionych nowotworowo komórek. Wysoki poziom cAMP aktywuje deacetylazy p53, *SIRT1* i HDAC, co powoduje utratę aktywności białka p53. Deacetylacja i degradacja p53 za pośrednictwem cAMP zależy od aktywności dwóch klas deacetylaz histonowych *SIRT1* i HDAC [54].

Wydaje się zatem że nadekspresja genu *SIRT1* i wysokie stężenie białka sirtuiny1 w komórkach układu krwiotwórczego zmniejsza różnicowanie limfoblastów i promuje rozwój ostrej białaczki limfoblastycznej. Niskie stężenie białka sirtuiny1 w tkance tłuszczowej, wątrobie, trzustce wiąże się z predyspozycją do rozwoju cukrzycy typu 2, zaburzeń lipidowych, nadwagi, otyłości i nadciśnienia tętniczego. U pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej obserwujemy zarówno rozwój choroby nowotworowej, jak i zaburzenia związane z zespołem metabolicznym. Ważne jest wyjaśnienie opisywanych nieprawidłowości i określenie polimorfizmów genu *SIRT1*, które mogą mieć istotne znaczenie dla poprawy rokowania pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.

## 9. Leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej

W celu zaplanowania właściwego leczenia białaczki limfoblastycznej dla pacjenta, ocenia się scharakteryzowane czynniki ryzyka, w celu przyporządkowania do określonej grupy objętej odpowiednim protokołem leczniczym. Szczególnie istotna jest obecność u pacjenta chromosomu *Philadelphia*, jego wiek, stan sprawności fizycznej oraz obecność chorób współistniejących. W Polsce pacjenci objęci są protokołami PLAG [55]. Leczenie trwa zazwyczaj około 3 lat i składa się z kilku etapów: przedleczenia, indukcji remisji, leczenia konsolidującego remisję oraz pokonsolidującego – podtrzymującego. Leczenie wstępne prowadzi do zmniejszenia masy komórek nowotworowych. Pozwala to uniknąć powikłań związanych z intensywnym rozpadem komórkowym, czyli z zespołem rozpadu guza. Na tym etapie stosowana jest glikokortykoterapia, głównie deksametazonem i prednizonem. Następnie podczas leczenia indukcyjnego włączana jest polichemioterapia, w skład której wchodzi wincrystyna, antracyklina, glikokortykosterydy: prednizon lub deksametazon i asparaginaza lub pegaspargaza. W mielogramie ocenia się czy została osiągnięta remisja całkowita. Obecność choroby resztkowej sprawdzana jest metodą cytometrii przepływową. W konsolidacji remisji, aby utrwalić remisję całkowitą, sekwencyjnie podawane są leki przeciwnowotworowe w odpowiednich dawkach. Aby zmniejszyć ryzyko nawrotu choroby w dalszym etapie w grupie standardowego ryzyka podaje się leczenie podtrzymujące: merkaptopurynę i metotreksat. Leczenie to włączane jest także u pacjentów, którzy z różnych przyczyn nie mogą zostać zakwalifikowani do przeszczepu szpiku, pomimo grupy wysokiego ryzyka. Zwykle to dotyczy osób w złym stanie ogólnym lub podeszłym wieku. W trakcie leczenia pokonsolidującego istotna jest systematyczna ocena choroby resztkowej. W przypadku osób z grupy zwiększonego ryzyka wykonywany jest przeszczep komórek hematopoetycznych od dawcy niespokrewnionego lub rodzeństwa pacjenta [48]. Oddzielną grupę chorych stanowią pacjenci ze zdiagnozowaną translokacją t(9,22) – chromosomem *Philadelphia*. W tej grupie zarówno leczenie indukcyjne jak i konsolidujące



oparte jest o inhibitory kinaz tyrozynowych: imatynib, dazatynib w połączeniu z ograniczonymi dawkami cytostatyków lub wyłącznie glikokortykosterydoterapią deksametazonem i prednizonem. Po konsolidacji remisji najczęściej pacjent kwalifikowany jest do przeszczepu komórek hematopoetycznych. Jeśli z różnych przyczyn nie ma takiej możliwości wówczas w leczeniu podtrzymującym w dalszym ciągu podawane są inhibitory kinaz tyrozynowych.

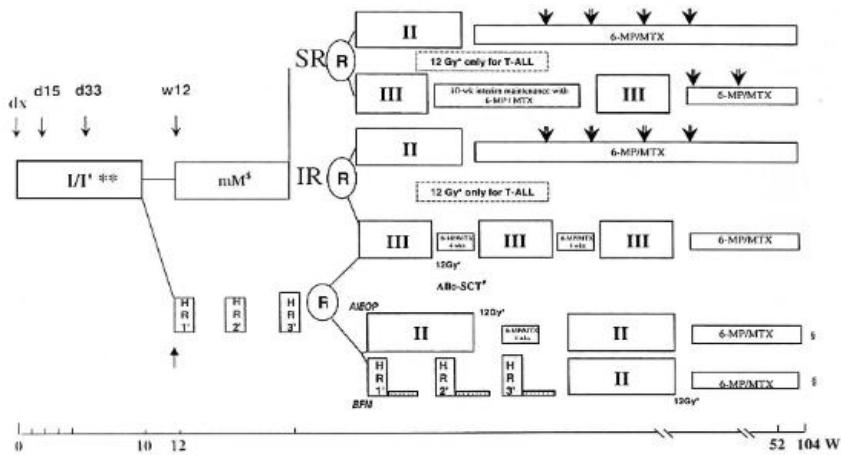
U każdego pacjenta stosuje się także leczenie profilaktyczne nacieków białaczkowych ośrodkowego układu nerwowego. Jest to dokanałowa terapia tójlekowa: cytarabina, metotreksat, deksametazon. Jeśli u pacjenta zdiagnozowane zostaną zmiany w OUN(ośrodkowym układzie nerwowym) wówczas dodatkowo stosuje się napromieniowanie podstawy czaszki i rdzenia kręgowego. Czasami pomimo pierwotnej remisji choroby może dojść do nawrotu ostrej białaczki limfoblastycznej. Może to być nawrót wczesny jeszcze przed zakończeniem leczenia pierwotnego bądź późny czyli po ponad dwóch latach remisji. W pierwszym przypadku w leczeniu włącza się cytostatyki nie dające krzyżowej oporności z zastosowanym leczeniem pierwszego rzutu lub w razie nieskuteczności immunoterapię, leczenie komórkowe, analogii puryn lub inne schematy będące na etapie badań klinicznych. Jeśli występuje późny nawrót choroby skutecznym często okazuje się powtórzenie schematu z leczenia pierwszego rzutu. W przypadku zdiagnozowanej mutacji genu *BRC/ABL* dalej stosuje się inhibitory kinaz tyrozynowych tylko z innej grupy. Po odpowiednim przygotowaniu pacjenta i kwalifikacji, docelowo wykonuje się przeszczep komórek hematopoetycznych [55].

Podczas całego okresu leczenia istotne jest leczenie wspomagające w przypadku powikłań związanych z toksycznością polichemioterapii, glikokortykoterapii, w celu poprawy stanu ogólnego pacjenta, normalizacji parametrów morfologii krwi oraz przeciwdziałaniu następstw zespołu rozpadu nowotworu.

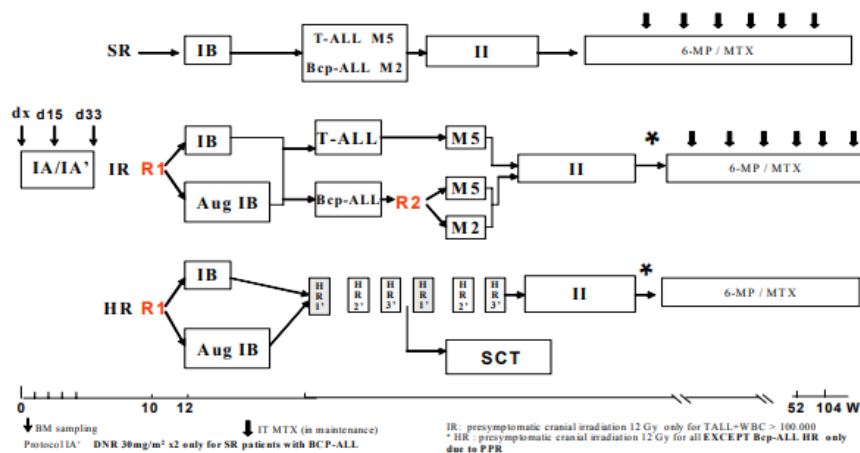
W zależności od daty rozpoznania ostrej białaczki limfoblastycznej pacjenci leczeni są według najnowszych, aktualnych schematów leczenia. W ostatnich latach były to odpowiednio protokoły ALL IC-BFM 2002 oraz ALL IC-BFM 2009. Od października 2018 roku pacjenci leczeni są według protokołu AIEOP-BFM ALL 2017. Dzieci klasyfikowane były do odpowiednich grup ryzyka: standardowego, pośredniego i wysokiego. Grupę ryzyka ustalano biorąc pod uwagę wiek pacjenta, leukocytozę, odpowiedź na wczesną glikokortykoterapię w 8 dniu, w 15 dniu na obecność choroby resztkowej w badaniu szpiku oraz uzyskanie całkowitej remisji w 33 dobie. Istotnym czynnikiem był także wynik badania cytogenetycznego i obecność takich mutacji jak translokacja t(9;22) [*BCR/ABL*] i/lub t(4;11) [*MLL/AF4*]. Leczenie było modyfikowane w zależności od grupy ryzyka. W protokole I pacjent otrzymywał prednizon (w pierwszym tygodniu w monoterapii), vincristine (VCR), daunorubicynę, l-asparaginazę (L-ASP), cytarabinę (ARA-C), cyklofosfamid, 6-merkaptopurynę (6-MP), MTX według ALL IC-BFM 2002 oraz encorton, VRC, daunorubicynę, L-ASP i metotreksat (MTX-IT) w ALL IC BFM-2009. W ALL IC BFM-2009 protokół I został podzielony na IA' i IA w zależności od grupy ryzyka. W przypadku IRG i HRG stosowano dwa razy więcej dawek daunorubicyny. Następnie przechodzono do protokołu mM lub M, podawano metotreksat dożylnie i dokanałowo w ALL IC-BFM 2002. W przypadku ALL IC-BFM 2009 w zależności od grupy ryzyka stosowano protokół B dla SRG i protokół Aug-IB dla IRG i HRG. Protokół IB zawierał cyklofosfamid lub endoksan

oraz MESNA aby zmniejszyć nefrotoksyczność cyklofosfamidu, ARA-C, merkaptopurynę i metotreksat, podobnie protokół Aug IB lecz trwał on zamiast 29 dni, aż 56. Następnie pacjenci z grupy SRG rozpoczęli protokół mM i M z merkaptopuryną, metotreksatem i folinianem wapnia LCV. Pacjenci z IRG i HRG zarówno w ALL IC BFM 2002 jak i ALL IC BFM 2009 poddawani byli leczeniu schematami z bloków HR-1', HR-2', HR-3mM i M. Protokół II i III w ALL IC BFM 2002 zawierał deksametazon, doksorubicyna, L-ASPA, cyklofosfamid, ARA-C, 6-tioguanina, MTX, a w ALL IC-BFM 2009 deksametazon, doksorubicynę, vincristine, L-ASPA, cyklofosfamid, ARA-C, 6-tioguaninę i metotreksat. Na koniec w obu grupach pacjentów rozpoczynano leczenie podtrzymujące z 6-merkaptopuryną i metotreksatem. Dzieci zakwalifikowane do grupy ryzyka HRG, z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego przez ostrą białaczkę szpikową oraz z hiperleukocytarną ALL T-komórkową kwalifikowane są także do leczenia radioterapeutycznego. Dla porównania obu schematów leczenia, przedstawiono je na rycinie 1 i 2.

Rycina 1. Schemat leczenia według protokołu ALL IC BFM 2002 [49].



Rycina 2. Schemat leczenia według protokołu ALL IC BFM 2009 [56].



Obecnie stosowany jest protokół ALL IC BFM 2017 [54], [57].

## 10. Charakterystyka preparatów diabetogennych stosowanych w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej

W trakcie terapii ostrej białaczki limfoblastycznej na różnych etapach leczenia stosowane są preparaty wpływające na gospodarkę węglowodanową i lipidową organizmu. Najistotniejsze znaczenie ma glikokortykosterydoterapia i L-asparaginaza. Leki te stosowane są zarówno w schemacie ALL IC-BFM 2002 jak i ALL IC-BFM 2009. W zależności od schematu, grupy ryzyka oraz tolerancji leczenia i stanu chorego podawane są różnych dawkach odpowiednich dla danego pacjenta. W przypadku odpowiedzi na leczenie glikokortykosterydami i L-asparaginazą istotne znaczenie metaboliczne mają szlaki, w których ważną rolę odgrywa gen *SIRT1* i stężenie sirtuiny1. Istotne jest wyjaśnienie podatności pacjentów na niekorzystne następstwa leczenia glikokortykosterydami i L-asparaginazą oraz znaczenia sirtuiny1 w tym procesie, jako potencjalnego celu terapeutycznego. Ocena polimorfizmów genu *SIRT1* mogłaby bowiem ułatwić zastosowanie profilaktyki poważnych powikłań, które generują glikokortykosterydy i L-asparaginaza.

Glikokortykosterydy, głównie prednizon, stosowane w dużych dawkach w długotrwałej terapii powodują katabolizm białek, nasilają glukoneogenezę, zmieniają metabolizm tłuszczów, nasilając lipogenezę w obrębie szyi, klatki piersiowej i brzucha, a stymulując lipolizę w obrębie kończyn. Działają przeciwzapalnie, immunosupresyjnie, zmniejszają liczbę krwinek układu odpornościowego oraz hamują działanie wielu interleukin: IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$ , GM-CSF. Do głównych działań niepożądanych należy wzrost ryzyka krwawień, nieprawidłowa tolerancja glukozy, włącznie z rozwojem cukrzycy posterydowej, zwiększona częstość zakażeń. Ze względu na zaburzenia gospodarki lipidowej pojawia się charakterystyczna postawa ciała – sylwetka cushingoidalna. Dodatkowo występuje osłabienie siły mięśniowej. U pacjentów często rozwija się także nadciśnienie tętnicze, ale może także wystąpić podwyższone ciśnienie śródczaszkowe. Charakterystyczne są rozstępy skórne, zmiany trądzikowe i hirsutyzm. Może także dojść do zaburzeń miesiączkowania u kobiet, a u mężczyzn impotencji. Pogorszeniu ulegają wszelkie procesy regeneracyjne tkanek, co powoduje opóźnienie gojenia ran. Osoby leczone glikokortykosterydami wymagają konsultacji okulisty w celu oceny potencjalnego rozwoju jaskry i zaćmy. Mogą wystąpić zmiany nastroju z depresją włącznie. Do innych poważnych zaburzeń należy aseptyczna martwica kości, zapalenie trzustki, zahamowanie czynności hormonalnej włącznie zanikiem kory nadnerczy. Ze względu na retencję sodu i wody pacjenci często zgłaszają obrzęki, dodatkowo może pojawić się zakrzepica oraz zapalenie naczyń. U pacjentów w okresie rozwojowym istotne jest zahamowanie wzrastania [58]. Gen *SIRT1* oddziałuje na odpowiedź glikokortykosteroidową na poziomie molekularnym i enzymatycznym. W badaniu na liniach komórkowych wykazano, że podczas terapii deksametazonem, gen *SIRT1* wiąże się z kompleksem GILZ GRE (glucocorticoid response element gen TSC22D3) działa jako wzmacniacz transkrypcji receptorów steroidowych. Dodatkowo mechanizm jest regulowany przy współdziałaniu *SIRT1* z PGC1 $\alpha$ . Wszystko dzieje się niezależnie od właściwości deacetylazy genu *SIRT1*. Tak więc na poziomie molekularnym gen *SIRT1* wspiera odpowiedź komórkową na zastosowaną glikokortykosterydoterapię poprzez wzrost transkrypcji genu *GRE* [59]. Na poziomie enzymatycznym działając jako deacetylaza zależna od NAD, sirtuina1 zmniejsza aktywność receptorów steroidowych [3], [5]. Dodatkowo postuluje się, że

zaburzenie regulacji odpowiedzi sirtuiny1 na hormony steroidowe może być istotnym punktem w rozwoju nowotworów opornych na hormony steroidowe. Sirtuina1 reguluje sygnalizację hormonalną steroidów poprzez różne mechanizmy molekularne, w tym oddziaływanie na czynniki transkrypcyjne, deacetylowanie histonów w promotorach genów z miejscami wiązania receptorów jądrowych, bezpośrednio odacetylowanie receptorów jądrowych hormonów steroidowych i szlaki, które modyfikują receptory steroidowe poprzez fosforylację [9]. Jest to szczególnie ważne w przypadku leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej ze względu na prognozę leczenia i ewentualne wczesne oraz późne działania niepożądane związane z terapią prednizonem.

Kolejnym istotnym metabolicznie lekiem cytostatycznym jest L-asparaginaza. Jest to egzogennie dostarczany enzym, który rozkłada asparaginę do kwasu asparaginowego i amoniaku. W terapii onkologicznej wykorzystywany jest jako inhibitor syntezy kwasów nukleinowych oraz zdolności proliferacji komórek nowotworowych. Hamuje ona procesy podziałów oddziałując w fazie promitotycznej G1. Komórki nowotworowe ostrej białaczki limfoblastycznej nie wytwarzają asparaginy endogennie ze względu na brak syntetazy asparaginy. Niedobór asparaginy w ich otoczeniu uniemożliwia pobór egzogenny aminokwasu. Pomimo jednak korzystnego z punktu widzenia onkologicznego działania cytostatycznego wobec choroby rozrostowej, podczas stosowania L-asparaginazy u pacjentów często występują różne działania niepożądane, także te związane z zaburzeniami gospodarki lipidowej i węglowodanowej ustroju. L-asparaginaza niekorzystnie wpływa bowiem na metabolizm trzustki oraz procesy syntezy i wydzielania endogennej insuliny [56]. Istotnym powikłaniem leczenia L-asparaginazą jest ostre zapalenie trzustki. Mechanizm powstania tego schorzenia nie został jeszcze do końca wyjaśniony, nie zależy jednak ani od dawki ani od liczby podań leku [60]. Innym ważnym niekorzystnym następstwem leczenia L-asparaginazą jest dyslipidemia. Może ona przybierać obraz zarówno hipocholesterolemii i hipotrójglicydemii, jak również częściej hipercholesterolemii i hipertrójglicydemii. Oceniając wpływ leczenia L-asparaginazą u dzieci z ALL na poziom lipidów w krwi, stwierdzono wyraźne pogorszenie gospodarki lipidowej. Przed i po ukończeniu leczenia L-asparaginazą parametry stężenia trójglicerydów i cholesterolu były w normie u badanych pacjentów. W trakcie leczenia występowała jednak istotna predyspozycja do rozwoju hipercholesterolemii i hipertrójglicydemii. Zarówno w trakcie i po zakończeniu leczenia zmniejszył się poziom syntezy HDL cholesterolu u dzieci z leczonych z powodu ostrej białaczki szpikowej. U 25% pacjentów stężenie było niższe niż 35 mg/dl [61]. Część pacjentów leczonych L-asparaginazą rozwija hiperglikemię z cukrzycą włącznie. Patomechanizm tego zaburzenia nie został jeszcze do końca wyjaśniony. Istotne znaczenie ma jednak uszkodzenie trzustki oraz włączona dodatkowo glikokortykosterydoterapia. Ze względu na molekularne i enzymatyczne znaczenie genu *SIRT1* i sirtuiny1 w organizmie można potencjalnie wiązać opisywane zmiany. Do innych znanych działań niepożądanych należą występujące z największą częstością zaburzenia krzepnięcia, zaburzenia funkcji wątroby oraz neutropenia, hiperamonemia i reakcje nadwrażliwości [62]. Mało jest badań wyjaśniających patomechanizm działań niepożądanych leczenia L-asparaginazą, szczególnie tych związanych z gospodarką lipidową i węglowodanową. W badaniu przeprowadzonym na transgenicznym myszach z genetyczną podatnością na rozwój zapalenia trzustki zależny od stosowania L-asparaginazy, po zastosowaniu leczenia L-asparaginazą, jako czynnika

stresowego, odnotowano zwiększenie poziomu sirtuiny1 w ustroju. Wyjaśnienie zaobserwowanej zależności wymaga jednak dalszych badań [63].

#### 11. Wczesne i późne następstwa leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej

Leczenie stosowane w terapii ostrej białaczki limfoblastycznej jest bardzo skuteczne, szczególnie u małych dzieci. Pierwotną remisję uzyskuje nawet 90% pacjentów w wieku rozwojowym. Na wszystkich etapach leczenia pojawiają się jednak istotne powikłania, które zmniejszają odsetek wyleczeń. Powodują opóźnienia w ordynowaniu podstawowej chemioterapii oraz pogarszają stan ogólny pacjenta. W protokole I'A i IA często występują uczulenia na stosowane preparaty. W przypadku uczulenia na L-asparaginazę, może wystąpić konieczność zmiany leku na inny. Inne istotne powikłania to pogorszenie się parametrów morfologicznych krwi, wypadanie włosów, wzrost lub utrata apetytu, cukrzyca sterydowa, podwyższone próby wątrobowe i polineuropatia. W protokole IB często pojawia się gorączka neutropeniczna. W protokole mM i M dołączyć się może wysypka, poparzenie skóry, dróg oddechowych, jelit oraz nadżerki głównie w obrębia jamy ustnej. Wszystkie wymienione zaburzenia mogą wystąpić na każdym etapie leczenia z różną intensywnością. Część zmian metabolicznych może występować również po zakończeniu leczenia, co szczególnie w przypadku dzieci może mieć wpływ na ich dalsze życie. Pacjenci, którzy w dzieciństwie byli leczeni z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej w dalszym życiu wykazują zwiększone ryzyko rozwoju cukrzycy, nadciśnienia, nadwagi, zaburzeń lipidowych, niedoczynności tarczycy, niedoboru wzrostu, bezpłodności oraz innych chorób nowotworowych. W przypadku zastosowania w leczeniu radioterapii u pacjentów może wystąpić niedoczynność przysadki oraz zaburzenie funkcji hormonalnej gonad [64]–[67]. Niektóre polimorfizmy genu *SIRT1* (rs33957861, rs7895833, rs12778366, rs10509291, rs7069102, rs2273773) i stężenie białka sirtuiny1 w organizmie może wpływać na częstość i rodzaj występowania niekorzystnych następstw leczenia (hiperglikemii, insulinoporności, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego) oraz na przeżywalność pacjentów. Dieta o zmniejszonej kaloryczności zwiększa ekspresję genu sirtuiny1 w organizmie. U myszy stwierdzono, że zastosowanie niskokalorycznej diety poprawia odpowiedź na leczenie L-asparaginazą i glikokortykosteroidami ostrej białaczki limfoblastycznej [68]. Sirtuina1 wpływa na rozwój i przebieg leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej. Istotne jest więc rozszerzenie badań dotyczących wpływu występowania określonych polimorfizmów genu *SIRT1*, warunkujących odpowiednią ekspresję i stężenie białka sirtuiny1 w organizmie osób leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej. Dokładna ocena ryzyka wstąpienia u pacjentów zaburzeń gospodarki węglanowej i lipidowej, może wpłynąć na wczesną profilaktykę zaburzeń, co zwiększy skuteczność leczenia onkologicznego i zwiększy przeżywalność chorych, a także poprawi ich jakość życia.

#### 12. Potencjalne możliwości terapeutyczne sirtuiny1

Ekspresja genu *SIRT1* i stężenie białka sirtuiny1 w organizmie modyfikuje wiele szlaków metabolicznych. Związane z tym zaburzenia gospodarki węglowodanowej, lipidowej, ciśnienia tętniczego, rozwoju chorób nowotworowych skłaniają do badań związanych z potencjalnymi właściwościami terapeutycznymi sirtuiny1. W ponad 270 badaniach

klinicznych, wykazano, że związek polifenolowy resveratrol w sposób istotny wpłynął na metabolizm sirtuiny1 w organizmie [19].

Plejotropowo oddziałuje on na szlaki regulowane przez sirtuinę1, cytokiny, kaspazy, metaloproteinazy macierzy, jądrowy czynnik  $\kappa$ B, Notch, kinazę białkową aktywowaną 5'-AMP, międzykomórkową cząsteczkę adhezyjną, cząsteczkę adhezyjną komórek naczyńniowych, aktywowany przez proliferator peroksysonu koaktywator  $\gamma$  1 $\alpha$ , insulinopodobny czynnik wzrostu 1, białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 3, rodzinę asocjacji Ras 1 $\alpha$ , pAkt, czynnik wzrostu śródbłonka naczyńniowego, cyklooksygenazę 2, czynnik jądrowy erytroid 2 i białko podobne do Kelcha związane z ECH 1. Potencjalne właściwości terapeutyczne resveratrolu rozpatruje się u osób chorych na cukrzycę, otyłość, raka jelita grubego, raka piersi, szpiczaka mnogiego, zespół metaboliczny, nadciśnienie, chorobę Alzheimera, udar, choroby sercowo-naczyniowe, choroby nerek, choroby zapalne i zapalenie błony śluzowej nosa i gardła. Środek ten jest bezpieczny w dawce do 5g na dobę. Problematyczne jak dotąd wydaje się jednak jego pozyskiwanie oraz zbyt szybki metabolizm [66]. Resveratrol ze względu na właściwości epigenetyczne jak acetylacja, metylacja oraz wpływ na stężenie sirtuiny1 w organizmie, która jest deacetylazą, rozpatrywany jest jako związek o istotnych właściwościach przeciwnowotworowych. Oddziałuje na supresory nowotworowe, BRCA-1, czynnik związany z czynnikiem erytroidalnym 2 związanym z erytroidem 2 (NRF2) i rodzina Ras Associated Domain-1 $\alpha$  (RASSF-1 $\alpha$ ) przez metylację, PAX1 przez acetylację oraz homolog fosfatazy i tensyny (PTEN) zarówno przez metylację, jak i acetylację, oprócz epigenetycznej regulacji onkogennego NF- $\kappa$ B i sygnalizacji STAT3. Wpływa więc na wiele ważnych szlaków onkogennych w organizmie [69], [70]. Resveratrol w licznych badaniach zwiększając ekspresję genu *SIRT1* i produkcję białka sirtuiny1 w organizmie wpływa także kardioprotekcyjnie. Powoduje zakłócenie kaskady sygnałowej TLR4 / NF- $\kappa$ B / STAT (czynnik Toll-podobny receptor 4 / czynnik jądrowy  $\kappa$ -lekki wzmacniacz łańcucha aktywowanych komórek B / przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji) zmniejsza produkcję cytokin. Resveratrol dodatkowo indukuje atenuację czynników prozapalnych pochodzących od makrofagów / komórek tucznych, takich jak PAF (czynnik aktywujący płytkę krwi), TNF- $\alpha$  (czynnik martwicy nowotworów- $\alpha$ ) i histamina. Posiada właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne i przeciwplatekcyjne. Korzystnie wpływa na stan śródbłonka naczyńniowego, ogranicza procesy miażdżycowe, co wynika ze zdolności do oczyszczania organizmu z ROS (reaktywne formy tlenu), hamowania COX (cyklooksygenazy) i aktywacji wielu szlaków przeciwzapalnych [71], [72]. Innym istotnym aktywatorem genu *SIRT1* w organizmie jest metformina, zwiększająca stężenie sirtuiny1 w organizmie. Jako agonista wspiera ekspresję genu *SIRT1* w warunkach obniżonej ilości NAD<sup>+</sup> w ustroju. Metformina posiada istotne właściwości regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej w organizmie [73]. Ze względu na istotne działania metaboliczne i przeciwnowotworowe genu *SIRT1* prowadzone są liczne badania nad poszukiwaniem substancji aktywujących transkrypcję genu takich jak 1,4-dihydropirydyna i inne pochodne związki fenolowe, czy pueraryna. Stanowią one potencjalne rozwiązania terapeutyczne w przypadku nadwagi, insulinooporności i cukrzycy typu 2, nadciśnienia, dyslipidemii [74].

## II. Cel pracy.

Celem pracy była identyfikacja indywidualnych czynników ryzyka rozwoju zespołu metabolicznego u osób leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej w dzieciństwie i /lub wieku młodzieńczym z uwzględnieniem polimorfizmów genu *SIRT1* i stężenia białka sirtuiny1 w surowicy.

Ważnym celem pracy było także wskazanie stężenia białka sirtuiny1 oraz wybranych polimorfizmów genu *SIRT1* jako potencjalnych markerów umożliwiających przewidywanie zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, zarówno w trakcie jak i po zakończeniu leczenia onkologicznego.

Realizacja celu pracy obejmowała następujące zadania:

1. Analiza indywidualnych czynników ryzyka rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej wynikających z uwarunkowań genetycznych, rodzinnych i środowiskowych.
2. Wykazanie, czy występuje zależność ryzyka rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, wynikających z zastosowanego leczenia onkologicznego oraz przebiegu choroby.
3. Ocenę stanu zdrowia pacjentów przynajmniej rok po zakończonym leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej z uwzględnieniem parametrów antropometrycznych: masy i wysokości ciała oraz ciśnienia tętniczego krwi i obwodu pasa.
4. Wykonanie badań laboratoryjnych (OGTT z insuliną, lipidogram z podziałem na frakcje i z uwzględnieniem apolipoprotein A i B, morfologii krwi, białka CRP). Ocenę stężenia we krwi białka sirtuiny1. Wszystkie badania wykonane były przynajmniej rok po zakończonym leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej.
5. Analizę występowania wybranych polimorfizmów genu *SIRT1* u pacjentów przynajmniej rok po zakończonym leczeniu onkologicznym ze względu na prezentowane nieprawidłowości gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz u osób bez nieprawidłowości.

Analiza czynników predysponujących do rozwoju hiperglikemii i dyslipidemii może posłużyć wczesnemu wdrożeniu profilaktyki zaburzeń węglowodanowolipidowych w trakcie leczenia onkologicznego, co poprawi skuteczność leczenia ALL i zwiększy przeżywalność chorych. Dodatkowo wykazanie czynników predykcyjnych rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u osób leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej, może posłużyć wczesnemu wdrożeniu działań profilaktycznych zapobiegającym rozwojowi zespołu metabolicznego w dalszym życiu.

### III. Materiały i metody.

Badania przeprowadzono w ramach projektu Diamentowy Grant 0135/DIA/2016/45 finansowanego ze środków Ministerstwa Edukacji i Nauki . Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr KB – 496/2016.

Do badania kwalifikowano dzieci i młodzież, przynajmniej rok po zakończeniu leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej.

Zaproszenia do badania wysłane zostały w formie pisemnej. Rodzice wraz z dziećmi dobrowolnie wyrazili chęć wzięcia udziału w badaniu. Otrzymali zarówno ustną jak i pisemną informację o badaniu - na czym będzie polegało, jak będzie przebiegało oraz jaki jest jego cel. Wyrazili także pisemną zgodę na badanie lekarskie (wywiad chorobowy, badanie fizykalne) oraz na pobranie u pacjentów krwi żyłnej celem wykonania badań. Informacje dotyczące pacjentów, wyników ich badań, zostały zakodowane i dane pozostają anonimowe.

Osobami biorącymi udział w badaniu byli pacjenci Kliniki Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala im. Mikulicza Radeckiego we Wrocławiu, leczeni w okresie dzieciństwa lub młodzieńczym z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.

Materiał do badań laboratoryjnych i genetycznych stanowiła krew żylna pobrana rano na czczo, co najmniej 10 godzin od ostatniego posiłku.

#### *Charakterystyka grupy:*

Do badania zaproszonych zostało 380 osób, na zaproszenie odpowiedziało jedynie 89, w wieku od 3,5 do 30 lat, średnia wieku wynosiła 13,28 lat, co najmniej 1 rok po zakończonym leczeniu ALL . Grupę kontrolną stanowiło 50 osób zdrowych, losowo dobranych w podobnym wieku.

Badanie przebiegało dwuetapowo:

Pierwszy etap obejmował badanie lekarskie (podmiotowe i przedmiotowe).

W badaniu podmiotowym zebrano wywiad chorobowy ALL (uzupełniony o dokumentację medyczną udostępnioną przez pacjentów) oraz chorób towarzyszących, wywiad urodzeniowy, wywiad społeczny i obciążeń rodzinnych.

W badaniu przedmiotowym zmierzono parametry antropometryczne:

1. wysokość ciała wyrażoną w centymetrach, jako średnia z trzech kolejnych pomiarów.
2. masę ciała wyrażoną w kilogramach jako średnia z trzech kolejnych pomiarów.
3. BMI obliczony jako  $\frac{\text{masa ciała}}{(\text{wysokość w m})^2}$

Wyniki badanych parametrów przedstawiono w wartościach SDS (odchylenie standardowe ze względu na rozpiętość wiekową) wg poniższego wzoru



$$CSDS = \frac{(wartość\ badanej\ cechy - wartość\ 50c\ badanej\ cechy)}{0,5(wartość\ 50\ centyla\ badanej\ cechy - wartość\ 3\ centyla\ badanej\ cechy)}$$

Wartości 3 i 50 centyla badanej cechy uzyskano z siatek centylowych Palczewskiej i Nidźwieckiej [75]–[77].

4. obwód pasa wyrażony w centymetrach, jako średnia z trzech kolejnych pomiarów.

5. ciśnienie tętnicze wyrażone w mmHg jako średnia z trzech kolejnych pomiarów.

Uzyskane wartości pomiarów RR zostały odniesione do siatek centylowych ciśnienia tętniczego

Kolejno, u pacjentów, u których została uzyskana zgodna (od pacjenta i/lub opiekuna prawnego) została pobrana krew żylna w celu wykonania badań laboratoryjnych:

- doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT) z insuliną, który polegał na oznaczeniu stężenia glukozy i insuliny we krwi żyłnej, pobranej na czczo, w 60. i 120. minucie po wypiciu 1,75 g/kg m.c., max. 75g glukozy rozpuszczonych w 250–300 ml wody w czasie nieprzekraczającym 5 minut.
- stężenia białka sirtuiny1,
- stężenia hemoglobiny glikowanej,
- stężenia c-peptydu,
- lipidogramu z podziałem na frakcje: cholesterol całkowity, LDL, HDL, trójglicerydy,

Celem obiektywizacji wartości wyników badań lipidogramu (HDL, LDL, cholesterol całkowity, trójglicerydy) zostały przedstawione jako wartości procentowe normy w stosunku do wieku i płci (% normy) [34], [37], [47]

- stężenia apolipoproteiny A,
- stężenia apolipoproteiny B,
- morfologii z rozmazem,
- stężenia białka C-reaktywnego

## *Metody biochemiczne*

### 1. Oznaczanie glukozy

Zastosowana została metoda enzymatyczna z wykorzystaniem oksydazy glukozowej (GOD) i peroksydazy chrzanowej (POD) (Thermo Scientific, USA). Oksydaza glukozy utlenia cząsteczkę glukozy do D-glukonolaktanu z wytworzeniem nadtlenu wodoru. Następnie nadtlenek wodoru w obecności peroksydazy chrzanowej, 4-aminoantypiryny i fenolu tworzy czerwony barwnik chinonoiminę. Absorbancja powstałego barwnika jest mierzona przy  $\lambda=510\text{nm}$  i jest wprost proporcjonalna do stężenia glukozy w próbce.

### 2. Oznaczanie cholesterolu całkowitego

Zastosowana została metoda enzymatyczna z wykorzystaniem esterazy cholesterolowej, oksydazy cholesterolowej i peroksydazy (DiaSys, Niemcy). Estry cholesterolu są hydrolizowane do cholesteroli i wolnych kwasów tłuszczowych przez esterażę cholesterolową. Następnie wolny cholesterol jest utleniany przez oksydazę cholesterolową do cholest-4-en-3-onu i nadtlenu wodoru. W kolejnej reakcji wytworzony nadtlenek w reakcji katalizowanej przez peroksydazę z kwasem hydroksybenzoesowym i 4-aminoantypirą tworzy czerwony barwnik – chinonoiminę. Absorbancja powstałego barwnika jest mierzona przy  $\lambda=510\text{nm}$  i jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu w próbce.

### 3. Oznaczanie cholesterolu związanego z frakcją high density lipoprotein (HDL)

Zastosowana została metoda bezpośrednia wykorzystująca enzymy esterażę cholesterolową i oksydazę cholesterolową zmodyfikowane glikolem polietylenowym (PEG), które wykazują największą wybiórczą aktywność w stosunku do cząsteczek HDL (Thermo Scientific, USA). Siarczan dekstranu w obecności siarcznanu magnezu tworzy z lipoproteinami VLDL, LDL i chylomikronami rozpuszczalne w wodzie kompleksy, które są odporne na działanie enzymów modyfikowanych PEG. Do dalszych reakcji wchodzi tylko cholesterol zawarty we frakcji HDL. Esterazę cholesterolową zmodyfikowaną PEG uwalnia wolny cholesterol zawarty we frakcji HDL z jego połączeń z estrami. W następnej reakcji wolny cholesterol jest utleniany przez peroksydazę zmodyfikowaną PEG do  $\Delta^4$ -cholestonu i nadtlenu wodoru. Powstały nadtlenek wodoru w obecności N-(2-hydroksy-3-sulfopropyl)-3,5-dimetyloksyaniliny (HSDA) i 4-aminoantypiry tworzy związek o fioletowym zabarwieniu. Absorbancja powstałego barwnika jest mierzona przy  $\lambda=510\text{nm}$  i jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu frakcji HDL w próbce.

### 4. Obliczanie stężenia cholesterolu związanego z frakcją low density lipoprotein (LDL)

Stężenie cholesterolu LDL wyliczane było ze wzoru Friedewalda:

$$\text{LDL-CHOL} = \text{T-CHOL} - \text{HDL-CHOL} - \left(\frac{\text{TG}}{5}\right) [\text{mg/dl}].$$

LDL (low-density lipoprotein) – lipoproteiny o małej gęstości

CHOL (total cholesterol) – cholesterol całkowity

HDL (high density lipoprotein) – lipoproteiny dużej gęstości

TG (triglyceride) - trójglicerydy

Założeniem wzoru jest stały stosunek stężenia cholesterolu całkowitego do trójglicerydów w VLDL, z czego wynika ograniczenie stosowania wzoru dla próbek ze stężeniem trójglicerydów <400 mg/dl (4,5 mmol/L).

## 5. Oznaczanie trójglicerydów

Zastosowana została metoda bezpośrednia wykorzystująca lipazę lipoproteinową, kinazę glicerolu, oksydazę glicerofosforanową i peroksydazę (DiaSys, Niemcy). Trójglicerydy są hydrolizowane do glicerolu i kwasów tłuszczowych pod wpływem lipazy, następnie uwolniony glicerol jest fosforylowany do 3-fosfoglicerolu w reakcji katalizowanej przez kinazę glicerolu. W kolejnej reakcji 3-fosfoglicerol pod wpływem oksydazy glicerofosforanowej jest utleniany do fosfodihydroksyacetonu z wytworzeniem cząsteczki nadtlenu wodoru. Nadtlenek wodoru w obecności 4-chlorofenolu i 4-aminoantypiryny tworzy czerwony barwnik – chinoniminę. Absorbancja powstałego barwnika jest mierzona przy  $\lambda=510\text{nm}$  i jest wprost proporcjonalna do stężenia triglicerydów w próbce.

## Metody immunoturbidymetryczne

### 6. Oznaczanie apolipoproteiny B

Zastosowano metodę immunochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał kozich przeciwko ludzkiej cząsteczce apolipoproteiny B (DiaSys, Niemcy). Zasada metody polega na pomiarze zmętnienia próbki wywołanego wytworzeniem kompleksów immunologicznych przeciwciał obecnych w odczynniku i cząsteczek apolipoproteiny B obecnych w próbkach badanych.

### 7. Oznaczanie apolipoproteiny A1

Zastosowano metodę immunochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał kozich przeciwko ludzkiej cząsteczce apolipoproteiny A1 (DiaSys, Niemcy). Zasada metody polega na pomiarze zmętnienia próbki wywołanego wytworzeniem kompleksów immunologicznych przeciwciał obecnych w odczynniku i cząsteczek apolipoproteiny A1 obecnych w próbkach badanych.

## 8. Oznaczanie CRP metodą ultraczułą (high sensitivity)

Zastosowano metodę immunochemiczną z wykorzystaniem poliklonalnych przeciwciał kozich oraz monoklonalnych przeciwciał mysich skierowanych przeciwko ludzkiej cząsteczce białka C-reaktywnego immobilizowanych na kuleczkach polistyrenowych (DiaSys, Niemcy). Zasada metody polega na pomiarze zmętnienia próbki wywołanego wytworzeniem kompleksów immunologicznych przeciwciał obecnych w odczynniku i cząsteczek białka CRP obecnych w próbkach badanych. Zastosowana procedura kalibracji pozwala na pomiar CRP w niskich zakresach stężeń od 0,3 mg/L.

## 9. Oznaczanie hemoglobiny glikowanej HbA1c

Zasada zastosowanej metody oparta jest na bezpośrednim pomiarze odsetka HbA1c w częściowo wzmacnianej reakcji immunochemicznej (DiaSys, Niemcy). W pierwszym etapie przeprowadzana jest hemoliza próbki krwi pełnej i erytrocytów w wyniku której do środowiska uwalniana jest hemoglobina. W kolejnym etapie, zarówno hemoglobina glikowana, jak i nieglikowana łączą się z tym samym powinowactwem do obojętnych cząsteczek zawartych w odczynniku, a liczba związanych cząsteczek odzwierciedla proporcje glikowanej i nieglikowanej hemoglobiny w próbce pacjenta. W kolejnym etapie do mieszaniny reakcyjnej dodawane są monoklonalne przeciwciała mysie skierowane przeciwko HbA1c, a następnie dodawane są poligonalne kozie przeciwciała antymysie powodujące aglutynację i zmętnienie próbki. Zmierzone zmętnienie jest proporcjonalne do liczby cząsteczek HbA1c związanych z nośnikiem i proporcjonalne do odsetka HbA1c w próbce.

Sprzęt do metod biochemicznych i immunoturbidymetrycznych

Wszystkie wymienione powyżej oznaczenia zostały wykonane na analizatorze biochemicznym Konelab 20i firmy analizy Konelab 20i® (Thermo Scientific, USA).

## Metody immunochemiczne ELISA

### 10. Oznaczanie insuliny

Zastosowany zestaw jest niekompetycyjnym, immunoenzymatycznym pośrednim testem fazy stałej, wykorzystującym przeciwciało wychwytyjące i przeciwciało detekcyjne rozpoznające dwie, różne determinaty antygenowe tej samej cząsteczki (tzw. test kanapkowy) (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany;). Faza stała opłaszczona jest monoklonalnymi przeciwciałami skierowanym przeciwko ludzkiej cząsteczce insuliny (przeciwciało wychwytyjące). Próbka pacjenta zawierająca insulinę jest inkubowana z immobilizowanym przeciwciałem wychwytyjącym w obecności znakowanego biotyną monoklonalnego mysiego przeciwciała detekcyjnego skierowanego przeciw innej determinacie antygenowej cząsteczki insuliny. Po opłukaniu niezwiązanego z insuliną przeciwciała detekcyjnego do mieszaniny dodawana jest streptawidyna znakowana peroksydazą chrzanową. Po dodaniu substratu, tetrametylobenzydyny (TMB), peroksydaza związana z przeciwciałem detekcyjnym przekształca go w barwny produkt, którego absorbancja mierzona spektrofotometrycznie przy

długości fali 450 nm jest proporcjonalna do stężenia insuliny w próbce pacjenta. Stężenie insuliny odczytywane jest automatycznie z krzywej wzorcowej wykonanej z wykorzystaniem standardów, dla których producent deklaruje kalibrację wobec materiału referencyjnego zaakceptowanego przez WHO NIBSC, code 66/304. Do obliczenia wzoru krzywej wzorcowej zastosowano równanie 4-logitowe.

#### 11. Oznaczanie C-peptydu

Zastosowany zestaw jest kompetycyjnym, immunoenzymatycznym pośrednim testem fazy stałej, wykorzystującym przeciwciało wychwytyjące i znakowany antygen (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany). Faza stała połączona jest monoklonalnymi przeciwciałami antymysimi, które wiążą monoklonalne przeciwciała skierowane przeciwko ludzkiej cząstce C-peptydu. Cząsteczki C-peptydu zawarte w próbce pacjenta jednocześnie konkurują o miejsca wiązania na przeciwciele wychwytyjącym z cząsteczkami C-peptydu znakowanymi peroksydazą chrzanową zastosowanymi jako odczynnik, a po inkubacji nie związane cząsteczki C-peptydu są odpłukiwane. Po dodaniu substratu, tetrametylobenzydyny (TMB), peroksydaza związana ze znakowanym antygenem (C-peptydem) przekształca go w barwny produkt, którego absorbancja mierzona spektrofotometrycznie przy długości fali 450 nm jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia C-peptydu w próbce pacjenta.

Stężenie C-peptydu odczytywane jest automatycznie z krzywej wzorcowej wykonanej z wykorzystaniem standardów, dla których producent deklaruje kalibrację wobec materiału referencyjnego zaakceptowanego przez WHO IRR C-peptide, code 84/510. Do obliczenia wzoru krzywej wzorcowej zastosowano równanie 4-logitowe.

#### 12. Oznaczanie sirtiuny1(SIRT1)

Zastosowany zestaw jest niekompetycyjnym, immunoenzymatycznym pośrednim testem fazy stałej, wykorzystującym przeciwciało wychwytyjące i przeciwciało detekcyjne rozpoznające dwie, różne determinaty antygenowe tej samej cząsteczki (tzw. test kanapkowy)( Shanghai SunRed Biological Company, ShanghaiChina). Faza stała opłaszczona jest monoklonalnymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko ludzkiej cząstce SIRT1 (przeciwciało wychwytyjące). Próbka pacjenta zawierająca SIRT1 jest inkubowana z immobilizowanym przeciwciałem wychwytyjącym w obecności znakowanego biotyną przeciwciała detekcyjnego skierowanego przeciw innej determinacie antygenowej cząsteczki SIRT1. Po opłukaniu niezwiązanego z SIRT1 przeciwciała detekcyjnego do mieszaniny dodawana jest streptawidyna znakowana peroksydazą chrzanową. Po dodaniu substratu, tetrametylobenzydyny (TMB), peroksydaza związana z przeciwciałem detekcyjnym, przekształca go w barwny produkt, którego absorbancja mierzona spektrofotometrycznie przy długości fali 450 nm jest proporcjonalna do stężenia SIRT1 w próbce pacjenta. Stężenie SIRT1 odczytywane jest automatycznie z krzywej wzorcowej wykonanej z wykorzystaniem wzorca SIRT1 dostarczonego przez producenta zestawu, do obliczenia której zastosowano równanie 4-logitowe.

Sprzęt do oznaczeń immunochemicznych ELISA

Do odczytu absorbancji 96-dołkowych płytek wykorzystano czytnik płytek firmy Mindray MR-96A. Producent Mindray, Shenzhen, China;

13. Morfologia krwi obwodowej z rozdziałem leukocytów na 5 populacji (5-diff) z wykorzystaniem analizatora hematologicznego (Analizator BC-5150 Producent Mindray, Shenzhen, China);

Stężenie hemoglobiny w próbce mierzone jest spektrofotometrycznie metodą z użyciem laurylosiarczanu sodu. Liczba erytrocytów, leukocytów i płytek krwi została oznaczona metoda impedancyjną. Rozdział leukocytów na 5 podstawowych populacji: neutrocyty, bazocyty, eozynocyty, monocyty i leukocyty dokonany jest w oparciu o analizy rozproszenia światła uzyskiwanego pod 3 różnymi kątami podczas przejścia pojedynczych, barwionych cytochemicznie komórek krwi przez układ cytometru przepływowego analizatora. Wskaźniki czerwonych krwinek i płytkowe wyliczane są na podstawie wartości zmierzonych bezpośrednio.

#### *Material do badań*

Wykonanie doustnego testu tolerancji glukozy

#### I. Na czczo

Pacjenci zgłaszali się na badanie rano między godziną 7:30 a 9:00, na czczo. Po rejestracji pacjenta, pobraniu zgody na wykonanie zabiegu, przystępowano do pobrania pierwszych próbek krwi. Zamkniętym systemem aspiracyjno-próżniowym pobierano krew do 3 probówek w następującej kolejności:

1. 7,5 ml krwi na skrzep w celu pozyskania surowicy
2. 2,7 ml krwi do próbówki zawierającej wersenian potasu: 1,6 mg EDTA-K2 na 1 ml krwi w celu wykonania morfologii krwi obwodowej i przygotowania lizatu do oznaczenia HbA1c
3. 2,7 ml krwi do próbówki zawierającej wersenian potasu: 1,6 mg EDTA-K2 na 1 ml krwi w celu pozyskania osocza wersenianowego

Próbówka nr 1 była odstawiana w temperaturze pokojowej do wykrzepienia na minimum 30 minut, ale nie dłużej niż 60 minut. Następnie wirowano materiał z przyspieszeniem 2000g przez 10 minut, a uzyskaną surowicę porcjowano w objętości 0,5 ml. W jednej porcji wykonywano badania profilu lipidowego i hsCRP, a pozostałe bankowano w temperaturze -80 C do czasu wykonania pozostałych badań.

Próbówka nr 2 była poddawana analizie morfologii krwi obwodowej do której zużywano około 20 µl próbki, z pozostałej objętości był przygotowywany lizat krwi pełnej z odczynnikami lizującym dostarczonym wraz z zestawem do oznaczenia HbA1c. Eppendorfa z lizatem była bankowana w temperaturze -80 C do czasu wykonania oznaczenia HbA1c.

Probówka nr 3 była wirowana w ciągu maksymalnie 10 minut od pobrania z przyspieszeniem 2500g przez 5 minut. Uzyskane osocze było oddzielane od krwinek w ciągu maksymalnie 60 minut od pobrania i porcjowane w objętości 0,5 ml. W jednej porcji wykonywano oznaczenie glukozy, a pozostałe bankowano w temperaturze -80C .

Po pobraniu krwi na czczo pacjent wypijał w ciągu 5 minut porcję glukozy rozpuszczonej w 250 ml wody. Porcja glukozy była dobierana do masy ciała pacjenta, na 1 kilogram ciała przypadało 1,75 grama glukozy, ale nie więcej niż 75 g.

W momencie spożycia glukozy zaczynano odmierzać 60 i 120 minut do kolejnych pobrań krwi, w trakcie których pobrania pacjent pozostawał w spoczynku.

## II. 60. minuta OGTT (tolerancja $\pm$ 5 min.)

W 60 minucie OGTT dokonywano drugiego pobrania krwi do 2 probówek w następującej kolejności:

1. 4,5 ml krwi na skrzep w celu pozyskania surowicy
2. 2,7 ml krwi do próbówki zawierającej wersenian potasu: 1,6 mg EDTA-K2 na 1 ml krwi w celu pozyskania osocza wersenianowego

## III. 120. minuta OGTT (tolerancja $\pm$ 5 min.)

W tabeli zestawiono wszystkie oznaczone parametry biochemiczne wraz z rodzajem próbki krwi wykorzystanym do ich wykonania.

Etap badania	Oznaczany parametr biochemiczny	Rodzaj próbki krwi
Na czczo	glukoza	osocze wersenianowe
	SIRT1	Surowica
	Insulina	
	C- peptyd	
	Cholesterol całkowity	
	Cholesterol HDL	
	Trójglicerydy	
	hs-CRP	
	Apolipoproteina A1	
	Apolipoproteina B	
	Morfologia krwi	krew pełna wersenianowa
Hemoglobina glikowana A1c		
60 min. OGTT	Glukoza	osocze wersenianowe
	Insulina	Surowica
120 min. OGTT	Glukoza	osocze wersenianowe
	Insulina	Surowica

Insulinooporność tkankową oceniono przy pomocy wskaźnika HOMA IR wyliczonego według wzoru:

$$\text{wskaźnik HOMA IR (Homeostasis Model Assessment)} = \frac{FI \text{ (fasting insulin insulina na czczo) [IU/ml]} \times FG \text{ (fasting glucose glukoza na czczo) [mmol/l]}}{22,5}$$

Wartosci referencyjne: prawidłowe wartość do 2,5;  
insulinooporność gdy wartość większa od 2,5. [78], [79]

Insulinowrażliwość oceniono wskaźnikiem Quicki wyliczonym według wzoru:

$$\text{wskaźnik QUICKI – Quantitative Insulin Sensitivity Check Index} = \frac{1}{(\log \text{ insuliny na czczo [ IU/ml]} + \log \text{ glukozy na czczo [mg/dl]})}$$

Wartosci referencyjne : prawidłowe – wartość do 0,34;  
insulinooporność gdy wartość wieksza od 0,34. [80]

#### *Badania polimorfizmów genu SIRT1.*

Badania genetyczne przeprowadzone zostały po wyrażeniu zgody na izolację DNA z limfocytów krwi obwodowej.

U wszystkich badanych wykonane zostały badania genetyczne 6 polimorfizmów genu *SIRT1*.

#### *Izolacja DNA:*

Genomowy DNA dla grupy kontrolnej i grupy badanej uzyskano z leukocytów krwi obwodowej, poprzez proces izolacji przy pomocy zestawu Chemagen Prepito DNA Blood D250kit (CMG-2002) wg protokołu producenta:(Izolator: Perkin Elmer Chemagic Prepito-D)

W statywie umieszczono pustą probówkę w pozycji 1, probówkę ze 150 µl kulek magnetycznych w pozycji 2 oraz końcówki w pozycji 3. Następnie dodano 250 µl krwi obwodowej oraz 10 µl proteinazy do każdego dołka rzędu H 96 dołkowej płytki. Po 5-minutowej inkubacji, płytkę oraz statyw umieszczono we wcześniej odpowiednio zaprogramowanym aparacie. Po izolacji przeprowadzono kontrolę jakości uzyskanego DNA, przy użyciu spektrofotometru NanoDrop ND-1000. Mierzono absorbancję fali o długości 260 i 280 nm.



## 1. PCR

Enzym TaKaRa Taq Hot Start (TAKARA), bufor w zestawie  
Startery 0,1mM roztwór (Generi Biotech), rozcieńczane 10x do reakcji

- **Amplifikacja**

Termocykler: Bio-Rad T100 Thermal Cycler

	ul na 1 reakcję
PCR Buffer (10x)	2
dNTP (2,5mM)	2
Starter Fw (10uM)	1
Starter Rv (10uM)	1
H2O	Do 20ul
Takara	0,5
SUMA	18 ul
+ DNA	2ul

- **Program reakcji**

95°C	5:00	x35
95°C	0:30	
X*	0:30	
72°C	1:00	
72°C	10:00	
4°C	hold	

X\* - temperatura różna dla poszczególnych polimorfizmów, objętości w reakcji

Temperatura 62°C dla polimorfizmów: rs1277866, rs7895833, rs10823103, rs2273773, rs932658

Temperatura 57°C dla polimorfizmu rs10509291 oraz polimorfizmów rs1277866, rs10509291 w rewersie, polimorfizmów: rs10823103 i rs2273773 (jedna reakcja PCR, 2 pary starterów), rs1277866 i rs932658 (jedna reakcja PCR, 2 pary starterów).

- *elektroforeza kontrolna*

Próbki po reakcji zostały poddane procesowi rozdzielania w żelu agarozowym o stężeniu 2,5%. Do jego przygotowania użyto buforu 1×TBE, sporządzonego poprzez rozcieńczenie buforu 5×TBE (Invitrogen) wodą destylowaną w stosunku 1:5 oraz sproszkowanej agarozy (Invitrogen).

Skład próbek, użytych do przeprowadzenia elektroforezy zawierał kolejno: 5µl produktu PCR oraz 3,5 µl mieszaniny obciążnika 6×DNA Loading Dye (Thermo Scientific), do którego uprzednio dodano barwnik wizualizujący wyniki w świetle UV - SybrGreen (Invitrogen). Zastosowano również marker wielkości GeneRuler 100bp DNA Ladder (Thermo Scientific, 10 prążków: od 100pz do 1000pz), aby ocenić wielkość powstałego produktu.

## 2. Oczyszczanie produktu PCR

- odpipetowano 1,5ul produktu PCR do czystej probówki  
dodano 1ul mieszaniny enzymów ExoI:FastAP (1:2) (FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase, USB Corporation) i ExoI (Exonuclease I, USB Corporation)
- inkubowano: 37°C-1h > 75°C-15min. > hold 10°C

## 3. Reakcja minisekwencjonowania (SNaPshot)

Wykonana została według procedury producenta przy użyciu zestawu SNaPshot™ Multiplex Kit firmy ThermoFisher Scientific

Skład: 2,5ul mixu + 0,2ul każdej sondy (rozcieńczonej 10x) + 1,5ul produktu PCR oczyszczonego

## 4. Program SNaPshot:

Termocykler: Bio-Rad T100 Thermal Cycler

96°C	00:10	
50	0:05	25x
60°C	0:30	
4°C	hold	

## 5. Oczyszczanie produktu minisekwencjonowania

- Do probówki z produktem reakcji SNaPshot dodano 1ul enzymu FastAP
- inkubowano: 37°C-1h > 75°C-15min. > hold 10°C

## 6. Elektroforeza kapilarna

W probówce do sekwenatora zmieszano

- 9ul HiDi-Formamide (ThermoFisher Scientific)
- 0,35ul standardu GS-120 LIZ (ThermoFisher Scientific)
- 1ul oczyszczonego produktu

Produkty PCR rozdzielono za pomocą analizatora genetycznego ABI 310 z oprogramowaniem GeneScan Analysis w wersji 3.1.2 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA), polimerem POP-4 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) i GeneScan™ 120 Standardowy rozmiar barwnika LIZ™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Analiza wyników została przygotowana przy użyciu oprogramowania GeneMarker, wersja 1.85 (SoftGenetics LLC).

## *Analiza statystyczna wyników badań*

Uzyskane wyniki z przeprowadzonych badań poddano analizie statystycznej.

### Wyniki jakościowe

Do analizy proporcji, które były wykonywane dla danych określających liczbę przypadków występowania danej cechy wykorzystano test  $\chi^2$  Pearsona. W przypadku, gdy liczebność którejkolwiek grupy była mniejsza niż 5 stosowano poprawkę Yatesa. Do analizy nie włączano grup dla których liczebność wynosiła mniej niż 3 przypadki.

### Wyniki ilościowe

Sposób przedstawiania wyników ilościowych w poszczególnych grupach oraz wybór zastosowane testy statystyczne dla poszczególnych zmiennych oparty był na analizie dystrybucji wyników w poszczególnych grupach sprawdzony testem Shapiro –Wilka.

Dane w tabelach zostały przedstawione jako:

- średnia arytmetyczna i SD, co zapisywano jako: średnia arytmetyczna  $\pm$ SD (dla danych o rozkładzie zgodnym z rozkładem normalnym);
- średnia geometryczna i zakres -1 SD do +1SD, co zapisywano jako średnia geometryczna (-1SD -- +1SD). W przypadku braku spełnienia założenia normalności rozkładu danych surowych w analizowanych grupach, dane poddawane były transformacji logarytmicznej (logarytm naturalny), a następnie testowano zgodność rozkładu tych wyników z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro-Wilka. W przypadku spełnienia założenia normalności rozkładu, średnia geometryczna wyliczana była przez odwrócenie logarytmu (funkcja exp) wartości średniej i SD obliczonych dla wartości transformowanych logarytmicznie. Wartości te zapisywano jako: średnia geometryczna (-1SD - +1SD), ponieważ zakresy 1 SD poniżej i powyżej średniej geometrycznej nie są w stosunku do niej symetryczne.

- mediana i zakres 25-75% wyników obserwowanych w grupach, co zapisywano jako: mediana [25%-75%], w ten sposób przedstawiano dane dla których po transformacji logarytmicznej nie uzyskano zgodności z rozkładem normalnym

Wybrane parametry ze względu na rozpiętość wiekową badanej grupy przedstawiono w standaryzowanych odchyleniach standardowych( SDS).

### Porównanie dwóch grup niezależnych

Do analizy wartości uzyskanych w dwóch grupach dla których stwierdzono rozkład zgodny z normalnym stosowano test t-Studenta, wszystkie operacje testowania hipotez statystycznych były wykonywane na danych surowych, a w zapisie wyników nie stosowano żadnych przypisów przy wartości prawdopodobieństwa p.

W przypadku analizy wartości uzyskanych w dwóch grupach dla których stwierdzono rozkład zgodny z normalnym po transformacji logarytmicznej stosowano test t-Studenta, wszystkie operacje testowania hipotez statystycznych były wykonywane na danych transformowanych,

a w zapisie wyników nie stosowano żadnych przypisów przy wartości prawdopodobieństwa p.

Zbiory danych dla których nie uzyskano zgodności z rozkładem normalnym po transformacji logarytmicznej do analizy wartości uzyskanych w dwóch grupach stosowano test U Manna-Whitneya, co jest zaznaczone jako „\*” przy wartości prawdopodobieństwa.

#### Analiza korelacji

Do analizy korelacji wykorzystano test Pearsona, kiedy we wstępnej fazie uzyskano zgodność rozkładu wyników danych surowych lub transformowanych logarytmicznie z rozkładem normalnym w obu analizowanych grupach. Wyniki takiej analizy przeprowadzono na danych surowych lub transformowanych logarytmicznie i przedstawiono w tabelach bez żadnych przypisów. W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.

#### Regresja logistyczna

Jest to metoda regresyjna, której celem jest określenie szansy wystąpienia jednego z dwóch stanów (w niniejszej pracy przynależności do grupy badanej lub kontrolnej). Standardowo zastosowanie tej metody pozwala na predykcję zmiennej zależnej na podstawie zmiennych niezależnych. W niniejszej pracy metoda została wykorzystana do poszukiwania zmiennych (analizowanych parametrów) związanych z istotnie wyższą szansą przynależności do grupy badanej, do której przynależność była już wcześniej znana. W trakcie analizy tą metodą budowano różne modele uwzględniające zmienne ilościowe i jakościowe, wybrane na podstawie wcześniej przeprowadzonych analiz porównawczych. Ostatecznie przedstawiono jeden model regresyjny o najlepszym dopasowaniu.

#### Analiza korespondencji

Analiza korespondencji jest eksploatacyjną wielowymiarową metodą badania relacji zachodzących między zmiennymi, które mierzone są w skali nominalnej. Jej wyniki mogą być przedstawione graficznie i pozwalają na wyodrębnienie kategorii zmiennych które charakteryzują się współwystępowaniem, czyli ich bliskie położenie na wykresie pojawia się częściej niż to mogło być oczekiwane przy założeniu niezależności występowania tych zmiennych.

#### Porównanie więcej niż 2 grup niezależnych - ANOVA

ANOVA to metoda analizy wariancji wyników w więcej niż w dwóch porównywanych grupach. Metoda ta została zastosowana do porównania wartości parametrów biochemicznych i antropometrycznych w grupach wyłonionych na podstawie analizy polimorfizmu poszczególnych genów *SITR1*. Sposób przedstawiania miary centralnej wyników w poszczególnych grupach oraz zastosowany test porównań wielokrotnych dla grup

niezależnych oparty był na opisanej wcześniej analizie dystrybucji wyników w poszczególnych grupach sprawdzony testem Shapiro –Wilka.

Dane o rozkładzie normalnym (surowe lub transformowane logarytmicznie) w analizowanych grupach analizowano testem ANOVA, poprzedzonym sprawdzeniem założenia jednorodności wariancji testem Browna-Forsytha. Jeżeli stwierdzono brak spełnienia tego założenia przeprowadzano analizę ANOVA z poprawką Welcha. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu RIR Tukeya dla nierównych liczebności w grupach. W zapisie wyników tych analiz nie stosowano zanych przypisów przy wartości prawdopodobieństwa p.

Dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany. W zapisie wyników tych analiz stosowano przypis górny „^”.

Zastosowanie tego testów post-hoc powodowało niekiedy brak potwierdzenia istotności różnic wykazanych w obu testach ANOVA, co wynika z uwzględnienia nierównej liczebności grup w teście post-hoc.

W przypadku małej liczebności nie wykonywano analizy statystycznej.

#### IV. Wyniki badań

Badania przeprowadzono u 89 osób po zakończonym leczeniu ALL ( grupa badana) oraz 50 osób bez choroby nowotworowej ( grupa kontrolna).

W tabeli 1 przedstawiono charakterystykę badanej grupy, uwzględniając liczebność w grupie w zależności od określonych parametrów, jak tydzień zakończenia ciąży (porodu), wiek zachorowania, wiek zakończenia leczenia, grupa ryzyka, zastosowany schemat leczenia, występowanie nawrotu choroby nowotworowej oraz czas po zakończeniu leczenia.

Wyniki istotne statystycznie zostały zaznaczone pogrubioną czcionką (boldem).

##### 1. Charakterystyka grupy kliniczna/przebiegu choroby w grupie badanej:

<i>Parametr</i>	<i>Grupa badana</i>
<i>Tydzień ciąży &lt;38/≥38</i>	5/79
<i>Wiek zachorowania [lata]</i>	5,0 (3,0-7,0)
<i>Wiek zachorowania ≤ 2 r.ż./&gt; 2 r.ż.</i>	13/76
<i>Wiek zachorowania ≤ 10 r.ż./&gt; 10 r.ż.</i>	75/14
<i>Wiek zakończenia leczenia [lata]</i>	7,0 (5,0-10,5)
<i>Wiek zakończenia leczenia ≤ 2 r.ż./&gt; 2 r.ż.</i>	3/86
<i>Wiek zakończenia leczenia ≤ 10 r.ż./&gt; 10 r.ż.</i>	66/23
<i>Grupa ryzyka HRG/ IRG/SRG</i>	21/38/27
<i>Schemat leczenia ALL IC 2002/ALL IC 2009/inne</i>	45/32/5
<i>Występowanie wznowy tak/nie</i>	11/75
<i>Czas po zakończeniu leczenia [lata]</i>	5,0 (2,0-7,5)
<i>Czas po zakończeniu leczenia ≤ 5 lat/&gt; 5 lat</i>	41/47

##### 1. Porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej.

W tabeli 2. przedstawiono porównanie oznaczonych parametrów biochemicznych w grupie badanej i kontrolnej. Grupa badana i kontrolna były w podobnym wieku. Obie grupy istotnie różniły się pod względem płci pacjentów( płć męska- mężczyźni, płć żeńska- kobiety). W grupie badanej dominowały osoby płci męskiej (56) w stosunku do osób płci żeńskiej (33), a w grupie kontrolnej przewagę stanowiły kobiety (28) w stosunku do mężczyzn (23). 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 zaobserwowano u osób leczonych z powodu ALL (mediana 76 mg/dl) w porównaniu z grupą kontrolną (mediana 44 mg/dl). W grupie badanej istotnie wyższe było stężenie cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów, natomiast istotnie niższe stężeniem cholesterolu HDL aniżeli w grupie kontrolnej.

Tabela 2. Badane parametry biochemiczne w grupie badanej i kontrolnej.

<i>Parametr</i>	<i>Badana</i>	<i>Kontrolna</i>	<i>p</i>
<i>Wiek [lata]</i>	13,0 [10,0-16,0]	13,0 [10,0-19,0]	0,367*
<i>Płeć K/M</i>	33/56	28/23	<b>0,041</b>
<i>SIRT1 [ng/ml]</i>	N=89 30,9 [16,3-79,8]	N=51 18,0 [11,8-29,7]	<b>0,002*</b>
<i>Glukoza na czczo [mg/dl]</i>	N=89 89,0 ± 9,6	N=51 87,1 ± 7,0	0,206
<i>Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]</i>	N= 79 104,6 (62,2-175,9)	N= 44 102,5 (57,4-183,1)	0,695
<i>Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]</i>	N=76 99,5 ± 23,70	N=44 90,91 ±20,19	<b>0,046</b>
<i>Insulina na czczo [mIU/L]</i>	N=89 19,69 (8,17-47,46)	N=51 19,30 (7,84-47,46)	0,727
<i>Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]</i>	N= 77 73,7 (21,7-249,6)	N=44 66,7 (16,1-275,9)	0,431
<i>Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]</i>	N=75 58,0 (16,1-208,5)	N=44 50,9 (13,3-194,4)	0,400
<i>HOMA IR</i>	N=89 4,30 (1,62-11,47)	N=51 4,14 (1,58-10,80)	0,588
<i>QUICKI</i>	N=89 0,31±0,02	N=51 0,31±0,02	0,614
<i>HbA1c [%]</i>	N=89 4,53 (3,49-5,87)	N=51 4,66 (3,67-5,93)	0,135
<i>C-peptyd [ng/ml]</i>	N=89 3,82 (1,86-7,84)	N=51 3,60 (1,58-8,17)	0,378
<i>hsCRP [mg/l]</i>	N=84 0,65 (0,03-15,15)	N=51 0,42 (0,02-10,72)	0,116
<i>Cholesterol całkowity [mg/dl]</i>	N=88 168,5±31,5	N=51 163,3±26,4	0,321
<i>% Cholesterolu całkowitego</i>	N=88 112,1 ±20,2	N=51 104,0 ±18,7	<b>0,021</b>
<i>Cholesterol LDL [mg/dl]</i>	N=87 99,4±26,5	N=36 93,7±21,3	0,190
<i>% Cholesterolu LDL</i>	N=87 121,5 (69,4-212,7)	N=50 105,6 (60,3-184,9)	<b>0,009</b>
<i>Cholesterol HDL [mg/dl]</i>	N=89 49,9 (30,9-80,6)	N=51 53,5 (35,2-81,4)	0,092
<i>% Cholesterolu HDL [mg/dl]</i>	N=89 91,8 (58,0-145,5)	N=51 101,5 (65,4-157,6)	<b>0,010</b>
<i>Cholesterol non-HDL [mg/dl]</i>	N=88 113,3 (68,7-186,8)	N=51 106,7 (71,5-159,2)	0,121
<i>Trójglicerydy [mg/dl]</i>	N=89 77,0 (57,0-103,0)	N=51 57,0 (44,0-87,0)	<b>0,013</b>

% Trógllicerydów	N=89 132,9 (43,4-407,5)	N=51 90,9 (25,3-327,0)	<0,001
ApoA1 [mg/dl]	N=89 141,2 (98,5-202,3)	N=51 146,9 (108,8-198,3)	0,256
ApoB [mg/dl]	N=89 69,7±15,3	N=51 64,9±11,4	0,051
Liczba leukocytów [tys/μl]	N=89 5,81 (3,52-9,58)	N=51 5,93 (3,52-9,97)	0,711
Hemoglobina [mg/l]	13,04±1,07	13,09±1,24	0,846
Glukoza 0-60min. AUC [mg/60min.]	N=78 97,5 (70,8-134,3)	N=44 97,5 (69,4-137,0)	0,522
Glukoza 60-120 min. AUC [mg/60 min.]	N=76 101,5 (69,4-148,4)	N=43 96,5 (59,7-156,0)	0,236
Glukoza 0-120 min. AUC [mg/120min.]	N=76 200,3 (134,3-298,9)	N=43 192,5 (129,0-287,1)	0,334
Insulina 0-60min. AUC [mIU/60 min.]	N=77 47,5 (16,4-137,0)	N=44 43,8 (13,2-145,5)	0,471
Insulina 60-120 min. AUC [mIU/60min.]	N=74 68,0 (23,6-196,4)	N=43 60,9 (17,6-210,6)	0,308
Insulina 0-120 min. AUC [mIU/120min.]	N=74 116,7 (41,3-330,3)	N=43 105,6 (31,8-350,7)	0,315

W tabeli 3. przedstawiono porównanie wartości antropometrycznych w grupie badanej i kontrolnej. Stwierdzono, że dzieci z grupy badanej są istotnie niższe (HSDS  $-0,25 \pm 1,50$ ) w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej (HSDS  $0,28 \pm 1,27$ ), jakkolwiek wartości te mieszczą się w granicach normy. Dodatkowo spośród 83 osób grupy badanej, 13 dzieci było niskorosłych (HSDS  $< -1,66$ ), a w grupie kontrolnej tylko 2 dzieci wykazało HSDS  $< -1,66$ . Wartość BMI SDS  $> 1,66$  w grupie badanej obserwujemy u 34 z 80 osób, a w grupie kontrolnej u 20 z 46 dzieci, nie stwierdzono istotnie większej w częstości występowania tego zaburzenia pomiędzy grupami.



Tabela 3. Porównanie wartości antropometrycznych grupy badanej i kontrolnej.

<i>Porównanie wartości parametrów antropometrycznych</i>				
<i>Parametr</i>		<i>Badana</i>	<i>Kontrolna</i>	<i>p</i>
<i>WSDS</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	<i>N=81</i> <i>0,83</i> <i>[-0,71-2,80]</i>	<i>N=46</i> <i>1,18</i> <i>[0,44-2,71]</i>	<i>0,178*</i>
<i>HSDS</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	<i>N=83</i> <i>-0,25 ±1,50</i>	<i>N=46</i> <i>0,28 ±1,27</i>	<b><i>0,047</i></b>
<i>BMI SDS</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	<i>N=80</i> <i>0,97 [-0,47-2,93]</i>	<i>N=46</i> <i>1,41 [-0,20-2,96]</i>	<i>0,400*</i>
<i>Porównanie częstości występowania nieprawidłowych wartości parametrów antropometrycznych</i>				
<i>Parametr</i>		<i>Badana</i>	<i>Kontrolna</i>	<i>p</i>
<i>WSDS</i> <-1,66 <=-1,66 do <1,66 >=1,66		<i>11</i> <i>46</i> <i>24</i>	<i>0</i> <i>26</i> <i>20</i>	<i>0,369</i> <i>porównanie tylko</i> <i>grup=&lt;-1,66</i>
<i>HSDS</i> <-1,66 <=-1,66 do <1,66 >=1,66		<i>13</i> <i>61</i> <i>8</i>	<i>2</i> <i>38</i> <i>6</i>	<i>0,124</i>
<i>BMI SDS</i> <-1,66 <=-1,66 do <1,66 >=1,66		<i>8</i> <i>38</i> <i>34</i>	<i>3</i> <i>23</i> <i>20</i>	<i>0,535</i>

Obliczono korelacje oznaczonych parametrów laboratoryjnych oraz współczynników antropometrycznych w poszczególnych grupach: badanej i kontrolnej.

W tabeli 4.1 przedstawiono korelacje stężenia SIRT1 z parametrami biochemicznymi gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie badanej i kontrolnej.

Nie stwierdzono występowania istotnych korelacji między stężeniem SIRT1 a parametrami gospodarki węglowodanowej oraz lipidowej zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej.

Tabela 4.1 Korelacje SIRT1 z parametrami biochemicznymi gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie badanej i kontrolnej.

Parametr gospodarki węglowodanowej		SIRT1	
		Badana	Kontrolna
Glukoza na czczo [mg/dl]	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	-0,114	0,038
	<i>p</i>	0,285#	0,791#
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	<i>N</i>	79	44
	<i>r</i>	-0,089	-0,077
	<i>p</i>	0,434#	0,620#
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	<i>N</i>	76	44
	<i>r</i>	0,084	0,079
	<i>p</i>	0,472#	0,621#
Insulina na czczo [mIU/L]	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	0,027	0,260
	<i>p</i>	0,798#	0,065#
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	<i>N</i>	77	44
	<i>r</i>	0,194	0,059
	<i>p</i>	0,091#	0,702#
Insulina 120 min. [mIU/L]	<i>N</i>	75	44
	<i>r</i>	0,049	0,091
	<i>p</i>	0,676#	0,558#
HOMA IR	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	-0,011	0,253
	<i>p</i>	0,917#	0,073#

Parametry gospodarki lipidowej		SIRT1	
		Badana	Kontrolna
% Cholesterolu całkowitego	<i>N</i>	88	51
	<i>r</i>	0,009	-0,053
	<i>p</i>	0,927#	0,713#
% Cholesterolu LDL	<i>N</i>	87	51
	<i>r</i>	-0,004	-0,115
	<i>p</i>	0,969#	0,420#
% Cholesterolu HDL	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	-0,046	-0,135
	<i>p</i>	0,671#	0,282#
% Trójglicerydów	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	0,102	-0,069
	<i>p</i>	0,339#	0,628#
ApoA1 [mg/dl]	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	-0,067	-0,054
	<i>p</i>	0,534#	0,703#
ApoB [mg/dl]	<i>N</i>	89	51
	<i>r</i>	0,063	0,087
	<i>p</i>	0,555#	0,544#

Parametry antropometryczne		SIRT1	
		Badana	Kontrolna
WSDS	<i>N</i>	81	47
	<i>r</i>	-0,025	0,126
	<i>p</i>	0,827#	0,397#
HSDS	<i>N</i>	82	47
	<i>r</i>	-0,146	-0,069
	<i>p</i>	0,200#	0,644#
BMI SDS	<i>N</i>	80	45
	<i>r</i>	0,066	0,1159
	<i>p</i>	0,560#	0,295#

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństw.

tabeli 4. W tabeli 4.2 przedstawiono korelacje parametrów biochemicznych gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie badanej i kontrolnej. W grupie badanej istotne statystycznie dodatnie korelacje stwierdzono pomiędzy stężeniem trójglicerydów(%) a glukozą na czczo, stężeniem glukozy w 120 min OGTT, stężeniem insuliny na czczo, stężeniem insuliny w 120 min OGTT we krwi. Dodatkowo, tylko w grupie badanej występują ujemne istotne statystycznie korelacje 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.

Tabela 4.2 Korelacje parametrów biochemicznych gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupach badanej i kontrolnej.

Parametr		% Cholesterolu całkowitego		% Cholesterolu LDL		% Cholesterolu HDL		% Triglicerydów		ApoA1		ApoB	
		Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna
Glukoza na czczo	N	88	51	87	51	89	51	<b>89</b>	51	89	51	89	51
	r	-0,007	-0,244	-0,012	-0,142	-0,137	-0,082	<b>0,257</b>	-0,057	-0,117	-0,189	0,042	-0,256
	p	0,944	0,085	0,909	0,321	0,199	0,574	<b>0,015</b>	0,689	0,272	0,183	0,697	0,070
Glukoza 60 min.	N	78	44	77	44	<b>79</b>	44	79	44	<b>79</b>	44	79	44
	r	-0,025	0,180	0,045	0,201	<b>-0,266</b>	-0,214	0,156	0,254	<b>-0,301</b>	-0,142	0,171	0,101
	p	0,827	0,242	0,695	0,190	<b>0,018</b>	0,162	0,168	0,095	<b>0,007</b>	0,356	0,130	0,513
Glukoza 120 min	N	75	44	74	44	<b>76</b>	44	<b>76</b>	44	76	44	76	44
	r	0,014	-0,0370	0,089	0,087	<b>-0,258</b>	-0,286	<b>0,231</b>	0,050	-0,105	-0,155	-0,058	-0,007
	p	0,902	0,812	0,452	0,572	<b>0,024</b>	0,060	<b>0,045</b>	0,746	0,364	0,314	0,617	0,966
Insulina na czczo	N	<b>88</b>	51	87	51	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	89	51
	r	<b>-0,271</b>	0,172	-0,172	0,159	<b>-0,456</b>	<b>-0,309</b>	<b>0,328</b>	<b>0,359</b>	<b>-0,454</b>	<b>-0,374</b>	-0,066	0,057
	p	<b>0,011</b>	0,227	0,110	0,265	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,027</b>	<b>0,002</b>	<b>0,009</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,007</b>	0,538	0,691
Insulina 60 minuta	N	76	44	75	44	77	44	77	44	77	44	77	44
	r	-0,022	0,127	0,058	0,159	<b>-0,243</b>	-0,133	0,093	0,135	<b>-0,298</b>	-0,234	<b>0,319</b>	0,017
	p	0,847	0,410	0,635	0,304	<b>0,033</b>	0,386	0,420	0,383	<b>0,008</b>	0,127	<b>0,005</b>	0,913
Insulina 120 minuta	N	74	44	73	44	<b>75</b>	<b>44</b>	<b>75</b>	44	75	44	75	44
	r	0,016	-0,019	0,077	0,119	<b>-0,429</b>	<b>-0,358</b>	<b>0,368</b>	0,074	-0,153	-0,289	0,010	-0,122
	p	0,894	0,900	0,518	0,442	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,017</b>	<b>0,001</b>	0,634	0,188	0,056	0,932	0,428
HOMA IR	N	<b>88</b>	51	87	51	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	89	51
	r	<b>-0,244</b>	0,121	-0,174	0,101	<b>-0,437</b>	<b>-0,302</b>	<b>0,349</b>	<b>0,325</b>	<b>-0,430</b>	<b>-0,396</b>	-0,049	0,012
	p	<b>0,022</b>	0,398	0,107	0,480	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,031</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,020</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,004</b>	0,650	0,934

W tabeli 4.3 przedstawiono korelacje parametrów biochemicznych gospodarki lipidowej w grupie badanej i kontrolnej. Wykazano w grupie badanej istotne statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego(%) i wszystkimi ocenianymi parametrami gospodarki lipidowej. Jedynie dla grupy badanej charakterystyczne są: dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego(%) i stężeniem cholesterolu HDL(%), stężeniem cholesterolu całkowitego(%) i stężeniem trójglicerydów(%), stężeniem cholesterolu całkowitego(%) i stężeniem ApoA1 oraz ujemna korelacja pomiędzy stężeniem cholesterolu HDL (%) i stężeniem trójglicerydów(%). W grupie kontrolnej ujemną istotną statystycznie korelację wykazano pomiędzy stężeniem cholesterolu LDL(%) i stężeniem cholesterolu HDL(%) oraz stężeniem trójglicerydów(%) i stężeniem ApoA1. W obu grupach, zarówno w grupie badanej jak i w grupie kontrolnej dodatnie korelacje występują pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego (%) i stężeniem cholesterolu LDL (%), stężeniem cholesterolu całkowitego (%) i stężeniem ApoB, stężeniem cholesterolu LDL(%) i stężeniem trójglicerydów (%), stężeniem cholesterolu LDL(%) i stężeniem ApoB, stężeniem cholesterolu HDL(%) i stężeniem ApoA1 oraz stężeniem trójglicerydów(%) i stężeniem ApoB.

Tabela 4.3 Korelacje parametrów biochemicznymi gospodarki lipidowej w grupach badanej i kontrolnej.

Parametr		% Cholesterolu całkowitego		% Cholesterolu LDL		% Cholesterolu HDL		% Triglicerydów		ApoA1	
		Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna
% Cholesterolu całkowitego	<i>N</i>	-	-								
	<i>r</i>										
	<i>p</i>										
% Cholesterolu LDL	<i>N</i>	<b>87</b>	<b>51</b>	-	-						
	<i>r</i>	<b>0,952</b>	<b>0,876</b>								
	<i>p</i>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>								
% Cholesterolu HDL	<i>N</i>	<b>88</b>	<b>51</b>	<b>87</b>	<b>51</b>	-	-				
	<i>r</i>	<b>0,284</b>	<b>-0,001</b>	<b>0,111</b>	<b>-0,294</b>						
	<i>p</i>	<b>0,007</b>	<b>0,994</b>	<b>0,304</b>	<b>0,036</b>						
% Trójglicerydów	<i>N</i>	<b>88</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	-	-		
	<i>r</i>	<b>0,213</b>	<b>0,242</b>	<b>0,391</b>	<b>0,313</b>	<b>-0,401</b>	<b>-0,094</b>				
	<i>p</i>	<b>0,046</b>	<b>0,087</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,025</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,510</b>				
ApoA1	<i>N</i>	<b>88</b>	<b>51</b>	<b>87</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	-	
	<i>r</i>	<b>0,353</b>	<b>0,217</b>	<b>0,171</b>	<b>0,077</b>	<b>0,762</b>	<b>0,655</b>	<b>-0,186</b>	<b>-0,365</b>		
	<i>p</i>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,126</b>	<b>0,112</b>	<b>0,591</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,081</b>	<b>0,008</b>		
ApoB	<i>N</i>	<b>88</b>	<b>51</b>	<b>87</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>	<b>89</b>	<b>51</b>
	<i>r</i>	<b>0,665</b>	<b>0,625</b>	<b>0,706</b>	<b>0,524</b>	<b>-0,043</b>	<b>0,151</b>	<b>0,133</b>	<b>0,290</b>	<b>-0,076</b>	<b>0,110</b>
	<i>p</i>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,687</b>	<b>0,290</b>	<b>0,028</b>	<b>0,039</b>	<b>0,481</b>	<b>0,441</b>

Boldem zaznaczono istotne korelacje pomiędzy badanymi parametrami.

W tabeli 4.4 przedstawiono korelacje podstawowych parametrów biochemicznymi gospodarki węglowodanowej lipidowej z parametrami antropometrycznymi w grupach badanej i kontrolnej. Dodatnią istotną statystycznie korelację zarówno w grupie badanej i kontrolnej obserwowano pomiędzy WSDS i stężeniem insuliny na czczo oraz BMI SDS i stężeniem insuliny na czczo. W grupie badanej istotna statystycznie ujemna korelacja występuje pomiędzy WSDS a stężeniem cholesterolu całkowitego(%) oraz stężeniem HDL(%), a także BMI SDS a stężeniem cholesterolu całkowitego(%) oraz stężeniem HDL(%).

Tabela 4.4 Korelacje podstawowych parametrów biochemicznych gospodarki węglowodanowej lipidowej z parametrami antropometrycznymi w grupach badanej i kontrolnej.

Parametr		Glukoza na czczo		Insulina na czczo		% Cholesterolu całkowitego		% Cholesterolu LDL		% Cholesterolu HDL		% Trójglicerydów	
		Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna	Badana	Kontrolna
WSDS	N	81	<b>47</b>	<b>81</b>	<b>47</b>	<b>81</b>	47	<b>80</b>	47	<b>81</b>	47	81	47
	r	0,148	<b>0,311</b>	<b>0,371</b>	<b>0,472</b>	<b>-0,331</b>	-0,119	<b>-0,259</b>	-0,131	<b>-0,271</b>	-0,052	-0,015	0,010
	p	0,188	<b>0,033#</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001#</b>	<b>0,002</b>	0,901#	<b>0,020</b>	0,381#	<b>0,014</b>	0,728#	0,891	0,503#
HSDS	N	82	<b>47</b>	82	47	82	47	81	47	82	<b>47</b>	82	47
	r	0,150	<b>0,315</b>	0,103	0,057	-0,168	0,037	-0,135	-0,139	-0,046	<b>0,313</b>	-0,082	-0,013
	p	0,177	<b>0,031</b>	0,357	0,701	0,131	0,804	0,231	0,351	0,683	<b>0,032</b>	0,463	0,929
BMI SDS	N	80	45	<b>80</b>	<b>45</b>	<b>80</b>	45	79	45	<b>80</b>	45	<b>80</b>	45
	r	0,130	0,212	<b>0,486</b>	<b>0,495</b>	<b>-0,247</b>	0,028	-0,165	-0,016	<b>-0,373</b>	-0,251	<b>0,110</b>	0,194
	p	0,250#	0,162#	<b>&lt;0,001#</b>	<b>&lt;0,001#</b>	<b>0,027#</b>	0,854#	0,146#	0,918#	<b>&lt;0,001#</b>	0,95#	<b>0,03#</b>	0,120#

Boldem zaznaczono istotne korelacje pomiędzy badanymi parametrami.

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.



## 2. Analiza parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz parametrów antropometrycznych z uwzględnieniem czasu trwania ciąży.

Grupę badaną i kontrolną podzielono ze względu na wartości badanych parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz sirtuiny1. Wyniki badań przedstawiono w tabelach 5a i 5b.

W tabeli 5a przedstawiono wyniki badań parametrów gospodarki węglowodanowej. Za wartości prawidłowe dla parametrów gospodarki węglowodanowej przyjęto: dla stężenia glukozy na czczo  $<99$  mg/dl, dla stężenia glukozy w 120 min OGTT  $<140$  mg/dl, dla insuliny na czczo  $<25$  mIU/L, dla HOMA IR  $<2,5$ , dla HbA1c  $<5,7$  mg%, dla C-peptydu  $<5,5$   $\mu$ g/l, dla hsCRP  $<5$  mg/L.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu stężeniu pomiędzy poszczególnymi grupami badaną i kontrolną w zależności od wartości parametrów gospodarki węglowodanowej: glukozy na czczo, glukozy 120 min. OGTT, insuliny na czczo, HOMA IR, HbA1c, C-peptyd, hsCRP.

W tabeli 5b przedstawiono wyniki badań parametrów gospodarki lipidowej, jako wartości prawidłowe przyjęto: dla cholesterolu całkowitego  $<130$  mg/dl ( $\leq 10$  r.ż.) i  $<190$  md.dl ( $>10$  r.ż.), dla cholesterolu LDL  $\leq 115$  mg/dl, dla cholesterolu HDL: wśród kobiet  $\geq 45$  mg/dl, wśród mężczyzn  $\geq 40$  mg/dl, dla cholesterolu non-HDL  $\leq 130$  mg/dl, dla trójglicerydów  $\leq 150$  mg/dl.

Nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic w stężeniu sirtuiny1 pomiędzy poszczególnymi grupami badaną i kontrolną w zależności od wartości parametrów gospodarki lipidowej: cholesterolu całkowitego (%), cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL (%), cholesterolu LDL, cholesterolu HDL (%), cholesterolu HDL, cholesterolu non-HDL, trójglicerydów (%) i trójglicerydów.

Tabela 5. Porównanie stężenia SIRT1 zależnie od wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupach badanej i kontrolnej.

Tabela 5a. Porównanie stężenia SIRT1 z uwzględnieniem podziału na wartości prawidłowe lub nieprawidłowe parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach badanej i kontrolnej.

Parametr	Grupa	Wartość odcięcia dla parametru	Stężenie SIRT1 w grupie Me [Q1-Q3]	p porównania stężeń	liczebność grupy	p dla porównania częstości
Glukoza na czczo [mg/dl]	badana	<99	34,9 [16,3-84,7]	0,706*	75	0,180
		≥99	28,5 [16,3-54,7]		14	
	kontrolna	<99	18,0 [11,8-31,8]	1,00*	47	
		≥99	19,1 [12,3-24,0]		4	
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	badana	<140	30,2 [16,4-73,6]	-	74	-
		≥140	22,2 [13,5-30,9]		2	
	kontrolna	<140	17,5 [11,1-23,4]	-	44	
		≥140	-		0	
Insulina na czczo [mIU/L]	badana	<25	28,8 [14,7-92,9]	0,780*	63	0,788
		≥25	33,0 [18,9-61,4]		26	
	kontrolna	<25	18,0 [9,7-29,7]	0,788*	35	
		≥25	18,5 [12,5-29,1]		16	
HOMA IR	badana	<2,5	23,7 [9,8-88,9]	0,438*	12	0,507
		≥2,5	34,9 [16,4-79,8]		77	
	kontrolna	<2,5	16,7 [9,0-22,2]	0,458*	9	
		≥2,5	18,0 [12,0-18,2]		42	
HbA1c	badana	<5,7	29,4 [16,3-81,6]	0,990*	87	0,255
		≥5,7	31,0 [-]		2	
	kontrolna	<5,7	17,5 [11,5-27,2]	0,423*	43	
		≥5,7	19,7 [-]		8	
C-peptyd	badana	<5,5	30,9 [16,3-79,8]	0,900*	79	0,449
		≥5,5	39,2 [12,3-85,7]		10	

<i>hsCRP [mg/L]</i>	<i>kontrolna</i>	<5,5	17,8 [11,2-29,7]	0,641*	43	0,301
		≥5,5	19,9 [15,0-29,1]		8	
	<i>badana</i>	<5,0	33,0 [16,6-84,7]	0,732*	74	
		≥5,0	26,3 [15,2-56,6]		10	
<i>kontrolna</i>	<5,0	18,0 [11,2-29,7]	0,443*	47		
	≥5,0	20,7 [15,8-72,9]		4		

Tabela 5b. Porównanie stężenia SIRT1 z uwzględnieniem podziału na wartości prawidłowe lub nieprawidłowe parametrów gospodarki lipidowej w grupach badanej i kontrolnej.

<i>Parametr</i>	<i>Grupa</i>	<i>Wartość odcięcia dla parametru</i>	<i>Stężenie SIRT1 w grupie Me [Q1-Q3]</i>	<i>p porównania stężeń</i>	<i>liczebność grupy</i>	<i>p dla porównania częstości</i>
<i>Cholesterol całkowity [mg/dl]</i>	<i>badana</i>	<130 (≤10 r.ż.); <190 (>10 r.ż.)	29,1 [16,6-67,1]	0,402*	50	0,361
		≥130 (≤10 r.ż.); ≥190 (>10 r.ż.)	46,0 [16,1-89,4]		38	
	<i>kontrolna</i>	<130 (≤10 r.ż.); <190 (>10 r.ż.)	18,0 [12,4-23,4]	0,937*	33	
		≥130 (≤10 r.ż.); ≥190 (>10 r.ż.)	18,7 [10,5-29,7]		18	
<i>% cholesterolu całkowitego</i>	<i>badana</i>	≤100	25,7 [17,2-61,45]	0,536*	24	0,055
		>100	35,4 [15,4-87,7]		64	
	<i>kontrolna</i>	≤100	19,4 [12,0-33,6]	0,555*	22	
		>100	17,8 [11,8-22,2]		29	
<i>Cholesterol LDL [mg/dl]</i>	<i>badana</i>	≤115 mg/dl	29,1 [16,4-73,6]	0,577*	62	0,234
		>115 mg/dl	42,5 [16,1-84,7]		25	
	<i>kontrolna</i>	≤115 mg/dl	18,1 [11,8-31,8]	0,924*	41	
		>115 mg/dl	17,9 [12,7-22,2]		10	
<i>% Cholesterolu LDL</i>	<i>badana</i>	≤100	23,8 [15,2-62,8]	0,296*	23	0,156
		>100	35,45 [16,4-86,0]		66	
	<i>kontrolna</i>	≤100	18,1 [10,2-33,6]	0,922*	19	
		>100	17,9 [12,2-27,2]		32	
<i>Cholesterol HDL</i>	<i>badana</i>	<i>Kobiety ≥45; Mężczyźni ≥40</i>	30,1 [16,2-79,7]	0,530*	68	0,088

		<i>Kobiety &lt; 45; Mężczyźni &lt; 40</i>	34,9 [18,9-81,6]		21	
	<i>kontrolna</i>	<i>Kobiety ≥ 45; Mężczyźni ≥ 40</i>	18,1 [12,0-29,7]	0,456*	45	
		<i>Kobiety &lt; 45; Mężczyźni &lt; 40</i>	13,6 [11,8-19,7]		6	
<i>% cholesterolu HDL</i>	<i>badana</i>	≤ 100	36,0 [16,1-79,8]	0,968*	27	0,079
		> 100	30,1 [16,6-81,6]		62	
	<i>kontrolna</i>	≤ 100	18,7 [12,7-61,0]	0,123*	23	
		> 100	16,9 [11,1-20,1]		28	
<i>Cholesterol non-HDL [mg/dl]</i>	<i>badana</i>	≤ 130	29,1 [16,4-73,6]	0,752*	62	0,305
		> 130	40,1 [14,7-84,7]		26	
	<i>kontrolna</i>	≤ 130	18,1 [11,9-32,7]	0,783*	40	
		> 130	17,8 [11,2-22,2]		11	
<i>Trójglicerydy [mg/dl]</i>	<i>badana</i>	≤ 150	29,4 [16,1-73,6]	0,293*	79	0,792
		> 150	59,6 [18,3-85,7]		10	
	<i>kontrolna</i>	≤ 150	18,0 [12,0-29,7]	0,716*	46	
		> 150	12,4 [10,5-21,9]		5	
<i>% Trójglicerydów</i>	<i>badana</i>	≤ 100	24,2 [13,5-62,8]	0,409*	26	< 0,001
		> 100	34,9 [16,6-84,7]		63	
	<i>kontrolna</i>	≤ 100	18,9 [12,-33,6]	0,232*	30	
		> 100	16,6 [11,8-20,0]		21	

Porównano stężenia sirtuiny1 między grupą badaną i kontrolną z uwzględnieniem występujących nieprawidłowości gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz parametrów antropometrycznych. Wyniki przedstawiono w tabeli 6.

Stężenie sirtuiny1 było istotnie wyższe u osób z prawidłowymi wartościami parametrów gospodarki węglowodanowo-lipidowej w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej w przypadku :

- stężenia glukozy na czczo ( SIRT1 34,9 vs 18 ( ng/ml)),
- insuliny na czczo ( SIRT1 28,8 vs 18 ( ng/ml)),
- hemoglobiny glikowanej ( SIRT1 29,4 vs 17,5 ( ng/ml)),
- C-peptydu ( SIRT1 30,9 vs 17,8 ( ng/ml)),
- hsCRP ( SIRT1 33,0 vs 18 ( ng/ml)),
- cholesterolu HDL ( SIRT1 30,1 vs 18,1 ( ng/ml)),
- stężenie cholesterolu HDL (%) ( SIRT1 36,0 vs 18,7 ( ng/ml)),
- cholesterolu non-HDL ( SIRT1 29,1 vs 18,1 ( ng/ml)),
- trójglicerydów ( SIRT1 29,4 vs 18 ( ng/ml)),

Stężenie sirtuiny 1 było istotnie wyższe u osób z nieprawidłowymi wartościami parametrów gospodarki węglowodanowo-lipidowej w grupie badanej w porównaniu do wartości grupy kontrolnej w zależności od następujących parametrów:

- HOMA IR( SIRT1 34,9 vs 18 ( ng/ml))
- cholesterolu całkowitego (%)( SIRT1 35,4 vs 17,8 ( ng/ml)),
- cholesterolu LDL (%)( SIRT1 35,45 vs 17,9 ( ng/ml)),
- cholesterolu HDL ( SIRT1 34,9 vs 13,6 ( ng/ml)),
- cholesterol non- HDL ( SIRT1 40,1 vs 17,9 ( ng/ml)),
- trójglicerydów (%)( SIRT1 34,9 vs 16,6 ( ng/ml)).

Tabela 6. Porównanie stężenia SIRT1 między grupą badaną i kontrolną z uwzględnieniem wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz parametrów antropometrycznych.

Tabela 6a. Porównanie stężenia SIRT1 między grupą badaną i kontrolną z uwzględnieniem wartości parametrów gospodarki węglowodanowej.

Parametr	Wartość odcięcia dla parametru	Grupa	Stężenie SIRT1 w grupie Me [Q1-Q3]	p porównania stężeń	liczebność grupy	p dla porównania częstości
Glukoza na czczo [mg/dl]	<99	badana	34,9 [16,3-84,7]	<b>0,005*</b>	75	0,180
		kontrolna	18,0 [11,8-31,8]		47	
	≥99	badana	28,5 [16,3-54,7]	0,184*	14	
		kontrolna	19,1 [12,3-24,0]		4	
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	<140	badana	30,2 [16,4-73,6]	<b>0,001*</b>	74	-
		kontrolna	17,5 [11,1-23,4]		44	
	≥140	badana	22,2 [13,5-30,9]	-	2	
		kontrolna	-		0	
Insulina na czczo [mIU/L]	<25	badana	28,8 [14,7-92,9]	<b>0,020*</b>	63	0,788
		kontrolna	18,0 [9,7-29,7]		35	
	≥25	badana	33,0 [18,9-61,4]	0,505*	26	
		kontrolna	18,5 [12,5-29,1]		16	
HOMA IR	<2,5	badana	23,7 [9,8-88,9]	0,477*	12	0,507
		kontrolna	16,7 [9,0-22,2]		9	
	≥2,5	badana	34,9 [16,4-79,8]	<b>0,004*</b>	77	
		kontrolna	18,0 [12,0-18,2]		42	
HbA1c	<5,7	badana	29,4 [16,3-81,6]	<b>0,003*</b>	87	0,255
		kontrolna	17,5 [11,5-27,2]		48	
	≥5,7	badana	31,0 [-]	0,773*	2	
		kontrolna	19,7 [-]		3	
C-peptyd	<5,5	badana	30,9 [16,3-79,8]	<b>0,004*</b>	79	0,449

		<i>kontrolna</i>	<i>17,8 [11,2-29,7]</i>		<i>43</i>	
	$\geq 5,5$	<i>badana</i>	<i>39,2 [12,3-85,7]</i>	<i>0,340*</i>	<i>10</i>	
		<i>kontrolna</i>	<i>19,9 [15,0-29,1]</i>		<i>8</i>	
<i>hsCRP [mg/L]</i>	$< 5,0$	<i>badana</i>	<i>33,0 [16,6-84,7]</i>	<b><i>&lt;0,001*</i></b>	<i>74</i>	<i>0,301</i>
		<i>kontrolna</i>	<i>18,0 [11,2-29,7]</i>		<i>47</i>	
	$\geq 5,0$	<i>badana</i>	<i>26,3 [15,2-56,6]</i>	<i>1,000*</i>	<i>10</i>	
		<i>kontrolna</i>	<i>20,7 [15,8-72,9]</i>		<i>4</i>	

Tabela 6b. Porównanie stężenia SIRT1 między grupą badaną i kontrolną z uwzględnieniem wartości parametrów gospodarki lipidowej.

Parametr	Wartość odcięcia dla parametru	Grupa	Stężenie SIRT1 w grupie Me [Q1-Q3]	p porównania stężeń	liczebność grupy	p dla porównania częstości
Cholesterol całkowity [mg/dl]	<130 ( $\leq 10$ r.ż.); <190 (>10 r.ż.)	badana	29,1 [16,6-67,1]	<b>0,014*</b>	50	0,361
		kontrolna	18,0 [12,4-23,4]		33	
	$\geq 130$ ( $\leq 10$ r.ż.); $\geq 190$ (>10 r.ż.)	badana	46,0 [16,1-89,4]	0,114*	38	
		kontrolna	18,7 [10,5-29,7]		18	
% cholesterolu całkowitego	$\leq 100$	badana	25,7 [17,2-61,45]	0,118*	24	0,055
		kontrolna	19,4 [12,0-33,6]		22	
	>100	badana	35,4 [15,4-87,7]	<b>0,006*</b>	64	
		kontrolna	17,8 [11,8-22,2]		29	
Cholesterol LDL [mg/dl]	$\leq 115$ mg/dl	badana	29,1 [16,4-73,6]	0,182*	62	0,234
		kontrolna	18,1 [11,8-31,8]		41	
	>115 mg/dl	badana	42,5 [16,1-84,7]	0,071*	25	
		kontrolna	17,9 [12,7-22,2]		10	
% Cholesterolu LDL	$\leq 100$	badana	23,8 [15,2-62,8]	0,318*	23	0,156
		kontrolna	18,1 [10,2-33,6]		19	
	>100	badana	35,45 [16,4-86,0]	<b>0,003*</b>	66	
		kontrolna	17,9 [12,2-27,2]		32	
Cholesterol HDL	Kobiety $\geq 45$ ; Mężczyźni $\geq 40$	badana	30,1 [16,2-79,7]	<b>0,026*</b>	68	0,088
		kontrolna	18,1 [12,0-29,7]		45	
	Kobiety <45; Mężczyźni <40	badana	34,9 [18,9-81,6]	<b>0,029*</b>	21	
		kontrolna	13,6 [11,8-19,7]		6	
% cholesterolu HDL	$\leq 100$	badana	36,0 [16,1-79,8]	<b>0,001*</b>	62	0,079
		kontrolna	18,7 [12,7-61,0]		28	
	>100	badana	30,1 [16,6-81,6]	0,403*	27	
		kontrolna	16,9 [11,1-20,1]		23	
Cholesterol non-HDL [mg/dl]	$\leq 130$	badana	29,1 [16,4-73,6]	<b>0,024*</b>	62	0,305
		kontrolna	18,1 [11,9-32,7]		40	



	>130	<i>badana</i>	40,1 [14,7-84,7]	<b>0,052*</b>	26	
		<i>kontrolna</i>	17,8 [11,2-22,2]		11	
<i>Trójglicerydy [mg/dl]</i>	≤150	<i>badana</i>	29,4 [16,1-73,6]	<b>0,010*</b>	79	0,792
		<i>kontrolna</i>	18,0 [12,0-29,7]		46	
	>150	<i>badana</i>	59,6 [18,3-85,7]	0,076*	10	
		<i>kontrolna</i>	12,4 [10,5-21,9]		5	
<i>% Trójglicerydów</i>	≤100	<i>badana</i>	24,2 [13,5-62,8]	0,328*	26	<0,001
		<i>kontrolna</i>	18,9 [12,-33,6]		30	
	>100	<i>badana</i>	34,9 [16,6-84,7]	<b>0,002*</b>	63	
		<i>kontrolna</i>	16,6 [11,8-20,0]		21	

Tabela 6c. Porównanie stężenia SIRT1 między grupą badaną i kontrolną z uwzględnieniem wartości parametrów antropometrycznych.

<i>Parametr</i>	<i>Wartość odcięcia dla parametru</i>	<i>Grupa</i>	<i>Stężenie SIRT1 w grupie Me [Q1-Q3]</i>	<i>p porównania stężeń</i>	<i>liczebność grupy</i>	<i>p dla porównania częstości</i>
<i>WSDS</i>	$\leq -1,66$ do $\leq 1,66$	<i>badana</i>	30,15 [14,7-71,5]	<b>0,047*</b>	46	0,871
		<i>kontrolna</i>	17,5 [10,2-21,9]		26	
	$< -1,66$ oraz $> 1,66$	<i>badana</i>	31,1 [16,6-79,8]	0,089*	35	
		<i>kontrolna</i>	20,0 [14,1-33,6]		21	
<i>HSDS</i>	$\leq -1,66$ do $\leq 1,66$	<i>badana</i>	28,9 [15,2-71,5]	<b>0,021*</b>	61	0,403
		<i>kontrolna</i>	17,9 [12,0-24,7]		38	
	$< -1,66$ oraz $> 1,66$	<i>badana</i>	34,9 [19,6-73,6]	0,319*	21	
		<i>kontrolna</i>	19,7 [12,7-53,7]		9	
<i>BMI SDS</i>	$\leq -1,66$ do $\leq 1,66$	<i>badana</i>	31,0 [13,5-70,7]	0,083*	38	0,700
		<i>kontrolna</i>	17,1 [9,4-29,7]		23	
	$< -1,66$ oraz $> 1,66$	<i>badana</i>	31,9 [17,8-79,8]	0,055*	42	
		<i>kontrolna</i>	20,15 [14,9-33,7]		22	

W tabeli 7. przedstawiono zależności pomiędzy stężeniem sirtuiny 1 a wartościami SDS parametrów antropometrycznych w grupie badanej i kontrolnej. Stwierdzono występowanie istotnie wyższego stężenia białka sirtuiny 1 we krwi u pacjentów grupy badanej aniżeli w grupie kontrolnej wśród osób bez zaburzeń antropometrycznych (wartości WSDS, HSDS, BMI SDS mieściły się w zakresie od -1,66 do 1,66).

U wszystkich pacjentów grupy badanej uwidoczniło się również wyższe stężenie sirtuiny 1 w porównaniu z grupą kontrolną, aczkolwiek przy wartościach nieprawidłowych nie była to różnica istotna statystycznie.

Tabela 7. Wartości stężenia SIRT1 w grupie badanej i kontrolnej z uwzględnieniem wartości SDS badanych parametrów antropometrycznych

Parametr		Stężenie SIRT1					
		prawidłowe			nieprawidłowe		
		Badana N Mediana [Q1-Q3]	Kontrolna N Mediana [Q1-Q3]	P dla porównania stężeń	Badana N Mediana [Q1-Q3]	Kontrola N Mediana [Q1-Q3]	P dla porównania stężeń
WSDS od -1,66 do 1,66 prawidłowe	n wartość zakres	46 30,15 [14,7-71,5]	26 17,5 [10,2-21,9]	<b>0,047</b>	35 31,1 [16,6-79,8]	21 20,0 [14,1-33,6]	0,089
HSDS od -1,66 do 1,66 prawidłowe	n wartość zakres	61 28,9 [15,2-71,5]	38 17,9 [12,0-24,7]	<b>0,021</b>	21 34,9 [19,6-73,6]	9 19,7 [12,7-53,7]	0,319
BMI SDS od -1,66 do 1,66 prawidłowe	n wartość zakres	38 31,0 [13,5-70,7]	23 17,1 [9,4-29,7]	0,083	42 31,9 [17,8-79,8]	22 20,15 [14,9-33,7]	0,055

W tabeli 8 przedstawiono wybrane parametry laboratoryjne przy podziale uwzględniającym długość trwania ciąży w obu grupach badanej i kontrolnej.

W grupie badanej 5 z 83 osób, a w grupie kontrolnej 3 z 49 osób urodziło się przed 38 tygodniem ciąży.

W grupie badanej osoby, urodzone przed 38 tygodniem ciąży wykazały istotnie niższe stężenie cholesterolu całkowitego (131 vs 167 mg/dl) oraz cholesterolu całkowitego (%) (97,5 vs 112,4 %), LDL (68 vs 100 mg/dl) i LDL (%) (94,7 vs 128,5 %), ApoB (53 vs 68,1 mg/dl) w porównaniu z osobami urodzonymi po 38 tygodniu ciąży.

W grupie kontrolnej, u osób urodzonych przed 38 tygodniem ciąży stwierdzono jedynie istotnie niższe stężenie ApoA1 w porównaniu z osobami urodzonymi po 38 tygodniu ciąży (131 vs 147 mg/dl).

Tabela 8. Wybrane parametry laboratoryjne z podziałem badanych według długości trwania ciąży w grupach: badanej i kontrolnej.

Parametr		Badana			Kontrolna		
		<38 tygodnia ciąży	≥38 tydzień ciąży	p	<38 tygodnia ciąży	≥38 tydzień ciąży	p
Cholesterol całkowity [mg/dl]	N wartość zakres	N=5 131,0 [130,0-151,0]	N=79 167,0 [151,0-197,0]	<b>0,031#</b>	N=3 139,0 [122,0-168,0]	N=46 158,0 [143,0-182,0]	0,169#
% Cholesterol całkowity	N wartość zakres	N=5 97,5 [96,0-98,0]	N=79 112,4 [100,1-126,4]	<b>0,045#</b>	N=3 94,5 [80,8-127,7]	N=46 103,3 [93,0-115,3]	0,661#
LDL	N wartość zakres	N=5 68,0 [66,0-71,0]	N=78 100,0 [83,0-119,0]	<b>0,008#</b>	N=3 81,0 [66,0-105,0]	N=46 91,0 [80,0-113,0]	0,370#
% LDL	N wartość zakres	N=5 94,7 [91,7-97,6]	N=78 128,5 [105,1-146,4]	<b>0,024#</b>	N=3 104,6 [85,3-150,7]	N=46 107,4 [89,8-129,2]	0,933#
ApoB [mg/dl]	N wartość zakres	N=5 53,0 [52,0-62,0]	N=80 68,1 [60,5-80,9]	<b>0,028#</b>	N=3 61,0 [46,0-72,0]	N=46 64,5 [57,0-72,0]	0,478#
Apo A1 [mg/dl]	N wartość zakres	N=5 135,0 [120,0-179,0]	N=80 141,0 [124,0-160,5]	0,985#	N=3 131,0 [117,0-132,0]	N=46 147,0 [136,0-167,0]	<b>0,041#</b>

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników, chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.

W tabeli 9 przedstawiono korelacje wybranych parametrów laboratoryjnych w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć.

W badanej grupie kobiet wystąpiła dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem białka sirtuiny1 a stężeniem insuliny w 60 min OGTT, stężeniem cholesterolu całkowitego (%), stężeniem LDL(%), stężeniem ApoB. W grupie badanych mężczyzn nie stwierdzono żadnej istotnej korelacji. W grupie kontrolnej, tylko u mężczyzn wystąpiła dodatnia istotna statystycznie korelacja pomiędzy stężeniem sirtuiny1 i stężeniem cholesterolu HDL (%).

Tabela 9. Korelacje pomiędzy stężeniem sirtuiny1 a parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć.

Parametr		SIRT1			
		Badani mężczyźni	Badane kobiety	Kontrolni mężczyźni	Kontrolne kobiety
Glukoza na czczo	N	56	33	23	28
	R	-0,080	-0,086	-0,014	0,070
	p	0,560#	0,636#	0,948#	0,723#
Glukoza 60 min. OGTT	N	50	29	20	24
	R	-0,013	0,287	-0,135	0,014
	p	0,927#	0,130#	0,570#	0,948#
Glukoza 120 min. OGTT	N	49	27	21	23
	R	-0,001	0,197	0,162	-0,080
	P	0,992#	0,326#	0,481#	0,715#
Insulina na czczo	N	56	33	23	28
	R	-0,043	0,092	0,27	0,185
	P	0,754#	0,610#	0,213#	0,345#
Insulina 60 min. OGTT	N	49	<b>28</b>	20	24
	R	-0,03	<b>0,522</b>	-0,043	0,143
	P	0,830#	<b>0,004#</b>	0,856#	0,503#
Insulina 120 min. OGTT	N	48	27	21	23
	R	0,044	0,115	0,119	0,080
	P	0,764#	0,568#	0,607#	0,715#
HOMA IR	N	56	33	23	28
	R	-0,056	0,110	0,304	0,164
	P	0,682#	0,543#	0,158#	0,404#
% Cholesterolu całkowitego	N	55	<b>33</b>	23	28
	R	-0,210	<b>0,403</b>	0,037	-0,079
	P	0,125#	<b>0,020#</b>	0,867#	0,689#
% Cholesterolu LDL	N	54	<b>33</b>	23	28
	R	-0,260	<b>0,349</b>	-0,193	-0,070
	P	0,058#	<b>0,046#</b>	0,377#	0,720#
% Cholesterolu HDL	N	56	33	<b>23</b>	28
	R	-0,035	0,015	<b>0,436</b>	-0,118
	P	0,797#	0,932#	<b>0,037#</b>	0,548#
% Trójglicerydy	N	56	33	23	28
	R	0,091	0,151	-0,069	0,069
	P	0,500#	0,401#	0,752#	0,729#
ApoA1	N	56	33	23	28
	R	-0,092	0,048	0,097	-0,109
	P	0,498#	0,789#	0,660#	0,581#
ApoB	N	56	<b>33</b>	23	28
	R	-0,183	<b>0,370</b>	0,097	0,106
	P	0,176#	<b>0,034#</b>	0,658#	0,592#
WSDS	N	51	30	22	25
	R	-0,046	-0,000	0,140	0,045
	p	0,751#	0,997#	0,533	0,829#

<i>HSDS</i>	<i>N</i>	52	30	22	25
	<i>R</i>	0,017	-0,285	0,215	-0,345
	<i>P</i>	0,903#	0,127#	0,337	0,091#
<i>BMI SDS</i>	<i>N</i>	50	30	22	23
	<i>R</i>	0,041	0,146	0,091	0,114
	<i>p</i>	0,779#	0,442#	0,688	0,606#

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.

W tabeli 10. przedstawiono korelacje pomiędzy stężeniem glukozy na czczo a parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć. Wykazano jedyną dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem glukozy na czczo a stężeniem ApoA1 w grupie badanej mężczyzn. W grupie kontrolnej nie wystąpiła żadna istotna korelacja.

Tabela 10. Korelacje pomiędzy stężeniem glukozy na czczo z parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć.

Parametr		Glukoza na czczo			
		Badani mężczyźni	Badane kobiety	Kontrolni mężczyźni	Kontrolne kobiety
% Cholesterolu całkowitego	<i>N</i>	55	33	23	28
	<i>R</i>	0,060	-0,073	-0,195	-0,263
	<i>P</i>	0,661	0,687	0,373	0,176
% Cholesterolu LDL	<i>N</i>	54	33	23	28
	<i>R</i>	0,110	-0,193	-0,143	-0,261
	<i>P</i>	0,430	0,282	0,514	0,179
% Cholesterolu HDL	<i>N</i>	56	33	23	28
	<i>R</i>	-0,262	0,157	-0,086	-0,105
	<i>P</i>	0,051	0,382	0,697	0,595
% Trójglicerydów	<i>N</i>	56	33	23	28
	<i>R</i>	0,212	0,172	-0,060	-0,069
	<i>P</i>	0,117	0,339	0,785	0,725
ApoA1	<i>N</i>	56	33	23	28
	<i>R</i>	<b>-0,286</b>	0,238	-0,266	-0,164
	<i>P</i>	<b>0,032</b>	0,182	0,220	0,404
ApoB	<i>N</i>	56	33	23	28
	<i>R</i>	0,202	-0,074	-0,116	-0,371
	<i>P</i>	0,135	0,680	0,598	0,052
WSDS	<i>N</i>	51	30	22	25
	<i>R</i>	0,179	0,170	0,300	0,390
	<i>p</i>	0,207	0,370	0,174	0,054#
HSDS	<i>N</i>	52	30	22	25
	<i>R</i>	0,120	0,357	0,277	0,337
	<i>P</i>	0,398	0,053	0,212	0,099
BMI SDS	<i>N</i>	50	30	22	23
	<i>R</i>	0,155	0,013	0,245	0,133
	<i>p</i>	0,282	0,943	0,272	0,544#

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.

W tabeli 11. przedstawiono korelacje stężenia insuliny na czczo z parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć. Stężenie insuliny na czczo wykazuje ujemną korelację ze stężeniem ApoA1 we wszystkich grupach. Istotna statystycznie ujemna korelacja występuje pomiędzy stężeniem insuliny na czczo i stężeniem cholesterolu HDL (%) w grupie badanej kobiet i mężczyzn oraz w grupie kontrolnej kobiet. W grupie badanych mężczyzn występuje ujemna korelacja stężenia insuliny na czczo i stężenia cholesterolu całkowitego(%). Dodatnią korelację wykazano pomiędzy stężeniem insuliny na czczo i stężeniem trójglicerydów (%) w grupie badanej mężczyzn oraz w grupie kontrolnej kobiet.

Tabela 11. Korelacje stężenia insuliny na czczo z parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć.

Parametr		Insulina na czczo			
		Badani mężczyźni	Badane kobiety	Kontrolni mężczyźni	Kontrolne kobiety
% Cholesterolu całkowitego	N	55	33	23	28
	R	<b>-0,272</b>	-0,257	-0,128	0,337
	P	<b>0,044</b>	0,149	0,562	0,079
% Cholesterolu LDL	N	54	33	23	28
	R	-0,197	-0,190	-0,165	<b>0,399</b>
	P	0,152	0,288	0,452	<b>0,035</b>
% Cholesterolu HDL	N	56	33	23	28
	R	<b>-0,500</b>	<b>-0,366</b>	-0,189	<b>-0,428</b>
	P	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,036</b>	0,387	<b>0,023</b>
% Trójglicerydów	N	56	33	23	28
	R	<b>0,315</b>	0,278	0,254	<b>0,519</b>
	P	<b>0,018</b>	0,117	0,241	<b>0,005</b>
ApoA1	N	56	33	23	28
	R	<b>-0,487</b>	<b>-0,425</b>	<b>-0,466</b>	<b>-0,377</b>
	P	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,014</b>	<b>0,025</b>	<b>0,048</b>
ApoB	N	56	33	23	28
	R	-0,017	-0,064	-0,256	0,309
	P	0,897	0,722	0,237	0,109
WSDS	N	51	30	22	25
	R	0,270	<b>0,553</b>	<b>0,602</b>	0,350
	p	0,055	<b>0,001</b>	<b>0,003</b>	0,086#
HSDS	N	52	30	22	25
	R	0,079	0,198	0,304	-0,082
	P	0,278	0,293	0,168	0,696
BMI SDS	N	50	30	22	23
	R	<b>0,445</b>	<b>0,445</b>	<b>0,501</b>	<b>0,482</b>
	p	<b>0,001</b>	<b>0,014</b>	<b>0,017</b>	<b>0,019#</b>

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.



W tabeli 12. przedstawiono korelacje pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego (%) a parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć. W grupie badanej mężczyzn wykazano dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego (%) a stężeniem insuliny na czczo, stężeniem trójglicerydów (%), stężeniem ApoA1, natomiast ujemną istotną korelację pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego (%) a wskaźnikami antropometrycznymi: WSDS i BMI SDS. We wszystkich grupach stwierdziłam dodatnią istotną statystycznie korelację stężenia cholesterolu całkowitego (%) i stężenia ApoB.

Tabela 12. Korelacje pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego (%) a parametrami biochemicznymi w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć.

Parametr		% Cholesterolu całkowitego			
		Badani mężczyźni	Badane kobiety	Kontrolni mężczyźni	Kontrolne kobiety
Glukoza na czczo	N	55	33	23	28
	R	0,060	-0,073	-0,195	-0,263
	P	0,661	0,687	0,374	0,176
Glukoza 60 min. OGTT	N	49	29	20	24
	R	-0,138	0,197	0,324	0,183
	P	0,342	0,305	0,164	0,390
Glukoza 120 min. OGTT	N	48	27	21	23
	R	0,111	-0,089	0,089	-0,115
	P	0,452	0,660	0,700	0,601
Insulina na czczo	N	55	33	23	28
	R	<b>-0,272</b>	-0,178	-0,128	0,258
	P	<b>0,044</b>	0,322	0,562	0,185
Insulina 60 min. OGTT	N	48	28	20	24
	R	-0,129	0,182	0,162	0,216
	P	0,380	0,353	0,493	0,310
Insulina 120 min. OGTT	N	47	27	21	23
	R	0,096	-0,163	-0,119	0,062
	P	0,519#	0,415	0,607	0,778
HOMA IR	N	55	33	23	28
	R	-0,224	-0,253	-0,154	0,266
	p	0,101	0,155	0,483	0,170
% Trójglicerydów	N	55	33	23	28
	R	<b>0,349</b>	0,066	0,197	<b>0,717</b>
	P	<b>0,009</b>	0,713	0,367	<b>&lt;0,001</b>
ApoA1	N	55	33	23	28
	R	<b>0,412</b>	0,242	0,174	0,308
	p	<b>0,002</b>	0,174	0,428	0,110
ApoB	N	55	33	23	28
	R	<b>0,629</b>	<b>0,718</b>	<b>0,555</b>	<b>0,700</b>
	P	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,006</b>	<b>&lt;0,001</b>
WSDS	N	51	30	22	25
	R	<b>-0,404</b>	-0,232	0,004	-0,108
	P	<b>0,009</b>	0,216	0,985	0,605#
HSDS	N	52	30	22	25
	R	-0,172	-,185	-0,119	0,117
	P	0,221	0,327	0,597	0,579
BMI SDS	N	50	30	22	23
	R	<b>-0,391</b>	-186	-0,020	-0,067
	P	<b>0,005</b>	0,326	0,927	0,761#

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.

W tabeli 13. przedstawiono korelacje cholesterolu HDL (%) z parametrami biochemicznymi w grupach badanej i kontrolnej z podziałem na płeć. Stężenie cholesterolu HDL (%) wykazało ujemną istotną statystycznie korelację w grupie badanej mężczyzn ze stężeniem glukozy w 60 min OGTT. Ujemna istotna statystycznie korelacja występuje w grupie badanej, zarówno u mężczyzn i kobiet, oraz w grupie kontrolnej kobiet, pomiędzy stężeniem cholesterolu HDL (%) a stężeniem insuliny na czczo, stężeniem insuliny w 120 min OGTT, stężeniem trójglicerydów (%) oraz wskaźnikiem BMI SDS. Stężenie cholesterolu HDL (%) korelowało istotnie ujemnie ze wskaźnikiem HOMA IR w grupie badanej mężczyzn i w grupie kontrolnej kobiet. W całej grupie badanej i kontrolnej stężenie cholesterolu HDL (%) wykazało dodatnią korelację ze stężeniem ApoA1.

Tabela 13. Korelacje cholesterolu HDL (%) z parametrami biochemicznymi w grupach badanej i kontrolnej, z podziałem na płeć.

Parametr		% Cholesterolu HDL			
		Badani mężczyźni	Badane kobiety	Kontrolni mężczyźni	Kontrolne kobiety
Glukoza na czczo	N	56	33	23	28
	R	-0,262	0,157	-0,127	-0,064
	P	0,512	0,382	0,562	0,744
Glukoza 60 min. OGTT	N	50	29	20	24
	R	<b>-0,300</b>	-0,231	-0,0225	-0,338
	P	<b>0,035</b>	0,228	0,340	0,106
Glukoza 120 min. OGTT	N	49	27	21	23
	R	-0,192	-0,344	0,217	<b>-0,445</b>
	P	0,186	0,079	0,345	<b>0,033</b>
Insulina na czczo	N	56	33	23	28
	R	<b>-0,497</b>	<b>-0,392</b>	-0,243	<b>-0,454</b>
	P	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,024</b>	0,263	<b>0,015</b>
Insulina 60 min. OGTT	N	49	28	20	24
	R	<b>-0,284</b>	-0,132	-0,276	-0,377
	P	<b>0,047</b>	0,503	0,238	0,069
Insulina 120 min. OGTT	N	55	27	21	23
	R	<b>-0,392</b>	<b>-0,395</b>	-0,323	<b>-0,598</b>
	P	<b>0,003#</b>	<b>0,042</b>	0,153	<b>0,003</b>
HOMA IR 1-IR	N	56	33	23	28
	R	<b>-0,495</b>	-0,313	-0,196	<b>-0,443</b>
	p	<b>&lt;0,001</b>	0,076	0,370	<b>0,018</b>
% Trójglicerydy	N	56	33	23	28
	R	<b>-0,442</b>	<b>-0,665</b>	-0,192	<b>-0,603</b>
	P	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,379	<b>&lt;0,001</b>
ApoA1	N	56	33	23	28
	R	<b>0,762</b>	<b>0,765</b>	<b>0,419</b>	<b>0,762</b>
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,046</b>	<b>&lt;0,001</b>
ApoB	N	56	33	23	28
	R	-0,061	-0,066	<b>0,526</b>	-0,056
	P	0,656	0,715	<b>0,010</b>	0,777
WSDS	N	51	30	22	25
	R	-0,246	-0,257	0,052	-0,249
	P	0,082	0,170	0,819	0,230#
HSDS	N	52	30	22	25
	R	-0,064	0,005	0,226	0,379
	P	0,652	0,980	0,311	0,0613
BMI SDS	N	50	30	22	23
	R	<b>-0,349</b>	<b>-0,445</b>	-0,046	<b>-0,482</b>
	P	<b>0,013</b>	<b>0,014</b>	0,837	<b>0,020</b>

W tabeli 14. przedstawiono korelacje trójglicerydów (%) z parametrami biochemicznymi w grupach badanej i kontrolnej, z podziałem na płeć. Wykazano dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem trójglicerydów (%) a stężeniem insuliny na czczo oraz wskaźnikiem HOMA IR i stężeniem ApoB w grupie badanej mężczyzn i w grupie kontrolnej kobiet. W grupie badanej kobiet dodatnią istotną statystycznie korelację wykazano pomiędzy stężeniem trójglicerydów (%) a stężeniem glukozy w 120 min testu OGTT oraz stężeniem insuliny w 120 min testu OGTT.

Tabela 14. Korelacje trójglicerydów (%) z parametrami biochemicznymi w grupach badanej i kontrolnej, z podziałem na płeć.

Parametr		% Trójglicerydów			
		Badani mężczyźni	Badane kobiety	Kontrolni mężczyźni	Kontrolne kobiety
Glukoza na czczo	N	56	33	23	28
	R	0,212	0,172	-0,060	-0,069
	P	0,117	0,339	0,785	0,725
Glukoza 60 min. OGTT	N	50	29	20	<b>24</b>
	R	-0,017	0,323	0,154	<b>0,447</b>
	P	0,908	0,089	0,517	<b>0,028</b>
Glukoza 120 min. OGTT	N	49	<b>27</b>	21	23
	R	0,087	<b>0,416</b>	-0,018	0,119
	P	0,552	<b>0,031</b>	0,937	0,588
Insulina na czczo	N	<b>56</b>	33	23	<b>28</b>
	R	<b>0,315</b>	0,316	0,254	<b>0,439</b>
	P	<b>0,018</b>	0,073	0,241	<b>0,019</b>
Insulina 60 min. OGTT	N	49	28	20	24
	R	0,063	0,118	0,267	0,359
	P	0,667	0,360	0,255	0,085
Insulina 120 min. OGTT	N	48	<b>27</b>	21	23
	R	0,258	<b>0,463</b>	-0,040	0,275
	P	0,76	<b>0,015</b>	0,861	0,204
HOMA IR	N	<b>56</b>	33	23	<b>28</b>
	R	<b>0,324</b>	0,294	0,191	<b>0,472</b>
	p	<b>0,15</b>	0,097	0,382	<b>0,011</b>
ApoA1	N	56	33	23	28
	R	-0,089	-0,294	-0,286	-0,220
	P	0,513	0,010	0,185	0,260
ApoB	N	<b>56</b>	33	23	<b>28</b>
	R	<b>0,325</b>	0,229	-0,198	<b>0,512</b>
	p	<b>0,015</b>	0,200	0,364	<b>0,005</b>
WSDS	N	51	30	22	25
	R	-0,075	0,108	0,240	0,222
	P	0,601	0,570	0,281	0,287#
HSDS	N	52	30	22	25
	R	-0,077	-0,014	0,266	-0,101
	P	0,585	0,943	0,231	0,631
BMI SDS	N	50	30	22	<b>23</b>
	R	-0,060	0,345	0,050	<b>0,503</b>
	P	0,677	0,055	0,825	<b>0,014</b>

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.

3. Analiza parametrów w zależności od wartości ciśnienia tętniczego w grupie badanej i kontrolnej.

W tabeli 15. przedstawiono porównanie wartości parametrów z uwzględnieniem występowania podwyższonego ciśnienia skurczowego krwi w grupach badanej i kontrolnej. 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). Osoby grupy badanej z podwyższonym ciśnieniem skurczowym wykazały wyższe stężenie insuliny na czczo oraz HOMA IR w porównaniu z grupą kontrolną z prawidłowym ciśnieniem skurczowym. Istotnie wyższe stężenie trójglicerydów (%) występuje u osób grupy badanej zarówno z prawidłowym jak i podwyższonym ciśnieniem skurczowym w porównaniu do grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem skurczowym. Osoby grupy badanej prezentujące prawidłowe ciśnienie skurczowe krwi wykazują istotnie niższy WSDS i BMI SDS aniżeli osoby grupy badanej i kontrolnej z podwyższonym ciśnieniem skurczowym.

Tabela 15. Wartości badanych parametrów z uwzględnieniem występowania podwyższonego i prawidłowego ciśnienia skurczowego krwi w grupach badanej i kontrolnej.

		Badana		Kontrolna		
		prawidłowe skurczowe	podwyższone skurczowe	prawidłowe skurczowe	podwyższone skurczowe	p
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	64 33,0 [16,6-80,7] <b>a</b>	11 18,3 [13,6-61,4]	41 18,0 [10,5-29,7] <b>a</b>	7 20,3 [14,9-44,78]	<b>0,037</b> ^ <b>a=0,024</b>
Glukoza na czczo [mg/dl]	N wartość zakres	64 86,5 [80,5-94,0]	11 92,0 [85,0-104,0]	41 86,0 [81,0-89,0]	7 93,0 [89,0-101,0]	<b>0,009</b> ^ w teście post-hoc nie stwierdzono istotnych różnic
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	57 103,0 [86,0-124,0]	10 97,5 [93,0-103,0]	37 98,0 [82,0-123,0]	11 125,0 [110,0-129,0]	0,286 ^
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	55 97,0 [81,0-119,0]	10 95,5 [93,0-103,0]	36 86,0 [74,0-107,5]	6 101,0 [84,0-112,0]	0,294 ^
Insulina na czczo [mIU/L]	N wartość zakres	64 19,4 [14,1-25,3] <b>a</b>	11 24,8 [20,5-29,3] <b>b</b>	41 16,2 [13,5-23,8] <b>b,c</b>	7 35,3 [25,5-37,8] <b>a,c</b>	<b>0,001</b> ^ <b>a=0,034</b> <b>b=0,044</b> <b>c=0,007</b>
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	55 80,1 [44,8-103,8]	10 102,0 [73,5-120,0]	37 60,9 [37,3-104,6]	5 123,6 [99,2-130,2]	0,091 ^
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	54 60,2 [39,5-89,1]	10 60,8 [38,0-105,0]	36 49,6 [30,1-80,3]	6 87,4 [29,7-107,0]	0,515 ^
HOMA IR	N wartość zakres	64 4,15 [2,93-5,93] <b>a</b>	11 6,11 [4,70-6,58] <b>b</b>	41 3,56 [2,69-5,23] <b>b,c</b>	7 7,91 [5,60-8,87] <b>a,c</b>	<b>&lt;0,001</b> ^ <b>a=0,024</b> <b>b=0,011</b> <b>c=0,004</b>
C-peptyd [ng/ml]	N wartość zakres	64 3,65 [2,61-4,63]	11 4,12 [3,90-6,34]	41 3,47 [2,57-4,36]	7 4,06 [3,26-5,22]	<b>0,043</b> ^

hsCRP [mg/l]	N wartość zakres	60 0,55 [0,18-2,33]	11 2,78 [0,34-4,94]	41 0,27 [0,13-0,83]	7 1,58 [0,24-10,1]	<b>0,022</b> ^
% <i>Cholesterolu całkowitego</i>	N wartość zakres	64 109,6 [99,1- 125,7]	11 112,2 [97,5-126,3]	41 103,2 [92,1- 115,3]	7 96,7 [93,0-105,9]	0,098 ^
% <i>Cholesterolu LDL</i>	N wartość zakres	64 121,2 [101,7- 144,6]	10 126,6 [94,0142,1]	41 104,6 [89,8- 129,2]	7 108,5 [71,8-126,3]	0,098 ^
% <i>Cholesterolu HDL</i>	N wartość zakres	64 92,8 [80,7- 106,7]	11 90,4 [77,5-93,0]	41 98,2 [88,8- 116,3]	7 86,1 [75,4-115,4]	0,094 ^
% <i>Trójglicerydów</i>	N wartość zakres	64 128,9 [91,7- 179,7] <b>a</b>	11 165,3 [104,5- 247,0] <b>b</b>	41 91,2 [68,4- 130,0] <b>a,b</b>	7 100,7 [83,6-174,8]	<b>0,005</b> ^ <b>a=0,016</b> <b>b=0,021</b>
<i>ApoA1</i>	N wartość zakres	64 142,0 [121,4- 163,5]	11 132,0 [131,0- 149,0]	41 147,0 [136,0- 159,5]	7 137,0 [127,0- 162,0]	0,528 ^
<i>ApoB</i>	N wartość zakres	64 67,0 [59,0-81,0]	11 67,0 [61,0-80,0]	41 65,0 [57,0-72,0]	7 59,0 [53,0-63,0]	0,171 ^
<i>WSDS</i>	N wartość zakres	61 0,52 [-0,78- 2,21] <b>a,b</b>	10 3,50 [1,52-4,55] <b>a</b>	38 0,87 [-0,10- 2,71]	7 2,22 [1,88-5,41] <b>b</b>	<b>0,001</b> ^ <b>a=0,007</b> <b>b=0,015</b>
<i>HSDS</i>	N wartość zakres	62 -0,30 [-1,46- 0,77]	10 0,54 [0,21-1,15]	38 0,08 [-0,63- 1,00]	7 0,88 [0,00-1,43]	0,050 ^
<i>BMI SDS</i>	N wartość zakres	60 0,59 [-0,47- 2,57] <b>a,b</b>	10 4,50 [2,05-5,28] <b>a</b>	38 0,81 [-0,24- 2,62]	7 2,96 [1,42-8,53] <b>b</b>	<b>0,003</b> ^ <b>a=0,041</b> <b>b=0,034</b>

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.



W tabeli 16. przedstawiono porównanie wartości parametrów z uwzględnieniem występowania prawidłowego i podwyższonego ciśnienia rozkurczowego krwi w grupach badanej i kontrolnej. W grupie z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym stężenie sirtuiny1 było istotnie wyższe w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej ( 28,9 vs 17,3 ng/ml). Istotnie wyższe stężenie glukozy na czczo (91,5 vs 86,0 mg/dl), CRP (2,23 vs 0,27 mg/l ) i trójglicerydów % (166,5 vs 92,8%) obecne jest u osób grupy badanej z podwyższonym ciśnieniem rozkurczowym w porównaniu z osobami grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym. Istotnie wyższe stężenie insuliny na czczo (23,8 vs 16,2 mIU/L) i wyższy wskaźnik HOMA IR (5,88 vs 3,56) stwierdzono u osób grupy badanej z powyższym ciśnieniem rozkurczowym aniżeli w grupie kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym. Istotnie wyższe stężenie cholesterolu LDL (%) (121,4 vs 104,4 %) występowało u osób grupy badanej prezentującej prawidłowe wartości ciśnienia rozkurczowego w porównaniu z grupą kontrolną z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym. W grupie badanej osoby z podwyższonym ciśnieniem rozkurczowym wykazały istotnie wyższe WSDS (2,71 vs 0,33 ) i większy wskaźnik BMI SDS (2,59 vs 0,30) w porównaniu z osobami z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym.

Tabela 16. Wartości parametrów z uwzględnieniem występowania prawidłowego i podwyższonego ciśnienia rozkurczowego krwi w grupach badanej i kontrolnej.

		Badana		Kontrolna		
		prawidłowe rozkurczowe	podwyższone rozkurczowe	prawidłowe rozkurczowe	podwyższone rozkurczowe	p
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	55 28,9 [16,4-79,8] <b>a</b>	20 27,0 [16,2-69,0]	41 17,3 [10,5-22,2] <b>a</b>	7 24,7 [12,7-62,0]	<b>0,038 ^</b> <b>a=0,048</b>
Glukoza na czczo [mg/dl]	N wartość zakres	55 86,0 [80,0-93,0]	20 91,5 [85,5-101,5] <b>a</b>	41 86,0 [81,0-89,0] <b>a</b>	7 93,0 [89,0-95,0]	<b>0,007 ^</b> <b>a=0,037</b>
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	50 100,5 [84,0-119,0]	17 120,0 [96,0-140,0]	36 99,5 [83,0-125,0]	107,0 [96,0-129,0]	0,288 ^
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	48 95,0 [80,5-117,0]	17 102,0 [95,0-114,0]	36 86,0 [75,5-107,5]	6 101,0 [73,0-117,0]	0,142 ^
Insulina na czczo [mIU/L]	N wartość zakres	55 18,7 [13,7-24,3] <b>a</b>	20 23,8 [20,4-29,6] <b>b</b>	41 16,2 [13,5-23,8] <b>b,c</b>	7 31,6 [25,5-35,3] <b>a,c</b>	<b>0,001 ^</b> <b>a=0,0327</b> <b>b=0,022</b> <b>c=0,011</b>
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	49 74,6 [44,8-102,7]	16 102,0 [76,0-116,2]	36 62,0 [40,6-102,5]	6 126,9 [55,7-185,0]	0,098 ^
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	47 59,4 [32,0-87,0]	17 79,3 [47,7-98,4]	36 49,6 [29,7-4,36]	6 87,4 [39,9-107,0]	0,203 ^
HOMA IR	N wartość zakres	55 4,06 [2,68-5,55] <b>a,b</b>	20 5,88 [4,68-6,51] <b>a,c</b>	41 3,56 [2,69-5,23] <b>c,d</b>	7 6,97 [5,60-8,11] <b>b,d</b>	<b>&lt;0,001 ^</b> <b>a=0,030</b> <b>b=0,017</b> <b>c=0,006</b> <b>d=0,005</b>
C-peptyd [ng/ml]	N wartość zakres	55 3,58 [2,59-4,80]	20 4,01 [3,71-4,82]	41 3,47 [2,57-4,36]	7 4,06 [3,26-5,22]	0,149 ^
hsCRP [mg/l]	N wartość zakres	53 0,42 [0,19-1,27]	18 2,23 [0,58-5,20] <b>a</b>	41 0,27 [0,13-0,81] <b>a</b>	7 1,58 [0,24-4,52]	<b>0,008 ^</b> <b>a=0,013</b>
% Cholesterolu całkowitego	N wartość zakres	55 110,3 [102,1-126,5]	20 109,1 [96,8-124,6]	41 101,4 [91,1-112,9]	7 105,9 [104,1-117,6]	0,061 ^
% Cholesterolu LDL	N wartość zakres	55 121,4 [106,9-146,4] <b>a</b>	19 121,4 [94,0-142,1]	41 104,4 [85,3-124,0] <b>a</b>	7 126,3 [108,5-132,7]	<b>0,432 ^</b> <b>a=0,031</b>
%	N	55	20	41	7	0,056 ^

<i>Cholesterolu HDL</i>	wartość zakres	93,4 [85,5-108,58]	88,6 [75,9-94,2]	97,8 [87,4-116,3]	98,2 [84,9-115,4]	
% <i>Trójglicerydów</i>	N wartość zakres	55 127,7 [88,9-167,7]	20 166,5 [113,2-203,1] <b>a</b>	41 92,8 [66,5-130,3] <b>a</b>	7 89,3 [76,0-108,3]	<b>0,005 ^</b> <b>a=0,008</b>
<i>ApoA1</i>	N wartość zakres	55 151,0 [122,0-165,0]	20 132,0 [121,5-146,0]	41 143,0 [136,0-158,0]	7 159,5 [127,0-168,0]	0,306 ^
<i>ApoB</i>	N wartość zakres	55 68,0 [60,0-81,0]	20 66,0 [57,5-79,0]	41 65,0 [56,0-72,0]	7 61,0 [58,0-65,0]	0,299 ^
<i>WSDS</i>	N wartość zakres	53 0,33 [-1,00-1,50] <b>a,b</b>	18 2,71 [0,58-4,05] <b>a</b>	38 0,87 [-0,10-2,71]	7 2,22 [1,80-3,02] <b>b</b>	<b>0,006 ^</b> <b>a=0,040</b> <b>b=0,045</b>
<i>HSDS</i>	N wartość zakres	54 -0,30 [-1,45-0,63]	18 0,54 [-0,83-1,41]	38 0,08 [+0,63-1,00]	7 0,88 [0,00-1,43]	0,055 ^
<i>BMI SDS</i>	N wartość zakres	52 0,30 [-0,52-2,57] <b>a</b>	18 2,59 [1,24-5,21] <b>a</b>	38 1,20 [-0,23-2,62]	7 2,96 [1,37-6,41]	<b>0,015 ^</b> <b>a=0,037</b>

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

W tabeli 17. przedstawiono częstość występowania podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi w grupach badanej i kontrolnej. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi między grupami.

Tabela 17. Częstość występowania podwyższonego ciśnienia w grupach badanej i kontrolnej.

	Grupa badana		Grupa kontrolna		p
	prawidłowe n (%)	podwyższone n (%)	prawidłowe n (%)	podwyższone n (%)	
ciśnienie skurczowe	64 (85,3)	11 (14,7)	41 (85,4)	7 (14,6)	0,899
ciśnienie rozkurczowe	55 (73,3)	20 (26,7)	41 (85,4)	7 (14,6)	0,392
ciśnieni skurczowe i/lub rozkurczowe	54 (78,0)	21 (28,0)	38 (79,2)	10 (20,8)	0,372

W tabeli 18. przedstawiono częstość występowania podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi w grupach badanej i kontrolnej z uwzględnieniem płci osób badanych. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w występowaniu podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi w opisanych grupach.

Tabela 18. Ciśnienie tętnicze krwi w grupach badanej i kontrolnej z uwzględnieniem płci osób badanych.

	Badani mężczyźni		Badane kobiety		Kontrolni mężczyźni		Kontrolne kobiety		p
	prawidłowe n (%)	podwyższone n (%)	prawidłowe n (%)	podwyższone n (%)	prawidłowe n (%)	podwyższone n (%)	prawidłowe n (%)	podwyższone n (%)	
ciśnienie skurczowe	41 (83,7)	8 (16,3)	23 (88,5)	4 (11,5)	19 (82,6)	4 (17,4)	22 (88,0)	3 (12,0)	0,899
ciśnienie rozkurczowe	35 (71,4)	14 (28,6)	20 (76,9)	6 (23,1)	19 (82,6)	4 (17,4)	22 (88,0)	3 (12,0)	0,392

W tabeli 19. przedstawiono porównanie częstości występowania nadciśnienia w grupie badanej w trakcie leczenia i aktualnie, nie stwierdzając istotnych statystycznie różnic.

Tablica 19. Porównanie występowania nadciśnienia w grupie badanej w trakcie leczenia i aktualnie w chwili badania.

		ciśnienie krwi po leczeniu		p
		prawidłowe n (% z całości)	podwyższone n (% z całości)	
ciśnienie krwi w trakcie leczenia	prawidłowe	43 (55,8)	13 (16,9)	0,844*
	podwyższone	13 (16,9)	8 (10,4)	

\*Test kolejności znaków

#### 4. Retrospektywna analiza charakterystyki grupy badanej

Przeprowadzoną analizę regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 20. Wykazano, że płeć żeńska oraz wysokie stężenie białka sirtuiny1 we krwi po zakończonym leczeniu ALL stanowią czynniki predysponujące do przynależności do grupy badanej.

Tabela 20. Regresja logistyczna

SIRT1	$\beta$	błąd standardowy	statystyka Walda	p	OR	95%CI
Wyraz wolny	-0,920	0,668	1,900	0,168	0,398	0,108-1,474
Stężenie SIRT1	0,567	0,199	8,105	0,004	1,763	1,193-2,604
Płeć żeńska	-0,812	0,371	4,794	0,029	0,444	0,214-0,918
Dopasowanie modelu:	$\chi^2$ Hosmer-Lemeshow = 8,949; p=0,347					

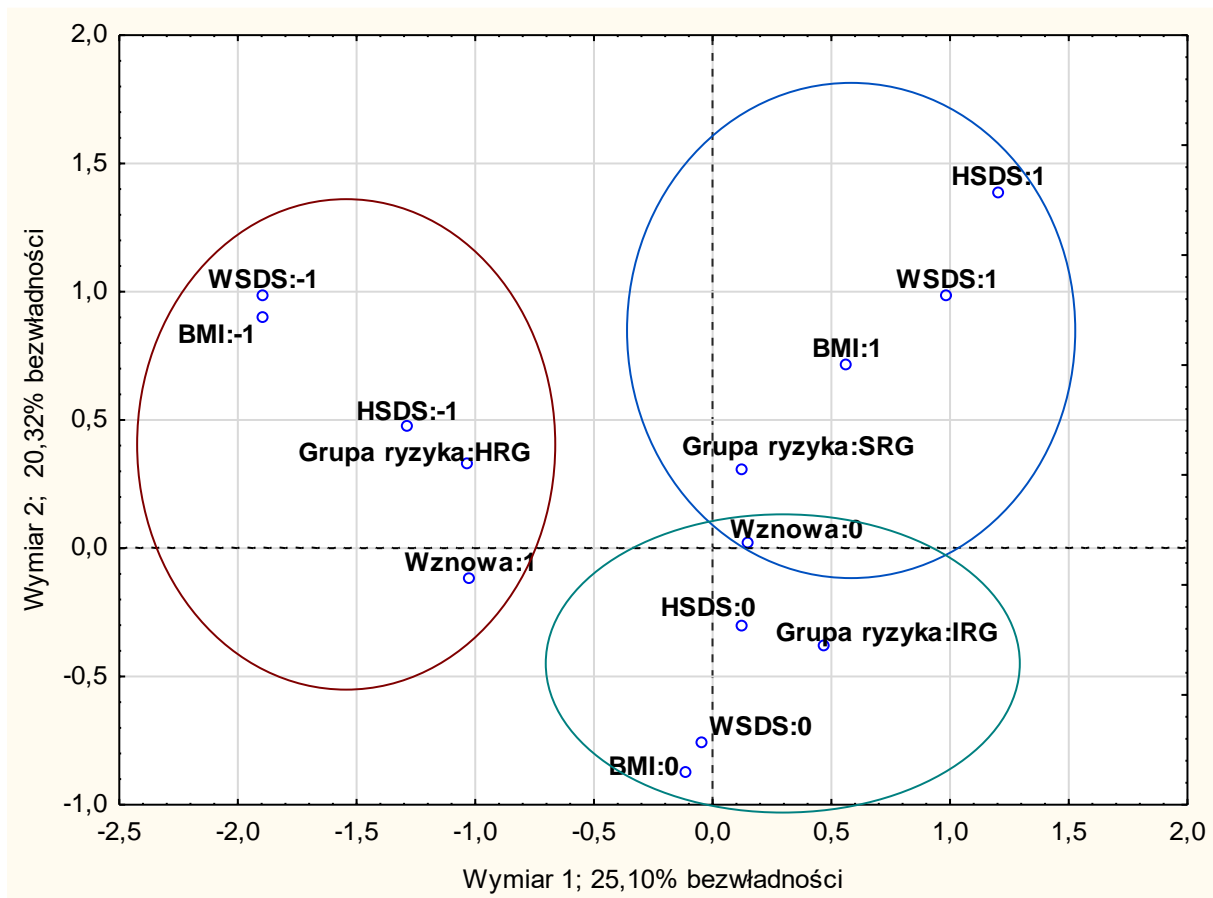
W analizie korespondencji powiązано wyniki badań antropometrycznych z grupą ryzyka i występowaniem nawrotu choroby nowotworowej w przeszłości, co przedstawia figura 1.

W grupie badanej osoby z prawidłowymi wartościami parametrów antropometrycznych (HSDS, WSDS: -1,66 do 1,66) klasyfikowane były głównie do grupy pośredniego ryzyka ALL (IRG) oraz prezentowały mały odsetek nawrotów choroby nowotworowej.

W grupie badanej osoby z wysokimi wartościami parametrów antropometrycznych (HSDS, WSDS: >1,66) klasyfikowane były głównie do grupy standardowego ryzyka ALL (SRG) oraz prezentowały mały odsetek nawrotów choroby nowotworowej.

Wzrost częstości nawrotów choroby nowotworowej oraz klasyfikację do grupy wysokiego ryzyka ALL (HRG) obserwujemy w grupie badanej u osób z niskimi wartościami wskaźników antropometrycznych (HSDS, WSDS: <-1,66).

Figura 1. Graficzne przedstawienie wyników analizy korespondencji powiązania aktualnych wartości parametrów antropometrycznych z grupą ryzyka i wystąpieniem wznowy w



-1 oznacza wartość parametrów antropometrycznych  $< -1,66$

0 oznacza wartość parametrów antropometrycznych  $-1,66$  do  $1,66$

1 oznacza wartość parametrów antropometrycznych  $> 1,66$

5. Analiza stanu klinicznego pacjentów ze względu na zastosowany schemat leczenia i ryzyko nawrotu choroby.

U pacjentów grupy badanej porównano parametry laboratoryjnych w odniesieniu do zastosowanych dwóch schematów leczenia: ALL IC 2009 (ALL9) oraz ALL IC 2002 (ALL2). (tab.21) U osób z grupy leczonych według schematu ALL9, wykazano istotnie niższe w porównaniu z osobami leczonymi według schematu ALL2:

- stężenia glukozy w OGTT
- stężenia insuliny w OGTT
- wskaźnik HOMA IR (3,59 vs 4,7),
- stężenie hemoglobiny glikowanej (4,2 vs 4,8 mg/dl),
- stężenie trójglicerydów (mediana 64,5 vs 82 mg/dl).

Istotnie statystycznie wyższy wskaźnik QUICKI wykazano w grupie badanej u osób leczonych schematem ALL9 (mediana 0,32) w porównaniu z osobami leczonymi według schematu ALL2 (mediana 0,30).

Tabela 21. Parametry laboratoryjne w badanej grupie z uwzględnieniem schematu leczenia\*

<i>Parametr</i>		<i>ALL IC 2002</i> <i>N</i> <i>Mediana [Q1-Q3]</i>	<i>ALL IC 2009</i> <i>N</i> <i>Mediana [Q1-Q3]</i>	<i>p</i>
<i>Glukoza na czczo</i> <i>[mg/dl]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	45 90,0 [84,0-98,0]	32 88,0 [78,0-93,0]	<b>0,047#</b>
<i>Glukoza 60 min.</i> <i>OGTT [mg/dl]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	40 113,0 [95,0-131,0]	30 93,5 [83,0-114,0]	<b>0,026#</b>
<i>Glukoza 120 min.</i> <i>OGTT [mg/dl]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	38 102 [93,0-119,0]	29 93,0 [77,0-104,0]	<b>0,038#</b>
<i>Insulina na czczo</i> <i>[mIU/L]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	45 21,6 [17,9-29,3]	32 16,1 [12,6-22,5]	<b>0,002#</b>
<i>Insulina 60 min.</i> <i>OGTT [mIU/L]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	38 89,7 [58,7-145,0]	30 57,8 [33,5-102,0]	<b>0,010#</b>
<i>Insulina 120 min.</i> <i>OGTT [mIU/L]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	38 73,6 [49,5-95,0]	28 44,6 [25,2-63,5]	<b>0,002#</b>
<i>HOMA IR</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	45 4,7 [3,63-6,43]	32 3,59 [2,49-4,88]	<b>0,002#</b>
<i>QUICKI</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	45 0,30 [0,29-0,31]	32 0,32 [0,30-0,33]	<b>0,002#</b>
<i>HbA1c [%]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	45 4,80 [4,50-5,10]	32 4,20 [3,85-4,45]	<b>&lt;0,001#</b>
<i>Trójglicerydy</i> <i>[mg/dl]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	45 82,0 [68,00-113,00]	32 64,5 [52,0-94,5]	<b>0,028#</b>

\*przedstawiono tylko istotne statystycznie różnice.

W przypadku stwierdzenia braku zgodności z rozkładem normalnym wyników chociaż w jednej z korelowanych grup, analizy wykonywano na danych surowych z zastosowaniem testu korelacji rang Spearmana, a ich wyniki oznaczono „#” przy wartości prawdopodobieństwa.



Porównano wyniki badanych parametrów laboratoryjnych pacjentów grupy badanej ze względu na wystąpienie nawrotu choroby nowotworowej (tab.22), stwierdzając w grupie bez nawrotu choroby istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 we krwi oraz istotnie niższe parametry czerwonych krwinek: MCV i MCH w porównaniu z pacjentami z przynajmniej jednym nawrotem choroby nowotworowej.

Tabela 22. Porównanie parametrów laboratoryjnych ze względu na wystąpienie nawrotu ALL (grupa badana).

<i>Parametr</i>		<i>brak wznowy</i> <i>N</i>	<i>wznowa</i> <i>N</i>	<i>p</i>
		<i>Mediana [Q1-Q3]</i>	<i>Mediana [Q1-Q3]</i>	
<i>SIRT1 [ng/ml]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	75 37,7 [16,6-86,0]	11 20,6 [10,3-28,8]	<b>0,033#</b>
<i>MCV [fl]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	75 87,1 [83,4-90,3]	11 90,9 [87,7-95,3]	<b>0,004#</b>
<i>MCH [pg]</i>	<i>n</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	75 28,3 [27,4-29,3]	11 29,0 [28,0-31,6]	<b>0,048#</b>

## 6. Polimorfizmy genu *SIRT1*

Gen *SIRT1* oraz białko sirtuina1 posiadają istotny wpływ na właściwą regulację gospodarki węglowodanowej i lipidowej organizmu. Biorą również udział w szlakach odpowiedzialnych za proces onkogenezy. W grupie badanej i w grupie kontrolnej, u każdego pacjenta oznaczono 6 polimorfizmów genu *SIRT1*.

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 2273773 związany jest z ryzykiem wstąpienia nadciśnienia tętniczego. Szczególnie często wysokie ciśnienie tętnicze obserwowane jest u osób prezentujących genotyp TT polimorfizmu w porównaniu z genotypami CC i CT [9].

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 12778366 o genotypie TT zwiększa ryzyko wystąpienia zaburzeń gospodarki węglowodanowej i rozwoju cukrzycy typu 2 [3].

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 10509291 również predysponuje do rozwoju cukrzycy typu 2.

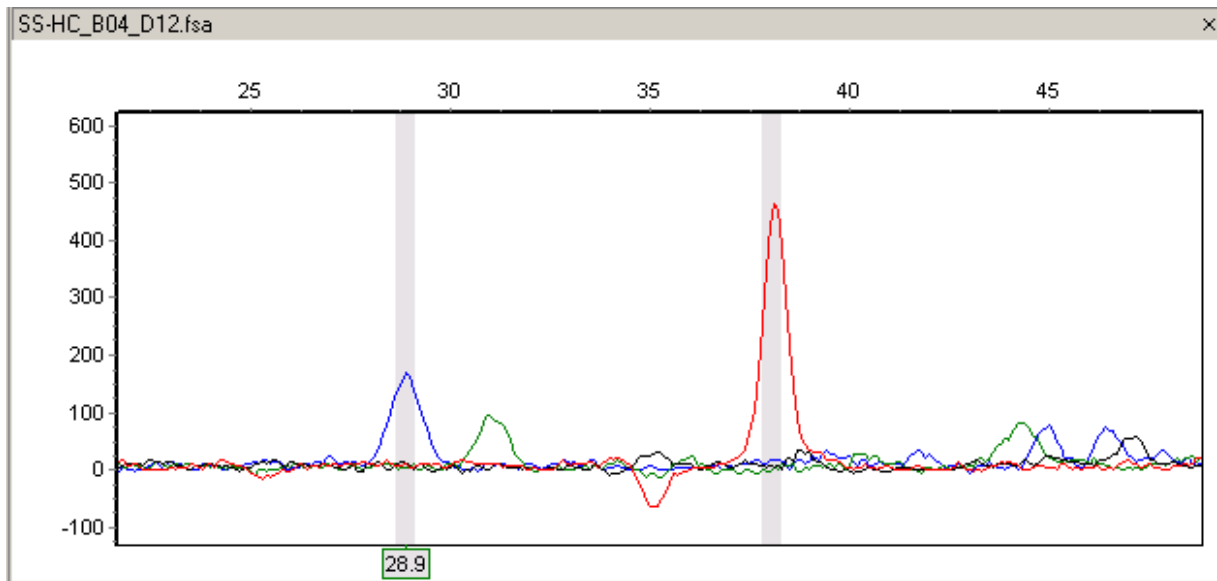
Wyższe ryzyko nieprawidłowego metabolizmu glukozy występuje u pacjentów z genotypem AA w porównaniu do genotypu TT [31].

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 7895833, predysponuje do rozwoju nadmiernej masy ciała, szczególnie genotyp GG i AG.

Polimorfizmy genu *SIRT1* rs 1082313 oraz rs 932658 to nieopisane dotąd literaturowo zmiany genetyczne, występujące wysoką częstością wśród populacji europejskiej, co skłoniło mnie do ich wyboru i oceny ich udziału w regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej.

## Polimorfizm genu *SIRT1* rs 2273773

Przykładowy elektroforeogram polimorfizm genu *SIRT1* rs 2273773 przedstawiono na ryc. 2.



Ryc. 2. Przykładowy wynik elektroforezy DNA oznaczonego polimorfizmu w genie *SIRT1* rs 2273773 genotyp G/A i T/T.

G – niebieski, A – zielony, T – czerwony, C- czarny

Dla polimorfizmu rs2273773, określono występowanie dwóch genotypów TT i TC w grupie badanej i kontrolnej. W grupie badanej genotyp TT występował u 76 z 81 osób a genotyp TC u 5 z 81 osób, w grupie kontrolnej genotyp TT występował 43 z 49 osób, a genotyp TC u 6 z 49 osób, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic częstości występowania poszczególnych genotypów. Wyniki badanych parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla określonych genotypów polimorfizmu rs2273773 przedstawiają tabele 23 a i b. 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).

Tabela 23.

Tabela 23a. Analiza częstości występowania genotypów polimorfizmu rs2273773 wśród osób grupy badanej i kontrolnej.

Gen	Badana N polimorfizmu (% grupy)	Kontrolna N polimorfizmu (% grupy)	p dla $\chi^2$
rs2273773			
TT	76 (93,8)	43 (7,8)	0,228
TC	5 (6,2)	6 (12,2)	

Tabela 23b. Polimorfizm genu *SIRT1* rs 2273773 – charakterystyka parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów w grupie badanej i kontrolnej.

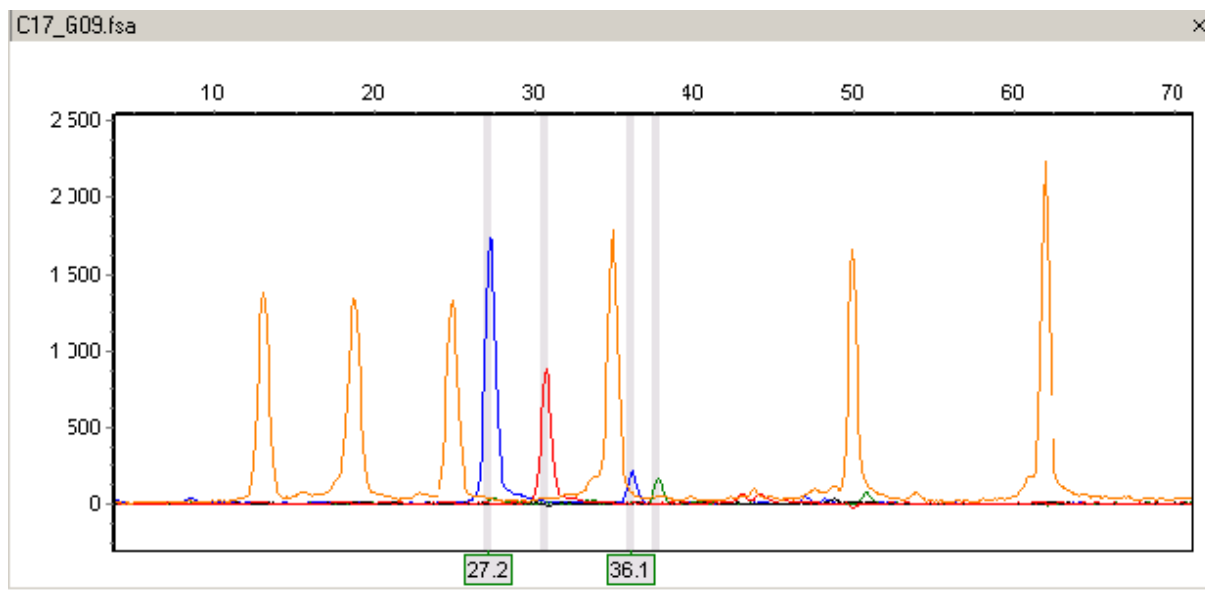
Parametr		Badana		Kontrolna		P dla wszystkich porównań
		TT	TC	TT	TC	
Płeć K/M		31/50		26/23		0,100
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	76 38,8 <b>a</b> [16,3-83,1]	5 28,8 [13,1- 30,9]	43 17,3 <b>a</b> [10,5-29,7]	6 21,1 [20,0- 33,6]	<b>0,010</b> ^ <b>a p= 0,005</b>
Glukoza na czczo [mg/dl]	N wartość zakres	76 88,7 ±9,3	5 97,8 ±9,8	43 87,4 ±7,08	6 86,7 ±4,9	0,078
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	66 102,1 (79,1- 131,9)	5 127,9 (94,2- 173,7)	36 100,9 (75,0- 135,6)	6 119,9 (98,5- 145,9)	0,152
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	64 96,5 [83,5- 114,5]	5 109,0 [96,0- 131,0]	36 86,0 [74,0- 106,5]	6 112,0 [108,0- 118,0]	<b>0,022</b> ^ test post- hoc nie wykazał istotnych różnic
Insulina na czczo [mIU/L]	N wartość zakres	76 19,9 (12,7- 31,1)	5 20,2 (15,2- 26,9)	43 18,4 (12,0- 28,3)	6 27,1 (16,7- 44,1)	0,244
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	64 70,4 (37,5- 132,3)	5 71,4 (45,4- 112,2)	36 61,6 (29,4- 129,1)	6 91,3 (54,5- 152,9)	0,531
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	63 56,3 (40,0- 102,4)	5 80,9 (61,8- 106,0)	36 47,1 (24,9- 89,1)	6 77,1 (33,9- 175,2)	0,109
C-peptyd [ng/ml]	N wartość zakres	76 3,87 (2,67- 5,59)	5 3,54 (2,70- 4,62)	43 3,55 (2,35- 5,36)	6 4,26 (2,65- 6,87)	0,544
HOMA IR	N wartość zakres	76 4,34 (2,65- 7,13)	5 4,87 (3,38- 7,01)	43 3,97 (2,49- 6,33)	6 5,79 (3,43- 9,79)	0,288
HbA1c	N wartość zakres	76 4,53 (4,00- 5,12)	5 4,86 (3,99- 5,93)	43 4,66 (4,17- 5,20)	6 4,87 (4,14- 5,73)	0,268

<i>Cholesterol całkowity %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	75 112,2 [102,1- 125,0]	5 112,8 [111,5- 115,2]	43 103,4 [93,0- 117,6]	6 96,7 [86,3- 110,5]	0,057 ^
<i>HDL %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	76 92,2 (74,1- 114,7)	5 80,4 (64,0- 101,0)	43 101,5 (82,0- 125,7)	6 98,0 (75,4- 127,3)	<b>0,043</b> <i>test post-hoc nie wykazał istotnych różnic</i>
<i>LDL %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	74 123,0 (93,3- 162,2)	5 117,2 (93,9- 146,1)	43 106,6 (80,3- 141,5)	6 102,8 (78,6- 134,5)	<b>0,043</b> <i>test post-hoc nie wykazał istotnych różnic</i>
<i>Trójglicerydy %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	76 131,4 <b>a</b> (76,0-227,3)	5 187,2 (105,2- 333,1)	43 91,2 <b>a</b> (47,6- 174,5)	6 98,8 (59,8- 162,8)	<b>0,003</b> <b>a p=0,019</b>
<i>ApoA1 [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	76 142,2 (117,8- 171,6)	5 133,9 (117,3- 152,9)	43 148,0 (127,8- 171,4)	6 133,7 (111,9- 159,7)	0,343
<i>ApoB [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	76 70,0 ±15,0	5 65,6 ±12,3	43 64,4 ±11,7	6 68,2 ±8,8	0,208
<i>CRP [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	73 0,65 [0,19- 2,33]	5 0,20 [0,15- 0,22]	43 0,29 [0,19- 0,95]	6 0,70 [0,11- 4,66]	0,213 ^
<i>WSDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	70 0,68 [-0,78- 2,62]	5 0,74 [-1,14- 1,00]	40 0,98 [-0,00- 2,71]	6 2,19 [1,52- 3,46]	0,101 ^
<i>HSDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	70 -0,29 ± 1,54	5 0,04 ±0,97	40 0,30 ±1,32	6 0,10 ±0,86	0,223
<i>BMI SDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	69 0,72 [-0,54- 2,76]	5 0,33 [-0,42- 1,24]	38 1,19 [-0,24- 2,82]	6 2,40 [1,52- 3,46]	0,161 ^

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 12778366

Przykładowy elektroforeogram polimorfizm genu *SIRT1* rs 12778366 przedstawiono na ryc. 3.



Ryc. 3. Przykładowy wynik elektroforezy DNA oznaczonego polimorfizmu w genie *SIRT1* rs 12778366 genotyp G/T i G/A.

G – niebieski, A – zielony, T – czerwony, C- czarny

Dla polimorfizmu genu *SIRT1* rs12778366, określono występowanie dwóch genotypów TT i TC w grupie badanej i kontrolnej. W grupie badanej genotyp TT występował u 54 z 78 osób a genotyp TC u 24 z 78 osób, w grupie kontrolnej genotyp TT występował 32 z 48 osób, a genotyp TC u 16 z 48 osób, częstości występowania poszczególnych genotypów nie różniły się istotnie. Charakterystykę wyników parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów polimorfizmu rs 12778366 przedstawiono w tabelach 24 a i b.

Stężenie sirtuiny1 było istotnie wyższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej w obu genotypach TT(43,2vs 19,4 ng/ml) i TC (32,9 vs 12,5 ng/ml).

W obu grupach badanej i kontrolnej osoby z genotypem TT charakteryzowały się wyższym stężeniem sirtuiny1 w stosunku to genotypu TC.

Wśród osób z genotypem TC wykazano wyższe stężenie trójglicerydów (%)w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej (145,2 vs 84,6 %). Pozostałe badane parametry nie różniły się istotnie.

Tabela 24.

Tabela 24a. Analiza częstości występowania genotypów polimorfizmu rs 12778366 w grupie badanej i w grupie kontrolnej.

Gen	Badana N polimorfizmu (% grupy)	Kontrolna N polimorfizmu (% grupy)	p dla $\chi^2$
rs12778366			
TT	54 (67,5)	32 (65,3)	0,943
TC	24 (30,0)	16 (32,6)	
CC	2 (2,5)	1 (2,1)	

Tabela 24b. Polimorfizm genu *SIRT1* rs 12778366 — charakterystyka parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów w grupie badanej i kontrolnej.

Parametr		Badana		Kontrolna		P dla wszystkich porównań
		TT	TC	TT	TC	
Płeć K/M		30/48		25/23		0,189
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	54 43,2 <b>b</b> [16,4-86,0]	24 32,9 <b>a</b> [18,1- 73,4]	32 19,4 [15,7- 39,1]	16 12,5 <b>ab</b> [9,3-18,5]	<b>0,002</b> ^ <b>a p=0,010</b> <b>b p=0,003</b>
Glukoza na czoło [mg/dl]	N wartość zakres	54 88,0± 8,9	24 91,1± 10,7	32 86,6± 6,9	16 89,2± 6,5	0,253
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	47 101,0 [83,0- 125,0]	21 100,0 [97,0- 119,0]	27 104,0 [90,0- 128,0]	15 94,0 [75,0- 126,0]	0,766 ^
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	46 99,5 [84,0- 120,0]	21 96,0 [84,0- 109,0]	27 93,0 [75,0- 110,0]	15 86,0 [73,0- 109,0]	0,241 ^
Insulina na czoło [mIU/L]	N wartość zakres	54 19,3 (12,- 30,4)	24 22,2 (15,7- 31,4)	32 20,3 (12,8- 321)	16 18,2 (11,8- 27,8)	0,466
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	45 69,0 (35,9- 132,5)	21 82,2 (52,5- 128,6)	27 66,0 (30,4- 143,2)	15 63,6 (33,6- 120,5)	0,609
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	46 55,0 (27,6- 109,7)	20 59,0 (35,4- 98,3)	27 51,7 (27,0- 100,0)	15 48,5 (22,9- 102,5)	0,820
C-peptyd [ng/ml]	N wartość zakres	54 3,86 [2,62- 5,67]	24 3,81 [2,67- 5,43]	32 3,67 [2,48- 5,44]	16 3,60 [2,21- 5,86]	0,250 ^
HOMA IR	N wartość zakres	54 4,18 (2,52- 6,93)	24 4,96 (3,30- 7,46)	32 4,32 (2,61- 7,18)	16 3,98 (2,56- 6,19)	0,445
HbA1c	N wartość zakres	54 4,52 (3,97- 5,16)	24 4,61 (4,07- 5,24)	32 4,81 (4,29- 5,39)	16 4,47 (3,99- 5,00)	0,111

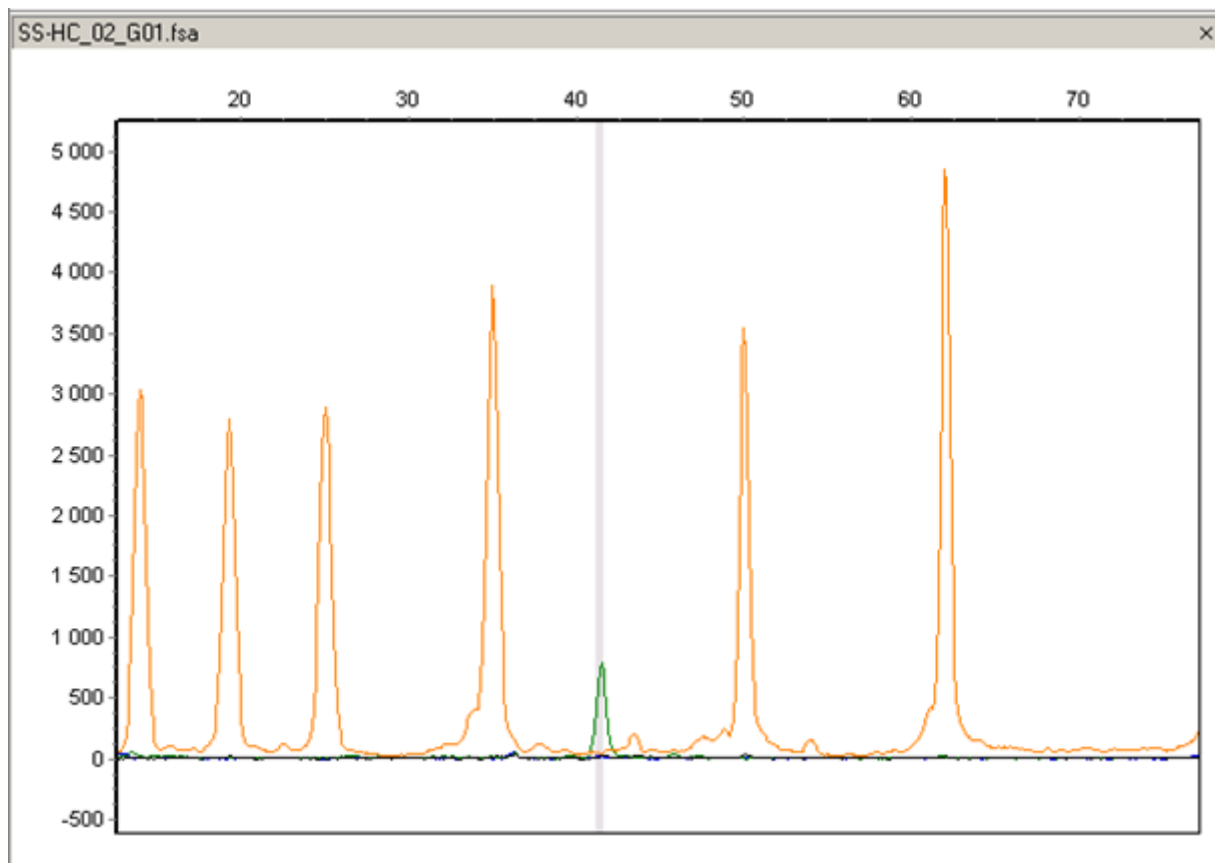


<i>Cholesterol całkowity %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	54 111,8 ± 21,0	23 113,0 ± 16,4	32 104,0 ± 19,7	16 104,9 ± 17,5	0,186
<i>HDL %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	54 93,0 [77,5-105,0]	24 90,0 [84,2-100,3]	32 97,1 [86,8-115,9]	16 104,1 [88,0-117,8]	0,114 ^
<i>LDL %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	53 124,8 ± 34,3	23 127,2 ± 27,7	32 109,1 ± 30,5	16 112,7 ± 28,5	0,075
<b><i>Trójglicerydy %</i></b>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	54 127,1 (76,7-210,6)	24 145,2 <b>a</b> (73,1-288,1)	32 96,5 (52,0-179,2)	16 84,6 <b>a</b> (42,9-166,8)	<b>0,008</b> <b>a p=0,034</b>
<i>ApoA1 [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	54 139,1 [125,0-159,0]	24 147,0 [120,9-162,8]	32 142,0 [130,5-155,5]	16 148,4 [140,0-167,0]	0,336 ^
<i>ApoB [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	54 69,4 ± 16,0	24 69,5 ± 11,7	32 63,1 ± 10,9	16 68,1 ± 12,3	0,189
<i>CRP [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	43 0,6 (0,20-1,69)	21 0,68 (0,22-3,99)	31 0,27 (0,09-1,43)	15 0,30 (0,19-0,81)	0,906
<i>WSDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	49 0,58 [-0,45-2,23]	22 0,98 [-1,10-3,25]	31 0,88 [-0,33-2,81]	14 1,56 [0,67-2,71]	0,311 ^
<i>HSDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	49 -0,15 [-1,333-0,63]	22 0,02 [-0,66-1,01]	31 0,00 [-0,87-0,88]	14 0,66 [-0,25-1,92]	0,105 ^
<i>BMI SDS SD</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	48 0,77 [-0,42-2,73]	22 0,54 [-0,72-2,3]6	30 1,68 [-0,23-2,96]	13 0,62 [-0,20-3,52]	0,521 ^

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 10509291

Przykładowy elektroforeogram polimorfizm genu *SIRT1* rs 10509291 przedstawiono na ryc. 4.



Ryc. 4. Przykładowy wynik elektroforezy DNA oznaczonego polimorfizmu w genie *SIRT1* rs10509291 genotyp T/T i T/A.

G – niebieski, A – zielony, T – czerwony, C – czarny

Dla polimorfizmu genu rs10509291, określono występowanie dwóch genotypów TT i TA w grupie badanej i kontrolnej. W grupie badanej genotyp TT występował u 75 z 79 osób a genotyp TA u 4 z 79 osób, w grupie kontrolnej genotyp TT występował 43 z 47 osób, a genotyp TA u 4 z 47 osób, częstość występowania nie różniła się istotnie.

Wyniki badanych parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów polimorfizmu rs10509291 przedstawiono w tabelach 25 a i b

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%).

Tabela 25.

Tabela 25a. Analiza częstości występowania genotypów polimorfizmu rs 10509291 w grupie badanej i grupie kontrolnej.

Gen	Badana N polimorfizmu (% grupy)	Kontrolna N polimorfizmu (% grupy)	p dla $\chi^2$
rs10509291			
TT	75 (94,9)	43 (91,5)	0,470
TA	4 (5,1)	4 (8,5)	

Tabela 25b. Polimorfizm genu *SIRT1* rs 10509291 — charakterystyka parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów w grupie badanej i kontrolnej.

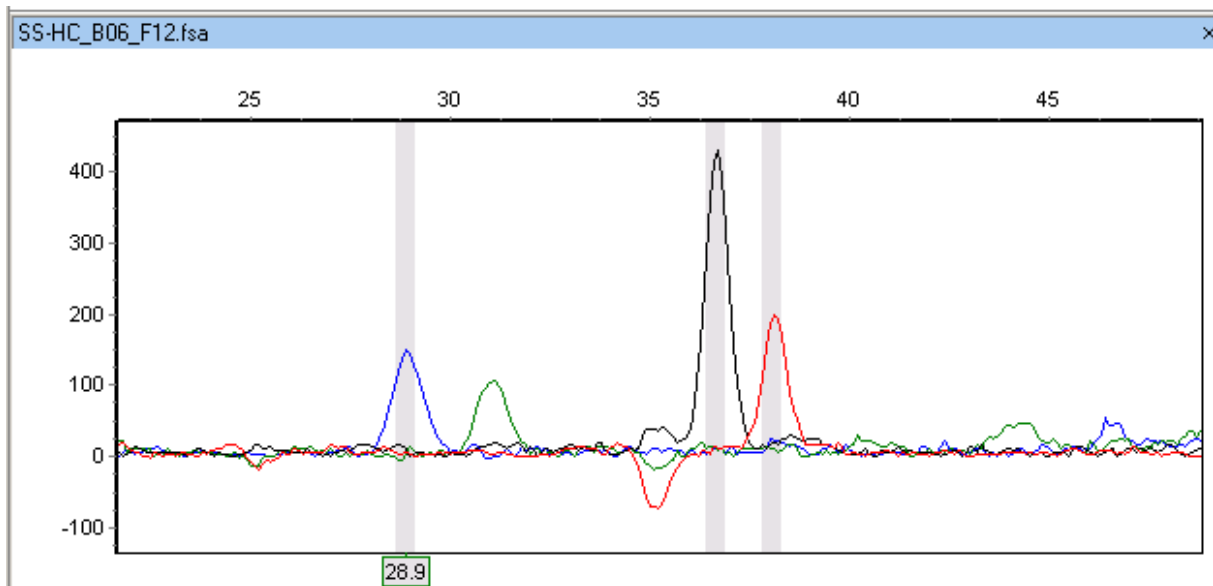
Parametr		Badana		Kontrolna		P dla wszystkich porównań
		TT	TA	TT	TA	
Płeć K/M		29/50		25/22		0,071
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	75 37,7 <b>a</b> [16,6- 85,7]	4 20,9 [11,0- 107,7]	43 17,2 <b>a</b> [10,5- 31,8]	4 20,9 [17,4- 27,7]	0,011 <sup>^</sup> <b>a p=0,005</b>
Glukoza na czczo [mg/dl]	N wartość zakres	75 89,7 ±9,2	4 86,7 ±11,6	43 87,5 ±7,0	4 87,7 ±5,2	0,555
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	65 106,5 ±30,2	4 111,0 ±20,2	36 106,2 ± 32,5	4 115,7 ±26,0	0,932
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	63 100,1 ±23,1	4 104,0 ±21,6	36 91,1 ±18,6	4 100,0 ±25,7	0,220
Insulina na czczo [mIU/L]	N wartość zakres	75 19,9 (12,8- 30,7)	4 17,4 (15,2- 19,8)	43 18,3 (11,9- 28,3)	4 30,9 (19,8- 48,3)	0,121
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	63 74,6 [44,2- 102,7]	4 64,0 [45,1- 112,0]	36 60,9 [36,8- 106,8]	4 105,6 [77,3- 142,4]	0,051 <sup>^</sup>
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	62 59,7 [37,3- 87,3]	4 62,5 [52,5- 89,5]	36 49,6 [29,7- 75,8]	4 115,0 [64,1- 138,3]	0,309 <sup>^</sup>
C-peptyd [ng/ml]	N wartość zakres	75 3,86 (2,67- 5,59)	4 3,05 (2,48- 3,75)	41 0,41 (0,08- 2,15)	4 4,80 (2,72- 8,46)	0,281
HOMA IR	N wartość zakres	75 4,38 (2,70- 7,10)	4 3,69 (3,28- 4,15)	43 3,95 (2,47- 6,32)	4 6,69 (4,16- 10,75)	0,154
HbA1c [%]	N	75	4	43	4	0,350

	wartość zakres	4,58 ±0,59	4,60 ±0,64	4,68 ±0,52	5,09 ±1,09	
<i>Cholesterol całkowity %</i>	<i>N</i> wartość zakres	75 113,4 ±20,0	4 104,8 ±11,1	43 103,4 ±18,2	4 104,3 ±22,9	0,053
<i>HDL %</i>	<i>N</i> wartość zakres	75 92,5 (72,9- 117,3)	4 92,9 (78,9- 109,3)	43 101,6 (82,0- 125,9)	4 94,1 (71,1- 124,4)	0,203
<i>LDL %</i>	<i>N</i> wartość zakres	74 127,2 <b>a</b> ±33,9	4 114,9 ±23,1	43 109,0 <b>a</b> ±29,4	4 113,5 ±33,3	<b>0,032</b> <b>a p=0,042</b>
<i>Trójglicerydy %</i>	<i>N</i> wartość zakres	75 130,5 <b>a</b> (77,6- 219,4)	4 109,1 (56,7- 209,5)	43 89,7 <b>a</b> (46,5- 171,4)	4 105,5 (57,7- 193,2)	0,010 <b>a p=0,013</b>
<i>ApoA1 [mg/dl]</i>	<i>N</i> wartość zakres	75 141,6 (116,9- 171,5)	4 146,7 (135,7- 158,5)	43 147,9 (127,8- 171,4)	4 125,6 (109,7- 143,09)	0,031 test post- hoc nie potwierdził różnicy istotnej
<i>ApoB [mg/dl]</i>	<i>N</i> wartość zakres	75 70,1 ±15,0	4 59,0 ±10,5	43 64,3 ±11,6	4 69,0 ±10,9	0,093
<i>CRP [mg/dl]</i>	<i>N</i> wartość zakres	60 0,67 (0,14- 3,24)	3 1,13 (0,15- 8,46)	41 0,41 (0,08- 2,15)	4 0,48 (0,07- 3,24)	0,428
<i>WSDS</i>	<i>N</i> wartość zakres	69 0,78 [-0,71- 2,43]	4 -0,20 [-1,48- 1,77]	40 1,18 [0,00- 2,71]	4 2,48 [1,51- 6,24]	0,135 ^
<i>HSDS</i>	<i>N</i> wartość zakres	69 -0,30 ±1,53	4 -0,02 ±1,13	40 0,29 ±1,32	4 -0,10 ±0,99	0,245
<i>BMI SDS</i>	<i>N</i> wartość zakres	68 0,86 [-0,55- 2,70]	4 -0,05 [-1,52- 1,71]	39 1,37 [-0,24- 2,82]	4 2,65 [1,63- 7,20]	0,236 ^

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 1082313

Przykładowy elektroforeogram polimorfizm genu *SIRT1* rs 1082313 przedstawiono na ryc. 5.



Ryc. 5. Przykładowy wynik elektroforezy DNA oznaczonego polimorfizmu w genie *SIRT1* rs 1082313 genotyp G/A i C/T.

G – niebieski, A – zielony, T – czerwony, C- czarny

W polimorfizmie genu *SIRT1* rs1082313, określono 3 genotypy: AA, AG i GG. W grupie badanej genotyp AA występował u 39 osób a genotyp AG u 36 osób, genotyp GG u 8 osób, w grupie kontrolnej genotyp AA występował 20 osób, a genotyp AG u 23 osób, a genotyp GG u 6 osób, nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania. Wyniki oznaczanych parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów polimorfizmu rs 1082313 przedstawiono w tabelach 26 a i b.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic stężenia białka sirtuiny1 u osób prezentujących badane genotypy w grupie badanej i kontrolnej.

U wszystkich osób z grupy badanej zaobserwowano jednak wyższe stężenie białka sirtuiny1 w porównaniu z grupą kontrolną:

- u osób z genotypem AA (36 vs 17,4 ng/ml);
- u osób z genotypem AG (47,3 vs 18,7 ng/ml);
- u osób z genotypem GG (29,8 vs 22,3 ng/ml).

Dla genotypu AG stwierdzono istotnie wyższe stężenie trójglicerydów (%) w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej.

Tabela 26.

Tabela 26a. Analiza częstości występowania genotypów polimorfizmu rs 1082313 w grupie badanej i grupie kontrolnej.

Gen	Badana N polimorfizmu (% grupy)	Kontrolna N polimorfizmu (% grupy)	p dla $\chi^2$
rs10823130			
AG	36 (43,4)	23 (47,0)	0,760
AA	39 (47,0)	20 (40,8)	
GG	8 (9,6)	6 (12,2)	

Tabela 26b. Polimorfizm genu *SIRT1* rs 1082313 — charakterystyka parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów w grupie badanej i kontrolnej.

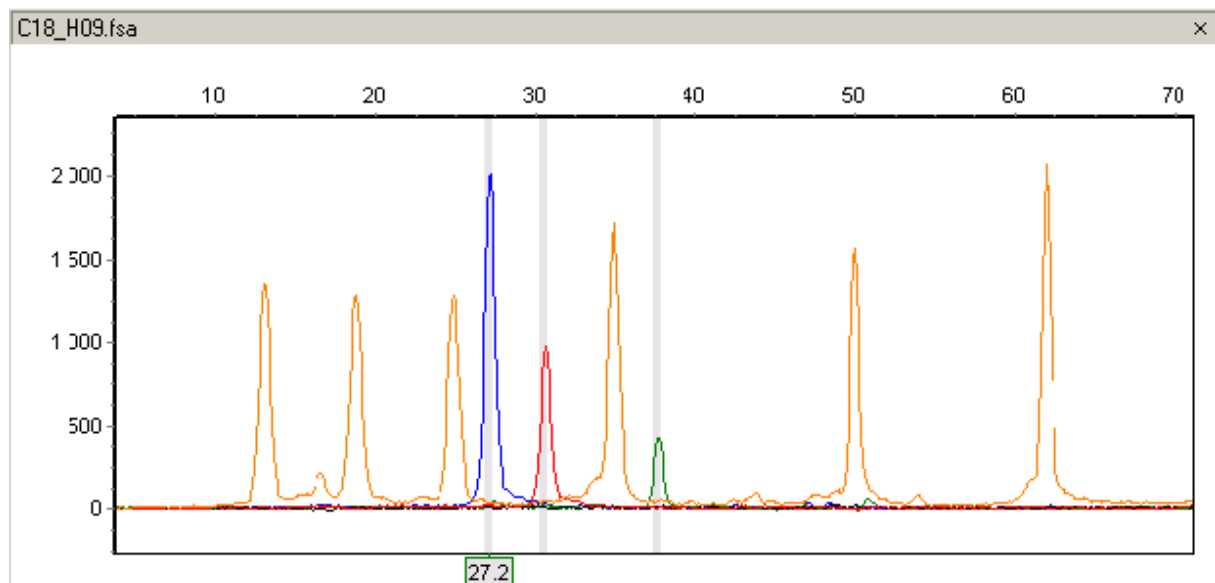
Parametr		Badana			Kontrolna			P dla wszystkich porównań
		AA	AG	GG	AA	AG	GG	
Płeć K/M		31/52			26/23			0,114
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	39 36,0 [16,1- 89,0]	36 47,3 [16,6- 80,7]	8 29,8 [16,9- 81,0]	20 17,4 [11,1- 34,7]	23 18,7 [12,4- 22,2]	6 22,3 [9,3- 31,8]	0,084 ^
Glukoza na czocho [mg/dl]	N wartość zakres	39 88,0 [82,0- 93,0]	36 90,0 [82,5- 96,5]	8 90,5 [85,0- 96,5]	20 87,5 [81,5- 91,0]	23 85,0 [81,0- 90,0]	6 91,5 [88,0- 94,0]	0,403 ^
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	34 101,4 (76,4- 134,6)	31 106,1 (85,6- 131,6)	8 103,8 (73,8- 147,0)	17 106,0 (80,3- 139,9)	20 102,1 (74,9- 139,3)	5 100,0 (74,9- 133,3)	0,983
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	33 99,2 $\pm 24,9$	31 99,9 $\pm 18,0$	7 107,5 $\pm 35,4$	17 90,5 $\pm 18,4$	20 91,5 $\pm 22,2$	5 96,8 $\pm 20,2$	0,422
Insulina na czocho [mIU/L]	N wartość zakres	39 18,9 (11,5- 31,0)	36 21,1 (15,4- 28,8)	8 19,2 (10,7- 34,6)	20 19,5 (112,2- 31,2)	23 19,4 (12,3- 30,8)	6 18,3 (12,3- 27,6)	0,921
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	32 65,3 (34,3- 124,5)	31 81,5 (46,7- 142,3)	8 58,6 (31,5- 108,8)	17 58,0 (23,9- 140,8)	20 77,1 (43,8- 136,3)	5 49,3 (27,2- 89,3)	0,320
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	33 49,5 (24,7-	30 65,5 (38,4-	7 56,7 (32,0-	17 43,5 (24,7-	20 56,2 (25,8- 122,3)	5 55,0 (29,2-	0,378

		99,2)	111,8)	100,3)	76,5)		103,5)	
<i>C-peptyd</i> [ng/ml]	N wartość zakres	39 3,88 (2,66- 5,65)	36 3,75 (2,54- 5,54)	8 3,78 (3,16- 4,54)	20 3,35 (2,41- 4,67)	23 4,24 (2,73- 6,59)	6 2,59 (1,76- 3,82)	0,077
<i>HOMA IR</i>	N wartość zakres	39 4,06 (2,33- 7,08)	4,66 (3,29- 6,60)	8 4,35 (2,22- 8,52)	20 4,22 (2,49- 7,14)	23 4,13 (2,57- 6,65)	6 4,07 (2,60- 6,38)	0,885
<i>HbA1c [%]</i>	N wartość zakres	39 4,47 (3,89- 5,13)	36 4,53 (4,08- 5,03)	8 4,82 (4,05- 5,74)	20 4,74 (4,27- 5,26)	23 4,63 (4,05- 5,30)	6 4,70 (4,27- 5,17)	0,426
<i>Cholesterol całkowity %</i>	N wartość zakres	39 112,3 ±22,6	35 113,6 ±17,0	8 109,4 ±15,4	20 105,9 ±20,9	23 102,0 ±17,9	6 105,5 ±15,8	0,252
<i>HDL %</i>	N wartość zakres	39 94,7 [81,0- 106,8]	36 90,4 [85,8- 104,3]	8 85,1 [67,5- 103,9]	20 97,3 [85,3- 117,0]	23 97,8 [88,9- 117,8]	6 90,4 [74,3- 110,0]	0,159 ^
<i>LDL %</i>	N wartość zakres	39 124,2 ±37,7	34 128,8 ±28,2	8 123,8 ±31,1	20 110,2 ±32,1	23 107,1 ±28,1	6 121,5 ±25,8	0,119
<i>Trójglicerydy %</i>	N wartość zakres	39 120,8 [83,3- 174,8]	36 136,0 <b>a</b> [105,1- 194,9]	8 145,8 [108,3- 173,5]	20 97,4 [76,0- 149,5]	23 81,7 <b>a</b> [60,7- 119,3]	6 86,6 [77,9- 115,9]	<b>0,013 ^</b> <b>a p=0,012</b>
<i>ApoA1</i> [mg/dl]	N wartość zakres	39 142,0 [125,0- 167,0]	36 139,6 [128,0- 161,0]	8 141,1 [115,5- 151,5]	20 143,5 [-0,81- 3,72]	23 147,0 [135,0- 167,0]	6 146,5 [136,0- 167,0]	0,995 ^
<i>ApoB</i> [mg/dl]	N wartość zakres	39 68,7 ±16,4	36 70,4 ±13,7	8 67 6 ±13,2	20 63,2 ±11,4	23 64,6 ±11,3	6 71,6 ±10,9	0,379
<i>CRP [mg/dl]</i>	N wartość zakres	37 0,47 [0,19- 2,34]	34 0,68 [0,20- 1,29]	8 0,29 [0,15- 1,03]	20 0,28 [0,16- 1,04]	23 0,30 [0,19- 0,97]	6 0,51 [0,09- 2,90]	0,704 ^
<i>WSDS</i>	N wartość zakres	36 0,83 [- 0,10- 2,32]	32 0,53 [- 1,02- 2,93]	8 0,56 [- 0,78- 1,16]	19 1,08 [- 0,81- 3,72]	22 1,36 [0,66- 2,81]	5 2,16 [0,67- 2,60]	0,501 ^
<i>HSDS</i>	N wartość zakres	36 -0,38 ±1,53	32 -0,17 ±1,50	8 -0,26 ±1,50	19 0,09 ±1,41	22 0,36 ±1,27	5 0,59 ±0,55	0,389
<i>BMI SDS</i>	N wartość zakres	35 0,82 [- 0,44- 2,70]	32 0,39 [- 0,87- 3,19]	8 0,98 [- 0,90- 1,98]	18 1,77 [- 0,23- 2,62]	21 0,33 [- 0,24-3,46]	5 1,64 [1,42- 2,23]	0,797 ^

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

#### Polimorfizm genu *SIRT1* rs 932658

Przykładowy elektroforeogram polimorfizm genu *SIRT1* rs 932658 przedstawiono na ryc. 6.



Ryc. 6. Przykładowy wynik elektroforezy DNA oznaczonego polimorfizmu w genie *SIRT1* rs 932658 genotyp G/T i A/A.

G – niebieski, A – zielony, T – czerwony, C- czarny

W polimorfizmie genu *SIRT1* rs932658, określono 3 genotypy: AA, CA i CC. W grupie badanej genotyp AA występował u 4 z 92 osób a genotyp CA u 37 z 92 osób, genotyp CC u 41 z 92 osób, w grupie kontrolnej genotyp AA występował 4 z 49 osób, a genotyp CA u 21 z 49 osób, a genotyp CC 24 z 49 u osób nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania. Wyniki parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów polimorfizmu rs932658 przedstawiono w tabelach 27 a i b.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu białka sirtuiny 1 u osób prezentujących badane genotypy w grupie badanej i kontrolnej, jakkolwiek u wszystkich osób z grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej stężenie białka sirtuiny1 było wyższe.

- u osób z genotypem AA: 79 vs 19,1 ng/ml;
- u osób z genotypem CA: 29,4 vs 18,0 ng/ml;
- u osób z genotypem CC: 36,0 vs 17,9 ng/ml.

Osoby grupy badanej wykazują niższą wysokość ciała, ale nie istotnie statystycznie, w porównaniu do osób z grupy kontrolnej:

- osoby z genotypem AA w grupie badanej były niższe aniżeli w grupie kontrolnej (HSDS -



0,52 ±0,7 vs 0,85 ±0,38) ;

- osoby z genotypem CA w grupie badanej były niższe aniżeli w grupie kontrolnej (HSDS - 0,30 ±1,64 vs 0,55 ±1,24);

- osoby z genotypem CC w grupie badanej były niższe aniżeli w grupie kontrolnej (HSDS - 0,21 ±1,47 vs -0,01 ±1,31);

Tabela 27.

Tabela 27a. Analiza częstości występowania genotypów polimorfizmu rs 932658 w grupie badanej i grupie kontrolnej.

Gen <i>SIRT1</i> polimorfizm rs932658	Badana N polimorfizmu (% grupy)	Kontrolna N polimorfizmu (% grupy)	p dla $\chi^2$
CA	37 (45,1)	21 (42,8)	0,747
CC	41 (50,0)	24 (49,0)	
AA	4 (4,9)	4 (8,2)	

Tabela 27b. Polimorfizm genu *SIRT1* rs 932658 — charakterystyka parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów w grupie badanej i kontrolnej.

Parametr		Badana			Kontrolna			P dla wszystkich porównań
		AA	CA	CC	AA	CA	CC	
Płeć K/M		31/51			26/23			0,128
SIRT1 [ng/ml]	N	4	37	41	4	21	24	0,079 ^
	wartość zakres	79,0 [22,8- 148,6]	29,4 [16,4-64,5]	36,0 [16,3- 86,0]	19,1 [12,1- 27,6]	18,0 [11,2- 29,7]	17,9 [11,9- 29,1]	
Glukoza na czczo [mg/dl]	N	4	37	41	4	21	24	0,455 ^
	wartość zakres	94,0 [84,5- 106,0]	89,0 [82,0-97,0]	88,0 [82,0- 93,0]	94,5 [87,5- 97,5]	88,0 [81,0- 90,0]	87,0 [81,5- 89,0]	
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N	4	33	35	2	18	22	0,632 dla grup BCA, BCC, KCA i KCC*
	wartość zakres	113,0 [74,2- 172,3]	102,9 [83,7- 126,6]	102,9 [76,6- 138,3]	113,3 [104,5- 122,9]	96,7 [71,1- 131,7]	108,3 [81,8- 143,3]	
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N	3	33	34	2	18	22	0,310 dla grup BCA, BCC, KCA i KCC*
	wartość zakres	120,0 ± 51,3	98,3 ±17,8	100,1 ±25,0	10,0 ±12,7	91,2 ±21,8	91,2 ±19,6	
Insulina na czczo [mIU/L]	N	4	37	41	4	21	24	0,817
	wartość zakres	18,7 ±10,0	21,9 ±7,5	21,9 ±10,0	22,3 ±11,3	19,4 ±8,05	23,0 ±11,1	
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N	4	32	34	2	18	22	0,904 dla grup BCA, BCC, KCA i KCC*
	wartość zakres	51,0 [21,2- 122,9]	72,8 [40,5- 130,8]	71,5 [38,7- 132,1]	58,2 [27,3- 123,7]	64,4 [36,2- 114,5]	66,5 [28,5- 155,1]	
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N	3	32	34	2	18	22	0,508 dla grup BCA, BCC, KCA i KCC*
	wartość zakres	67,4 [40,0- 113,6]	61,5 [34,78- 108,9]	54,5 [29,6- 100,1]	82,4 [53,5- 127,1]	47,4 [22,9- 98,2]	50,9 [26,3- 98,3]	
C-peptyd [ng/ml]	N	4	37	41	4	21	24	0,329
	wartość zakres	3,69 [3,01- 4,53]	3,84 [2,64-5,59]	3,86 [2,68- 5,57]	2,69 [1,80- 4,04]	4,10 [2,61- 6,43]	3,43 [2,37- 4,96]	
HOMA IR	N	4	37	41	4	21	24	0,820
	wartość zakres	3,85 [1,82- 8,14]	4,59 [3,10-6,81]	4,24 [2,48- 7,27]	4,62 [2,64- 8,08]	3,83 [2,51- 5,85]	4,39 [2,58- 7,47]	
HbA1c	N	4	37	41	4	21	24	0,624
	wartość zakres	4,65 [3,68- 5,88]	4,52 [4,02-5,09]	4,55 [4,00- 5,17]	4,87 [4,30- 5,52]	4,57 [4,09- 5,12]	3,43 [2,37- 4,96]	
Cholesterol całkowity %	N	4	36	41	4	21	24	0,788
	wartość zakres	120,1 ±10,6	110,5 ±16,8	114,0 ±22,5	88,3 ±10,4	102,9 ±15,8	107,6 ±21,0	
HDL %	N	4	37	41	4	21	24	0,195 ^
	wartość zakres	89,2 [70,1- 103,9]	90,4 [85,5- 103,4]	93,4 [77,5- 106,6]	96,3 [76,4- 120,6]	111,4 [90,4- 117,8]	94,8 [85,2- 114,6]	

<i>LDL %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 136,8 ±31,3	35 122,2 ±27,0	41 129,3 ±37,7	4 91,8 ±20,3	21 109,0 ±27,6	24 114,1 ±31,6	0,055
<i>Trójglicerydy %</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 93,8 [48,4-181,7]	37 87,7 [51,0-150,8]	41 67,9 [50,0-109,9]	4 62,3 [40,0-97,2]	21 63,1 [37,2-106,8]	24 67,7 [41,8-109,6]	0,111
<i>ApoA1 [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 141,1 [121,1-154,5]	37 140,0 [125,0-162,0]	41 141,0 [126,0-159,0]	4 142,0 [121,0-151,5]	21 148,0 [140,0-167,0]	24 143,0 [129,3-155,5]	0,496 ^
<i>ApoB [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 69,0 ±14,6	37 69,2 ±13,9	41 69,7 ±16,1	4 63,7 ±13,9	21 65,7 ±11,0	24 61,3 ±11,7	0,622
<i>CRP [mg/dl]</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	2 0,18 [0,14-0,24]	29 0,84 [0,17-4,10]	34 0,66 [0,14-3,19]	4 0,51 [0,12-2,23]	21 0,33 [0,08-1,37]	22 0,46 [0,07-3,00]	0,196 dla grup BCA, BCC, KCA i KCC*
<i>WSDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 0,12 ±1,10	33 0,56 ±2,2	38 1,26 ±2,42	3 1,81 ±1,01	19 1,34 ±1,61	24 2,04 ±2,80	0,232
<i>HSDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 -0,52 ±0,7	33 -0,30 ±1,64	38 -0,21 ±1,47	3 0,85 ±0,38	19 0,55 ±1,24	24 -0,01 ±1,31	0,271
<i>BMI SDS</i>	<i>N</i> <i>wartość</i> <i>zakres</i>	4 0,74 [-0,19-1,28]	33 0,19 [-1,02-2,36]	37 1,24 [-0,23-3,36]	3 1,42 [0,62-2,23]	19 0,17 [-0,29-3,52]	22 2,28 [0,32-3,18]	0,341

\* ze względu na małe liczebności w grupach BAA i/lub KAA (2 przypadki) porównania wykonano tylko dla grup BCA, BCC, KCA i KCC.

BCA – pacjenci grupy badanej z genotypem CA polimorfizmu genu *SIRT1* rs 932658

BCC - pacjenci grupy badanej z genotypem CC polimorfizmu genu *SIRT1* rs 932658

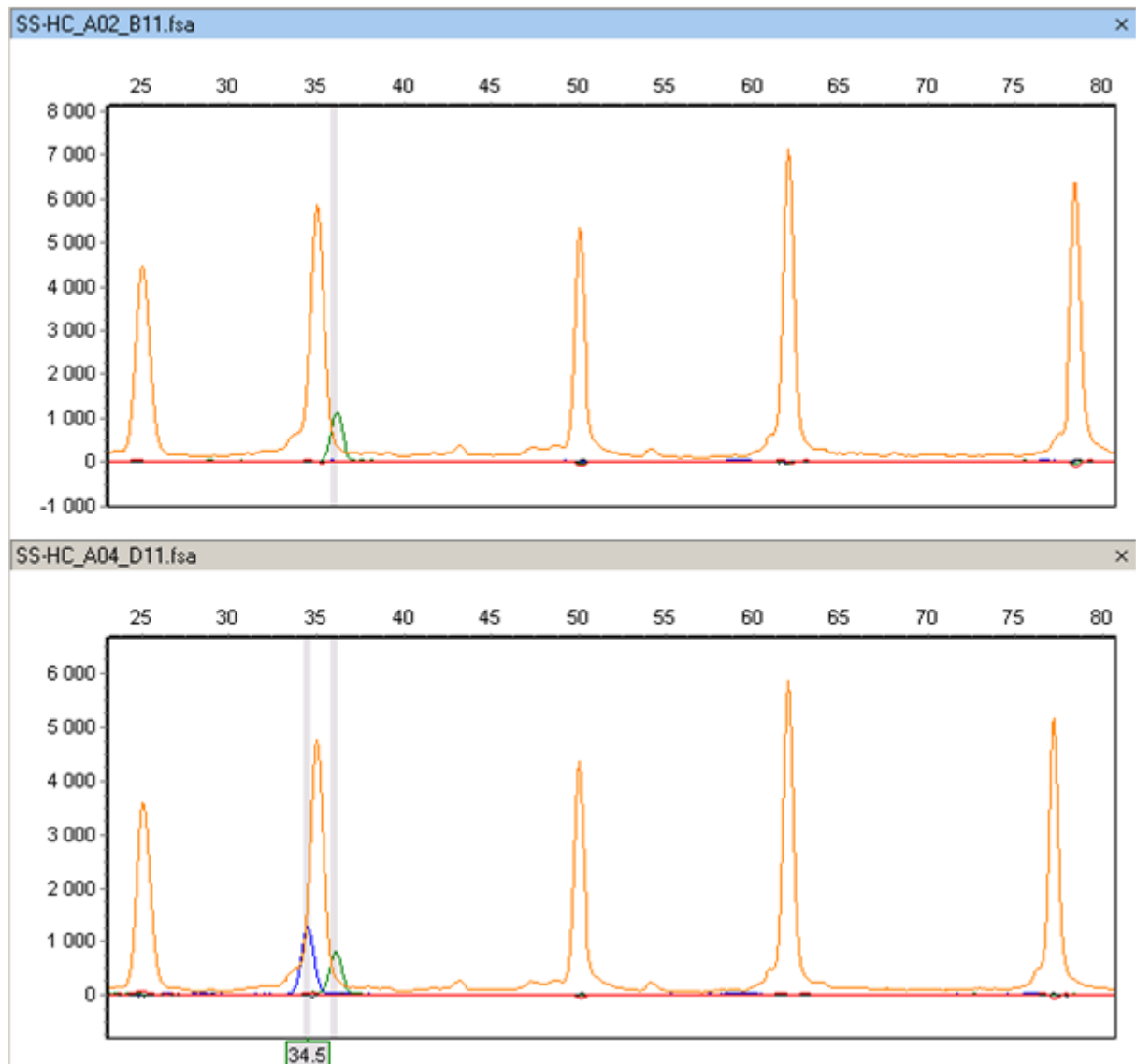
KCA - pacjenci grupy kontrolnej z genotypem CA polimorfizmu genu *SIRT1* rs 932658

KCC - pacjenci grupy kontrolnej z genotypem CC polimorfizmu genu *SIRT1* rs 932658

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

## Polimorfizm genu *SIRT1* rs 7895833

Przykładowy elektroforeogram polimorfizmu genu *SIRT1* rs 7895833 przedstawiono na ryc. 7.



Ryc. 7. Przykładowy wynik elektroforezy DNA oznaczonego polimorfizmu w genie *SIRT1* rs 7895833 genotyp A/A i G/A.

G – niebieski, A – zielony, T – czerwony, C – czarny

W polimorfizmie genu *SIRT1* rs7895833, określono 2 genotypy: AA i AG. W grupie badanej genotyp AA występował u 63 z 81 osób a genotyp AG u 18 z 81 osób, w grupie kontrolnej genotyp AA występował 33 z 48 osób, a genotyp AG u 15 z 48 osób nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania. Wyniki badanych parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów polimorfizmu rs 7895833 przedstawiono w tabelach 28 a i b.

U wszystkich osób grupy badanej (genotyp AA oraz AG) stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie białka sirtuiny1 aniżeli u osób grupy kontrolnej prezentujących genotyp AA

(34,9 oraz 49,3 vs 14,9 ng/ml).

U osób o genotypie AG w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną o genotypie AA stężenie insuliny w 120 min OGTT było istotnie wyższe (79,4 vs 43,3  $\mu$ IU/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 %).

Tabela 28.

Tabela 28a. Analiza częstości występowania genotypów polimorfizmu rs 7895833 w grupie badanej i w grupie kontrolnej.

Gen	Badana N polimorfizmu (% grupy)	Kontrolna N polimorfizmu (% grupy)	p dla $\chi^2$
rs7895833			
AA	63 (77,8)	33 (68,8)	0,256
AG	18 (22,2)	15 (31,2)	

Tabela 28b. Polimorfizm genu *SIRT1* rs 7895833 — charakterystyka parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów w grupie badanej i kontrolnej.

Parametr		Badana		Kontrolna		P dla wszystkich porównań
		AA	AG	AA	AG	
Płeć K/M		33/56		28/23		0,061
SIRT1 [ng/ml]	N wartość zakres	63 34,9 <b>a</b> [16,3-85,7]	18 49,3 <b>b</b> [16,7-81,6]	33 14,9 <b>a b</b> [10,5-23,4]	15 20,3 [18,0-62,0]	<b>0,003</b> ^  <b>a p=0,003 b p=0,018</b>
Glukoza na czczo [mg/dl]	N wartość zakres	63 88,6 ±10,0	18 91,6 ± 11,7	33 87,5 ± 7,5	15 86,9 ± 5,5	0,361
Glukoza 60 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	55 101,6 (78,9-140,0)	17 113,1 (86,7-147,6)	28 103 (75,3-140,6)	13 107,3 (85,1-135,3)	0,520
Glukoza 120 min. OGTT [mg/dl]	N wartość zakres	53 97,0 [83-115]	17 101 [94,0-119,0]	28 85,5 [73,0-106,5]	13 108,0 [86,0-117,0]	0,050
Insulina na czczo [mIU/L]	N wartość zakres	63 19,2 (12,2-30,2)	18 22,5 (16,4-30,8)	33 18,0 (11,5-28,4)	15 22,8 (15,0-34,8)	0,177
Insulina 60 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	53 66,7 (35,8-124,5)	17 87,4 [50,5-151,3]	28 61,3 (28,0-134,5)	13 79,8 (41,8-132,2)	0,269
Insulina 120 min. OGTT [mIU/L]	N wartość zakres	52 51,7 (27,8-95,9)	17 79,4 <b>a</b> (48,3-130,5)	28 43,3 <b>a</b> (22,4-83,8)	13 74,3 (41,8-132,2)	<b>0,004</b>  <b>a p=0,023</b>
C-peptyd [ng/ml]	N wartość zakres	63 3,70 (2,61-5,39)	18 4,02 (2,72-5,93)	33 3,56 (2,45-5,20)	15 3,7 (2,23-6,38)	0,780
HOMA IR	N wartość zakres	63 4,2 (2,51-6,92)	18 5,05 (3,51-7,26)	33 3,88 (2,36-6,38)	15 4,89 (3,12-7,64)	0,195
HbA1c [%]	N wartość zakres	63 4,47 (3,93-5,09)	18 4,72 (4,18-5,33)	33 4,58 (4,11-5,11)	15 4,95 (4,04-5,58)	0,024 test post-hoc nie potwierdził różnicy istotnej
Cholesterol całkowity %	N wartość zakres	63 113,9 ± 20,1	17 110,8 ± 15,2	33 105,3 ± 19,8	15 101,4 ± 17,0	0,058
HDL %	N wartość zakres	63 93,6 (73,6-119,0) [45-60]	18 87,0 (72,6-104,4)	33 102,3 (82,8-126,3)	15 100,1 (79,1-126,7)	0,096
LDL %	N wartość zakres	63 128,4 <b>a b</b> ±34,0	16 122,7 ± 24,9	33 112,3 <b>a</b> ± 29,1	15 106,0 <b>b</b> ± 31,1	<b>0,027</b>  <b>a p=0,019 b p=0,014</b>
Trójglicerydy %	N wartość	63 124 (74,8-	18 168,4 <b>a b</b>	33 87,0 <b>a</b>	15 97,3 <b>b</b>	<0,001 <b>a p=0,03</b>

	zakres	207,4)	(85,8-330,4)	(44,8-169,1)	(58,3-162,2)	<b><i>b p=0,046</i></b>
<i>ApoA1</i> [mg/dl]	<i>N</i> wartość zakres	63 143,4 (118,0-174,4)	18 138,0 (118,5-160,9)	33 150,9 (128,9-176,6)	15 136,8 (120,8-155,1)	0.352
<i>ApoB</i> [mg/dl]	<i>N</i> wartość zakres	63 69,6 ± 14,3	18 69,5 ± 15,8	33 64,3 ± 11,3	15 66,3 ± 12,2	0.295
<i>CRP</i> [mg/dl]	<i>N</i> wartość zakres	62 0,63 [0,42-0,93]	16 0,73 [0,31-1,76]	33 0,37 [0,21-0,64]	15 0,50 [0,18-1,40]	0,162 ^
<i>WSDS</i>	<i>N</i> wartość zakres	59 0,56 [-0,78-2,43]	15 0,74 [-0,102-2,80]	30 1,3 [-0,10-2,72]	15 1,60 [0,66-2,81]	0,234 ^
<i>HSDS</i>	<i>N</i> wartość zakres	59 -0,30 ± 1,55	15 -0,48 ± 1,18	30 0,24 ± 1,43	15 0,39 ± 0,95	0,133
<i>BMI SDS</i>	<i>N</i> wartość zakres	58 0,30 [-0,56-2,70]	15 1,30 [-0,54-3,29]	28 1,52 [-0,28-3,00]	15 1,52 [0,17-3,46]	0,486 ^

^ - dane dla których transformacja logarytmiczna nie zapewniała zgodności i z rozkładem normalnym, zastosowano test ANOVA Krusala-Wallisa i analizowano dane surowe. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic dla porównywanych grup, w dalszym etapie wykonywano analizę post-hoc za pomocą testu wielokrotnych porównań mediany.

\

## V. Omówienie wyników badań i dyskusja.

### 1. Charakterystyka kliniczna pacjentów leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.

Ostra białaczka limfoblastyczna jest jedną z najczęściej występujących chorób nowotworowych w populacji dziecięcej. Leczenie onkologiczne wdrażane jest zazwyczaj szybko, a terapia charakteryzuje się wysoką skutecznością. Większość dzieci, u których rozpoznano ALL w dzieciństwie, dożywa wieku dorosłego i na przestrzeni lat boryka się z wczesnymi i późnymi następstwami leczenia onkologicznego. W tej grupie osób występują zaburzenia metaboliczne gospodarki węglowodanowej i lipidowej, zmiany w funkcjonowaniu przysadki, tarczycy, gonad, a także zaburzenia mineralizacji tkanki kostnej, co może mieć wpływ na stan zdrowia i dalsze życie pacjentów.

W przeprowadzonych przeze mnie badaniach uczestniczyło 89 spośród 380 zaproszonych osób leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL), którzy zakończyli jej leczenie przynajmniej rok wcześniej przed udziałem w badaniu. U 13 pacjentów choroba nowotworowa została zdiagnozowana przed 2 rokiem życia, a u 14 pacjentów powyżej 10 roku życia, mediana wieku zachorowania na ALL pacjentów wynosiła 5 lat. Dzieci u których choroba rozwija się pomiędzy 2. a 10. rokiem życia zwykle dobrze odpowiadają na leczenie cytostatyczne, a u około 80% z nich uzyskiwana jest remisja całkowita [34], [47]–[49], [81]. Niekorzystnym czynnikiem rokowniczym dla pacjenta jest wiek zachorowania poniżej 2 roku życia i powyżej 10 roku życia [82]. Yaman-Bajin i wsp wykazali, że spośród 13 dzieci u których rozpoznanie ALL postawiono przed 2 rokiem życia (mediana 7 miesiąc życia) tylko 6 osób żyło i było w remisji po przeprowadzeniu intensywnego leczenia chemioterapeutycznego oraz przeszczepieniu komórek macierzystych w trakcie 18 miesięcznej obserwacji po zakończeniu leczenia onkologicznego. W mojej grupie badanej spośród 13, u których chorobę zdiagnozowano poniżej 2 roku życia, tylko u trzech osób wystąpił nawrót choroby nowotworowej po leczeniu pierwotnym, a u dwóch wykonano przeszczep komórek macierzystych. Rokowanie w przypadku ALL u niemowląt jest szczególnie złe i przeżywa jedynie połowa pacjentów [83]. W mojej grupie badanej mediana wieku zakończenia leczenia wynosiła 7 lat. Przed ukończeniem drugiego roku życia leczenie ALL zakończyło 3 osoby, a po ukończeniu 10 roku życia 23 pacjentów. Większość dzieci znajdowała się w grupie pomiędzy 2 a 10 rokiem życia, co stanowiło korzystny czynnik rokowniczy przebiegu choroby. Leczenie przebiegało głównie według dwóch schematów ALL IC 2002 oraz ALL IC 2009. 45 pacjentów leczonych było według schematu ALL IC 2002, a 32 według schematu ALL IC 2009, pozostałe osoby według innych schematów. W przypadku obu schematów leczniczych wyleczalność pacjentów jest na bardzo wysokim poziomie sięgającym 80%. Przeprowadzone leczenie z dobrym efektem przeciwnowotworowym może jednak wpływać na wystąpienie odległych następstw, (tzw. late effects). Wykazano, że po zastosowaniu protokołu ALL IC 2002 w porównaniu do protokołu ALL IC 2009 zaburzenia metaboliczne i infekcyjne występują u dzieci częściej zarówno w trakcie jak i po zakończeniu leczenia [84]. Ryzyko zaburzeń metabolicznych zwiększa się wraz z nawrotami choroby nowotworowej [62], [85]. W badanej grupie u 11 spośród 89 pacjentów wystąpił przynajmniej jeden nawrót ostrej białaczki limfoblastycznej, co dodatkowo zwiększa ryzyko powikłań metabolicznych.

W grupie badanej i kontrolnej celem oceny zaburzeń metabolicznych przeprowadzono doustny test tolerancji glukozy (OGTT) z insuliną, oznaczono stężenia białka sirtuiny1, stężenia hemoglobiny glikowanej, stężenia c-peptydu, wykonano lipidogram z podziałem na



frakcje: cholesterol całkowity, LDL, HDL, trójglicerydy, oznaczono stężenia apolipoproteiny A, stężenia apolipoproteiny B, morfologię z rozmazem oraz stężenie białka C-reaktywnego. Stwierdzono nieprawidłowości gospodarki węglowodanowej u 15 spośród 89 pacjentów oraz gospodarki lipidowej u 45 spośród 89 pacjentów, u 6 pacjentów występowały obydwa zaburzenia. Białko sirtuina1 charakteryzuje się istotnym wpływem na metabolizm węglowodanów, lipidów, gospodarkę hormonalną organizmu. Posiada również właściwości przeciwnowotworowe [51]. W grupie badanej stwierdzono wyższe stężenie białka sirtuiny1 (SIRT1) aniżeli w grupie kontrolnej. Stwierdzane wysokie stężenie SIRT1 we krwi osób po zakończeniu leczenia ALL sugeruje zaburzenia metabolizmu tego białka, co wpływa na istotnie wyższe stężenie glukozy we krwi w 120 min testu OGTT, wyższe stężenie cholesterolu całkowitego, LDL oraz trójglicerydów i niższe stężenie HDL u osób grupy badanej w porównaniu do tych wartości grupy kontrolnej. Potwierdza to konieczność monitorowania stanu metabolicznego pacjentów leczonych z powodu ALL w okresie dzieciństwa i młodzieńczym, nawet jeżeli nie występują jeszcze objawy kliniczne. W badanej grupie 2/3 pacjentów wykazywało nieprawidłowości metaboliczne.

Wysokie stężenie SIRT1 w komórkach zwiększa ich wrażliwość na insulinę. Sun i wsp. wykazali, że sirtuina 1 poprzez zahamowanie transkrypcji PTP1B (ang. Protein Tyrosine Phosphatase 1B) zwiększa wrażliwość komórek mięśniowych na insulinę. Hamuje bowiem enzym, który inaktywuje kinazy tyrozynowe, czyli receptory insulinowe. Hamowanie tej aktywności zachodzi zarówno na poziomie enzymatycznym – deacetylacja fosfatazy PTP 1B oraz na poziomie transkrypcyjnym – deacetylacja histonu 3, co wpływa na zmniejszenie ilości mRNA fosfatazy w komórce [28].

Wyższe stężenia sirtuiny1 w organizmie osób po zakończonym leczeniu ALL sugerowałyby ich zmniejszone ryzyko rozwoju hiperglikemii i insulinooporności. Nie potwierdzają tego wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań. Może to sugerować, że stosowane w terapii leki onkologiczne wpływają na efekty działania SIRT1 poprzez inaktywację lub trwałą zmianę właściwości badanego białka sirtuiny1, bądź szlaków przez nie regulowanych. Istnieją dowody, że zwiększone stężenie sirtuiny1 będzie paradoksalnie predysponować do rozwoju hiperglikemii w organizmie [86]. W przypadku nadmiernego podania aktywatorów sirtuiny1, może dojść do wzrostu ekspresji genów enzymów odpowiedzialnych za proces glukoneogenezy w wyniku deacetylacji FOXO1 i PGC-1 $\alpha$ . Podobne zjawisko obserwowane jest w przypadku długotrwałego głodzenia osoby [86]. U dzieci leczonych onkologicznie mogą występować okresy gorszego jedzenia spowodowane zarówno stosowaną terapią, jak i zaburzeniami pracy układu pokarmowego.

Sirtuina1 reguluje także gospodarkę lipidową ustroju. Wpływa głównie na działanie dwóch czynników transkrypcyjnych SREBP-1 (ang. Sterol Regulatory Element Binding Protein 1) oraz jądrowego receptora PPAR $\gamma$  (ang. Peroxisome Proliferator-activated Receptor- $\gamma$ ). Sirtuina1 u zdrowych organizmów najwyższą aktywność osiąga w okresie głodzenia, kiedy przerwy w dostarczaniu pożywienia przekraczają 12 godzin (krótkotrwała deprywacja pokarmu). Wpływa wówczas na deacetylację czynnika transkrypcyjnego SREBP-1, co obniża jego aktywność. Zmniejszona zostaje aktywność lipogenezy i zredukowana synteza cholesterolu w organizmie również po dostarczeniu obfitego pożywienia. Deacetylowany przez wysoki poziom sirtuiny1, czynnik transkrypcyjny SREBP-1, jest nieaktywny i nie jest w stanie aktywować ekspresji genów lipogenezy i syntezy cholesterolu również w warunkach

do tego optymalnych, czyli po spożyciu dużej ilości składników odżywczych [87], [88]. PPAR $\gamma$  jest to czynnik, który reguluje proces adipogenezy. Wpływa na geny produkujące białka biorące udział w transporcie kwasów tłuszczowych jak gen *białka FABP* (ang. Fatty Acid Binding Protein). Sirtuina1 dezaktywuje czynnik PPAR $\gamma$  wiążąc jego kofaktory (NcoR ang. Nuclear Receptor Co-repressor i SMRT ang. Silencing Mediator of Retinoid and Thyroid Hormone Receptors), co uniemożliwia wiązanie lipidów aktywujących transkrypcję genów adipogenezy [86]. Przedstawione powyższe zależności potwierdzają więc, że wysoki poziom sirtuiny1 w organizmie wpływa pozytywnie na gospodarkę lipidową. Ma to znaczenie ochronne przy rozwoju dyslipidemii. W wykonanym przeze mnie badaniu osoby które ukończyły leczenie ALL, charakteryzują się wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i trójglicerydów oraz równocześnie wyższym w porównaniu z populacją kontrolną stężeniem sirtuiny1 we krwi, co nie potwierdza przedstawionych zależności. Przemawia jednak za tym, że zastosowane leczenie onkologiczne wpływa na metabolizm SIRT1.

Wysokie stężenie sirtuiny1 w organizmie ma znaczenie protekcyjne wobec chorób nowotworowych [89]–[92]. Do głównych metod naprawy struktury materiału genetycznego należą Base Excision Repair, czyli wycięcie zasad, Nucleotide Excision Repair, wycięcie całych nukleotydów, Non-homologous End Joining, łączenie niehomologicznych końców oraz rekombinacja - Homologous Recombination [87], [88]. Sirtuina1 odgrywa istotną rolę w regulacji wymienionych mechanizmów. Wycięcie zasad, czyli naprawa jednoniciowego DNA, zachodzi w sposób ciągły przy udziale glikozydazy DNA, endonukleazy AP, polimerazy DNA  $\beta$  i ligazy DNA. Sirtuina1 odpowiada za właściwą modyfikację endonukleazy AP, poprzez acetylację lizyn. W przypadku nieprawidłowego sparowania zasad sirtuina1 zmniejsza stopień acetylacji endonukleazy AP, co umożliwia rozpoznanie błędu [89]. Proces wycięcia całych nukleotydów, obejmuje większy obszar DNA i stanowi mechanizm naprawy nieprawidłowo skręconej helisy dwuniciowego DNA. Zachodzi przy udziale białka XPC, czynnika transkrypcyjnego TFIIH, białek XPA i RPA, endonukleaz, polimerazy DNA i ligazy I. Sirtuina1 podczas procesu naprawy DNA w mechanizmie wycięcia całych nukleotydów odpowiada za deacetylację białek XPC i XPA, dzięki czemu sprawnie wiążą się one do DNA i rozpoznają nieprawidłowości [89]. Ming i wsp. w swojej pracy udowadniają, że jeśli sirtuina1 działa prawidłowo, po zadziałaniu czynnikami mutagennymi nie tylko wpływa na procesy deacetylacyjne białek XPC i XPA, ale również promuje zwiększoną ekspresję białka XPC, co stanowi dodatkowy mechanizm ochronny DNA [90].

Wysokie stężenie sirtuiny1 wykazuje również działanie protekcyjne w rozwoju chorób nowotworowych, a tym samym zaburzeń metabolicznych związanych z tymi chorobami. Wyniki przeprowadzonych przeze mnie badań nie potwierdziły tych zależności, co wydaje się związane z utratą właściwości ochronnych sirtuiny lub nieprawidłowy jej metabolizm u osób po leczeniu ALL.

Analizując parametry antropometryczne: masę i wysokość ciała dzieci po zakończeniu leczenia onkologicznego w porównaniu z populacją kontrolną obserwujemy, u osób grupy badanej istotnie niższe wartości HSDS. Spośród przebadanych przeze mnie dzieci w grupie badanej niskorosłość została stwierdzona u 13, natomiast w grupie kontrolnej tylko u 2 badanych. Przyczyną zmniejszenia potencjału wzrostowego u dzieci chorujących na

nowotwory jest wiele. Może być to sama choroba nowotworowa, która stanowi olbrzymie obciążenie dla organizmu, jak również zastosowane leczenie cytostatyczne.

Zastosowane w leczeniu ALL cytostatyki zmieniają nie tylko metabolizm komórek nowotworowych ale również zdrowych komórek organizmu.

Wysokodawkowana glikokortykosterydoterapia w znacznym stopniu wpływa na gospodarkę hormonalną organizmu. Zmienia metabolizm węglowodanowy i lipidowy ustroju. Wpływa na obniżone wydzielanie hormonu wzrostu. Glikokortykosterydy podwyższają poziom glukozy we krwi, co zmniejsza ilość wydzielanego hormonu wzrostu. Może powodować także zmiany w budowie kośćca, osłabienie jego mineralizacji, ale również przyspiesza zarastanie chrząstek wzrostowych uniemożliwiając dalszy wzrost kości długich [93].

W metaanalizie przeprowadzonej przez Pruteana i wsp. obejmującej 728 dzieci leczonych glikokortykosterydami z powodu astmy oskrzelowej stwierdzono, że zahamowanie potencjału wzrostowego w przebiegu glikokortykosterydoterapii największe jest podczas pierwszych 6 miesięcy stosowania preparatu. Wpływ na wystąpienie zależy jest również od dobowej dawki, długości trwania terapii, generacji zastosowanego leku oraz wieku pacjenta [94].

Glikokortykosterydy starszej generacji w większym stopniu wpływają na zahamowanie szybkości wzrastania. Bardziej wrażliwe na tego rodzaju działanie niepożądane obserwowane jest częściej u najmłodszych dzieci. Określono że znamienna różnica w przyroście wzrastania stanowiła średnio 0,2cm na rok, pomiędzy grupami dzieci leczonych odpowiednio flutyzonem, cyklozoniem i mometazonem (co najmniej 150 µg beklometazonu) przez 52 tygodnie [94].

Wysokie stężenie sirtuiny1 w komórkach organizmu spełnia działanie ochronne wobec niekorzystnego wpływu glikokortykosterydów. Prawidłowe komórki ciała, dzięki uruchomieniu odpowiednich szlaków metabolicznych regulowanych przez sirtuinę1 przeciwdziałają niekorzystnym następstwom glikokortykosterydoterapii. Wysoki poziom glikokortykosterydów powoduje bowiem dysfunkcję mitochondriów komórek i prowadzi do procesu wyniszczenia [95]. Wiązanie ligandu i wzrost aktywności receptorów glikokortykosteroidowych komórek ciała, aktywuje białko p300, acetylazę histonową (HAT) i białko współregulacyjne SIRT1. Uwalniają się wówczas HADC klasy I i II, co powoduje zwiększenie transkrypcji UPC3. UPC3 wpływa na stabilność błon mitochondrialnych. Wysoka aktywność deacetylazy genu *SIRT1* spełnia w tym szlaku działanie ochronne i hamuje transkrypcję UPC3. Dochodzi do tego dzięki zahamowaniu interakcji pomiędzy koaktywatorem p300 na promotorze a glikokortykosterydami [9]. Wzrost aktywności *SIRT1* chroni więc komórki przed uszkodzeniem związanym z działaniem glikokortykosterydów. Badana przeze mnie grupa pacjentów pomimo wyższego niż w grupie kontrolnej stężenia sirtuiny 1 w organizmie, prezentuje niższy HSDS. Terapia ALL, czynniki metaboliczne i genetyczne u tych osób mogą zmieniać opisane szlaki regulacyjne, co powoduje, że sirtuina1 wykazuje niewystarczające właściwości ochronne dla komórek organizmu. U pacjentów pomimo zwiększonego stężenia białka sirtuiny1 występują wczesne i późne powikłania terapii glikokortykosterydami [9], [96].

Dodatkowo istotnym czynnikiem niskorosłości u dzieci leczonych z powodu ALL jest zastosowanie leczenia radioterapeutycznego. Szczególnie niekorzystne skutki napromieniowania obserwuje się u dzieci poddanych radioterapii pomiędzy okresem niemowlęcym a 4 rokiem życia, w dawce większej niż 20 Gy. U takich pacjentów już w

początkowym etapie obserwowany jest spowolniony wzrost kośćca. Naświetlania skierowane na ośrodkowy układ nerwowy powodują dysfunkcję przysadki, co wpływa na niedobór hormonu wzrostu. Leczenie radioterapeutyczne nie jest jednak postępowaniem standardowym u każdego chorego [97]. W badanej przeze mnie grupie dzieci u 22 z 89 zastosowano radioterapię.

W mojej grupie leczonej z powodu ALL w porównaniu z grupą kontrolną nie zauważyłam ono jednak istotnych różnic parametrów WSDS (standaryzowane odchylenie standardowe masy ciała) i BMISDS (standaryzowane odchylenie standardowe wskaźnika masy ciała). Dzieci leczone onkologicznie wykazują zwiększone ryzyko rozwoju nadmiernej masy ciała. Nadwaga w mojej badanej grupie może być wynikiem długoterminowej, wysokodawkowanej glikokortykosterydoterapii, nieprawidłowej diety i ograniczonej aktywności fizycznej, co znajduje potwierdzenie w badaniach innych autorów [66], [98]–[100]. Browne i wsp. badając 372 dzieci leczonych z powodu ALL w wieku od 2 do 18 lat, w okresie od rozpoznania choroby onkologicznej do 5 lat od zakończenia leczenia, stwierdzili wzrost nadwagi w grupie badanej z 25,5% do 50% [101]. Autorzy uważają, że jest to efekt leczenia glikokortykoidami, które wpływają na akumulację lipidów komórkowych, indukowanie różnicowania pre-adipocytów do adipocytów i zwiększenie insulinooporności. Dodatkowo stwierdzony zwiększony bilans spożycia kalorii z nieprawidłowo zbilansowanej, wysokotłuszczowej diety i zmniejszony wydatek energetyczny związany głównie z siedzącym trybem życia wśród dzieci leczonych z powodu ALL [101]. Nadwaga i otyłość w tej populacji często współwystępuje ze zwiększonym ryzykiem infekcji, osteoporozy i jałowej martwicy kości, co dodatkowo wpływa na przebieg leczenia i pogarsza rokowanie pacjentów [102]. Podobne wyniki otrzymali również Ladhan i wsp, którzy zbadali grupę 1070 leczonych z powodu ALL [66]. Nie potwierdzają tego zjawiska obserwacje przeprowadzone w badanej przeze mnie grupie. Osoby leczone z powodu ALL nie wykazały istotnej różnicy masy ciała w stosunku do grupy kontrolnej, WSDS w grupie badanej wynosił  $-0,83$   $[-0,71-2,80]$ , a w grupie kontrolnej  $1,18$   $[0,44-2,71]$ . Analizując częstość występowania wartości przekraczających zakres normy w grupie badanej: niedobór masy ciała ( $WSDS < -1,66$ ) obserwowałam u 11, a  $WSDS > 1,66$  u 24 osób, natomiast w grupie kontrolnej u żadnej z osób nie stwierdziłam z  $WSDS < -1,66$ , natomiast u 20 osób z  $WSDS > 1,66$ . Wydaje się zatem konieczne kontynuowanie badań oceniających wpływ zastosowanej terapii ALL na masę ciała-pacjentów oraz związanej z tym zmiany metabolizmu sirtuiny1. Wysokie stężenie sirtuiny1 w organizmie może wykazywać działanie ochronne wobec nadwagi i otyłości. Sirtuina1, regulując metabolizm lipidów i węglowodanów w organizmie, zmniejsza kumulację nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej [103], [104]. Uzyskane przeze mnie wyniki badań parametrów biochemicznych gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz dane antropometryczne pacjentów leczonych z powodu ALL, sugerują istotny wpływ zmian metabolizmu sirtuiny1 na pojawienie się następstw leczenia onkologicznego u dzieci w dalszym życiu w okresie remisji. Nie mniej jednak nie można jednoznacznie potwierdzić ochronnego wpływu wysokiego stężenia białka sirtuiny1 na rozwój nadwagi i otyłości w grupie badanej, wymaga to przeprowadzenia dalszych analiz w większej grupie pacjentów.

U osób leczonych z powodu ALL występują liczne zaburzenia metabolizmu. Badani przeze mnie pacjenci to grupa osób od 2 do 7,5 roku po zakończeniu leczenia, a aktualny średni wiek pacjentów wynosi około 13 lat i 4 miesiące (zakres od 3 lat i 6 miesięcy do 30 lat).

Parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w mojej grupie osób badanych i kontrolnych po ukończeniu leczenia onkologicznego wykazują wyższe wartości lipidogramu i stężen glukozy oraz insuliny we krwi. W grupie badanej zostały stwierdzone dodatnie korelacje pomiędzy stężeniem trójglicerydów wyrażonych procentowo odpowiednio do wieku i płci, a parametrami gospodarki węglowodanowej, jak stężenie glukozy na czczo oraz w 120 min OGTT, stężeniem insuliny na czczo oraz w 120 min OGTT. Ujemne korelacje w grupie badanej zostały stwierdzone pomiędzy stężeniem HDL cholesterolu wyrażonego procentowo odpowiednio do wieku i płci, a parametrami gospodarki węglowodanowej jak stężenie glukozy w 60 min OGTT i w 120 min OGTT oraz stężeniem insuliny w 120 min OGTT. Stwierdziłam również, że zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ALL występują zarówno w trakcie leczenia onkologicznego jak i po jego ukończeniu. Wysokie stężenie i dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem trójglicerydów i glukozy we krwi, może wystąpić w wyniku stosowania długoterminowej, wysokodawkowanej terapii glikokortykosterydami. Potwierdza to dodatkowo dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem trójglicerydów i insuliny we krwi, a także ujemna korelacja stężenia trójglicerydów i stężenia cholesterolu HDL. Dodatkowo, tylko w grupie badanej występują ujemna istotna statystycznie korelacja pomiędzy wskaźnikiem HOMA IR i stężeniem cholesterolu HDL. Może to przemawiać za rozwojem zespołu metabolicznego w grupie badanej, co potwierdzają inni autorzy [98], [99]. Obserwowana jest wzrastająca częstotliwość występowania zespołu metabolicznego u osób, które ukończyły leczenie ALL w wieku dziecięcym i młodzieńczym [105], [106]. Sirtuina 1 wydaje się mieć znaczenie ochronne przed rozwojem zespołu metabolicznego, ale konieczne jest dalsze prowadzenie badań.

Występujące w jedynie mojej grupie badanej wiele istotnych statystycznie dodatnich korelacji pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego a innymi parametrami gospodarki lipidowej (stężeniem HDL(%), stężeniem trójglicerydów(%), stężeniem ApoA1(%),) potwierdza ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego. Stwierdzone dyslipidemia, insulinooporność i nadciśnienie tętnicze to następstwa leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej oraz komponenty zespołu metabolicznego. Zmiany te wiązane są między innymi z reakcją organizmu na leczenie glikokortykosterydami. Opisywane są zarówno w trakcie leczenia onkologicznego, tuż po jego zakończeniu oraz w dalszym życiu osób leczonych z powodu ALL. Warris i wsp. ocenili wpływ terapii glikokortykosterydowej na parametry gospodarki lipidowej i węglowodanowej 50 osób w wieku 3-16 lat w trakcie leczenia podtrzymującego ALL z zastosowaniem pięciodniowego kursu deksametazomu.[107]. Stwierdzili, że leczenie deksametazonem znacznie zwiększyło stężenia na czczo HDL, LDL, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów oraz glukozy i insuliny, wyższy wskaźnik HOMA IR jako marker insulinooporności. Autorzy ci sugerują, że leczenie deksametazonem gwałtownie indukuje rozwój czynników zespołu metabolicznego [107]. Kourti i wsp. ocenili ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego po zakończeniu leczenia ALL w 52 osobowej grupie pacjentów (29 chłopców i 23 dziewczynki, średnia wieku 15,2 lat, zakres 6,1-22,6 lat) po zakończeniu leczenia( mediana 37 miesiecy, zakres 13-121 miesiecy). Wszystkie kryteria zespołu metabolicznego: hipertrójglicerydemia, nietolerancja glukozy, masa ciała powyżej 95 centyla, spełnione były przez trzech badanych pacjentów (5,76%). Ponad 55% z badanej grupy dwadzieścia dziewięć dzieci (55,7%) wykazywało przynajmniej jedną składową zespołu metabolicznego. Hiperglikemia i

nadciśnienie tętnicze występowały z mniejszą częstością. Badani pacjenci najczęściej prezentowali zaburzenia lipidogramu. Prawidłowa diagnostyka czynników predykcyjnych ryzyka rozwoju zespołu metabolicznego i wczesna interwencja są więc bardzo istotne, aby zmniejszyć ryzyko rozwoju chorób sercowo-naczyniowych u osób, które przeżyły ALL [108]. Potwierdzają także wyniki przeprowadzonego przeze mnie badania. W mojej grupie osoby po ukończeniu leczenia ALL prezentują dodatkowo istotny statystycznie ujemną korelację występujący pomiędzy WSDS i stężeniem cholesterolu całkowitego(%) oraz BMI i stężeniem cholesterolu całkowitego(%). Zatem pacjenci, którzy po ukończeniu leczenia onkologicznego utrzymują prawidłową masę ciała, wykazują mniejsze ryzyko rozwoju składowych zespołu metabolicznego [66], [98], [101].

## 2. Ocena parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ALL.

U wszystkich osób grupy badanej i kontrolnej ocenione zostały parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz ich wpływ na stężenie białka sirtuiny1 we krwi.

U osób prezentujących prawidłowe wartości parametrów lipidogramu oraz glikemii stwierdzono istotne wyższe stężenie białka sirtuiny1 w grupie pacjentów badanych w porównaniu z pacjentami grupy kontrolnej.

Wśród osób wykazujących wartości stężenia glukozy i insuliny na czczo, hemoglobiny glikowanej oraz C-peptydu mieszczących się w zakresie normy, stężenie białka sirtuiny1 we krwi jest istotnie wyższe. Podobna zależność występuje u osób, których stężenie cholesterolu HDL, non-HDL oraz trójglicerydów wykazują wartości prawidłowe.

U osób z grupy badanej, u których wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej są nieprawidłowe, obserwowane są podobne zależności. Stężenie białka sirtuiny1 było istotnie wyższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej u osób z wynikami przekraczającymi zakres normy laboratoryjnej dla cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, cholesterolu HDL i non-HDL oraz trójglicerydów, podobnie jak wskaźnik HOMA IR. Pacjenci grupy badanej, u których wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej przekraczają granice normy wykazują nieco wyższe wartości stężenia białka sirtuiny1 we krwi w porównaniu do pacjentów grupy badanej z prawidłowymi wynikami badań lipidogramu i glikemii. Zjawiska tego nie obserwujemy natomiast w grupie kontrolnej. W grupie badanej, niezależnie od wartości lipidogramu, stężenie białka sirtuiny1 jest wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej, jakkolwiek istotna różnica występuje, gdy istotna różnica występuje przy nieprawidłowych stężeniach całkowitego i LDL cholesterolu.

Białko sirtuina1 wspomaga właściwą kontrolę gospodarki lipidowej ustroju poprzez pozytywny wpływ na kontrolę procesu adipogenezy i dystrybucji tłuszczów w organizmie. Wyższe stężenia sirtuiny1 u pacjentów leczonych z powodu ALL w porównaniu z osobami grupy kontrolnej może przemawiać za zaburzeniami mechanizmów regulacyjnych sirtuiny1. W grupie leczonej z powodu ALL u pacjentów z nieprawidłowym lipidogramem zależność ta dotyczy większości badanych składowych w porównaniu do pacjentów z prawidłowym lipidogramem. Może to sugerować, że wśród osób leczonych z powodu ALL w trakcie rozwoju zaburzeń gospodarki lipidowej, zmianie ulegają kolejne szlaki kontroli genu *SIRT1* i białka sirtuiny1. Sirtuina1 w prawidłowych warunkach metabolizmu spowalnia proces

produkcji cholesterolu i kwasów tłuszczowych poprzez oddziaływania na czynnik transkrypcyjny SREBP-1 oraz reguluje proces adipogenezy wpływając na jądrowy receptor PPAR $\gamma$ [109].

Potwierdzają to wyniki badań, w których wykazano, że wzrost wewnątrzkomórkowych poziomów glukozy w hepatocytach płodowych może powodować hamowanie sygnalizacji genu *SIRT1*, co wiąże się ze wzrostem ekspresji genów warunkujących lipidogenezę. Stres oksydacyjny, dysfunkcja mitochondriów oraz wzrost ilości cytokin prozapalnych występują w przypadku „przeciążenia” lipidowego komórek, co dodatkowo zmienia procesy regulacji stężenia sirtuiny1 [109], [110]. Stężenie sirtuiny1 w prawidłowych komórkach najwyższe jest w okresie głodzenia i niskiego stężenia glukozy. U pacjentów leczonych z powodu ALL metabolizm sirtuiny1 może być zmieniony ze względu na hiperglikemię indukowaną wysokodawkowaną glikokortykosterydoterapią oraz nieprawidłowo zbilansowaną dietą. Są to czynniki zwiększające ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego w tej grupie osób. Może się on wystąpić wśród osób leczonych onkologicznie z powodu ALL na każdym etapie życia, zarówno w okresie młodzieńczym oraz w dalszym życiu. Hiperalimentacja to ważny czynnik, który wpływa na zmniejszenie stężenia sirtuiny1 w organizmie i nasila zaburzenia składowych zespołu metabolicznego [111].

W mojej grupie u osób nie wykazujących zaburzeń gospodarki węglowodanowej wyższe stężenie sirtuiny1 występuje u osób badanych w porównaniu z grupą kontrolną. U pacjentów wykazujących zaburzenia metaboliczne, istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną obserwujemy dla wskaźnika HOMA IR. Sugeruje to zaburzenia szlaków gospodarki węglowodanowej regulowanych przez białko sirtuinę1 w grupie pacjentów leczonych z powodu ALL.

Sirtuina1 wpływa na regulację gospodarki węglowodanowej organizmu poprzez udział w procesie glikolizy, glukoneogenezy oraz wydzielania insuliny [112].

Najwyższy poziom sirtuiny1 w komórkach obserwujemy w okresie głodzenia, co związane jest ze wzrostem stosunku NAD<sup>+</sup> do NADH w tych warunkach ze względu na wzrost stężenia pirogronianu i spadek ilości mleczanu w wątrobie [113].

System kontroli procesu glukoneogenezy przez białko sirtuinę1 zależy od czasu głodzenia [111], [112]. W początkowym okresie wzrost stężenia sirtuiny1 będzie zmniejszał produkcję glukozy. Deacetylacja CR2C2 (ang. CREB-regulated Transcription Coactivator 2), powoduje utratę jego aktywności, co wpływa na zmniejszenie transkrypcji genów enzymów biorących udział w glukoneogenezie. Jeśli jednak okres niedoboru pożywienia się przedłuży, to dochodzi do deacetylacji czynnika transkrypcyjnego FOXO1 (ang. Forkhead Box Protein O1) oraz PGC-1 $\alpha$  (ang. Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1 $\alpha$ ), co powoduje ich aktywację. Wzrost aktywności FOXO1 i PGC-1 $\alpha$  zwiększa produkcję glukozo-6-fosfatazy (G6Paza) i karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej (PEPCK) w komórce, co umożliwi intensyfikację zwiększanie stężenia glukozy w komórkach [112]. Sirtuina1 bramiając kolejne etapy glukoneogenezy stanowi więc dla zdrowego organizmu ochronę przed negatywnymi skutkami głodzenia. W przeprowadzonym przeze mnie badaniu wyższe stężenie sirtuiny1 występuje u osób po ukończonym leczeniu ALL w porównaniu z populacją kontrolną. U pacjentów grupy badanej stwierdziłam częściej występujące nieprawidłowe wartości stężenia glukozy na czczo. Nieprawidłowa glikemia na czczo i insulinooporność w tej grupie może być więc spowodowana zwiększoną aktywnością procesu glukoneogenezy ze

względem na nadmierną aktywność sirtuiny1 na czynniki transkrypcyjne promujące wzrost poziomu enzymów biorących udział w syntezie glukozy.

Kolejnym mechanizmem warunkującym homeostazę glikemii we krwi, w którym sirtuina1 bierze bezpośredni udział jest proces glikolizy. Wzrost stężenia sirtuiny1 w komórce hamuje proces glikolizy. Sirtuina1 wpływa na ten proces oddziałując z dwoma czynnikami: indukowanym hipoksją HIF-1 oraz enzymem fosfogliceromutazą-1 (PGAM-1). Wysokie stężenie sirtuiny1 powoduje dezaktywację czynnika HIF1 poprzez jego deacetylację. Zmniejszenie aktywności HIF1 wpływa negatywnie na proces transkrypcji enzymów kluczowych dla procesu glikolizy takich jak dehydrogenaza mleczanowa (LDH), izomeraza glukozy-6-fosforanowa, fosfofruktokinaza (PFK-1) i kinaza fosfoglicerynianowa 1 (PGK-1). Bezpośrednia deacetylacja przez sirtuinę1 fosfogliceromutazy-1 powoduje utratę jej aktywności co dodatkowo zmniejsza intensywność glikolizy [92]. Sirtuina1 hamując proces glikolizy powoduje wzrost stężenia glukozy w komórkach. Zwiększone stężenie sirtuiny1 u osób leczonych z powodu ALL może działać hamująco na proces glikolizy, co może przyczyniać się do wzrostu stężenia glukozy w organizmie u pacjentów grupy badanej. Sugeruje to, że podwyższone stężenie sirtuiny1 w organizmie może paradoksalnie wpływać negatywnie na metabolizm węglowodanowy u osób grupy badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Sirtuina1 wpływa na kontrolę gospodarki węglowodanowej ustroju poprzez zwiększenie funkcji wydzielniczej trzustki. Działa ochronnie wobec komórek trzustkowych  $\beta$  i stymuluje proces wydzielania insuliny. Zachodzi to dzięki kontroli syntezy mitochondrialnego białka UCP2 (ang. Uncoupling Protein 2) oraz wpływie na czynniki transkrypcyjne genów insuliny *MafA* i *NeuroD*. Aby z komórek  $\beta$  trzustki została wydzielona do krwi cząsteczka insuliny niezbędne jest wysokie stężenie ATP, które reguluje funkcje kanałów potasowych i wapniowych komórek  $\beta$  trzustki. Wzrost syntezy ATP w komórce obserwowany jest po zablokowaniu przez sirtuinę1 produkcji mitochondrialnego UCP2 [5]. Dodatkowo wysoki poziom sirtuiny1 w komórkach  $\beta$  trzustki zwiększa proces syntezy cząsteczek insuliny. Deacetylacja przez sirtuinę1 czynnika transkrypcyjnego FOXO1 aktywuje transkrypcję genów *insuliny MafA* i *NeuroD* [98]. Przedstawione regulacje gospodarki węglowodanowej, w których udział bierze sirtuina1 mogą sugerować, że niedobór tego białka w organizmie prowadzi do zaburzeń kontroli glikemii. Jednak jeśli dochodzi do zwiększonej kumulacji białka sirtuiny1 również mogą zostać uruchomione mechanizmy, które prowadzą do wystąpienia hiperglikemii i insulinooporności. Istnieje więc możliwość, że właśnie to zjawisko może tłumaczyć przedstawione przeze mnie obserwacje nieprawidłowej tolerancji glukozy u pacjentów po zakończonym leczeniu ALL. Dodatkowo w przedstawionym przeze mnie badaniu została wykonana analiza korelacji stężenia sirtuiny1 z innymi parametrami biochemicznymi z podziałem na płeć w grupie badanej i kontrolnej. Najwięcej dodatnich korelacji stężenia sirtuiny1 zaobserwowano u kobiet w grupie badanej. Wykazano dodatnią korelację stężeniem sirtuiny1 ze stężeniami: insuliny w 60 min OGTT, cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, ApoB. U płci męskiej grupy kontrolnej zaobserwowano natomiast dodatnią korelację stężenia sirtuiny1 ze stężeniem cholesterolu HDL. Pokazuje to, że u osób grupy badanej, szczególnie u płci żeńskiej, wysokie stężenie sirtuiny1 wpływa negatywnie na kontrolę gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Wyższe poziomy insuliny w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej mogą predysponować do rozwoju insulinooporności. W grupie badanej



wystąpił także wysoki poziom sirtuiny1, który wykazywał korelacje z nieprawidłowościami lipidogramu: wysokimi stężeniami cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL. Może to sugerować, że wysoki poziom sirtuiny1 w organizmie uruchamia mechanizmy predysponujące do zaburzeń kontroli glikemii i nieprawidłowego metabolizmu lipidów [92]. Dla porównania wzrost stężenia sirtuiny1 u mężczyzn grupy kontrolnej, wykazuje pozytywny wpływ na lipidogram i koreluje ze wzrostem stężenia cholesterolu HDL. Inamori i wsp przeprowadzili badanie grupy 707 japońskich mężczyzn i 723 kobiet analizując wpływ wariantów genetycznych genu *SIRT1* oraz stosowanej diety na parametry lipidogramu. U osób wykonujących rutynowe badania kontrolne oceniono 2 haplotypy genu *SIRT1* oraz stopień zawartości wielonienasyconych (n-6, n-3) kwasów tłuszczowych w diecie. Parametry lipidogramu mogą ulegać modyfikacji nie tylko ze względu na stężenia sirtuiny1 ale również ze względu na jej wariant genetyczny. Dodatkowo zaobserwowano, że cząsteczki kwasów tłuszczowych mogą bezpośrednio modyfikować szlaki regulacyjne sirtuiny1. Zarówno gen *SIRT1*, jak i wielonienasycone kwasy tłuszczowe mogą wpływać na ekspresję genów receptorów jądrowych i czynników transkrypcyjnych związanych z metabolizmem lipidów, w tym LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PPAR $\alpha$ , SREBP-1c [114]. Ponadto szlaki *AMPK/SIRT1* w makrofagach aktywowane są dzięki n-3 nienasyconym kwasom tłuszczowym. Niektóre warianty genetyczne genu *SIRT1* mogą wykazywać większy potencjał zmienności kontroli gospodarki lipidowej ustroju pod wpływem diety bogatej w wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Niemniej odnotowano korzystny wpływ zwiększenia spożycia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie na parametry gospodarki lipidowej organizmu: spadek stężenia cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów oraz wzrost stężenia cholesterolu HDL. Co wiązało się z ich pozytywnym wpływem na regulację szlaków warunkowanych przez gen *SIRT1* i jego produkt białko sirtuinę1 [115]. Może to sugerować, że wpływ na różnice w wartościach lipidogramu i stężenia białka sirtuinę1 mogą być również związane ze stosowaną dietą w obu grupach zarówno kontrolnej jak i badanej. Dieta bogata w wielonienasycone kwasy tłuszczowe pozytywnie oddziałuje na gospodarkę lipidową ustroju i wspomaga prawidłowy metabolizm szlaków regulowanych przez białko sirtuinę1. Istotna jest więc promocja właściwych nawyków żywieniowych u pacjentów leczonych z powodu ALL. Ze względu na zastosowane leczenie onkologiczne z wysokodawkowaną glikokortykosteroidoterapią pacjenci grupy badanej stanowią populację, szczególnie obciążoną ryzykiem rozwoju dyslipidemi i zespołu metabolicznego. Zapewnienie pacjentom właściwej opieki dietetycznej i wdrożenie zbilansowanej diety może wspomóc regulację gospodarki lipidowej i węglowodanowej u tych osób.

Analizując korelacje parametrów gospodarki węglowodanowej w grupie badanej i kontrolnej z podziałem na płeć zauważamy istotne dodatnie korelacje stężenia glukozy na czczo z ApoA1 w grupie badanej mężczyzn oraz stężenia insuliny na czczo ze stężeniem trójglicerydów w grupie badanej mężczyzn i w grupie kontrolnej kobiet. Istotne ujemne korelacje stwierdzono pomiędzy stężeniem insuliny na czczo a stężeniem cholesterolu HDL w grupie badanej kobiet i mężczyzn oraz w grupie kontrolnej kobiet. Przedstawione zależności wskazują, że wzrost stężenia insuliny na czczo we krwi często wiąże się także z zaburzeniami parametrów lipidogramu: wzrostem stężenia trójglicerydów i obniżeniem stężenia cholesterolu HDL, szczególnie u chłopców leczonych z powodu ALL. Dodatkowo stwierdziłam dodatnie korelacje stężenia cholesterolu całkowitego ze stężeniem

insuliny na czczo, stężenia cholesterolu całkowitego ze stężeniem trójglicerydów, stężenia cholesterolu całkowitego ze stężeniem ApoA1 w grupie badanej mężczyzn. Ujemną korelację wykazano pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego i wskaźnikami antropometrycznymi: WSDS i BMI w grupie badanej mężczyzn. Może to wskazywać, że jeśli u chłopców po zakończonym leczeniu ALL pojawiają się zaburzenia gospodarki lipidowej często dotyczą one równocześnie wielu parametrów lipidogramu lub współgrają z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej. Dodatkowo zauważyć można, że nieprawidłowości metabolizmu lipidów nie są tylko charakterystyczne jedynie dla osób z nadwagą i otyłością u chłopców grupy badanej. Stwierdziłam ujemną korelację pomiędzy stężeniem cholesterolu całkowitego i wskaźnikami antropometrycznymi: WSDS i BMI u płci męskiej grupy badanej. Przeciwnie do przedstawionych przeze mnie obserwacji, Bruzzi i wsp. wykazali, że późne następstwa leczenia onkologicznego: nadwaga, otyłość, dyslipidemia i choroby sercowonaczyniowe częściej obserwowane są u kobiet które ukończyły leczenie ALL niż u mężczyzn, dodatkowym istotnym czynnikiem ryzyka jest również wysoki wskaźnik BMI [111].

Ujemną korelację wykazano dla stężenia cholesterolu HDL ze stężeniem insuliny na czczo, stężeniem insuliny w 120 min OGTT, wskaźnikiem HOMA IR, stężeniem trójglicerydów oraz wskaźnikiem BMI w mojej grupie badanej kobiet i mężczyzn. Dodatkowo grupie badanej kobiet i mężczyzn występuje dodatnia korelacja stężenia trójglicerydów ze stężeniem insuliny na czczo, wskaźnikiem HOMA IR oraz ApoB. W grupie badanej kobiet dodatnia korelacja występuje pomiędzy stężeniem trójglicerydów a stężeniem glukozy oraz stężeniem insuliny w 120 min testu OGTT. Sugeruje to, że wystąpienie zaburzeń gospodarki lipidowej u pacjentów leczonych z powodu ALL, często współistnieje z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej. Hipertrójglicerydemia i insulinooporność to zaburzenia występujące wspólnie z wysoką częstością w badanej populacji, co świadczy o zwiększonym ryzyku rozwoju zespołu metabolicznego w trakcie życia. W badaniu Nottage i wsp, którzy oceniali ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego po ukończeniu leczenia ALL, spośród 784 przebadanych, zespół zidentyfikowano u 259 osób, czyli 33,6% pacjentów [116].

Zwiększone ryzyko występowania zespołu metabolicznego, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego i wysokiego poziomu cholesterolu LDL u pacjentów leczonych z powodu ALL w porównaniu z populacją ogólną przedstawiają w swojej pracy również Levy i wsp. Nadwaga i otyłość występowały u ponad 70% kobiet leczonych onkologicznie. Nadciśnienie tętnicze częściej identyfikowane było u mężczyzn grupy badanej (około 20% przypadków). Stan przedcukrzycowy stwierdzono głównie u kobiet grupy badanej (6,1%), dodatkowo aż 41,3% kobiet leczonych z powodu ALL wykazało również dyslipidemię [117]. Podobne wyniki zwiększonego ryzyka rozwoju zespołu metabolicznego u pacjentów, którzy w przeszłości byli leczeni z powodu ALL otrzymali w swoim badaniu Barbosa-Cortés i wsp [118]. Najczęściej u osób leczonych z powodu ALL występowała insulinooporność (wysoki wskaźnik HOMA IR) oraz otyłość [118]. Wyniki innych badań są podobne do uzyskanych przeze mnie wyników w parametrach gospodarki lipidowej i węglowodanowej u pacjentów grupy badanej [117], [118]. Warris i wsp. analizując parametry zespołu metabolicznego u dzieci leczonych z powodu ALL, jako główny czynnik zwiększonego ryzyka nieprawidłowego metabolizmu węglowodanów i lipidów w tej populacji typują wysokodawkową terapię glikokortykosterydową [107]. Zmieniony metabolizm i wyższe stężenie sirtuiny1 we krwi

osób leczonych z powodu ALL dodatkowo modyfikuje regulacje gospodarki węglowodanowej i lipidowej w tej grupie osób. Ze względu na dużą skuteczność terapii onkologicznej, a tym samym wyleczalność pacjentów chorych na ALL na poziomie wyższym niż 80%, odnotowywane u nich liczne zaburzenia metabolizmu. Wskazane są jednak dalsze badania. Suzuki i wsp. wykazali wpływ działania genu *SIRT1* i białka sirtuiny1 na receptory glikokortykosterydowe oraz konsekwencje metaboliczne związane ze zmianami gospodarki węglowodanowej i lipidowej [59]. Receptor glikokortykosterydowy stanowi czynnik transkrypcyjny aktywowany przez hormon glikokortykosterydowy i wpływa na odpowiedź jądrową. Zbudowany jest z 777 aminokwasów i tworzy 3 domeny strukturalne (N-końcową immunogenną, środkową domenę wiążącą DNA i domenę C-końcową wiążącą ligand). Aktywowany po zdysocjowaniu przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie reguluje ekspresję genów pozostających pod kontrolą hormonów glikokortykosterydowych [59], [119].

Gen *SIRT1* i białko sirtuina1 zwiększa aktywność transkrypcyjną receptora glikokortykosterydowego. W sposób również niezależny od swojej funkcji deacetylazy przy współdziałaniu PGC1 $\alpha$  reguluje poziom jego transkrypcji. Sirtuina1 współdziała z środkową domeną wiążącą DNA receptora glikokortykosterydowego i jest przyciągana do kompleksu GILZ GRE w sposób zależny od deksametazonu. Sirtuina1 działa jako koaktywator receptora glikokortykosterydowego i wraz z PGC1 $\alpha$  zwiększa aktywność transkrypcyjną w sposób niezależny od aktywności deacetylazy. Sirtuina1 działa jak rusztowanie transkrypcyjne kompleksu transkrypcyjnego przyciąganego do receptora glikokortykosterydowego związanego z GRE. Poprzez wzmocnienie interakcji między białkami wspieranej przez wzajemną komunikację między składowymi białkami, takimi jak GR / SIRT1, GR / PGC1 $\alpha$  i SIRT1 / PGC1 $\alpha$  [120]. Sirtuina1 wydaje się działać jako „wzmacniacz” zarówno transaktywacyjnej, jak i transrepresyjnej akcji receptora glikokortykosterydowego [59]. Fizjologicznie hormony glikokortykosterydowe są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu.

Wzmocnienie odpowiedzi glikokortykosterydowej przez sirtuinę1 niezbędne jest do utrzymania prawidłowej funkcji mitochondriów w komórce. Przewlekła wysokodawkowa glikokortykosterydoterapia wywiera natomiast niekorzystne skutki zdrowotne. Nadmiar glikokortykosterydów powoduje stres oksydacyjny, co wpływa na szybsze starzenie się komórek i ich uszkodzenie. Transaktywacyjny i transrepresyjny wpływ sirtuiny1 na aktywność receptora glikokortykosterydowego wymaga dalszych badań zarówno w sytuacjach fizjologicznych, jak również patologicznych [121].

Oddziaływanie sirtuiny1 z receptorem glikokortykosterydowym oraz skomplikowany wpływ na homeostazę gospodarki glikokortykosterydowej organizmu dodatkowo utrudnia wyjaśnienie zaburzeń u pacjentów leczonych z powodu ALL. Regulacja ekspresji genu *SIRT1* i stężenia sirtuiny1 oraz jej wpływ na gospodarkę węglowodanową i lipidową ustroju wydaje się być zmieniona przez zastosowane leczenie onkologiczne.

Wskazane jest rozszerzenie badań dotyczących wpływu leczenia onkologicznego na gospodarkę węglowodanową i lipidową oraz metabolizm sirtuiny1 u pacjentów leczonych z powodu ALL.

### 3. Charakterystyka zmian ciśnienia tętniczego u osób leczonych z powodu ALL w porównaniu z grupą kontrolną.

Nadciśnienie tętnicze jest częstym następstwem leczenia ALL, które może wystąpić w trakcie intensywnego leczenia chemioterapeutycznego, ale również w okresie remisji. U pacjentów w trakcie leczenia onkologicznego komplikuje przebieg choroby podstawowej wpływając na zmniejszenie wyleczalności. Jako późne następstwo terapii ALL wpływa na długość życia pacjentów w remisji, ze względu na wzrost ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. W swojej pracy parametry ciśnienia tętniczego oceniłam zarówno retrospektywnie, jako dane w trakcie leczenia onkologicznego oraz przynajmniej rok po zakończeniu leczenia ALL. Porównując wartości parametrów z uwzględnieniem występowania podwyższonego ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi w grupach badanej i kontrolnej, stwierdziłam istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 u osób grupy badanej z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego niż u osób grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem skurczowym. Podobnie istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 występowało u osób grupy badanej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym w porównaniu do osób grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym. Sirtuina1 to białko zwiększające aktywność eNOS (endothelium nitric oxide synthase), która odpowiedzialna jest za produkcję śródbłonkowego tlenku azotu (NO). Powoduje to zwiększenie dylatacji naczyniowej, zmniejszenie stresu oksydacyjnego, hamowanie starzenia, dysfunkcję śródbłonka i przebudowę układu sercowo-naczyniowego [122]. Uszkodzenie funkcji endotelium prowadzi do rozwoju nadciśnienia tętniczego i chorób sercowo-naczyniowych. Sirtuina1 dzięki swojej funkcji, deacetyluje śródbłonkową syntazę NO na lizynach 496 i 506 zwiększając jej aktywność, dodatkowo zmniejsza także utlenianie lipidów warunkując homeostazę ciśnienia tętniczego [123], [124]. Ekspresja genu *SIRT1* jest zmniejszona w naczyniach miażdżycowych i naczyniach wieńcowych osobników starszych w badaniach na zwierzętach [125]. Niskie stężenie sirtuiny1 w organizmie związane jest bezpośrednio ze zmniejszoną biodostępnością NO i przedwczesnym starzeniem się komórek śródbłonka. Nadekspresja genu *SIRT1* redukuje stres oksydacyjny i zapobiega utracie wazorelaksacji oraz tworzeniu blaszek miażdżycowych [126]. U pacjentów leczonych z powodu ALL, jednym z późnych następstw terapii onkologicznej może być nadciśnienie tętnicze. Spowodowane jest stosowaniem długoterminowej, wysokodawkowanej glikokortykoterapii oraz leków cytostatycznych o potencjale kardi toksycznym. Innymi czynnikami zwiększającymi ryzyko chorób sercowo-naczyniowych w tej grupie jest niedostateczna aktywność fizyczna oraz hiperalimentacja. Nadciśnienie tętnicze u osób leczonych z powodu ALL występuje jako choroba współistniejąca z innymi zaburzeniami metabolicznymi: hiperinsulinemią, cukrzycą typu 2, nadwagą [127]. Występujące w mojej grupie badanej podwyższone stężenie sirtuiny1 we krwi osób leczonych z powodu ALL w porównaniu do osób z grupy kontrolnej może stanowić więc mechanizm kompensacyjny niekorzystnych następstw narządowych terapii onkologicznej. Pozwala to na utrzymanie prawidłowego ciśnienia skurczowego i rozkurczowego u osób grupy badanej. Nie stwierdziłam bowiem istotnych statystycznie różnic w częstości występowania podwyższonego ciśnienia tętniczego krwi między grupami. Osoby grupy badanej to głównie osoby młode, średni wiek w dniu badania to 13,28 lat. Część niekorzystnych następstw leczenia ALL może się więc rozwinąć w trakcie ich dalszego życia po wyczerpaniu

mechanizmów kompensacyjnych organizmu. Istotne jest więc dalsze monitorowanie metaboliczne osób po zakończonym leczeniu ALL, w tym także ciśnienia krwi. W mojej grupie badanej analizowałam również parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w powiązaniu ze zmianami skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego. U osób grupy badanej z podwyższonym ciśnieniem skurczowym stwierdzono wyższe stężenie insuliny na czczo, HOMA IR oraz trójglicerydów (%) w porównaniu z grupą kontrolną z prawidłowym ciśnieniem. Osoby grupy badanej z prawidłowym ciśnieniem skurczowym krwi wykazują istotnie niższy WSDS i BMI SDS aniżeli osoby grupy badanej i kontrolnej z podwyższonym ciśnieniem skurczowym. Istotnie wyższe stężenie glukozy na czczo, insuliny na czczo, wyższy wskaźnik HOMA IR i wartość trójglicerydów % występowały u osób grupy badanej z podwyższonym ciśnieniem rozkurczowym w porównaniu z osobami grupy kontrolnej z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym. W grupie badanej osoby z podwyższonym ciśnieniem rozkurczowym wykazały istotnie wyższe WSDS i BMI SDS w porównaniu z osobami z prawidłowym ciśnieniem rozkurczowym. Nadciśnienie tętnicze, nadwaga, insulinooporność i hiperlipidemia często stanowią choroby współistniejące. U ich podstawy występują wspólne nieprawidłowości regulacji szlaków gospodarki węglowodanowej i lipidowej organizmu. Przyczyny i etiopatogeneza zaburzeń jest wieloczynnikowa. Sirtuina1 stanowi ważny czynnik regulatorowy składowych zespołu metabolicznego [128]. Nadciśnienie tętnicze u osób leczonych z powodu ALL występuje jako odległe następstwo terapii onkologicznej. Obserwuje się jednak również zwyżki ciśnienia tętniczego w trakcie terapii onkologicznej, głównie podczas stosowania wysokodawkowanej glikokortykosterydoterapii i antracyklin o działaniu kardiotoksycznym. Wysokie ciśnienie tętnicze, groźne dla życia, może spowodować czasowe zmiany w leczeniu onkologicznym, co zmniejsza skuteczność podstawowej terapii [129]. Analizując częstości występowania nadciśnienia w grupie badanej w trakcie leczenia oraz po jego zakończeniu, nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic. Nadciśnienie tętnicze w trakcie leczenia wystąpiło u 21 osób z 77 osobowej grupy badanej, co stanowiło 27,3%. Po zakończeniu leczenia ALL podwyższone ciśnienie tętnicze odnotowałam u 21 z 77 osobowej grupy badanej (27,3%). U 8 osób z 77 osobowej grupy badanej (10,4 %) nadciśnienie tętnicze występowało zarówno w trakcie jak i po zakończeniu leczenia onkologicznego. Wskazane jest więc częste monitorowanie parametrów ciśnienia tętniczego u pacjentów zarówno w trakcie, jak i po zakończeniu leczenia ALL. Należy rozważyć wdrożenie odpowiedniej profilaktyki nadciśnienia tętniczego u pacjentów grupy badanej, polegającej zarówno na zmianie stylu życia, jak również farmakoterapii w razie konieczności. Wprowadzenie tych zaleceń na wczesnym etapie leczenia ALL może poprawić to efektywność terapii onkologicznej. Dodatkowo wskazane byłoby rozszerzenia badań potencjalnych markerów związanych z zaburzeniami dotyczącymi nadciśnienia tętniczego u większej liczby osób leczonych z powodu ALL. Pozwoliłoby to na wczesną identyfikację pacjentów z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Potencjalnymi markerami mogłyby być zmiany w obrębie polimorfizmów genu *SIRT1*, m.in. rs2273773 związanym z nadciśnieniem tętniczym oraz zmiany stężenia białka sirtuiny1, kontrolujące szlaki metaboliczne warunkujące prawidłową wazodylatację [130].

#### 4. Wybrane zależności scharakteryzowane u pacjentów grupy badanej w odniesieniu do sirtuiny1.

Analizując czynniki predysponujące pacjentów do przynależności do grupy badanej stwierdzono, że są to płeć żeńską oraz wysokie stężenie sirtuiny1 we krwi.

Wyniki pacjentów z grupy badanej dotyczące predyspozycji płci nie zgadzają się jednak z danymi literaturowymi. Częściej zachorowania na ALL obserwowane są w populacji męskiej. U chłopców, ALL rozpoznawane jest częściej w stosunku do dziewczynek niezależnie od wieku [131]. Wzrost stężenia sirtuiny1 we krwi może mieć natomiast znaczenie w ryzyku zachorowania na ALL. Wysokie stężenie sirtuiny1 w organizmie powinno wykazywać działanie ochronne przed rozwojem nowotworów. Sirtuina1 bierze udział w procesie naprawy DNA, dzięki czemu wspomaga utrzymanie stabilności genomu komórek, co chroni je przed rozwojem onkogennych mutacji [92].

Wykazano, że deacetylujące właściwości sirtuiny1 wobec białka p53 mogą stymulować rozwój niektórych nowotworów [129,130]. Deacetylacja peptydu p53 powoduje utratę jego aktywności. Chroni to komórki przed skierowaniem na szlak apoptozy. Biorąc pod uwagę ten mechanizm, wydaje się, że sirtuina1 może pomagać w przetrwaniu w organizmie komórek nieprawidłowych, zawierających wady genetyczne [132], [133]. Wskazane byłoby prowadzenie dalszych badań u pacjentów leczonych z powodu ALL celem wyjaśnienia czy zaburzeniach metabolizmu i funkcji sirtuiny1, może spowodować utratę jej właściwości przeciwnowotworowych, a tym samym wzrost aktywności procesów onkogennych.

Pacjenci leczeni z powodu ALL, po rozpoznaniu choroby i określeniu odpowiednich parametrów stanu zdrowia, przebiegu choroby oraz wykonaniu badań immunofenotypowych i molekularnych klasyfikowani są do określonych grup ryzyka. Pozwala to na dostosowanie odpowiedniego schematu leczenia warunkującego najwyższą wyleczalność i przeżywalność oraz zminimalizowanie ryzyka nawrotu choroby nowotworowej. W swojej pracy oceniłam retrospektywnie wpływ określonej grupy ryzyka ALL przed włączeniem terapii na parametry antropometryczne. Zaobserwowałam, w grupie niskiego ryzyka (pośrednie i standardowe) były osoby, które po zakończeniu terapii wykazywały prawidłowe lub wysokie wartości HSDS, WSDS i BMI. Natomiast osoby wykazujące niskie wartości parametrów antropometrycznych po leczeniu ALL w momencie rozpoznania choroby były w grupie wysokiego ryzyka. Zatem grupa ryzyka określona w momencie rozpoznania choroby wpływa na późniejszy rozwój pacjentów. Dodatkowo wyższy odsetek nawrotów choroby nowotworowej obserwowano u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka w momencie rozpoznania choroby, co mogło stanowić dodatkowy czynnik wpływający na gorszy rozwój wyrażający się niższymi wartościami parametrów antropometrycznych HSDS, WSDS, BMI. Pacjenci z grupy wysokiego ryzyka otrzymują bardziej zintensyfikowane leczenie onkologiczne w stosunku do osób grup niskiego ryzyka. Dodatkowo protokoły te, oprócz leczenia chemioterapeutycznego uzupełnione są radioterapią, co wpływa na dalszy rozwój. Wysokodawkowana glikokortykosterydoterapia zmniejsza potencjał wzrostowy, powodując zarastanie chrząstek wzrostowych oraz osłabiając mineralizację kości długich [99,100]. Innymi chemioterapeutykami, które negatywnie wpływają na wzrost i mineralizację kości są metotreksat, cyklofosfamid i ifosfamid. Upośledzają one również funkcje gonad: jajników i komórek Leydiga w jądrach. Obniżenie poziomu hormonów płciowych dodatkowo

negatywnie wpływa na mineralizację tkanki kostnej [134]. Radioterapia ośrodkowego układu nerwowego powoduje uszkodzenie przysadki mózgowej i zaburzenie jej funkcji endokrynnej, co powoduje m.in. zmniejszenie wydzielania hormonu wzrostu i hormonów gonadotropowych. Dodatkowo napromieniowanie szkieletu również upośledza wzrost kośćca, w tym kręgosłupa i powoduje jego deformacje [97]. Zbadane przeze mnie osoby kwalifikowane do leczenia według protokołu wysokiego ryzyka wykazywały również niższą wartość WSDS w porównaniu z osobami leczonymi według mniej obciążających protokołów z lepszym rokowaniem. Niższa masa ciała tych pacjentów może być spowodowana obciążeniem związanym z bardziej nasilonym procesem nowotworowym. U osób leczonych według schematów niskiego i standardowego ryzyka częściej obserwowano nadwagę i otyłość. Może to wynikać z zastosowanej glikokortykosterydoterapii, braku aktywności fizycznej i nieprawidłowej diety. Osoby najbardziej obciążone, leczone według schematu wysokiego ryzyka i z nawrotem choroby nowotworowej wykazują niższe parametry antropometryczne HSDS, WSDS, BMI w porównaniu do innych pacjentów leczonych z powodu ALL. Świadczy to o ogólnym zahamowaniu wzrastania i obniżeniu potencjału wzrostowego u dzieci, związanego z intensyfikacją leczenia onkologicznego [101]. Zmiany metabolizmu związane z przebiegiem choroby nowotworowej i leczeniem onkologicznym wpływają na stężenie sirtuiny1 w organizmie. Obniżenie podaży kalorii w diecie powoduje wzrost stężenia białka sirtuiny1 w organizmie. Zmiana stosunku NAD<sup>+</sup> do NADH występuje w komórkach w okresie głodzenia. Dochodzi wówczas bowiem do ograniczenia procesów utleniania komórkowego i enzymy z klasy oksydoreduktaz nie zostają wykorzystane. NAD<sup>+</sup> jest aktywatorem protonów i elektronów które powodują zmianę stanu oksydoredukcyjnego w komórkach. Wzrost stężenia koenzymu NAD<sup>+</sup> jest również sygnałem do zwiększenia stężenia białka sirtuiny1. Sirtuina1 oprócz modulacji i ograniczenia procesu adipogenezy oraz insulinooporności w komórkach w okresie głodzenia, będzie również chronić je od śmierci apoptotycznej bramkowanej przez białko p53 [133], [135]. Wydaje się, że przedstawione zależności mogą występować w grupie badanej. Pacjenci leczeni z powodu ALL charakteryzują się wyższym stężeniem białka sirtuiny1 w porównaniu z osobami grupy kontrolnej.

Porównałam stężenia białka sirtuiny1 w grupie badanej i kontrolnej w zależności od wartości prawidłowe i nieprawidłowe parametrów HSDS, WSDS i BMI. We wszystkich przypadkach zarówno u osób z prawidłowym i nieprawidłowym HSDS, WSDS, BMI stężenie sirtuiny1 było wyższe u pacjentów leczonych z powodu ALL w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto wyższe stężenie sirtuiny1 występuje u osób z prawidłowymi HSDS, WSDS i BMI w grupie badanej i kontrolnej w porównaniu z pacjentami z wynikami nieprawidłowymi. Może przemawiać za znaczeniem ochronnym wyższego poziomu sirtuiny1 we krwi przy utrzymywaniu prawidłowych wartości parametrów antropometrycznych. Sirtuina1 w warunkach prawidłowych wspomaga utrzymanie prawidłowej masy ciała. Zmniejsza proces adipogenezy i insulinooporność, regulując gospodarkę węglowodanową i lipidową organizmu. Potwierdzają to w swoim badaniu Stefanowicz i wsp, którzy wyższe stężenie białka sirtuiny1 odnotowali u osób z prawidłową masą ciała w porównaniu do osób z nadmierną masą ciała [131]. Dodatkowo porównali stężenie białka sirtuiny1 w tkance tłuszczowej i mięśniowej w odniesieniu do wrażliwości na insulinę oraz zmianę ekspresji sirtuiny1 w hiperinsulinemii i wzroście stężenia wolnych

kwasów tłuszczowych we krwi. U osób otyłych stężenie białka sirtuiny1 jest obniżone w komórkach tkanki tłuszczowej, natomiast nie jest zmniejszone w komórkach tkanki mięśniowej. Stężenie białka sirtuiny1 jest dodatkowo niższe w obrębie tkanki tłuszczowej u osób z nadmierną masą ciała i insulinoopornością w porównaniu do osób z nadwagą i normalną wrażliwością na insulinę. Nie wykazano natomiast takich różnic wobec tkanki mięśniowej [104]. Podobnie w przypadku ocenionej przeze mnie grupy badanej i kontrolnej osoby z prawidłowymi wartościami BMI wykazywały wyższe stężenie sirtuiny1 w organizmie. Dodatkowo wyższy poziom sirtuiny1 obserwowalam u osób leczonych z powodu ALL w porównaniu z grupą kontrolną. Hiperglikemia, insulinooporność i inne zaburzenia gospodarki węglowodanowej organizmu nie pozostają bez wpływu na regulację wzrostania. Podwyższony poziom glukozy we krwi negatywnie wpływa na wydzielanie hormonu wzrostu przez przysadkę mózgową [136].

Parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w mojej grupie badanej oceniałam uwzględniając długość trwania ciąży. Osoby grupy badanej urodzone przed 38 tygodniem ciąży wykazały niższe stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, białka ApoB w porównaniu z osobami urodzonymi po 38 tygodniu ciąży. W grupie kontrolnej nie zostały zaobserwowane takie zależności. Hipoteza przedstawiona przez Barkera wykazuje zależność pomiędzy rozwojem wewnątrzłonowym a zaburzeniami występującymi w wieku dorosłym [137]. Stwierdzenie dotyczy zmian metabolizmu w okresie płodowym, na które ze względu na niekorzystne warunki wewnątrzmaciczne i czynniki stresowe narażony jest płód. Ograniczenie odżywiania w okresie życia wewnątrzmacicznego może prowadzić do kumulacji tkanki tłuszczowej w dorosłym życiu i dalszych zaburzeń metabolicznych m.in. zaburzeń tolerancji glukozy i cukrzycy typu II, zaburzeń lipidowych, otyłości. Wyniki innych autorów potwierdzają zwiększone ryzyko zaburzeń lipidowych i podwyższonego stężenia cholesterolu w dorosłym życiu osób urodzonych przed 38 hbd [138]. Podobne obserwacje prezentuje Uthay i wsp, którzy stwierdzili, że wśród dzieci urodzonych przedwcześnie występuje zwiększone ryzyko zaburzeń gospodarki lipidowej, co może skutkować zwiększonym przyrostem tkanki tłuszczowej szczególnie w obrębie jamy brzusznej [139]. Należy w prowadzonych analizach uwzględnić wpływy środowiskowe i rodzinne, stwierdzone u rodziców nieprawidłowe wartości lipidogramu występują także u ich dzieci.

U osób z grupy badanej, które urodziły się przed 38 tygodniem ciąży stwierdziłam istotnie niższe wartości cholesterolu całkowitego i LDL w porównaniu z wartościami u osób z ALL urodzonych po 38 tygodniu ciąży i u osób z grupy kontrolnej urodzonymi przed 38 tygodniem ciąży. Porównując grupy osób urodzonych po 38 tygodniu ciąży, osoby z grupy badanej wykazują wyższe wartości lipidogramu w porównaniu do osób grupy kontrolnej. Ze względu na istotne ryzyko rozwoju chorób sercowo-naczyniowych i miażdżycy u osób leczonych z powodu chorób nowotworowych w okresie rozwojowym ważne jest monitorowanie parametrów lipidogramu oraz wczesne wdrożenie profilaktyki tych schorzeń u osób leczonych z powodu ALL [141].

W przypadku, gdy u dziecka występuje nadmierna masa ciała, wysokie ciśnienie tętnicze, cukrzyca, obciążony wywiad rodzinny lub środowiskowy, to według zaleceń Amerykańskiej Akademii Pediatrii rozpoczęcie diagnostyki dyslipidemii powinno się przeprowadzać nawet po ukończeniu 2 roku życia.



U pacjentów leczonych onkologicznie najczęściej diagnozowana jest hipercholesterolemia wtórna związana m.in. z glikokortykosterydoterapią. Postępowaniem pierwszego rzutu w przypadku zaburzeń lipidowych jest zmiana stylu życia, wdrożenie właściwej diety, zwiększenie wysiłku fizycznego i zmniejszenie masy ciała [142].

Również według Amerykańskiej Akademii Pediatrii, leki hipolipemizujące mogą być stosowane u dzieci dopiero powyżej 8 roku życia. Wskazania do tego rodzaju terapii stanowią stężenia cholesterolu LDL i ewentualne dodatkowe schorzenia. U dzieci ze zdiagnozowanymi zaburzeniami gospodarki węglowodanowej lub cukrzycą, gdy stężenie cholesterolu LDL przekracza 130 mg/dl. U dzieci obciążonych wysokim ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, gdy stężenie cholesterolu LDL we krwi przekracza 160 mg/dl. Przy braku dodatkowych obciążeń, gdy stężenie cholesterolu LDL jest wyższe niż 190 mg/dl. Poniżej 8 roku życia leczenie farmakologiczne hiperlipidemii włącza się, gdy poziom cholesterolu LDL przekracza 500 mg/dl [142]. W mojej grupie badanej blisko 72% osób wykazało podwyższone stężenie cholesterolu LDL. Zatem osoby leczone z powodu ALL, stanowią grupę ryzyka rozwoju zaburzeń gospodarki lipidowej. Wymagają monitorowania lipidogramu, zarówno w trakcie leczenia onkologicznego jak i po jego zakończeniu, nawet po wielu latach oraz wczesnego wdrażania profilaktyki chorób sercowo-naczyniowych.

Kolejnym istotnym problemem, który dotyczy pacjentów leczonych z powodu ALL jest jej nawrót. Występuje on stosunkowo często, w około 20% przypadków, co lokuje ten proces na czwartej pozycji nawrotów nowotworowych w populacji dziecięcej [143]. Nawrót ALL nie pozostaje bez wpływu na metabolizm organizmu, gospodarkę węglowodanową i lipidową ustroju. Wśród zbadanej przeze mnie populacji dzieci leczonych z powodu ALL u 11 spośród 86 pacjentów, wystąpił przynajmniej jeden nawrót pierwotnej choroby nowotworowej. Porównując oceniane parametry biochemiczne, istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą osób bez nawrotu ALL oraz po leczeniu nawrotu choroby nowotworowej stwierdziłam w stężeniu białka sirtuiny1 (istotnie wyższe) oraz wartościach MCV i MCH (istotnie niższe, choć mieszczące się w granicach normy).

Nawrót choroby nowotworowej występuje częściej u pacjentów zakwalifikowanych do wyższych grup ryzyka, wtedy gdy remisja choroby jest tylko czasowa [140]. Ponowne włączenie leczenia przeciwnowotworowego nie pozostaje bez wpływu na organizm pacjenta. Dodatkowe kursy glikokortykosterydoterapii i L-asparaginazy wpływają na gospodarkę węglowodanową i lipidową organizmu [145]. Znaczenie ma również dodatkowe obciążenie ciężką chorobą nowotworową, brak ruchu i zwykle nieprawidłowa dieta [146]. Wszystkie te czynniki mogą powodować obniżenie stężenia białka sirtuiny1 we krwi u pacjentów leczonych z powodu nawrotu choroby nowotworowej w porównaniu z osobami będącymi w remisji pierwotnej.

Stwierdzone w mojej grupie pacjentów zaburzenia gospodarki węglowodanowej oraz lipidowej, jako konsekwencja leczenia onkologicznego poza terapią glikokortykosterydami, mogą być spowodowane włączeniem L-asparaginazy [145]. Wykazuje ona niekorzystny wpływ na metabolizm trzustki. U 25-40% pacjentów pojawiają się zmiany narządowe, osoby te rozwijają ostre zapalenie trzustki, najczęściej przechodzące w zaburzenie o charakterze przewlekłym. Struktura narządu zostaje uszkodzona, często pojawiają się torbiele, co prowadzi do jej nieprawidłowej czynności zarówno wewnątrz jak i wewnątrzwydzielniczej. U pacjentów obserwowane są nawracające hiperglikemie, często stanowiące zagrożenie życia,

związane z niewystarczającą produkcją insuliny [147], [148]. Do zaburzeń gospodarki lipidowej związanych z leczeniem L-asparaginazą, należy przede wszystkim hipertrójglicydemia i hipercholesterolemia [148]–[150]. Zaobserwowano, że po włączeniu u myszy terapii L-asparaginazą, u części osobników doszło do uszkodzenia trzustki związanego z terapią onkologiczną, towarzyszyło temu zwiększenie stężenia białka sirtuiny1 w komórkach trzustkowych, jako odpowiedzi na stres oksydacyjny [63]. Zwiększona ekspresja genu *SIRT1* i wzrost stężenia sirtuiny1 w komórkach trzustki w trakcie stosowania L-asparaginazy może stanowić potencjalny wskaźnik uszkodzenia narządu i zaburzeń gospodarki węglowodanowej oraz lipidowej. Zastosowanie L-asparaginazy w zbadanej przez mnie grupie osób leczonych z powodu ALL, mogłoby tłumaczyć istotnie wyższe stężenie sirtuiny1 w tej grupie w porównaniu z grupą kontrolną. Wysokie stężenie sirtuiny1 stanowi odpowiedź organizmu na stres oksydacyjny wywołany toksycznością leczenia onkologicznego.

Dodatkowo Li i wsp. badając linie komórek kostniakomięsaka stwierdzili, że resveratrol, czyli substancja zwiększająca ekspresję genu *SIRT1* i stężenie sirtuiny1 w organizmie, w przypadku jednoczesnego włączenia terapii L-asparaginazą wykazuje zwiększenie właściwości proapoptotycznych zmienionych nowotworowo komórek [151]. Wskazane jest jednak przeprowadzenie takich badań na innych liniach komórek nowotworowych.

Na stan zdrowia osób leczonych z powodu ALL zarówno w trakcie, jak i po zakończeniu leczenia onkologicznego istotnie wpływa schemat według, którego prowadzono terapię onkologiczną. Pacjenci w mojej grupie badanej leczeni byli głównie według schematu ALL IC 2002 i ALL IC 2009, ze stratyfikacją do różnych grup ryzyka. Leczenie według schematu ALL IC 2002 otrzymało 45 dzieci, 32 osoby poddane zostały terapii według modelu ALL IC 2009. 5 pacjentów leczonych było według innego schematu. Schematy zastosowanej terapii onkologicznej różnią się między sobą ilością i częstością zastosowanych chemioterapeutyków. W schemacie ALL IC-BFM 2002, w protokole I pacjent otrzymywał prednizon (w pierwszym tygodniu w monoterapii), vincristine (VCR), daunorubicynę, L-asparaginazę (L-ASP), cytarabinę (ARA-C), cyklofosfamid, 6-merkaptopurynę (6-MP), MTX a w ALL IC-BFM 2009 encorton, VRC, daunorubicynę, L-ASP i metotreksat (MTX-IT). W ALL IC BFM-2009 protokół I został podzielony na IA' i IA w zależności od grupy ryzyka. W przypadku IRG i HRG stosowano dwa razy więcej dawek daunorubicyny. Następnie w protokole mM lub M, podawano metotreksat dożylnie i dokanałowo. W przypadku ALL IC-BFM 2009 w zależności od grupy ryzyka stosowano protokół B dla SRG i protokół Aug-IB dla IRG i HRG. Protokół IB zawierał cyklofosfamid lub endoksan oraz MESNA, aby zmniejszyć nefrotoksyczność cyklofosfamidu, ARA-C, merkaptopurynę i metotreksat, podobnie protokół Aug IB, lecz był wydłużony do 56, w miejsce 29 dni. Następnie pacjenci z grupy SRG rozpoczynali protokół mM i M z merkaptopuryną, metotreksatem i folinianem wapnia LCV. Pacjenci z IRG i HRG zarówno w ALL IC BFM 2002 jak i ALL IC BFM 2009 poddawani byli leczeniu schematami z bloków HR-1', HR-2', HR-3mM i M. Protokół II i III w ALL IC BFM 2002 zawierał deksametazon, doksorubicyna, L-ASP, cyklofosfamid, ARA-C, 6-tioguanina, MTX, a w ALL IC-BFM 2009 deksametazon, doksorubicynę, vincristine, L-ASP, cyklofosfamid, ARA-C, 6-tioguaninę i metotreksat. Na koniec w obu grupach pacjentów rozpoczynano leczenie podtrzymujące z 6-merkaptopuryną i metotreksatem. Dzieci zakwalifikowane do grupy ryzyka HRG, z zajęciem

ośrodkowego układu nerwowego przez ostrą białaczkę szpikową oraz z hiperleukocytarną ALL T-komórkową kwalifikowane są dodatkowo do leczenia radioterapeutycznego [48], [49], [56].

Porównując parametry biochemiczne u dzieci po ukończeniu leczenia ALL, stwierdziłam istotne różnice w metabolizmie węglowodanów i lipidów pomiędzy grupami leczonymi według schematu ALL IC 2002 lub ALL IC 2009. U osób grupy badanej leczonych według schematu ALL IC 2009, wykazano istotnie niższą glikemię i insulinemę w krzywej po obciążeniu glukozą (OGTT) we wszystkich pobraniach: na czczo, 60 min i 120 min, w porównaniu z wartościami u osób leczonych według schematu ALL IC 2002. Podobne obserwacje stwierdziłam w wartościach wskaźników HOMA IR i QUICKI. Istotnie niższy wskaźnik HOMA IR oraz istotnie wyższy wskaźnik QUICKI, niższe wartości HbA1c i trójglicerydów występowały w grupie badanej u osób leczonych schematem ALL IC 2009 w porównaniu z osobami leczonymi ALL IC 2002. Schematy leczenia ALL na przestrzeni czasu są systematycznie udoskonalane, co potwierdziły wyniki moich badań, pacjenci leczeni według schematu ALL IC 2009 wykazywali mniejsze zaburzenia metaboliczne. Zapewne przyczynia się to do poprawy wyleczalności i sukcesywne zmniejszenie śmiertelności dzieci chorych na ALL. Leczenie choroby nowotworowej jest coraz bardziej skuteczne, a odsetek wyleczeń ALL znacznie przekracza 80%. Wciąż jednak problemem pozostają niekorzystne następstwa leczenia. Zarówno te występujące w trakcie leczenia onkologicznego, jak i wiele lat później. W tej grupie pacjentów stosunkowo często występują zakażenia, hiperglikemia, hipertrójglicydemia, nadciśnienie tętnicze. Związane są one głównie z zastosowaną terapią L-asparaginazą, glikokortykosteroidami [152], [153]. Zaburzenia metaboliczne mogą znacząco zaburzyć proces leczenia onkologicznego stanowiąc zagrożenie dla życia pacjenta, zmniejszyć skuteczność leczenia onkologicznego i zmniejszyć przeżywalność dzieci leczonych z powodu ALL. Należy jednak pamiętać o zagrożeniu rozwinięciem w dalszym życiu szeregu niekorzystnych odległych następstw terapii onkologicznej: nadciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz nadmiernej masy ciała, stanowiące cechy zespołu metabolicznego [154].

Stosowanie najnowszych schematów leczenia onkologicznego ALL może zmniejszyć ryzyko przedstawionych zaburzeń metabolicznych, co również potwierdzają przedstawione przeze mnie dane. Dodatkowo ważne jest poszukiwanie nowych parametrów umożliwiających przeciwdziałanie potencjalnym niekorzystnym następstwom leczenia ALL. Wyznaczenie odpowiednich markerów predykcyjnych zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej, mogłoby pomóc określić grupę pacjentów szczególnego ryzyka powikłań wczesnych i późnych zastosowanego leczenia onkologicznego. Pozwoliłoby to na wdrożenie wczesnej profilaktyki zaburzeń węglowodanowych i dyslipidemii, co dodatkowo wpłynie na poprawę skuteczności terapii onkologicznej, poprawę jakości i wydłużenie życia osób po ukończeniu leczenia ALL.

5. Wybrane polimorfizmy genu *SIRT1* jako markery predykcyjne zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u osób leczonych z powodu ALL.

Określono dotąd 7 grup białek sirtuinowych, kodowanych przez geny określane jako *SIRT1-7* [155]. Kodują one białka będące enzymami o charakterze deacetylaz,

zawierające konserwatywną domenę zależną od NAD<sup>+</sup> [156]. Gen *SIRT1* zlokalizowany jest na chromosomie 10q21.3, składa się z 9 eksonów oraz 8 intronów. Dla genu *SIRT1* scharakteryzowano wiele polimorfizmów.

W mojej pracy oceniałam występowanie 6 polimorfizmów genu *SIRT1* i parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w zależności od polimorfizmu. Przeprowadzenie takich badań mogłoby stanowić wskaźnik predykcyjny rozwoju zespołu metabolicznego u osób po leczeniu z powodu ALL.

Przeprowadzone zostały badania polimorfizmów genu *SIRT1*: rs 2273773, rs 12778366, rs 10509291, rs 7895833, rs 1082313 oraz rs 932658.

Obecność polimorfizmu rs 2273773 zwiększa ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego [13]. W badanej grupie dla tego polimorfizmu określono dwa genotypy TT i TC.

Genotyp TT stwierdziłam u 76 z 89 osób, a w grupie kontrolnej u 43 z 49 osób. Genotyp TC w populacji badanej wystąpił u 5 osób, a w grupie kontrolnej u 6 pacjentów. Stężenie białka sirtuiny1 było istotnie wyższe w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej w przypadku genotypu TT.

U osób z genotypem TT, zarówno w grupie badanej jak i kontrolnej wykazałam wyższe stężenie glukozy w 120 min OGTT i niższe stężenie cholesterolu HDL, cholesterolu LDL i trójglicerydów w grupie badanej i w grupie kontrolnej w porównaniu do wartości u osób z genotypem TC. Dodatkowo u osób z genotypem TT, pacjenci grupy badanej prezentują wyższe stężenie sirtuiny1 w porównaniu z osobami grupy kontrolnej. Sugeruje to zaburzenie odpowiedzi szlaków sirtuiny1 u osób leczonych z powodu ALL. Wyższy poziom sirtuiny1 w tej grupie nie wpływa ochronnie na rozwój zaburzeń lipidowych.

Polimorfizm rs 2273773 związany jest z ryzykiem wstąpienia nadciśnienia tętniczego.

Szczególnie często wysokie ciśnienie tętnicze obserwowane jest u osób prezentujących genotyp TT w porównaniu z genotypem TC [13].

Xiao-Lan Zhong i wsp. badając pacjentów z nadciśnieniem tętniczym stwierdzili, że genotyp TC koreluje z niższym dobowym ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym w porównaniu do genotypu TT [157]. Podobnie inni autorzy opisują znaczenie ochronne allelu C polimorfizmu genu *SIRT1* rs 2273773 przed chorobami sercowo-naczyniowymi zarówno w populacji badanej i kontrolnej [158]. W kolejnym badaniu, w którym analizowano zależność pomiędzy polimorfizmami pojedynczego nukleotydu *SIRT1* rs2273773 C i T a chorobami sercowo-naczyniowymi w grupie chorych wysoka częstość allelu T korelowała z wysokim BMI, nietolerancją glukozy, nadciśnieniem tętniczym, dyslipidemią i zwapnieniem tętnic wieńcowych w porównaniu do grupy kontrolnej [154]. Wykazano natomiast, że genotyp TC miał natomiast znaczenie ochronne przed rozwojem nadciśnienia tętniczego i zaburzeniami gospodarki lipidowej i węglowodanowej. Autorzy oprócz określenia wpływu genotypu na prezentowany fenotyp pacjentów, stwierdzili również, że u osób z chorobami sercowonaczyniowymi stężenie białka sirtuiny1 w komórkach śródbłonna było wyższe niż wśród populacji zdrowej [158]. Nadekspresja genu *SIRT1* oraz wzrost aktywności białka sirtuiny1 może zwiększyć deacetylację histonów, co prowadzi do wzrostu metylacji DNA. Zmiana epigenetyczna warunkowana przez gen *SIRT1* wpływa na wzrost ryzyka sercowo-naczyniowego. Sugeruje to, że stres oksydacyjny w patologiczny sposób stymuluje zwiększenie ekspresji *SIRT1* u osób z chorobami sercowo-naczyniowymi [159]. Wyniki przedstawionych badań zgadzają się z moimi obserwacjami. W badanej przeze mnie grupie

genotyp TT również wiąże się ze zwiększonym ryzykiem dyslipidemii i nietolerancji glukozy, natomiast genotyp TC wykazuje właściwości ochronne. Osoby grupy badanej prezentują wyższe stężenie białka sirtuiny1, co może być związane ze stresem oksydacyjnym i jego niekorzystnym wpływem na stan zdrowia w tej grupie. Kilic i wsp. którzy również badali wpływ polimorfizmu genu *SIRT1* rs 2273773 i ekspresji odpowiedniego genotypu TC lub TT. Porównali grupy 120 otyłych dzieci i 120 dzieci z prawidłową masę ciała. Pomimo wystąpienia istotnych różnic jak wyższe BMI, skurczowe i rozkurczowe ciśnienie krwi, stężenia cholesterolu LDL, trójglicerydów oraz niższego stężenia cholesterolu HDL w grupie dzieci otyłych w porównaniu do dzieci z prawidłową masa ciała, genetycznym nie wykazano istotnych statystycznie różnic zależnych od występowania polimorfizmu [45]. Dokładna analiza zmienności genetycznej dla genotypów polimorfizmu rs2273773 i ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych wymaga dalszego prowadzenia badań.

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 12778366 zwiększa ryzyko wystąpienia zaburzeń gospodarki węglowodanowej i rozwoju cukrzycy typu 2 [3].

Dla polimorfizmu genu *SIRT1* rs 12778366 określono dwa genotypy TT i TC. Genotyp TT w grupie badanej odnotowano u 54 z 89 pacjentów, a w grupie kontrolnej u 32 z 49 osób. Genotyp TC w grupie badanej prezentowało 24 pacjentów, a w populacji kontrolnej 16 osób. W przypadku obu genotypów w grupie badanej stężenie sirtuiny1 było wyższe niż w grupie kontrolnej. Dodatkowo w przypadku obu grup stężenie sirtuiny1 charakteryzowało się wyższymi wartościami u pacjentów z genotypem TT w stosunku do osób z genotypem TC. U osób z genotypem TC w grupie badanej stwierdzono wyższe wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej (glukoza na czczo, glukoza w 60 min i 120 min OGTT, insulina na czczo, insulina w 60 min i 120 min OGTT, cholesterol całkowity, LDL, trójglicerydy) w porównaniu z osobami grupy kontrolnej.

Yi Peng i wsp. przeanalizowali występowanie genotypów TC i TT polimorfizmu genu *SIRT1* rs12778366 u osób z zaburzeniami metabolizmu węglowodanów w porównaniu do populacji kontrolnej. Znaczenie ochronne przed rozwojem cukrzycy typu 2 i insulinoopornością odnotowano u osób będących nosicielami allelu C rs12778366. Wyższy poziom sirtuiny1 we krwi stwierdzono natomiast w przypadku genotypu TT rs12778366 [160]. Podobne obserwacje w swoim badaniu przedstawiają Rai i wsp., którzy polimorfizm genu *SIRT1* rs12778366 ocenili u 692 osób z cukrzycą typu 2 i 850 osób zdrowych, stanowiących populację kontrolną. Stwierdzono, że homozygotyczność TT rs12778366 w powiązaniu z mutacjami w obrębie mt-ND3, PGC1 $\alpha$  i UCP2 zwiększa ryzyko rozwoju insulinooporności oraz upośledzenia funkcji trzustki [30]. W prawidłowych warunkach gen *SIRT1* i produkt jego ekspresji białko sirtuina1 regulują wydzielanie insuliny w trzustce poprzez represję niesprężającego białka 2 (UPC2) [5]. W wątrobie natomiast regulują metabolizm glukozy, aktywując ekspresję genów glukogennych i zmniejszając glikolitycznych poprzez kofaktor traskrypcji PGC1 $\alpha$ . W przypadku nadmiernej alimentacji szczególnie u osobników z genotypem TT rs127783 ekspresja *SIRT1* może być zwiększona szczególnie w obrębie komórek  $\beta$  trzustki, co zwiększa indukowane glukożą wydzielanie insuliny. Represja UCP2 może wpływać na hiperinsulinemię i w konsekwencji stymulować rozwój insulinooporności i hiperglikemii [161]. Niezrównoważona homeostaza glukozy w trzustce stymuluje dodatkowo mitochondria do wydzielania reaktywnych form tlenu, co powoduje uszkodzenie komórek  $\beta$  i trwałe niszczenie wysp trzustkowych, a w konsekwencji rozwój cukrzycy typu 2 [30]. W

mojej badanej grupie u osób po leczeniu ALL stwierdziłam wyższe stężenie sirtuiny1 w surowicy. Potwierdzają to wyniki innych autorów [146], [153], [162], że pacjenci po leczeniu ALL stanowią grupę bardziej narażoną na rozwój zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej w porównaniu do osób nie leczonych z powodu ALL. Wyższe wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej wykazały osoby grupy badanej z genotypem TC polimorfizmu rs127783 w stosunku do osób grupy kontrolnej z tym samym genotypem. Han i wsp. nie potwierdzili natomiast bezpośredniego związku pomiędzy parametrami gospodarki węglowodanowej, ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2 a charakterystycznym genotypem polimorfizmu genu *SIRT1* rs127783 w zbadanej przez siebie populacji 310 osób chorujących na cukrzycę typu 2 w porównaniu z 301 osobową zdrową grupą kontrolną [31]. Inni autorzy, oceniając wpływ polimorfizmów genu *SIRT1*, na długowieczność człowieka nie potwierdzili charakterystycznych związków genotypów polimorfizmu rs127783 z uwarunkowaniami metabolicznymi zwiększającymi przeżywalność jak lepsze parametry i bardziej stabilny metabolizm gospodarki węglowodanowej i lipidowej wśród 616 osób długożyjących w porównaniu z 846 młodszymi osobami grupy kontrolnej [163].

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 10509291 również predysponuje do rozwoju cukrzycy typu 2 [31]. W mojej grupie badanej oznaczono 2 genotypy TT i TA polimorfizmu genu *SIRT1* rs 10509291. Genotyp TT występował u 75 z 89 pacjentów grupy badanej i 43 z 49 osób grupy kontrolnej. Genotyp TA stwierdzono u 4 pacjentów grupy badanej i 4 osób grupy kontrolnej. W grupie z genotypem TT zaobserwowano wyższe stężenie sirtuiny1, stężenie trójglicerydów i cholesterolu LDL u pacjentów grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Pozostałe oceniane parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej, jak glukoza i insulina na czczo oraz w 60 min i 120 min testu OGTT, cholesterol całkowity oraz antropometryczne WSDS, BMI wykazują wyższe, ale nie istotne statystycznie, wartości dla genotypu TT grupy badanej aniżeli grupy kontrolnej. Posiadanie genotypu TT polimorfizmu genu *SIRT1* rs 10509291 zbadanych przez mnie osób leczonych z powodu ALL może więc zwiększać ryzyko wystąpienia głównie zaburzeń gospodarki lipidowej oraz związany jest z większym stężeniem sirtuiny1 w organizmie w stosunku do populacji kontrolnej.

Potwierdzenie tej zależności wymaga jednak dalszych badań.

Han i wsp. w badaniu 310 osób chorujących z powodu cukrzycy typu 2 i 301 osób zdrowych określili, że allel A i genotyp zawierający allel A polimorfizmu rs10509291 znacząco zwiększa ryzyko występowania insulinooporności i rozwoju cukrzycy typu 2 [31]. Podobne obserwacje zaprezentował Dong i wsp. analizując polimorfizmy genu *SIRT1* w populacji Indian Pima, wśród której choroby takie jak cukrzyca typu 2 i otyłość występują z wysoką częstością, co świadczy o uwarunkowaniu genetycznym. Stwierdzono, że genotyp TT polimorfizmu rs10509291 ma znaczenie ochronne przeciw występowaniu insulinooporności i cukrzycy typu 2, natomiast obecność allelu A w genotypie zwiększa ryzyko rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej. Dodatkowo badając biopsje tkanek tłuszczowych, obniżone stężenie sirtuiny1 stwierdzono w próbkach osób z wysokimi wartościami BMI [163], [164]. Natomiast nie stwierdzono, aby ten genotyp polimorfizmu genu *SIRT1* był bezpośrednio związany z BMI, otyłością, bądź procentową zawartością tkanki tłuszczowej u osób populacji Indian Pima. Sugeruje to, że niskie stężenie białka sirtuiny1 u osób z wysokim BMI może być efektem, a nie przyczyną nadmiernej masy ciała. Przyczyny natomiast autorzy upatrują w nieprawidłowym stylu życia i nadmiernej alimentacji [163], [164].

Wykazano również, że polimorfizm genu *SIRT1* rs10509291 może być związany z ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2 [29]. Analizując parametry 820 osób z populacji chińskiej stwierdzono związek występowania allelu A oraz genotypu AA i TA genu *SIRT1* rs10509291 z nadwagą i otyłością. Allel A jest allelem dominującym względem allelu T. Zwiększa ryzyko rozwoju nadmiernej masy ciała także w przypadku genotypu TA. Genotyp TT polimorfizmu rs10509291 wykazuje natomiast znaczenie ochronne nadwagi i otyłości [165]. W mojej grupie badanej i kontrolnej nie stwierdziłam jednak istotnych różnic w wartościach parametrów antropometrycznych oraz gospodarki węglowodanowej i lipidowej dla genotypów TT i TA. Stężenie i aktywność w organizmie białka sirtuiny1 warunkowana jest poziomem transkrypcji genu *SIRT1*. Wydaje się zatem, że badane przeze mnie polimorfizmy mogą wpływać na poziom transkrypcji genu i jego kumulację oraz aktywność tkankową. Biorąc pod uwagę wpływ czynników środowiskowych na organizm na polimorfizm genu *SIRT1* rs10509291 należałoby rozszerzyć badania nad częstością występowania tej zmienności genetycznej wśród osób rasy kaukaskiej oraz jej znaczeniu dla zdrowia w populacji europejskiej [166].

Polimorfizmy genu *SIRT1* rs 1082313 oraz rs 932658 to nieopisane dotąd literaturowo zmiany genetyczne, występujące z wysoką częstością wśród populacji europejskiej. Skłoniło mnie to do ich wyboru i oceny udziału w regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie badanej i kontrolnej.

W swoich badaniach sprawdziłam wpływ polimorfizmu genu *SIRT1* rs1082313 na gospodarkę węglowodanową i lipidową pacjentów leczonych z powodu ALL w porównaniu z populacją kontrolną. W obrębie tego polimorfizmu występowały trzy genotypy AA, AG, GG. Genotyp AA w populacji badanej obecny był u 39 z 89 osób, a w grupie kontrolnej u 20 z 49 osób. Genotyp AG zdiagnozowano u 36 osób z grupy badanej i 23 osób grupy kontrolnej. Genotyp GG natomiast wystąpił jedynie u 8 pacjentów badanych i 6 kontrolnych. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic stężenia białka sirtuiny1 pomiędzy genotypami grupy badanej i kontrolnej. Można jednak zauważyć, że w przypadku wszystkich opisywanych genotypów polimorfizmu genu *SIRT1* rs1082313 stężenie sirtuiny1 jest wyższe w grupie osób leczonych z powodu ALL w porównaniu z osobami zdrowymi. Dla genotypu AG stężenie trójglicerydów było istotnie wyższe u osób z grupy badanej aniżeli w grupie kontrolnej. Inne parametry gospodarki węglowodanowej (glukoza i insulina na czczo, w 60 min i 120 min OGTT) oraz lipidowej (stężenie cholesterolu LDL, cholesterolu całkowitego) również wykazały wyższe wartości w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej dla genotypu AG. Dla genotypów GG i AA nie wykazano różnic w stężeniu sirtuiny1 oraz parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Polimorfizm genu *SIRT1* rs1082313, nie został dotąd opisany w literaturze. W zbadanej przeze mnie grupie stwierdziłam, że polimorfizm rs1082313 warunkuje nieco wyższe, ale nie istotne statystycznie, stężenie sirtuiny1 u osób grupy badanej aniżeli grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki badań w moich badaniach wykazują zaburzenia metabolizmu węglowodanów i lipidów u osób z genotypem AG z grupy badanej w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Wymagane jest rozszerzenie badań oceniających wpływ polimorfizmu genu *SIRT1* rs1082313 na zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej u osób leczonych z powodu ALL. Dla polimorfizmu genu *SIRT1* rs932658 scharakteryzowano trzy genotypy AA, CA i CC. Genotyp AA występował u 4 z 89 pacjentów grupy badanej i 4 z 49 pacjentów grupy

kontrolnej. Genotyp CA stwierdzono u 37 osób grupy badanej i 21 osób kontrolnych. Genotyp CC występował u 41 pacjentów grupy badanej i 24 osób grupy kontrolnej. Dla wszystkich genotypów polimorfizmu genu *SIRT1* rs932658, stężenie sirtuiny1 było wyższe, ale nie istotne statystycznie, w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej. U osób z genotypem CA polimorfizmu rs932658 stwierdziłam wyższe, ale nie istotnie, wartości parametrów gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej.

Dodatkowo pacjenci grupy badanej charakteryzują się niższą wysokością ciała od osób z grupy kontrolnej we wszystkich przedstawionych genotypach polimorfizmu genu *SIRT1* rs932658. Niewiele jest prac w których opisywany jest polimorfizm genu *SIRT1* rs932658. Ramírez i wsp. analizując polimorfizmy genu *SIRT1* związane z cukrzycą typu 2 i wpływające na ekspresję genu *SIRT1* i *TGF-β1*, wspominają o polimorfizmie rs932658, który ma współdziałać z polimorfizmem rs3758391. Genotyp TT polimorfizmu rs3758391 może natomiast korelować z wysokim poziomem sirtuiny1 i TGF-β1 w organizmie.

Sirtuina1 i TGF-β1 są białkami wpływającymi na regulację metabolizmu i produkcji insuliny w komórkach β trzustki. Zaburzenia ich funkcjonowania mogą być związane z rozwojem cukrzycy typu 2 [167].

Stwierdzone zaburzenia u osób z tym polimorfizmem przemawiają za koniecznością rozszerzenia badań, które dokładniej oceniłyby wpływ polimorfizmu genu *SIRT1* rs932658 na gospodarkę węglowodanową.

Polimorfizm genu *SIRT1* rs 7895833, predysponuje do rozwoju nadmiernej masy ciała [45]. W mojej badanej grupie scharakteryzowano 2 genotypy AA i AG. Genotyp AA prezentowało 63 z 89 osób grupy badanej i 33 z 49 osób grupy kontrolnej. Genotyp AG zdiagnozowano u 18 z 89 pacjentów leczonych z powodu ALL i 15 z 49 osób kontrolnych. Dla genotypów AA i AG stwierdzono wyższe stężenie sirtuiny1 w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej. Dla genotypu AG wykazano wyższe stężenie insuliny w 120 min testu OGTT i wyższe stężenie trójglicerydów w grupie badanej aniżeli w grupie kontrolnej. Dla genotypu AA stężenie cholesterolu LDL było wyższe w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w masie ciała i wskaźnika BMI pomiędzy grupami. Jednak pomimo braku istotności statystycznej niższe wartości WSDS i BMI występują w grupie badanej w porównaniu do kontrolnej w przypadku obu genotypów polimorfizmu rs7895833.

Lee i wsp. badali zależność występowania otyłości w populacji dziecięcej z występowaniem danego genotypu polimorfizmu rs7895833[46]. Zrekrutowali 219 dzieci, w tym 118 dziewczynek i 101 chłopców w wieku od 8 do 9 lat. Podczas 3 letniej obserwacji i kontroli parametrów gospodarki lipidowej (cholesterol całkowity, LDL, HDL), węglowodanowej (ocena glikemii i insulinooporności) i parametrów antropometrycznych autorzy stwierdzili, że genotyp GG wykazuje właściwości ochronne rozwoju nadmiernej masy ciała zarówno wśród dziewczynek, jak i chłopców. U chłopców z genotypem AA i AG, wykazano wzrost wartości parametrów gospodarki lipidowej (wysokie stężenie cholesterolu całkowitego i LDL oraz niskie stężenie cholesterolu HDL) i nadmierną masę ciała w porównaniu z osobami z genotypem GG. Dziewczynki z genotypem AA i AG wykazywały jednak mniejszą insulinooporność i lepszą kontrolę glikemii, pomimo braku ograniczeń spożywania węglowodanów w diecie w porównaniu do pacjentek płci żeńskiej z genotypem GG [46].



Kilik i wsp. nie potwierdzili wyników pracy Lee i wsp., stwierdzając, że allel G i genotyp AG i GG, częściej występuje u osób otyłych. Osoby otyłe oprócz zwiększonej masy ciała, wykazały również wyższe wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego, lipidogramu (wyższe stężenie cholesterolu całkowitego, LDL, trójglicerydów oraz niższe stężenie HDL) oraz insulinooporność. Ryzyko rozwoju zaburzeń masy ciała oraz gospodarki węglowodanowej było wyższe u osób posiadających allel G. Genotyp AA polimorfizmu rs7895833 wykazywał znaczenie ochronne rozwoju opisanych zaburzeń [45]. Dla porównania Higashibata i wsp. opisali wpływ polimorfizmu rs7895833 na długoterminową zmianę masy ciała w populacji dorosłej w wieku od 35 do 69 lat. Badaniem objęto grupę 4023 osób, w tym 1847 mężczyzn i 2176 kobiet. Raportowali, na podstawie kwestionariusza, wpływ aktywności fizycznej, ograniczenia kalorii w diecie na długoterminową zmianę masy ciała (w okresie 20 lat). W grupie osób z wysoką aktywnością fizyczną i restrykcyjną dietą nie stwierdzono zależności z występowaniem określonego genotypu polimorfizmu genu *SIRT1* rs7895833. Wśród kobiet, które nie raportowały zwiększonej aktywności fizycznej i niskokalorycznej diety na przestrzeni 20 lat, allel A w genotypie polimorfizmu rs7895833 wykazywał znaczenie ochronne dla rozwoju nadmiernej masy ciała [168]. W badaniu 6251 osób populacji kaukaskiej w starszym wieku oceniono zależność pomiędzy wysokimi wartościami BMI i otyłości a charakterystycznym genotypem polimorfizmu genu *SIRT1* rs7895833 . Stwierdzono znaczenie ochronne obecności allelu G dla rozwoju nadmiernej masy ciała w tej grupie [169]. Inni badacze analizując wpływ polimorfizmu genu *SIRT1* rs7895833 na parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w 216-osobowej brazylijskiej populacji osób starszych, stwierdzają, że obecność allelu G w genotypie związana jest ze zwiększonym ryzykiem wstąpienia dyslipidemii. W tej grupie zaobserwowano odpowiednio genotyp AA u 56 pacjentów, AG u 138 osób i GG u 22 pacjentów. U wszystkich wykonano badania glikemii, lipidogramu i ciśnienia tętniczego. Wariant allelu G polimorfizmu genu *SIRT1* rs7895833 stwierdzono u 42% pacjentów geriatrycznych i był związany z dyslipidemią [170]. W moim badaniu zarówno dla grupy badanej jak i dla grupy kontrolnej genotyp GG wykazywał znaczenie ochronne przed wystąpieniem zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej. Nie stwierdziłam nieprawidłowości parametrów lipidogramu i glikemii, zarówno u osób badanych jak i kontrolnych z genotypem GG. Cechy dyslipidemii, podwyższone wartości cholesterolu LDL wykazałam u osób grupy badanej z genotypem AA polimorfizmu rs7895833. Również u 1279-osobowej grupy japońskiej zbadano polimorfizm genu *SIRT1* rs7895833. Występowanie allelu A w genotypie polimorfizmu związane było z wyższymi wskaźnikami masy ciała i ciśnieniem tętniczym krwi. W populacji męskiej genotyp AA szczególnie predysponował do rozwoju nadmiernej masy ciała z wysoką zawartością tkanki tłuszczowej w organizmie, natomiast wśród kobiet związany był z wysokim rozkurczowym ciśnieniem krwi [6]. W moim badaniu również genotyp AA oraz AG polimorfizmu rs7895833 sprzyjały rozwojowi zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej u pacjentów po leczeniu ALL w porównaniu z grupą kontrolną. Sugeruje to zmienność etniczną opisanego polimorfizmu genu *SIRT1*. Polimorfizm genu *SIRT1* rs7895833 wymaga kontynuowania i rozszerzenia badań. Należałoby ocenić wpływ uwarunkowania rasowego, środowiskowego, innych czynników genetycznych, płci, wieku [6]. Kilik i wsp. w celu wyjaśnienia zróżnicowania stężenia białka sirtuiny1 u ludzi w różnym wieku i uwarunkowania genetycznego tego zjawiska, oceniali zależność stężenia sirtuiny od

długości życia [167]. Wśród zbadanych osób najwyższe stężenie sirtuiny1 w organizmie wiązało się z najstarszym wiekiem pacjentów oraz obecnością genotypu AG polimorfizmu genu *SIRT1* rs 7895833. Dodatkowo u najstarszych osób diagnozowano najwięcej związków reaktywnych form tlenu, co sugeruje że białko sirtuina1 wykazuje właściwości kompensacyjne wysokiego stresu oksydacyjnego i działanie antyoksydacyjne, które związane jest z długowiecznością. W badaniu tym stwierdzono również dodatni związek pomiędzy stężeniami sirtuiny1 i cholesterolu HDL w organizmie [171]. W moim badaniu wyższy poziom sirtuiny1 wykazałam u pacjentów z genotypami AA i AG polimorfizmu rs7895833 u osób grupy badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Wyższe stężenie sirtuiny1 u pacjentów grupy badanej może stanowić zjawisko kompensacyjne zmian metabolizmu wywołanych leczeniem ALL. Ta sama grupa badaczy w innej pracy nie stwierdziła natomiast bezpośredniego związku zmienności genotypu polimorfizmu genu *SIRT1* rs7895833 a rozwojem chorób sercowo-naczyniowych [158]. Botden i wsp. w swojej pracy sugerują wpływ mutacji epigenetycznych w obrębie genu *SIRT1* już w okresie prenatalnym na rozwój zaburzeń gospodarki węglowodanowej i cukrzycy typu 2 w dalszym życiu. Stwierdzono bowiem związek pomiędzy występowaniem wariantu polimorfizmu genu *SIRT1* rs7895833, jako czynnika ochronnego, dla płodu w przypadku niedożywienia wewnątrzmacicznego na utrzymywanie homeostazy glukozy w organizmie w dalszym życiu [172]. W zbadanej przeze mnie grupie różnice stężenia sirtuiny1 występują pomiędzy grupą badaną i kontrolną niezależnie od genotypu. W grupie badanej stwierdzono istotnie wyższy poziom glukozy w 120 min w OGGT i stężenia trójglicerydów dla genotypu AG i cholesterolu LDL dla genotypu AA w porównaniu do osób zdrowych. Dokładniejsza analiza dotycząca wpływu polimorfizmu rs7895833 na zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej u osób leczonych z powodu ALL wymaga dalszych badań.

## 6. Rola wybranych polimorfizmów genu *SIRT1* w procesie nowotworzenia jako potencjalnego czynnika ryzyka rozwoju ALL.

Gen *SIRT1* i produkt jego ekspresji białko sirtuina1 określane są jako czynniki długowieczności [173]. Sirtuina1 w procesie nowotworzenia charakteryzowana jest niejednoznacznie. Odgrywa bowiem rolę w procesie naprawy DNA, regulując zarówno proces naprawy przez wycięcie zasad, jak również naprawy przez wycięcie nukleotydów, rekombinację homologiczną, czy łączenie niehomologicznych końców DNA, aktywując bądź zmniejszając aktywność odpowiednich enzymów transkrypcyjnych [92]. Sirtuina1 wpływa także na zmniejszenie stresu oksydacyjnego w komórce, deacetylując różne czynniki transkrypcyjne, które biorą udział w reakcji na stres, w cyklu komórkowym i apoptozie jak białko p53, Ku70, czynnik jądrowy kB, FOXO i HIC1. Może to również promować onkogenezę [133], [174].

Yanbo Lv i wsp. przeanalizowali rolę zmienności genetycznej polimorfizmów genu *SIRT1* rs 2273773 i rs12778366 w patogenezie i rokowaniu pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc [174]. Znaczenie polimorfizmu genu *SIRT1* rs12778366 opisane zostało u osób z rakiem piersi, gruczolakiem przysadki, rakiem płaskonabłonkowym krtani, rakiem jelita grubego oraz rakiem płuc. Rizk i wsp. w badaniu ponad 500 pacjentek z rakiem piersi i populacją kontrolną 439 osób zdrowych stwierdzili związek genotypu TT polimorfizmu

rs12778366 a zwiększonym ryzykiem rozwoju raka piersi. Pacjentki z genotypem TT rs12778366 wykazywały wyższe poziomy sirtuiny1 w stosunku do pacjentek prezentujących genotypy CC i CT. Wykazywały także większy stopień zaawansowania i szybszy progres choroby. Genotyp TT rs12778366 korelował również z ujemnym statusem receptora estrogenowego i receptora progesteronowego [175]. W moim badaniu stężenie sirtuiny1 było istotnie wyższe w grupie pacjentów leczonych z powodu ALL aniżeli osób kontrolnych dla genotypu TT polimorfizmu rs12778366. Inni autorzy scharakteryzowali rolę genotypu polimorfizmu rs12778366 na rozwój, inwazyjność i aktywność hormonalną gruczolaka przysadki. Grupę badaną stanowiło 143 pacjentów ze zdiagnozowanym gruczolakiem przysadki, grupę kontrolną 808 zdrowych osób. Genotyp CT rs12778366 występował z wysoką częstością u pacjentów z nieinwazyjnym, nieaktywnym hormonalnie gruczolakiem przysadki. U pacjentów z chorobą inwazyjną, guzem aktywnym hormonalnie i nawracającym stwierdzono wysoką częstość genotypu CC polimorfizmu rs12778366 w porównaniu do grupy kontrolnej [176]. Simons i wsp. opisali rolę polimorfizmu genu *SIRT1* rs12778366 w rozwoju raka jelita grubego [173]. W kohortowym badaniu ponad 120 tysięcy osób określono rolę białka sirtuiny1 w rozwoju raka jelita grubego u kobiet. Genotyp CC w porównaniu z genotypem TT polimorfizmu rs12778366 znacząco zmniejszał ryzyko rozwoju raka jelita grubego w populacji żeńskiej [177]. Podobne wyniki wpływu polimorfizmu genu *SIRT1* rs12778366 na raka jelita grubego otrzymali Hrzic i wsp. [178]. Nie opisano dotąd znaczenia polimorfizmów genu *SIRT1* rs 10509291, rs 1082313, rs 932658 oraz rs 7895833 w rozwoju chorób nowotworowych.

Przedstawione przeze mnie obserwacje to pierwsze doniesienie o roli polimorfizmów genu *SIRT1* i białka sirtuiny1 w regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej osób leczonych z powodu ALL. Nie analizowano dotąd bowiem czynników związanych z ALL, wczesnymi i odległymi następstwami choroby oraz genetyczną zmiennością genu *SIRT1*. Badania przeprowadzono u 89 pacjentów, co może mieć wpływ na występowanie niektórych zależności. Wskazane byłoby kontynuowanie tych badań.

## VI. 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 stwierdzone 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.

## VII. Wykaz skrótów.

ALL (ostra białaczka limfoblastyczna),

ALL2 (ALL IC 2002 ),

ALL9 (ALL IC 2009),  
ApoA (apolipoproteina A),  
ApoB (apolipoproteina B),  
AR (receptory androgenowe),  
ARA-C (cytarabina),  
BMI (wskaźnik masy ciała),  
BMI SDS (standaryzowane odchylenie standardowe wskaźnika masy ciała),  
CHOL (cholesterol całkowity),  
COX (cyklooksygenaza),  
CRP (białko C-reaktywne),  
CRTC2 (koaktowator transkrypcji regulowany przez CREB 2),  
eNOS (śródbłonkowa syntaza tlenku azotu),  
ER (receptory estrogenowe),  
EZH2 (wzmacniacz Zeste homolog 2),  
FABP (białko wiążące kwasy tłuszczowe),  
FOXO1 (Forkhead Box Protein O1),  
PGC-1 $\alpha$  (Proliferator peroksyosomów - aktywowany koaktywator receptora gamma 1 $\alpha$ ),  
G6Paza (glukoza-6-fosfataza) ,  
GILZ GRE (element odpowiedzi glukokortykoidowej gen TSC22D3),  
GOD (oksydaza glukozowa ),  
H2S (siarkowodór),  
HAT (acetylaza histonowa),  
HbA1c (hemoglobina glikowana),  
HDL (lipoproteina wysokiej gęstości),  
HDL-C (lipoproteina wysokiej gęstości-cholesterol),  
HOMA (model oceny homeostazy) ,  
HOMA IR (model oceny homeostazy, wskaźnik insulinooporności),

HRG (grupa wysokiego ryzyka),  
HSDA (N-(2-hydroksy-3-sulfopropyl)-3.5-dimetyloksyaniliny),  
HSDS (standaryzowane odchylenie standardowe wzrostu/wysokości ciała),  
HTLV-1 (ludzki wirus T-limfotropowy),  
IRG (grupa pośredniego ryzyka),  
K (kobieta),  
L-ASPA (l-asparaginaza),  
LDH (dehydrogenaza mleczanowa),  
LDL (lipoproteina małej gęstości),  
LKB1 (kinaza wątrobowa B1),  
LXR (receptor X wątrobowy),  
M (męczyzna),  
MCH (średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej),  
MCV (średnia objętość erytrocytów),  
mt-ND3 (NADH zakodowany w mitochondriach: podjednostka rdzeniowa oksydoreduktazy ubichinonu 3),  
6-MP (6-merkaptopuryna),  
MTX (metotreksat),  
NAD (dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy),  
NcoR (współrepresor receptora jądrowego),  
NETPOL-PLUS (Nadciśnienie Tętnicze w Polsce Plus Zaburzenia Lipidowe i Cukrzyca),  
NFκB (jądrowy czynnik transkrypcyjny κB),  
NRF2 (czynnik erytroidalny 2 związany z erytroidem 2),  
OGTT (doustny test tolerancji glukozy),  
OUN (ośrodkowy układ nerwowy),  
PAF (czynnik aktywujący płytkę krwi),  
PEG (glikol polietylenowy),

PEPCK (karboksykinaza fosfoenolopirogronianowa),  
PGAM-1 (enzym fosfogliceromutaza-1),  
PFK-1 (fosfofruktokinaza),  
PGC1 $\alpha$  (koaktywator-1 $\alpha$  receptora aktywowanego proliferatorami peroksysomów),  
PGK-1 (kinaza fosfoglicerynianowa 1),  
PMQ (pentametylokwercetyna),  
POD (peroksydaza chrzanowa),  
POL-MONICA (Międzynarodowe monitorowanie trendów i determinantów chorób układu krążenia),  
PPAR $\gamma$ (receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów),  
PTEN (homolog fosfatazy i tensyny),  
PTP1B (Białkowa fosfataza tyrozynowa 1B),  
RASSF-1 $\alpha$  (rodzina Ras Associated Domain-1 $\alpha$ ),  
ROS (reaktywne formy tlenu),  
SDS (standaryzowane odchylenie standardowe),  
Sir1 (białko sirtuina1),  
*SIRT1* (gen sirtuiny1),  
SMRT (Wyciszający mediator receptorów retinoidów i hormonów tarczycy),  
SREBP-1 (Białko wiążące element regulujący sterole 1),  
SRG (grupa standardowego ryzyka),  
TG (stężenie trójglicerydów),  
TGF- $\beta$ 1 (transformowany czynnik wzrostu  $\beta$ 1).  
TLR4 (czynnik Toll-podobny receptor 4)  
NF- $\kappa$ B (czynnik jądrowy  $\kappa$ -lekki wzmacniacz łańcucha aktywowanych komórek B)  
STAT (przebieżnik sygnału i aktywator transkrypcji),  
TMB (tetrametylobenzydyna),  
TNF- $\alpha$  (czynnik martwicy nowotworów- $\alpha$ ),

UCP2 (Białko rozprzegające 2),

VRC (vincristina),

WHO (Światowa Organizacja Zdrowia),

WSDS (standaryzowane odchylenie standardowe masy ciała),

wskaźnik QUICKI (Ilościowy wskaźnik kontroli wrażliwości na insulinę),

XIAP (X-związanego inhibitora białka apoptozy),

## VIII. 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 cytostaticznego 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 młodości.

**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 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 , glukożą 120 min OGTT, insuliną na czczo, insuliną 60 min



OGGT, insuliną 120 min OGGT 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(43,2vs 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 zmniejszenia 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 OGGT, 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 OGGT, glucose 120 min OGGT, fasting insulin, 60 min OGGT insulin, 120 min OGGT 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.

#### X. Piśmiennictwo

- [1] S. Zhou, X. Tang, and H. Z. Chen, "Sirtuins and Insulin Resistance," *Frontiers in Endocrinology*, vol. 9, p. 748, 2018, doi: 10.3389/fendo.2018.00748.
- [2] A. Al-Khaldi and S. Sultan, "The expression of sirtuins, superoxide dismutase, and lipid peroxidation status in peripheral blood from patients with diabetes and hypothyroidism," *BMC Endocr. Disord.*, vol. 19, no. 1, 2019, doi: 10.1186/s12902-019-0350-y.
- [3] M. Kitada and D. Koya, "SIRT1 in type 2 diabetes: Mechanisms and therapeutic potential," *Diabetes and Metabolism Journal*, vol. 37, no. 5, 2013, doi: 10.4093/dmj.2013.37.5.315.
- [4] J. H. Lee *et al.*, "Overexpression of SIRT1 protects pancreatic  $\beta$ -cells against cytokine toxicity by suppressing the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway," *Diabetes*, vol. 58, no. 2, 2009, doi: 10.2337/db07-1795.
- [5] L. Bordone *et al.*, "Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic  $\beta$  cells," *PLoS Biol.*, vol. 4, no. 2, 2006, doi: 10.1371/journal.pbio.0040031.
- [6] Y. Shimoyama, K. Suzuki, N. Hamajima, and T. Niwa, "Sirtuin 1 gene polymorphisms are associated with body fat and blood pressure in Japanese," *Transl. Res.*, vol. 157, no. 6, 2011, doi: 10.1016/j.trsl.2011.02.004.
- [7] A. Totomoch-Serra, M. De Lourdes Munoz, J. Burgueno, M. C. Revilla-Monsalve, and A. Diaz-Badillo, "Association of common polymorphisms in the VEGFA and SIRT1 genes with type 2 diabetes-related traits in Mexicans," *Arch. Med. Sci.*, vol. 14, no. 6, 2018, doi:

10.5114/aoms.2018.74757.

- [8] Y. Wang, C. Xu, Y. Liang, and P. M. Vanhoutte, "SIRT1 in metabolic syndrome: Where to target matters," *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 136, no. 3. 2012, doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.009.
- [9] R. L. Moore, Y. Dai, and D. V. Faller, "Sirtuin 1 (SIRT1) and steroid hormone receptor activity in cancer," *Journal of Endocrinology*, vol. 213, no. 1. 2012, doi: 10.1530/JOE-11-0217.
- [10] Y. Wang *et al.*, "An overview of Sirtuins as potential therapeutic target: Structure, function and modulators," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 161. pp. 48–77, 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.10.028.
- [11] G. M. Reaven, "Role of insulin resistance in human disease," *Diabetes*, vol. 37, no. 12, 1988, doi: 10.2337/diab.37.12.1595.
- [12] J. Sieradzki and E. Płaczkiewicz-Jankowska, "Zespół metaboliczny - Zaburzenia gospodarki węglowodanowej," 2020. <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.13.5> (accessed Mar. 01, 2021).
- [13] S. D. De Ferranti, K. Gauvreau, D. S. Ludwig, E. J. Neufeld, J. W. Newburger, and N. Rifai, "Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey," *Circulation*, vol. 110, no. 16, 2004, doi: 10.1161/01.CIR.0000145117.40114.C7.
- [14] B. Wyrzykowski, T. Zdrojewski, and P. Bandosz, "Metabolic syndrome in Poland.," *Kardiol. Pol.*, vol. 62 Suppl 2, pp. II30-5, Jun. 2005.
- [15] B. Wyrzykowski *et al.*, "Epidemiology of metabolic syndrome in Poland. Results of the WOBASZ program," *Kardiol. Pol.*, vol. 63, no. 6 Suppl 4, 2005.
- [16] J. V. van Vliet-Ostaptchouk *et al.*, "The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: A collaborative analysis of ten large cohort studies," *BMC Endocr. Disord.*, vol. 14, p. 9, 2014, doi: 10.1186/1472-6823-14-9.
- [17] M. Firek-Pędras, E. Małecka-Tendera, K. Klimek, and A. Zachurzok-Buczyńska, "Wpływ rozmieszczenia tkanki tłuszczowej na zaburzenia metaboliczne u dzieci i młodzieży z otyłością prostą," *Endokrynol. Diabetol. i Chor. Przemiany Mater. Wieku Rozw.*, vol. 12, no. 1, 2006.
- [18] O. T. Raitakari *et al.*, "The role of insulin in clustering of serum lipids and blood pressure in children and adolescents - The cardiovascular risk in Young Finns Study," *Diabetologia*, vol. 38, no. 9, 1995, doi: 10.1007/BF00402173.
- [19] S. C. Chao *et al.*, "Induction of sirtuin-1 signaling by resveratrol induces human chondrosarcoma cell apoptosis and exhibits antitumor activity," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-03635-7.
- [20] C. Invitti, G. Guzzaloni, L. Gilardini, F. Morabito, and G. Viberti, "Prevalence and concomitants glucose intolerance in European obese children and adolescents," *Diabetes Care*, vol. 26, no. 1, 2003, doi: 10.2337/diacare.26.1.118.
- [21] N. J. T. Arends, V. H. Boonstra, H. J. Duivenvoorden, P. L. Hofman, W. S. Cutfield, and A.

- C. S. Hokken-Koelega, "Reduced insulin sensitivity and the presence of cardiovascular risk factors in short prepubertal children born small for gestational age (SGA)," *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, vol. 62, no. 1, 2005, doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.02171.x.
- [22] E. Oken and M. W. Gillman, "Fetal origins of obesity," *Obesity Research*, vol. 11, no. 4, 2003, doi: 10.1038/oby.2003.69.
- [23] A. Zachurzok-Buczyńska and E. Małecka-Tendera, "Zespół metaboliczny u dzieci i młodzieży," *Endokrynol. Otyłość i Zaburzenia Przemiany Mater.*, vol. 1, no. 3, pp. 13–20, 2005.
- [24] S. Timmers *et al.*, "Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans," *Cell Metab.*, vol. 14, no. 5, 2011, doi: 10.1016/j.cmet.2011.10.002.
- [25] F. Liang, S. Kume, and D. Koya, "SIRT1 and insulin resistance," *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 5, no. 7, 2009, doi: 10.1038/nrendo.2009.101.
- [26] J. R. Whittle, M. J. Powell, V. M. Popov, L. A. Shirley, C. Wang, and R. G. Pestell, "Sirtuins, nuclear hormone receptor acetylation and transcriptional regulation," *Trends in Endocrinology and Metabolism*, vol. 18, no. 9, 2007, doi: 10.1016/j.tem.2007.07.007.
- [27] J. C. Milne *et al.*, "Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes," *Nature*, vol. 450, no. 7170, 2007, doi: 10.1038/nature06261.
- [28] C. Sun *et al.*, "SIRT1 Improves Insulin Sensitivity under Insulin-Resistant Conditions by Repressing PTP1B," *Cell Metab.*, vol. 6, no. 4, 2007, doi: 10.1016/j.cmet.2007.08.014.
- [29] Z. Zhuanping, L. Rifang, C. Qing, and C. Sidong, "The association between SIRT1 genetic variation and type 2 diabetes mellitus is influenced by dietary intake in elderly Chinese," *Iran. J. Public Health*, vol. 47, no. 9, pp. 1272–1280, 2018.
- [30] E. Rai *et al.*, "The Interactive Effect of SIRT1 Promoter Region Polymorphism on Type 2 Diabetes Susceptibility in the North Indian Population," *PLoS One*, vol. 7, no. 11, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0048621.
- [31] J. Han *et al.*, "Association of genetic variants of SIRT1 with Type 2 diabetes mellitus," *Gene Expr.*, vol. 16, no. 4, 2015, doi: 10.3727/105221615X14399878166195.
- [32] X. Li, S. Zhang, G. Blander, J. G. Tse, M. Krieger, and L. Guarente, "SIRT1 Deacetylates and Positively Regulates the Nuclear Receptor LXR," *Mol. Cell*, vol. 28, no. 1, 2007, doi: 10.1016/j.molcel.2007.07.032.
- [33] F. Bonomini, G. Favero, L. F. Rodella, M. H. Moghadasian, and R. Rezzani, "Melatonin Modulation of Sirtuin-1 Attenuates Liver Injury in a Hypercholesterolemic Mouse Model," *Biomed Res. Int.*, vol. 2018, 2018, doi: 10.1155/2018/7968452.
- [34] T. R. H. Nielsen *et al.*, "Dyslipidemia and reference values for fasting plasma lipid concentrations in Danish/North-European White children and adolescents," *BMC Pediatr.*, vol. 17, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s12887-017-0868-y.
- [35] Q. J. Zhang *et al.*, "Endothelium-specific overexpression of class III deacetylase SIRT1 decreases atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice," *Cardiovasc. Res.*, vol. 80, no. 2, 2008, doi: 10.1093/cvr/cvn224.

- [36] M. Kassan *et al.*, “MicroRNA-204 promotes vascular endoplasmic reticulum stress and endothelial dysfunction by targeting Sirtuin1,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-06721-y.
- [37] V. Higgins, S. Asgari, M. K. Chan, and K. Adeli, “Pediatric reference intervals for calculated LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and remnant cholesterol in the healthy CALIPER cohort,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 486, pp. 129–134, 2018, doi: 10.1016/j.cca.2018.07.028.
- [38] R. Miyazaki *et al.*, “SIRT1, a longevity gene, downregulates angiotensin II type 1 receptor expression in vascular smooth muscle cells,” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 28, no. 7, 2008, doi: 10.1161/ATVBAHA.108.166991.
- [39] C. Du *et al.*, “Sulphydrated Sirtuin-1 Increasing Its Deacetylation Activity Is an Essential Epigenetics Mechanism of Anti-Atherogenesis by Hydrogen Sulfide,” *Antioxidants Redox Signal.*, vol. 30, no. 2, 2019, doi: 10.1089/ars.2017.7195.
- [40] V. Martínez-Jiménez *et al.*, “Altered levels of sirtuin genes (SIRT1, SIRT2, SIRT3 and SIRT6) and their target genes in adipose tissue from individual with obesity,” *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.*, vol. 13, no. 1, 2019, doi: 10.1016/j.dsx.2018.11.011.
- [41] S. Mariani, G. Di Rocco, G. Toietta, M. A. Russo, E. Petrangeli, and L. Salvatori, “Sirtuins 1–7 expression in human adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat depots: influence of obesity and hypoxia,” *Endocrine*, vol. 57, no. 3, 2017, doi: 10.1007/s12020-016-1170-8.
- [42] H. Lee, S. H. Chu, J. Y. Park, H. K. Park, J. A. Im, and J. W. Lee, “Visceral adiposity is associated with SIRT1 expression in peripheral blood mononuclear cells: A pilot study,” *Endocrine Journal*, vol. 60, no. 11, 2013, doi: 10.1507/endocrj.EJ13-0207.
- [43] H. Z. Ying, J. N. Zang, L. L. Deng, Z. Y. Wang, and C. Yu, “Pentamethylquercetin reduces fat deposition via Sirt1-mediated pathways in male obese mice induced by a high fat diet,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 62, pp. 463–469, 2013, doi: 10.1016/j.fct.2013.09.002.
- [44] S. J. Clark *et al.*, “Association of sirtuin 1 (SIRT1) gene SNPs and transcript expression levels with severe obesity,” *Obesity*, vol. 20, no. 1, 2012, doi: 10.1038/oby.2011.200.
- [45] U. Kilic *et al.*, “SIRT1 gene variants are related to risk of childhood obesity,” *Eur. J. Pediatr.*, vol. 174, no. 4, 2015, doi: 10.1007/s00431-014-2424-1.
- [46] M. Lee, S. Choi, Y. Lee, and H. H. Oh, “The Gender Association of the SIRT1 rs7895833 Polymorphism with Pediatric Obesity: A 3-Year Panel Study,” *J. Nutrigenet. Nutrigenomics*, vol. 9, no. 5–6, 2017, doi: 10.1159/000454713.
- [47] K. Derwich and O. Zajac-Spychała, “Zaburzenia genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci i ich wykorzystanie w praktyce klinicznej lymphoblastic leukemia and their implications in clinical practice,” *Hematologia*, vol. 3, no. 3, 2012.
- [48] R. Haas and R. Kronenewett, *Hematopoetyczne komórki macierzyste - pytania i odpowiedzi*, 1st ed. Wrocław: MedPharm, 2009.
- [49] O. Zajac-Spychała, K. Derwich, I. Cizak-Staśkiewicz, and J. Wachowiak, “Porównanie wyników leczenia u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną leczonych w latach 1994–2001 i 2002–2007,” *Nowotwory. J. Oncol.*, vol. 62, no. 2, 2012.

- [50] T. Bouras *et al.*, “SIRT1 deacetylation and repression of p300 involves lysine residues 1020/1024 within the cell cycle regulatory domain 1,” *J. Biol. Chem.*, vol. 280, no. 11, 2005, doi: 10.1074/jbc.M408748200.
- [51] P. T. Pfluger, D. Herranz, S. Velasco-Miguel, M. Serrano, and M. H. Tschöp, “Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 105, no. 28, 2008, doi: 10.1073/pnas.0802917105.
- [52] R. E. Brown *et al.*, “Morphoproteomics identifies SIRT1 and EZH2 pathways as commonalities in B-cell acute lymphoblastic leukemia: Pathogenetic implications and opportunities for therapeutic intervention,” *Ann. Clin. Lab. Sci.*, vol. 47, no. 1, 2017.
- [53] Y. Jin, Q. Cao, C. Chen, X. Du, B. Jin, and J. Pan, “Tenovin-6-mediated inhibition of SIRT1/2 induces apoptosis in acute lymphoblastic leukemia (ALL) cells and eliminates ALL stem/progenitor cells,” *BMC Cancer*, vol. 15, no. 1, 2015, doi: 10.1186/s12885-015-1282-1.
- [54] M. Krzakowski and J. Jassem, *Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych*, 1st ed. Gdańsk: Via Medica, 2011.
- [55] S. Giebel *et al.*, “Protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dorosłych PALG ALL7.,” Gliwice, 2018.
- [56] M. Campbell *et al.*, “ALL IC-BFM 2009. A Randomized Trial of the I-BFM-SG for the Management of Childhood non-B Acute Lymphoblastic Leukemia. Final Version of Therapy Protocol from August-14-2009,” 2009.
- [57] M. Czogała, “Ocena przydatności oznaczania poziomu amoniaku w surowicy krwi w trakcie podawania L-asparaginazy u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną.” pp. 1–139, 2010.
- [58] “Metylprednizolon (methylprednisolone).” <https://indeks.mp.pl>.
- [59] S. Suzuki, J. R. Iben, S. L. Coon, and T. Kino, “SIRT1 is a transcriptional enhancer of the glucocorticoid receptor acting independently to its deacetylase activity,” *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 461, pp. 178–187, 2018, doi: 10.1016/j.mce.2017.09.012.
- [60] O. A. Alvarez and G. Zimmerman, “Pegaspargase-induced pancreatitis,” *Med. Pediatr. Oncol.*, vol. 34, no. 3, 2000, doi: 10.1002/(SICI)1096-911X(200003)34:3<200::AID-MPO7>3.0.CO;2-T.
- [61] S. K. Parsons *et al.*, “Asparaginase-associated lipid abnormalities in children with acute lymphoblastic leukemia,” *Blood*, vol. 89, no. 6, 1997, doi: 10.1182/blood.v89.6.1886.
- [62] C. Alves, C. Chaves, and M. Souza, “Transient diabetes mellitus related to L-asparaginase therapy,” *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, vol. 51, no. 4, 2007, doi: 10.1590/s0004-27302007000400020.
- [63] L. Phillipson-Weiner, E. T. Mirek, Y. Wang, W. G. McAuliffe, R. C. Wek, and T. G. Anthony, “General control nonderepressible 2 deletion predisposes to asparaginase-associated pancreatitis in mice,” *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.*, vol. 310, no. 11, 2016, doi: 10.1152/ajpgi.00052.2016.
- [64] “www.bialaczka.org/leczenie.” <https://www.bialaczka.org>.
- [65] M. H. Ahmad and I. Shafiq, “Diabetic ketoacidosis following peg-asparaginase therapy,”



*Endocrinol. Diabetes Metab. Case Reports*, vol. 2018, no. 1, 2018, doi: 10.1530/EDM-18-0064.

- [66] S. Ladhani *et al.*, “Overweight and obesity management strategies in survivors of paediatric acute lymphoblastic leukaemia: A systematic review protocol,” *BMJ Open*, vol. 8, no. 6, 2018, doi: 10.1136/bmjopen-2018-022530.
- [67] I. Bakk, T. Koch, J. Stanek, S. H. O’Brien, and S. Reed, “Steroid-induced Hypertension during Induction Chemotherapy for Acute Lymphoblastic Leukemia in US Children’s Hospitals,” *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, vol. 40, no. 1, 2018, doi: 10.1097/MPH.0000000000000997.
- [68] J. Tucci, W. Alhushki, T. Chen, X. Sheng, Y.-M. Kim, and S. D. Mittelman, “Switch to low-fat diet improves outcome of acute lymphoblastic leukemia in obese mice,” *Cancer Metab.*, vol. 6, no. 1, 2018, doi: 10.1186/s40170-018-0189-0.
- [69] M. Farhan *et al.*, “Differential Methylation and Acetylation as the Epigenetic Basis of Resveratrol’s Anticancer Activity,” *Medicines*, vol. 6, no. 1, 2019, doi: 10.3390/medicines6010024.
- [70] Y. Zhong, K. Lee, and J. C. He, “SIRT1 is a potential drug target for treatment of diabetic kidney disease,” *Frontiers in Endocrinology*, vol. 9, p. 624, 2018, doi: 10.3389/fendo.2018.00624.
- [71] M. Wiciński *et al.*, “Beneficial effects of resveratrol administration—Focus on potential biochemical mechanisms in cardiovascular conditions,” *Nutrients*, vol. 10, no. 11, 2018, doi: 10.3390/nu10111813.
- [72] C. Granchi and F. Minutolo, “Activators of Sirtuin-1 and their Involvement in Cardioprotection,” *Curr. Med. Chem.*, vol. 25, no. 34, 2018, doi: 10.2174/0929867325666180214115438.
- [73] E. Cuyàs *et al.*, “Metformin Is a Direct SIRT1-Activating Compound: Computational Modeling and Experimental Validation,” *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 9, p. 657, 2018, doi: 10.3389/fendo.2018.00657.
- [74] D. Manna, R. Bhuyan, and R. Ghosh, “Probing the mechanism of SIRT1 activation by a 1,4-dihydropyridine,” *J. Mol. Model.*, vol. 24, no. 12, 2018, doi: 10.1007/s00894-018-3877-3.
- [75] Z. Niedźwiedzka and I. Palczewska, “Wskaźniki rozwoju fizycznego w pierwszych trzech latach życia dzieci urodzonych przedwcześnie,” *Med. Wieku Rozwoj.*, vol. 1, no. 1, pp. 3–71, 1997.
- [76] Z. Niedźwiedzka and I. Palczewska, “Wskaźniki rozwoju somatycznego dzieci i młodzieży warszawskiej,” *Med. Wieku Rozwoj.*, vol. 5, no. 1, pp. 52, 113–114, 2001.
- [77] I. Palczewska and Z. Niedźwiedzka, “Siatki centylowe do oceny rozwoju somatycznego dzieci i młodzieży,” Warszawa, 1991.
- [78] T. Hayashi *et al.*, “Patterns of insulin concentration during the OGTT predict the risk of type 2 diabetes in Japanese Americans,” *Diabetes Care*, vol. 36, no. 5, 2013, doi: 10.2337/dc12-0246.
- [79] C. Bianchi *et al.*, “Elevated 1-hour postload plasma glucose levels identify subjects with

normal glucose tolerance but impaired  $\beta$ -cell function, insulin resistance, and worse cardiovascular risk profile: The GENFIEV study,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 98, no. 5, 2013, doi: 10.1210/jc.2012-3971.

- [80] “Ocena zależności pomiędzy stężeniami insuliny w przebiegu doustnego testu tolerancji glukozy a ilością i dystrybucją tkanki tłuszczowej u młodych osób — badania wstępne,” *Forum Zaburzeń Metab.*, vol. 7, no. 3, 2016.
- [81] V. Kumar, A. K. Abbas, and J. Aster, *Patologia Robbinsa*, 2nd ed. Wrocław: Elsevier Urban & Partner, 2014.
- [82] W. Alperstein, M. Boren, and J. L. McNeer, “Pediatric acute lymphoblastic leukemia: From diagnosis to prognosis,” *Pediatr. Ann.*, vol. 44, no. 7, 2015, doi: 10.3928/00904481-20150710-10.
- [83] İ. Yaman-Bajin *et al.*, “Infant lymphoblastic leukemia: A single centers 10 year experience,” *Turk. J. Pediatr.*, vol. 61, no. 3, 2019, doi: 10.24953/turkjped.2019.03.002.
- [84] G. Bahoush, P. Salajegheh, and F. Rohani, “Association between body mass index and insulin resistance in survivors of pediatric acute lymphoblastic leukemia,” *Leuk. Res. Reports*, vol. 13, 2020, doi: 10.1016/j.lrr.2020.100199.
- [85] A. P. Singh *et al.*, “Health benefits of resveratrol: Evidence from clinical studies,” *Medicinal Research Reviews*, vol. 39, no. 5, 2019, doi: 10.1002/med.21565.
- [86] K. Turkmen, “Sirtuins as novel players in the pathogenesis of diabetes mellitus,” *World J. Diabetes*, vol. 5, no. 6, 2014, doi: 10.4239/wjd.v5.i6.894.
- [87] A. K. Walker *et al.*, “Conserved role of SIRT1 orthologs in fasting-dependent inhibition of the lipid/cholesterol regulator SREBP,” *Genes Dev.*, vol. 24, no. 13, 2010, doi: 10.1101/gad.1901210.
- [88] J. H. J. Hoeijmakers, “Genome maintenance mechanisms for preventing cancer,” *Nature*, vol. 411, no. 6835, 2001, doi: 10.1038/35077232.
- [89] T. Yamamori *et al.*, “SIRT1 deacetylates APE1 and regulates cellular base excision repair,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 38, no. 3, 2009, doi: 10.1093/nar/gkp1039.
- [90] M. Ming *et al.*, “Regulation of global genome nucleotide excision repair by SIRT1 through xeroderma pigmentosum C,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 52, 2010, doi: 10.1073/pnas.1010377108.
- [91] P. Zhang *et al.*, “Tumor suppressor p53 cooperates with SIRT6 to regulate gluconeogenesis by promoting FoxO1 nuclear exclusion,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 111, no. 29, 2014, doi: 10.1073/pnas.1411026111.
- [92] Z. Frydzińska, A. Owczarek, and K. Winiarska, “Sirtuiny i ich rola w regulacji metabolizmu,” *Postepy biochemii*, vol. 65, no. 1, 2019, doi: 10.18388/pb.2019\_254.
- [93] E. W. A. Liwa, T. Studziński, and M. R. Tatara, “Glikokortykosteroidy a metabolizm i wzrost kości,” vol. 62, no. 4, pp. 377–379, 2006.
- [94] A. I. Pruteanu, B. F. Chauhan, L. Zhang, S. O. M. Prietsch, and F. M. Ducharme, “Inhaled corticosteroids in children with persistent asthma: Dose-response effects on growth,”

*Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2014, no. 7. 2014, doi: 10.1002/14651858.CD009878.pub2.

- [95] P. O. Hasselgren, “Glucocorticoids and muscle catabolism,” *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, vol. 2, no. 3, 1999, doi: 10.1097/00075197-199905000-00002.
- [96] D. Nakano, Y.-Y. Fan, M. Kohno, H. Hitomi, R. Felder, and A. Nishiyama, “Aldosterone induces renal senescence in proximal tubular cells via mineralocorticoid receptor/p21-dependent pathway,” in *Endocrine Journal*, 2010, vol. 57, p. 544.
- [97] K. C. Oeffinger *et al.*, “Obesity in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the childhood cancer survivor study,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 21, no. 7, 2003, doi: 10.1200/JCO.2003.06.131.
- [98] J. C. Núñez-Enríquez *et al.*, “Overweight and obesity as predictors of early mortality in Mexican children with acute lymphoblastic leukemia: a multicenter cohort study,” *BMC Cancer*, vol. 19, no. 1, 2019, doi: 10.1186/s12885-019-5878-8.
- [99] L. Iughetti, P. Bruzzi, B. Predieri, and P. Paolucci, “Obesity in patients with acute lymphoblastic leukemia in childhood,” *Italian Journal of Pediatrics*, vol. 38, no. 1. 2012, doi: 10.1186/1824-7288-38-4.
- [100] E. J. Ladas *et al.*, “Dietary intake and childhood leukemia: The Diet and Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment (DALLT) cohort study,” *Nutrition*, vol. 32, no. 10, 2016, doi: 10.1016/j.nut.2016.03.014.
- [101] E. K. Browne *et al.*, “Changes in body mass index, height, and weight in children during and after therapy for acute lymphoblastic leukemia,” *Cancer*, vol. 124, no. 21, 2018, doi: 10.1002/cncr.31736.
- [102] L. Diller *et al.*, “Chronic disease in the Childhood Cancer Survivor Study cohort: A review of published findings,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 27, no. 14. 2009, doi: 10.1200/JCO.2008.21.1953.
- [103] A. P. Mansur *et al.*, “Serum concentrations and gene expression of sirtuin 1 in healthy and slightly overweight subjects after caloric restriction or resveratrol supplementation: A randomized trial,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 227, pp. 788–794, 2017, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.10.058.
- [104] M. Stefanowicz, A. Nikołajuk, N. Matulewicz, and M. Karczewska-Kupczewska, “Adipose tissue, but not skeletal muscle, sirtuin 1 expression is decreased in obesity and related to insulin sensitivity,” *Endocrine*, vol. 60, no. 2, 2018, doi: 10.1007/s12020-018-1544-1.
- [105] J. S. Aleksandra Janecka, “Metabolic syndrome as a late side effect of the childhood neoplasm treatment,” *Borgis - Nowa Pediatr.*, pp. 29–33, Jan. 2017.
- [106] N. M. Abu-Ouf and M. M. Jan, “Metabolic syndrome in the survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia,” *Obesity Research and Clinical Practice*, vol. 9, no. 2. 2015, doi: 10.1016/j.orcp.2014.06.004.
- [107] L. T. Warris *et al.*, “Acute activation of metabolic syndrome components in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients treated with dexamethasone,” *PLoS One*, vol. 11, no. 6, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0158225.

- [108] M. Kourti, A. Tragiannidis, A. Makedou, T. Papageorgiou, I. Rousso, and F. Athanassiadou, “Metabolic syndrome in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia after the completion of chemotherapy,” *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, vol. 27, no. 9, 2005, doi: 10.1097/01.mph.0000181428.63552.e9.
- [109] M. Pérez-Carreras *et al.*, “Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis,” *Hepatology*, vol. 38, no. 4, 2003, doi: 10.1053/jhep.2003.50398.
- [110] T. Tobita *et al.*, “SIRT1 disruption in human fetal hepatocytes leads to increased accumulation of glucose and lipids,” *PLoS One*, vol. 11, no. 2, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0149344.
- [111] P. Bruzzi *et al.*, “Long-term effects on growth, development, and metabolism of ALL treatment in childhood,” *Expert Review of Endocrinology and Metabolism*, vol. 14, no. 1. 2019, doi: 10.1080/17446651.2019.1561271.
- [112] R. H. Houtkooper, E. Pirinen, and J. Auwerx, “Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 13, no. 4. 2012, doi: 10.1038/nrm3293.
- [113] L. G. Noriega *et al.*, “CREB and ChREBP oppositely regulate SIRT1 expression in response to energy availability,” *EMBO Rep.*, vol. 12, no. 10, 2011, doi: 10.1038/embor.2011.151.
- [114] H. Sampath and J. M. Ntambi, “Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism,” *Annual Review of Nutrition*, vol. 25. pp. 317–340, 2005, doi: 10.1146/annurev.nutr.25.051804.101917.
- [115] T. Inamori, T. Goda, N. Kasezawa, and K. Yamakawa-Kobayashi, “The combined effects of genetic variation in the SIRT1 gene and dietary intake of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on serum LDL-C and HDL-C levels: A population based study,” *Lipids Health Dis.*, vol. 12, no. 1, 2013, doi: 10.1186/1476-511X-12-4.
- [116] K. A. Nottage, K. K. Ness, C. Li, D. Srivastava, L. L. Robison, and M. M. Hudson, “Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort,” *Br. J. Haematol.*, vol. 165, no. 3, 2014, doi: 10.1111/bjh.12754.
- [117] E. Levy *et al.*, “Cardiometabolic Risk Factors in Childhood, Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia-A Petale Cohort,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-17716-0.
- [118] L. Barbosa-Cortés *et al.*, “Adipokines, insulin resistance, and adiposity as predictors of metabolic syndrome in child survivors of lymphoma and acute lymphoblastic leukemia of a developing country,” *BMC Cancer*, vol. 17, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s12885-017-3097-8.
- [119] A. Fadda *et al.*, “Genome-wide Regulatory Roles of the C2H2-type Zinc Finger Protein ZNF764 on the Glucocorticoid Receptor,” *Sci. Rep.*, vol. 7, 2017, doi: 10.1038/srep41598.
- [120] D. Knutti, A. Kaul, and A. Kralli, “A Tissue-Specific Coactivator of Steroid Receptors, Identified in a Functional Genetic Screen,” *Mol. Cell. Biol.*, vol. 20, no. 7, 2000, doi: 10.1128/mcb.20.7.2411-2422.2000.
- [121] J. G. Spiers, H. J. C. Chen, C. Sernia, and N. A. Lavidis, “Activation of the hypothalamic-

pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress,” *Frontiers in Neuroscience*, vol. 9. p. 456, 2015, doi: 10.3389/fnins.2014.00456.

- [122] P. A. Davis *et al.*, “SIRT1, heme oxygenase-1 and NO-mediated vasodilation in a human model of endogenous angiotensin II type 1 receptor antagonism: Implications for hypertension,” *Hypertens. Res.*, vol. 36, no. 10, 2013, doi: 10.1038/hr.2013.48.
- [123] I. Mattagajasingh *et al.*, “SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, no. 37, 2007, doi: 10.1073/pnas.0704329104.
- [124] J. T. Rodgers, C. Lerin, W. Haas, S. P. Gygi, B. M. Spiegelman, and P. Puigserver, “Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 $\alpha$  and SIRT1,” *Nature*, vol. 434, no. 7029, 2005, doi: 10.1038/nature03354.
- [125] C. L. Kao *et al.*, “Resveratrol protects human endothelium from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress and senescence via SirT1 activation,” *J. Atheroscler. Thromb.*, vol. 17, no. 9, 2010, doi: 10.5551/jat.4333.
- [126] A. Csiszar *et al.*, “Vasoprotective effects of resveratrol and SIRT1: Attenuation of cigarette smoke-induced oxidative stress and proinflammatory phenotypic alterations,” *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 294, no. 6, 2008, doi: 10.1152/ajpheart.00235.2008.
- [127] T. Stachowicz-Stencel, J. Stefanowicz, E. Bień, and A. Balcerska, “Odległe następstwa leczenia nowotworów złośliwych u dzieci,” *Forum Med. Rodz.*, vol. 3, no. 6, 2009.
- [128] J. L. Beaudeau, V. Nivet-Antoine, and P. Giral, “Resveratrol: A relevant pharmacological approach for the treatment of metabolic syndrome?,” *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, vol. 13, no. 6. 2010, doi: 10.1097/MCO.0b013e32833ef291.
- [129] D. Neumann, K. Korzeniowska, and J. Jankowski, “Kardiotoksyczność leczenia przeciwnowotworowego Cardiotoxicity of anticancer treatments,” no. 6, pp. 434–444, 2016.
- [130] W. Grzeszczak, Ł. Woźny, M. Stefanowicz, and M. Danikiewicz, “The influence of rs2273773 and rs7895833 SIRT1 gene polymorphisms on life expectancy in context of metabolic factors in Silesian population,” *Ann. Acad. Medicae Silesiensis*, vol. 71, pp. 162–172, 2017, doi: 10.18794/aams/64164.
- [131] A. Chybicka and K. Sawicz-Birkowska, *Onkologia i hematologia dziecięca*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2008.
- [132] M. Porcu and A. Chiarugi, “The emerging therapeutic potential of sirtuin-interacting drugs: From cell death to lifespan extension,” *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 26, no. 2. 2005, doi: 10.1016/j.tips.2004.12.009.
- [133] K. Siedlecka and W. Bogusławski, “Sirtuiny — enzymy długowieczności ? Sirtuins — longevity enzymes ?,” *Gerontol. Pol.*, vol. 13, no. 3, pp. 147–152, 2015.
- [134] E. Stein and E. Shane, “Secondary osteoporosis,” *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, vol. 32, no. 1. 2003, doi: 10.1016/S0889-8529(02)00062-2.
- [135] L. Guarente, “Sir2 links chromatin silencing, metabolism, and aging,” *Genes and Development*, vol. 14, no. 9. 2000, doi: 10.1101/gad.14.9.1021.

- [136] J. Witek, P. Witek, and E. Pańkowska, "Insulinooporność u dzieci," *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism*, vol. 17, no. 4. 2011.
- [137] D. J. Barker, "Fetal origins of coronary heart disease.," *BMJ*, vol. 311, no. 6998, pp. 171–174, Jul. 1995, doi: 10.1136/bmj.311.6998.171.
- [138] B. Kaźmierczak-Pilch, J. Kaźmierczak, J. Frąckiewicz, and A. Obuchowicz, "Nutritional status and selected atherosclerotic risk factors in young adults in relation to their birth weight," *Pediatr. i Med. Rodz.*, vol. 14, no. 3, 2018, doi: 10.15557/PiMR.2018.0033.
- [139] S. Uthaya, E. L. Thomas, G. Hamilton, C. J. Doré, J. Bell, and N. Modi, "Altered adiposity after extremely preterm birth," *Pediatr. Res.*, vol. 57, no. 2, 2005, doi: 10.1203/01.PDR.0000148284.58934.1C.
- [140] E. Sosnowska-Bielicz and J. Wrótniak, "Nawyki żywieniowe a otyłość dzieci w wieku przedszkolnym i szkolnym," *Lublin Pedagog. Yearb.*, vol. 32, no. 0, 2015, doi: 10.17951/lrp.2013.32.0.147.
- [141] P. Krawiec and E. Pac-kożuchowska, "Endokrynologia Pediatria Pediatric Endocrinology Diagnostyka i leczenie zaburzeń lipidowych u dzieci Diagnosis and Management of Dyslipidaemia in Children," vol. 11, no. 4, pp. 81–87, 2012.
- [142] S. R. Daniels and F. R. Greer, "Lipid screening and cardiovascular health in childhood," *Pediatrics*, vol. 122, no. 1, 2008, doi: 10.1542/peds.2008-1349.
- [143] M. Kubicka *et al.*, "Diagnostic profile at relapse of acute lymphoblastic leukemia," *Pediatr. Pol.*, vol. 83, no. 2, 2008, doi: 10.1016/s0031-3939(08)70268-3.
- [144] K. Stęplewska-Mazur, *Patologia układu krwiotwórczego*. Katowice: Śląska Akademia Medyczna, 2000.
- [145] Y. J. Hsu, Y. C. Chen, C. L. Ho, W. Y. Kao, and T. Y. Chao, "Diabetic ketoacidosis and persistent hyperglycemia as long-term complications of L-asparaginase-induced pancreatitis," *Chinese Med. J.*, vol. 65, no. 9, 2002.
- [146] T. Oskarsson *et al.*, "Treatment-related mortality in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia," *Pediatr. Blood Cancer*, vol. 65, no. 4, 2018, doi: 10.1002/pbc.26909.
- [147] N. Hijiya and I. M. Van Der Sluis, "Asparaginase-Associated toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia," *Leukemia and Lymphoma*, vol. 57, no. 4. 2016, doi: 10.3109/10428194.2015.1101098.
- [148] P. G. Steinherz, "Transient, severe hyperlipidemia in patients with acute lymphoblastic leukemia treated with prednisone and asparaginase," *Cancer*, vol. 74, no. 12, 1994, doi: 10.1002/1097-0142(19941215)74:12<3234::AID-CNCR2820741224>3.0.CO;2-1.
- [149] V. T. Huynh and S. Bergeron, "Asparaginase toxicities: Identification and management in patients with acute lymphoblastic leukemia," *Clin. J. Oncol. Nurs.*, vol. 21, no. 5, 2017, doi: 10.1188/17.CJON.E248-E259.
- [150] R. A. Raja, K. Schmiegelow, and T. L. Frandsen, "Asparaginase-associated pancreatitis in children," *British Journal of Haematology*, vol. 159, no. 1. 2012, doi: 10.1111/bjh.12016.
- [151] Y. Li, C. M. Bäckesjö, L. A. Haldosén, and U. Lindgren, "Resveratrol inhibits proliferation

and promotes apoptosis of osteosarcoma cells,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 609, no. 1–3, 2009, doi: 10.1016/j.ejphar.2009.03.004.

- [152] H. P. Lashkari, D. Lancaster, A. Atra, M. P. Champion, and M. M. Taj, “Symptomatic severe hypertriglyceridaemia with asparaginase therapy in acute lymphoblastic leukaemia (ALL) and lymphoblastic lymphoma: Is rechallenging safe?,” *Int. J. Hematol.*, vol. 94, no. 6, 2011, doi: 10.1007/s12185-011-0966-9.
- [153] B. Malbora, Z. Avci, and N. Ozbek, “Treatment of severe hypertriglyceridemia associated with accidental pegylated asparaginase push in a child with relapsed acute lymphoblastic leukemia,” *Drug Chem. Toxicol.*, vol. 35, no. 4, 2012, doi: 10.3109/01480545.2011.640684.
- [154] R. Rajendran, E. Abu, A. Fadl, and C. D. Byrne, “Late effects of childhood cancer treatment: Severe hypertriglyceridaemia, central obesity, non alcoholic fatty liver disease and diabetes as complications of childhood total body irradiation,” *Diabet. Med.*, vol. 30, no. 8, 2013, doi: 10.1111/dme.12234.
- [155] J. N. Feige *et al.*, “Specific SIRT1 Activation Mimics Low Energy Levels and Protects against Diet-Induced Metabolic Disorders by Enhancing Fat Oxidation,” *Cell Metab.*, vol. 8, no. 5, 2008, doi: 10.1016/j.cmet.2008.08.017.
- [156] X. Ye, M. Li, T. Hou, T. Gao, W. guo Zhu, and Y. Yang, “Sirtuins in glucose and lipid metabolism,” *Oncotarget*, vol. 8, no. 1. 2017, doi: 10.18632/oncotarget.12157.
- [157] X. L. Zhong *et al.*, “The effect of SIRT1 gene polymorphisms on ambulatory blood pressure of hypertensive patients in the Kazakh population,” *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, vol. 19, no. 10, 2015, doi: 10.1089/gtmb.2015.0111.
- [158] U. Kilic, O. Gok, A. Bacaksiz, M. Izmirli, B. Elibol-Can, and O. Uysal, “SIRT1 gene polymorphisms affect the protein expression in cardiovascular diseases,” *PLoS One*, vol. 9, no. 2, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0090428.
- [159] L. A. Wakeling, L. J. Ions, and D. Ford, “Could Sirt1-mediated epigenetic effects contribute to the longevity response to dietary restriction and be mimicked by other dietary interventions?,” *Age*, vol. 31, no. 4. 2009, doi: 10.1007/s11357-009-9104-5.
- [160] Y. Peng *et al.*, “Influence of SIRT1 polymorphisms for diabetic foot susceptibility and severity,” *Med. (United States)*, vol. 97, no. 28, 2018, doi: 10.1097/MD.00000000000011455.
- [161] K. A. Moynihan *et al.*, “Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic  $\beta$  cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice,” *Cell Metab.*, vol. 2, no. 2, 2005, doi: 10.1016/j.cmet.2005.07.001.
- [162] G. W. Basak, J. Dwilewicz-Trojaczek, and W. W. Jędrzejczak, *Hematologia – Kompendium*. PZWL, 2016.
- [163] R. Lin *et al.*, “Common variants in SIRT1 and human longevity in a Chinese population,” *BMC Med. Genet.*, vol. 17, no. 1, 2016, doi: 10.1186/s12881-016-0293-3.
- [164] Y. Dong *et al.*, “SIRT1 is associated with a decrease in acute insulin secretion and a sex specific increase in risk for type 2 diabetes in Pima Indians,” *Mol. Genet. Metab.*, vol. 104, no. 4, 2011, doi: 10.1016/j.ymgme.2011.08.001.
- [165] J. Zheng, L. L. Chen, F. Xiao, X. Hu, X. Deng, and H. Li, “Three single nucleotide variants of

the SIRT1 gene are associated with overweight in a Chinese population: A case control study,” *Endocr. J.*, vol. 59, no. 3, 2012, doi: 10.1507/endocrj.EJ11-0234.

- [166] L. M. *et al.*, “Resveratrol Improves Mitochondrial Function and Protects against Metabolic Disease by Activating SIRT1 and PGC-1alpha,” *Cell*, vol. 127, no. 6. 2006.
- [167] Á. Ramírez *et al.*, “Type 2 diabetes-associated polymorphisms correlate with SIRT1 and TGF- $\beta$ 1 gene expression,” *Ann. Hum. Genet.*, vol. 84, no. 2, 2020, doi: 10.1111/ahg.12363.
- [168] T. Higashibata *et al.*, “Effects of self-reported calorie restriction on correlations between SIRT1 polymorphisms and body mass index and long-term weight change,” *Gene*, vol. 594, no. 1, 2016, doi: 10.1016/j.gene.2016.08.051.
- [169] M. C. Zillikens *et al.*, “SIRT1 genetic variation is related to BMI and risk of obesity,” *Diabetes*, vol. 58, no. 12, 2009, doi: 10.2337/db09-0536.
- [170] A. A. F. Casarotto, B. B. Galera, L. M. Sumiyoshi, and T. M. Floôr, “Polymorphism rs7895833 in the SIRT1 gene and its association with dyslipidaemia in the elderly,” *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.*, vol. 54, no. 4, 2019, doi: 10.1016/j.regg.2019.01.008.
- [171] U. Kilic *et al.*, “A remarkable age-related increase in SIRT1 protein expression against oxidative stress in elderly: SIRT1 gene variants and longevity in human,” *PLoS One*, vol. 10, no. 3, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0117954.
- [172] I. P. G. Botden *et al.*, “Variants in the SIRT1 gene may affect diabetes risk in interaction with prenatal exposure to famine,” *Diabetes Care*, vol. 35, no. 2, 2012, doi: 10.2337/dc11-1203.
- [173] D. H. Kim, I. H. Jung, D. H. Kim, and S. W. Park, “Knockout of longevity gene Sirt1 in zebrafish leads to oxidative injury, chronic inflammation, and reduced life span,” *PLoS One*, vol. 14, no. 8, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0220581.
- [174] Y. Lv, S. Lin, and F. Peng, “SIRT1 gene polymorphisms and risk of lung cancer,” *Cancer Manag. Res.*, vol. 9, 2017, doi: 10.2147/CMAR.S142677.
- [175] S. M. Rizk, N. N. Shahin, and O. G. Shaker, “Association between SIRT1 gene polymorphisms and breast cancer in Egyptians,” *PLoS One*, vol. 11, no. 3, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0151901.
- [176] B. Glebauskiene *et al.*, “Association of FGFR2 rs2981582, SIRT1 rs12778366, STAT3 rs744166 gene polymorphisms with pituitary adenoma,” *Oncol. Lett.*, vol. 13, no. 5, 2017, doi: 10.3892/ol.2017.5840.
- [177] C. C. J. M. Simons, L. J. Schouten, R. W. Godschalk, F. J. van Schooten, P. A. van den Brandt, and M. P. Weijenberg, “Sirtuin 1 genetic variation, energy balance and colorectal cancer risk by sex and subsite in the Netherlands Cohort Study,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-34728-6.
- [178] R. Hrzic, C. C. J. M. Simons, L. J. Schouten, M. van Engeland, P. van den Brandt, and M. P. Weijenberg, “Investigation of sirtuin 1 polymorphisms in relation to the risk of colorectal cancer by molecular subtype,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-60300-2.