

Université de Montréal

Complications cardiométaboliques chez les survivants de la leucémie lymphoblastique aiguë pédiatrique

Rôles de la dysbiose intestinale et de la nutrition dans leur développement

Par

Sophia Morel, Dt.P

Département de nutrition, Faculté de Médecine, Faculté des Études Supérieures

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctorae (Ph.D.)

en Nutrition

Septembre 2020

© Morel, 2020

Université de Montréal

Unité académique : département Nutrition, Faculté Médecine

Cette thèse intitulée

**Complications cardiométaboliques chez les survivants de la
leucémie lymphoblastique aiguë pédiatrique
*Rôles de la dysbiose intestinale et la nutrition dans leur développement***

Présenté par

Sophia Morel

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Guylaine Ferland

Présidente-rapporteur

Emile Levy

Directeur de recherche

Valérie Marcil

Codirectrice

Chantal Bémeur

Membre du jury

Charles Ramassamy

Examineur externe

Résumé

En raison des avancées thérapeutiques, plus de 90% des enfants atteints de la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) survivent à la maladie. Cependant, plusieurs survivants sont à risque de développer des morbidités à long terme, causées par le cancer et ses traitements, surtout que ces derniers sont administrés pendant une période cruciale du développement. Les effets néfastes à long terme comprennent notamment des désordres cardiométaboliques tels que l'obésité, la dyslipidémie et le diabète de type 2. Bien que leur étiologie précise ne soit pas entièrement comprise, certains mécanismes sous-jacents au développement des complications à long terme ont été proposés.

Étonnamment, peu d'études ont évalué la relation entre l'alimentation et les complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique. Dans la population générale, de mauvaises habitudes alimentaires ont été associées à l'incidence des composantes du syndrome métabolique et de l'athérosclérose. Également, il a été démontré que le microbiote intestinal joue un rôle prépondérant dans la pathogenèse et la progression des perturbations cardiométaboliques dans la population générale. Ce rôle a été peu étudié dans la population survivante de cancer, alors que les traitements pourraient mener à des modifications importantes de la composition, de la diversité et de la fonction du microbiote intestinal.

Nos travaux ont visé l'étude de l'état de santé cardiométabolique et nutritionnelle de survivants de la LLA de l'enfant et la détermination des associations entre les deux. De plus, nous avons exploré les mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans le développement des complications cardiométaboliques. L'ensemble des travaux a été réalisé dans le cadre de l'étude *PETALE (Prévenir les effets tardifs des traitements de la leucémie lymphoblastique aiguë)* au Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine à Montréal.

Nos résultats ont mis en évidence la forte prévalence des complications cardiométaboliques chez les adolescents et les jeunes adultes survivants de la LLA pédiatrique. Ils ont aussi confirmé leur risque cardiovasculaire accru par rapport à la population générale canadienne, plus particulièrement ceux ayant été exposés à la radiothérapie crânienne. En outre, des altérations

des profils des lipoprotéines et apolipoprotéines, indicateurs d'une augmentation du risque d'athérosclérose, ont été identifiées.

Nous avons observé que les survivants respectent peu les recommandations alimentaires et leurs mauvaises habitudes alimentaires affectent leur état nutritionnel et métabolique. Nos résultats confirment l'association d'un régime alimentaire de qualité et une meilleure santé cardiométabolique des survivants. Nous avons identifié une association inverse entre un apport élevé de macro- et micronutriments spécifiques (protéines, sélénium, zinc, cuivre, riboflavine et niacine) ainsi que de viande et le risque de présenter des taux de HDL-C faibles chez les survivants tandis que la restauration rapide était associée positivement avec ce risque. Il est à noter que malgré un faible apport en vitamine D, la prévalence de l'insuffisance ou de la carence en vitamine D n'est pas plus importante chez les survivants que dans la population générale canadienne.

Nous avons identifié des associations entre des biomarqueurs plasmatiques de l'inflammation viscérale et de l'endotoxémie et les complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique. Nous avons également mis en évidence la relation entre l'endotoxémie métabolique, l'inflammation et la présence de complications cardiométaboliques. Une revue de littérature a permis de détailler le rôle émergent de la dysbiose intestinale dans les complications métaboliques chez les survivants. Dans nos travaux exploratoires, nous avons constaté que, dans une grande proportion des survivants métaboliquement non sains, il y avait une abondance réduite de familles de bactéries ayant des rôles protecteurs envers l'endotoxémie métabolique. Nous avons aussi démontré la faisabilité d'utiliser un modèle murin xénogénique de LLA pour étudier les mécanismes du développement des complications cardiométaboliques.

L'identification de biomarqueurs et de mécanismes biologiques ainsi qu'une meilleure compréhension de la manière dont le régime et les composantes alimentaires peuvent affecter les survivants de la LLA de l'enfant permettra le développement de stratégies de prévention pour minimiser les séquelles à long terme, améliorer le suivi des patients et optimiser la qualité de vie de cette population à haut risque.

Mots-clés : Survivant de cancer pédiatrique, leucémie lymphoblastique aiguë, syndrome métabolique, dyslipidémie, nutrition, microbiote intestinal, dysbiose, endotoxémie, stress oxydant, inflammation, biomarqueur.

Abstract

As a result of therapeutic advances, more than 90% of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) survive the disease. However, many survivors are at risk of developing long-term morbidities caused by the cancer and its treatments, especially since these are administered during a crucial period of their development. Long-term adverse effects include cardiometabolic disorders such as obesity, dyslipidemia and type 2 diabetes. Although their precise etiology is not fully understood, some mechanisms underlying the development of long-term complications have been proposed.

Surprisingly, few studies have evaluated the relationship between diet and cardiometabolic complications in childhood cancer survivors. In the general population, poor dietary habits are associated with the incidence of metabolic syndrome components and atherosclerosis. Also, the intestinal microbiota appears to play a major role in the pathogenesis and progression of cardiometabolic disturbances in the general population. This role has been poorly studied in cancer survivor populations, where treatments could lead to significant changes in intestinal microbiota composition, diversity and function.

We studied the cardiometabolic and nutritional health status of childhood ALL survivors and determined the associations between the two. In addition, we explored the intestinal microbiota as an underlying mechanism of cardiometabolic complication development. This work was carried out as part of the PETALE (*Preventing Late Effects of Acute Lymphoblastic Leukemia Treatments*) study at the Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine in Montreal.

Our results highlighted the high prevalence of cardiometabolic complications in adolescent and young adult survivors of childhood ALL. They also confirmed their increased cardiovascular risk compared to the general Canadian population, particularly those exposed to cranial radiotherapy. In addition, alterations in lipoprotein and apolipoprotein profiles, indicative of an increased risk of atherosclerosis, were identified.

We observed that survivors have poor compliance with dietary recommendations and that poor eating habits affect their nutritional and metabolic status. Our results confirm the association of

diet quality and a better survivors' cardiometabolic health. We identified an inverse association between a high intake of specific macro- and micronutrients (protein, selenium, zinc, copper, riboflavin and niacin) as well as meat and the risk of having low HDL-C levels in survivors, while fast food was positively associated with this risk. It should be noted that despite low vitamin D intake, the prevalence of vitamin D insufficiency or deficiency is no greater among survivors than in the general Canadian population.

We identified associations between plasma biomarkers of visceral inflammation and endotoxemia and cardiometabolic complications in childhood ALL survivors. We also demonstrated the relationship between metabolic endotoxemia, inflammation and the presence of cardiometabolic complications. A review of the literature detailed the emerging role of intestinal dysbiosis in the metabolic sequelae found in survivors. In our exploratory work, we found that, in a large proportion of metabolically unhealthy survivors, there was a reduced abundance of bacteria families with protective role towards endotoxemia. We also demonstrated the feasibility of using a xenogenic mouse model of ALL to study the mechanisms explaining the development of cardiometabolic complications.

The identification of biomarkers and biological mechanisms and a better understanding of how diet and nutritional components may affect survivors of childhood ALL will allow the development of prevention strategies to minimize long-term sequelae, improve patient follow-up and optimize the quality of life of this high-risk population.

Keywords: Cancer survivors, acute lymphoblastic leukemia, metabolic syndrome, dyslipidemia, nutrition, gut microbiota, dysbiosis, endotoxemia, oxidative stress, inflammation.

Table des matières

Résumé	5
Abstract.....	9
Table des matières.....	11
Liste des tableaux	17
Liste des figures	19
Liste des sigles et abréviations.....	21
Remerciements.....	27
Introduction	29
1 Cancers chez l'enfant	32
1.1 Leucémie lymphoblastique aiguë	32
1.1.1 Pathogenèse de la LLA	32
1.1.2 Facteurs de risque prédisposant à la LLA	34
1.1.3 Évaluation du pronostic de la LLA et plan de traitement.....	34
1.1.4 Signes cliniques de la LLA.....	35
1.2 Autres cancers chez l'enfant	36
1.3 Cancer chez les adolescents et les jeunes adultes.....	37
1.4 Incidence des cancers chez l'enfant par rapport aux cancers chez l'adulte	37
1.5 Taux de survie des cancers de l'enfant par rapport aux cancers de l'adulte	38
1.6 Traitements de la LLA pédiatrique	38
1.6.1 Description des types de traitements pour la LLA pédiatrique.....	39
1.6.2 Protocole de traitement de la LLA de l'enfant	44
2 Le syndrome métabolique et ses composantes.....	47

2.1	Syndrome métabolique.....	47
2.2	Résistance à l'insuline	51
2.3	Obésité	53
2.4	Hypertension.....	55
2.5	Dyslipidémie.....	56
2.5.1	Synthèse et composition des lipoprotéines	56
2.5.2	Apolipoprotéines : biomarqueurs du risque cardiovasculaire	60
3	Désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancers pédiatriques	63
3.1	Prévalence des désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancer	63
3.1.1	La prévalence de la dyslipidémie chez les survivants de LLA	76
3.2	Mécanismes potentiels sous-jacents au développement des désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancers pédiatriques	77
3.2.1	Stress oxydant et inflammation chez les survivants de la LLA pédiatrique.....	78
3.2.2	Dysfonctionnement du tissu adipeux chez les survivants de la LLA pédiatrique ..	82
3.2.3	Dysfonction endothéliale chez les survivants de la LLA pédiatrique.....	87
3.2.4	Dysfonctions endocriniennes chez les survivants de la LLA pédiatrique	88
3.2.5	Génétique et épigénétique chez les survivants de la LLA pédiatrique.....	91
4	Nutrition et complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique	94
4.1	État nutritionnel des survivants de cancer pédiatrique : carences en macro- et micronutriments	94
4.2	Apports alimentaires et adhérence aux recommandations nutritionnelles des survivants de la LLA pédiatrique	96
4.3	Qualité de l'alimentation des survivants de la LLA pédiatrique.....	98
4.4	Évaluation des apports alimentaires.....	99
4.5	Activité physique.....	100

5	Microbiote intestinal, endotoxémie métabolique et complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique	102
5.1	Microbiote intestinal.....	102
5.2	Microbiote intestinal pendant et après le cancer chez l'enfant	103
5.2.1	Composition du microbiote intestinal au diagnostic du cancer	104
5.2.2	Composition du microbiote intestinal durant les traitements de chimiothérapie	104
5.2.3	Composition du microbiote intestinal après les traitements de chimiothérapie et chez les survivants	106
5.3	Microbiote intestinal : mécanisme central sous-jacent au développement des perturbations cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique	113
5.3.1	Dysbiose intestinale, inflammation périphérique et endotoxémie	113
5.3.2	Modulation du microbiote intestinal par la diète et les nutriments fonctionnels	119
6	Hypothèses et objectifs	123
6.1	Problématique	123
6.2	Hypothèses	124
6.2.1	Hypothèse 1 : Complications cardiométaboliques.....	124
6.2.2	Hypothèse 2 : Nutrition et complications cardiométaboliques	125
6.2.3	Hypothèse 3 : Dysbiose intestinale et endotoxémie.....	125
6.3	Objectifs généraux et spécifiques	125
6.3.1	Objectif 1 : Complications cardiométaboliques	125
6.3.2	Objectif 2 : Nutrition et complications cardiométaboliques.....	126
6.3.3	Objectif 3 : Dysbiose intestinale et endotoxémie	126
7	Méthodes.....	129

7.1	Population étudiée.....	129
7.2	Évaluation anthropométrique.....	131
7.3	Évaluation biochimique.....	131
7.4	Évaluation des apports alimentaires et activité physique	132
7.5	Revue de littérature	133
7.6	Évaluation du microbiote intestinal.....	133
7.7	Modèle murin	134
7.7.1	Sélection des blastes pour les greffes	135
7.7.2	Composition des groupes de souris NSG	135
7.7.3	Greffes des souris.....	136
7.7.4	Traitement avec le méthotrexate	136
7.7.5	Sacrifice des souris	137
7.7.6	Évaluation biochimique.....	138
8	Résultats	139
8.1	Article 1	140
8.2	Article 2	174
8.3	Article 3	213
8.4	Article 4	256
8.5	Article 5	296
8.6	Article 6	326
8.7	Article 7	371
8.8	Article 8	439
8.9	Résultats préliminaires : microbiote intestinal	487

8.9.1	Caractéristiques cliniques des survivants de la LLA sélectionnés pour l'analyse du microbiote intestinal.....	488
8.9.2	Résultats : abondance de bactéries intestinales dans un sous-groupe de la cohorte PETALE et un groupe contrôle	489
8.9.3	Résultats : diversité du microbiote intestinal dans un sous-groupe de la cohorte PETALE et un groupe contrôle	490
8.9.4	Résultats : composition du microbiote intestinal chez un sous-groupe de la cohorte PETALE et un groupe contrôle	492
8.10	Résultats préliminaires : modèle murin xénogénique	498
8.10.1	Caractéristiques cliniques des souris contrôles et greffées	499
8.10.2	Mesures des organes au sacrifice des souris contrôles et greffées	500
8.10.3	Profil lipidique plasmatique et hépatique des souris contrôles et greffées.....	501
9	Discussion	505
9.1	Complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique	506
9.2	Nutrition et complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique	511
9.3	Dysbiose intestinale et endotoxémie chez les survivants de la LLA pédiatrique	523
9.4	Forces et limites des études.....	531
10	Conclusion et perspectives	534
10.1	Conclusion.....	534
10.2	Perspectives	535
11	Références bibliographiques.....	537
12	Annexe	603
12.1	Questionnaire de fréquence alimentaire.....	603

Liste des tableaux

Tableau 1. – Agents chimiothérapeutiques utilisés pour le traitement de la LLA et leur mécanisme d'action	42
Tableau 2. – Définitions du syndrome métabolique selon l’OMS, l’ATP III du NCEP et la FID chez l’adulte	49
Tableau 3. – Définitions du syndrome métabolique selon Cook, Ferranti et la FID chez l’enfant et l’adolescent	51
Tableau 4. – Syndrome métabolique et ses composantes chez les survivants de LLA et LMA pédiatriques: mécanismes proposés	65
Tableau 5. – Syndrome métabolique et ses composantes chez les survivants de cancer pédiatriques autres que la LLA : mécanismes proposés	68
Tableau 6. – Syndrome métabolique et ses composantes chez les survivants de cancer pédiatrique traité avec une greffe de cellules souches hématopoïétiques : mécanismes proposés	72
Tableau 7. – Microbiote intestinal durant et après la chimiothérapie	108
Tableau 8. – Critères d’éligibilité pour les participants à l’étude PETALE.....	130
Tableau 9. – Description des groupes de souris NSG inclus dans l’étude.....	135
Tableau 10. – Caractéristiques cliniques des survivants de la LLA sélectionnés pour l’analyse du microbiote intestinal.....	488
Tableau 11. – Caractéristiques cliniques chez les souris NSG contrôles et greffées	499
Tableau 12. – Mesures des organes au sacrifice des souris contrôles et greffées : poids du foie et longueur des différentes sections de l’intestin.	500
Tableau 13. – Profil lipidique plasmatique et hépatique chez les souris contrôles, greffées traitées et non traitées.	502

Liste des figures

Figure 1. –	Complications à long terme chez les survivants de cancer	29
Figure 2. –	Pathogénèse de la leucémie lymphoblastique aiguë	33
Figure 3. –	Protocole de traitements de la leucémie lymphoblastique aiguë pédiatrique	46
Figure 4. –	Représentation schématique simplifiée de la voie PI3K dans la signalisation de l'insuline	52
Figure 5. –	Facteurs potentiels prédisposant au développement de l'obésité	54
Figure 6. –	Composition normale et altérée des lipoprotéines	60
Figure 7. –	Mécanismes potentiels sous-jacents au développement des complications cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique proposés dans la littérature [20,24,142,143,154,179-186].	78
Figure 8. –	Effet du stress oxydant sur les mitochondries.	81
Figure 9. –	Effets délétères d'un excès de tissus adipeux.....	86
Figure 10. –	Contribution de la dysbiose intestinale à la modification des voies de signalisation inflammatoire.	114
Figure 11. –	Composantes du lipopolysaccharide.....	116
Figure 12. –	Dysbiose intestinale et endotoxémie.....	118
Figure 13. –	Schéma récapitulatif des expériences pour tester le modèle murin xénogénique de la LLA	137
Figure 14. –	Représentation de l'abondance absolue de phylum du microbiote intestinal. ..	490
Figure 15. –	Comparaison des indices de richesse et de diversité du microbiote intestinal ..	491
Figure 16. –	Carte thermique pour la distance euclidienne de la composition du phylum entre les survivants et les contrôles	492
Figure 17. –	Analyse hiérarchique par grappes de l'abondance bactérienne chez les survivants et contrôles.....	493
Figure 18. –	Differentiel de l'abondance au niveau du phylum, classe et ordre chez les survivants et les contrôles	494
Figure 19. –	Differentiel de l'abondance des familles des survivants et des contrôles	495

Figure 20. – Comparaison de l’abondance des phyla, ordres, familles et genres bactériens entre survivants ayant un phénotype extrême et survivants sains.....	497
Figure 21. – Association du profil lipidique plasmatique avec le niveau de maladie chez les souris greffées.....	503
Figure 22. – Mécanismes potentiels sous-jacents au développement des complications cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique proposés dans la littérature incluant le rôle de l’endotoxémie métabolique résultante d’une dysbiose intestinale.	524

Liste des sigles et abréviations

AGCC : acide gras à chaîne courte

AJA : adolescents et jeunes adultes

AMPK : protéine kinase activée par l'AMP

ANR : apport nutritionnel recommandé

AP-1 : protéine d'activation 1

Apo : apolipoprotéine

ASN : L-asparagine

B-LLA : leucémie lymphoblastique B

CD14 : groupe de récepteurs de différenciation 14

CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol

CHUSJ : Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine

CPT-1 : carnitine palmitoyltransférase-1

DASH : Dietary Approaches to Stop Hypertension

DT2 : diabète de type 2

E-DII : Energy-adjusted Dietary inflammatory index

eNOS : endothelial nitric oxide synthase

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FID : Fédération internationale du diabète

FRAP : Ferric Reducing Ability of Plasma

GCSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques

GLUT4 : transporteur de glucose 4

GO : Gene Ontology

GPR : récepteurs couplés aux protéines G

GPx : glutathion peroxydase

GR : glucocorticoïdes

Gy : gray

HC : hormone de croissance

HDI : Healthy Diet Indicator

HDL-C : lipoprotéine de haute densité cholestérol

HEI : Healthy Eating Index

HOMA-IR : indice d'évaluation du modèle d'homéostasie

HTA : hypertension artérielle

ICT : irradiation corporelle totale

IDL : lipoprotéine de densité intermédiaire

IGF-1 : insulin-like growth factor-1

IRS : substrats du récepteur de l'insuline

ITK : inhibiteur de la tyrosine kinase

JA-3j : journal alimentaire de 3 jours

JNK : kinase c-Jun N-terminale

KIDMED : Mediterranean Diet Quality Index pour les enfants et adolescents

LDL-C : lipoprotéine de faible densité cholestérol

LH : lymphome Hodgkin

LLA : leucémie lymphoblastique aiguë

LMA : leucémie myéloïde aiguë

LPB : protéine liant le LPS

LPS : lipopolysaccharide

MAIT : T invariantes associées aux muqueuses

MCV : maladies cardiovasculaires

MEDAS : Mediterranean Diet Adherence Screener

miARN : microARN

6-MP : 6-mercaptopurine

NCEP ATP II : National Cholesterol Education Program—Adult Treatment Panel III

NFκB: facteur nucléaire-κB

NO : nitric oxide

NSG: NOD/SCID/gamma c-

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OTUs : operational taxonomic units

PAI-1 : plasminogen activator inhibitor-1

PAMP : pathogen associated molecular patterns

PETALE : Prévenir les effets tardifs des traitements de la leucémie lymphoblastique aiguë

PPAR-γ : récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes

QFA : questionnaire de fréquence alimentaire

RI : résistance à l'insuline

RR : risque relatif

RTC : radiothérapie crânienne

Ser : sérine

SM : syndrome métabolique

SNC : système nerveux central

SOCS3 : suppresseur de signalisation des cytokines 3

SOD : superoxyde dismutases

SOx : stress oxydatif

TG : triglycéride

Thr : threonine

T-LLA: leucémie lymphoblastique T

TLR4 : toll-like receptor 4

TMA : triméthylamine-N

TMAO : triméthylamine-N-oxyde

TSH : hormone thyroïdienne

USDA : United States Department of Agriculture

VLDL : lipoprotéines de très basse densité

WCRF/AICR : World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research

Je dédie ce travail à mes parents, Claude et Françoise qui sont tous les deux décédés du cancer et qui m'ont inspiré et encouragé dans cette aventure de la nutrition et recherche.

Remerciements

Tout d'abord, je voudrais remercier les survivants de la leucémie lymphoblastique aiguë de l'enfant qui ont gracieusement accepté et donné de leur temps pour participer au projet PETALE. J'aimerais aussi remercier toute l'équipe PÉTALE et plus particulièrement : Daniel Sinnett, Caroline Laverdière, Simon Drouin et Laurence Bertout.

Merci à Dr Levy, mon directeur tout au long de mon parcours aux cycles supérieurs. Dr Levy, vous m'avez encouragé et guidé durant mon cheminement en recherche et vous m'avez appuyé dans la quête d'atteindre mon plein potentiel, je vous en suis très reconnaissante.

Merci à Valérie, ma codirectrice durant le doctorat, pour tout : l'appui, l'encadrement, nos discussions et ton amitié. Particulièrement, je te remercie d'avoir renforcé par tes conseils et ton exemple l'importance de mettre les choses en perspectives tout en gardant son calme pour surmonter les obstacles et répondre aux défis de la recherche et de la vie.

Merci à ma marraine, Chantal Bémour et parrain, Daniel Sinnett de vos conseils judicieux tout au long de mon parcours aux cycles supérieurs.

Merci à Carole, de ta grande patience de m'apprendre toutes les techniques en laboratoire qui m'a permis entre autres d'obtenir les résultats pour le premier article (1^{er} auteur) de cette thèse ! Et un grand merci pour ton amitié si gentiment offerte.

Merci à Anita pour tout l'aide que tu m'as donné, surtout une journée d'ELISA mémorable (12 plaques...), mais aussi pour toutes les autres fois que tu m'as aidé pour différentes expériences !

Merci à Kathy et l'équipe de Dr Haddad. Sans leur aide et appui, je n'aurais pas pu compléter le projet des souris. Un merci particulier à Kathy pour l'aide et l'amitié si généreusement offerte. Merci à Dr Stintzi et son équipe pour leur collaboration et travail sur le microbiote. Ce travail est un complément important à cette thèse.

Merci à l'équipe de laboratoire passée et actuelle pour votre aide, discussions et amitié. Un merci à Zola pour ses conseils précieux et qui nous guide tous dans le dédale des articles, congrès et demande de bourse ! Un merci particulier à Alain, Nickolas, Mathilde, Francis, Léna, Véronique, Émilie, Sophie, Abdé, Mélanie ainsi qu'aux collègues et stagiaires qui ont été présents à un moment durant ma maîtrise et doctorat (Jade, Panthéa, Maryse, Florianne, Emma, Olivia,

Yasmine) pour avoir participé et aidé de différentes façons à l'avancement des travaux pour cette thèse! Merci Sophie pour les moments passés ensemble virtuellement (pandémie oblige) durant l'écriture de nos introduction et discussion, à discuter de nos travaux et de la vie! Ceux-ci ont préservé notre santé mentale ;) et surtout consolidé notre amitié!

Merci à mon conjoint, Louis et mes filles, Frédérique, Laurence et Valérie pour leur appui durant ce long cheminement qui a commencé par des cours préalables au baccalauréat en nutrition jusqu'au doctorat... Valérie était à la maternelle lorsque j'ai commencé cette aventure et elle vient de débiter son parcours universitaire en 2020. Merci, mes amours, de m'avoir permis de faire ceci et de me glisser des mots d'encouragement lorsque j'en ai eu besoin.

Introduction

Les taux de survie au cancer se sont grandement améliorés dans le monde durant les dernières décennies [1-4]. Tout particulièrement, chez l'enfant, le taux de survie des cancers, d'une durée de 5 ans, est en moyenne de 82 %, allant de 70 % pour le neuroblastome à plus de 90 % pour la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) [5]. Cependant, une grande portion des survivants de cancers pédiatriques est à risque de développer des morbidités à long terme, causées par le cancer et ses traitements, surtout que ces derniers sont reçus pendant une période cruciale de leur développement [6-9]. À long terme, les survivants de cancer pédiatrique sont susceptibles de développer des neuropathies périphériques [10], une cardiotoxicité [11], une fonction pulmonaire réduite [12], des dysfonctions endocriniennes, des morbidités musculo-squelettiques [7], et des troubles neuropsychologiques, accompagnés souvent d'une détérioration de la qualité de vie causée entre autres par la détresse, la dépression et l'anxiété [13]. Il est à noter que les néoplasmes secondaires associés aux traitements du cancer initial constituent l'une des comorbidités les plus graves [7] (**Figure 1**).

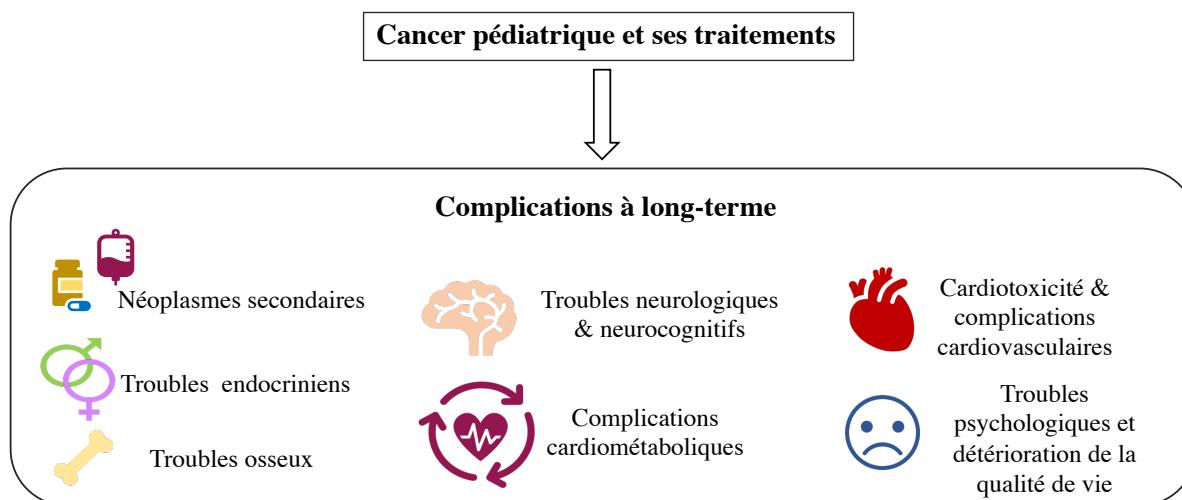


Figure 1. – Complications à long terme chez les survivants de cancer

Les comorbidités à long terme chez les survivants du cancer pédiatrique sont potentiellement dues au cancer et aux effets secondaires des traitements.

La gestion des maladies chroniques figure parmi les principales préoccupations relatives à la santé chez les survivants du cancer. Notamment, les effets néfastes à long terme pour la santé des survivants comprennent des désordres cardiométaboliques tels que l'obésité et le diabète de type 2 (DT2) [14,15]. La chimiothérapie et la radiothérapie ont souvent été associées au développement des désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique [16-19] bien que leur étiologie précise ne soit pas entièrement comprise. Plusieurs mécanismes sous-jacents au développement de ces complications ont toutefois été proposés. Ils comprennent le stress oxydant (SOx) [20], l'inflammation chronique [21], le dysfonctionnement du tissu adipeux [22], les troubles endocriniens [23] et le vieillissement cellulaire accéléré [24].

Étonnamment, peu d'études ont évalué la relation entre l'alimentation et les complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique. Dans la population générale, de mauvaises habitudes alimentaires ont été associées à l'incidence des composantes du syndrome métabolique (SM) et de l'athérosclérose [25-27]. Inversement, de saines habitudes alimentaires peuvent protéger contre la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et l'hypertension [28-32]. Également, il a été démontré que le microbiote intestinal joue un rôle prépondérant dans la pathogenèse et la progression des perturbations cardiométaboliques dans la population générale [33,34]. Ce rôle a été peu étudié dans la population survivante de cancer, alors que les traitements pourraient mener à des modifications importantes de la composition, de la diversité et de la fonction du microbiote intestinal.

L'ensemble des travaux constituant cette thèse a été réalisé dans le cadre de l'étude PETALE (*Prévenir les effets tardifs des traitements de la leucémie lymphoblastique aiguë*) au Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine (CHUSJ) à Montréal [35]. Dans son ensemble, cette étude multidisciplinaire vise à évaluer les séquelles à long terme des survivants de la LLA pédiatrique, à savoir la cardiotoxicité, les complications cardiométaboliques, les problèmes neurocognitifs, la morbidité osseuse et les problèmes de qualité de vie [35]. Un total de 246 survivants de la LLA pédiatrique a été inclus dans la cohorte PETALE (49,4% d'hommes) composée presque exclusivement (>95%) de survivants de descendance européenne provenant de la province du Québec. Les survivants ont tous été traités pour une LLA selon un des protocoles de Dana Farber Cancer Institute (1987 à 2005). Au moment du recrutement, les participants de l'étude avaient

atteint l'âge adulte [n=161; âge médian : 24,7 ans (18,0 – 40,0)] ou de l'adolescence [n=85; âge médian : 16,2 ans (8,5 – 17,9)].

L'objectif majeur de cette thèse se concentrait essentiellement sur les aspects cardiométaboliques parmi l'ensemble des comorbidités affectant les survivants de cancer. Dans une première étape, les travaux réalisés visaient à étudier les composantes du SM chez les sujets de la cohorte PETALE. Pour ce faire, nous avons évalué la prévalence des complications cardiométaboliques, avec une emphase particulière sur les perturbations lipidiques et lipoprotéiniques, identifié leurs prédicteurs et comparé leur risque par rapport à la population canadienne du même âge.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué le statut nutritionnel et la qualité alimentaire des sujets de la cohorte PETALE. Nous avons étudié les associations entre l'alimentation, autant les apports quantitatifs en macro- micronutriments que la qualité de celle-ci, et le profil cardiométabolique, lipidique et inflammatoire des participants.

Dans un troisième temps, afin de caractériser les sous-groupes de survivants de la LLA les plus susceptibles de développer des complications cardiométaboliques à long terme, nous avons déterminé les associations entre différents biomarqueurs d'inflammation, de SOx, de dysfonction endothéliale et d'endotoxémie avec les complications cardiométaboliques. Plus particulièrement, nous avons examiné si la relation entre l'endotoxémie et les complications cardiométaboliques se trouvait médiée par l'inflammation.

Finalement, nous avons exploré les liens entre le microbiote intestinal et la présence de complications cardiométaboliques dans un sous-groupe de survivants de la LLA de l'enfant. Parallèlement, un modèle murin de xénogreffe de la LLA a été développé et testé de manière exploratoire. Ce modèle servira à éventuellement étudier dans le futur proche les mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans le développement des facteurs de risques cardiométaboliques chez des survivants de LLA.

1 Cancers chez l'enfant

Le site d'origine et le comportement des cancers de l'enfant sont différents des cancers propres à l'adulte. Les tumeurs chez les enfants sont plus susceptibles d'être d'origine embryonnaire ou hématopoïétique et les carcinomes sont très rares. De plus, les tumeurs ont des périodes de latence plus courtes et sont plus agressives et invasives que les tumeurs chez l'adulte [5]. Les types les plus courants de cancers pédiatriques sont la leucémie, le lymphome et les cancers du système nerveux central [5]. La LLA est surtout observée chez l'enfant alors que la leucémie myéloïde aiguë (LMA) dont la fréquence augmente avec l'âge est plus présente chez l'adulte (âge médian d'environ 65 ans).

1.1 Leucémie lymphoblastique aiguë

1.1.1 Pathogenèse de la LLA

Les cellules souches hématopoïétiques peuvent former deux types de cellules multipotentes : (1) les progéniteurs communs lymphoïdes desquels sont dérivés les lymphocytes T et B et les cellules « Natural Killer » (NK) ; (2) les progéniteurs communs myéloïdes qui se différencient en granulocytes, en monocytes, en globules rouges et en plaquettes [36]. La LLA est causée par une série d'aberrations génétiques acquises et des anomalies chromosomiques impliquées dans la différenciation et la prolifération des cellules précurseurs lymphoïdes [37]. Une prolifération anormale, une expansion clonale, une différenciation aberrante et une apoptose diminuée (mort cellulaire programmée) résultent en une multiplication de cellules lymphoïdes immatures (lymphoblastes), des précurseurs de cellules sanguines bloqués à un stade précoce de leur différenciation [37,38] (**Figure 2**). La leucémie lymphoblastique est classée en fonction de la lignée de cellules lymphoïdes : leucémie lymphoblastique B (B-LLA) (>85 % des cas chez les enfants) ou leucémie lymphoblastique T (T-LLA) (10-15 % des cas chez les enfants) [39,40].

Il a été proposé qu'une seule aberration génétique n'est pas suffisante au développement de la LLA. Une hypothèse sous-jacente à son évolution a été formulée, nécessitant deux étapes. Une première étape serait initiée *in utero* par la formation d'aberrations génétiques spontanées qui

généraleraient un clone préleucémique. Lors d'une deuxième étape en période postnatale, une petite portion des clones préleucémiques subirait des modifications génétiques secondaires qui entraîneraient le développement de la leucémie [41]. En l'absence de traitement, la prolifération de blastes envahit la moelle osseuse, le sang périphérique et d'autres organes (ganglions lymphatiques, rate, foie, système nerveux central, testicules) [38]. En prenant la place des cellules sanguines matures (globules rouges, plaquettes et globules blancs), les blastes les empêchent d'accomplir leurs fonctions. Leur accumulation dans la moelle entraîne une suppression de l'hématopoïèse, ce qui cause de l'anémie, de la thrombocytopenie et de la neutropénie. La LLA se développe chez l'enfant et l'adulte avec une incidence la plus forte entre l'âge de 1 an à 4 ans [37]. Les autres types de leucémie comprennent la LMA, la leucémie myéloïde chronique moins courante et la leucémie myélomonocytaire juvénile.

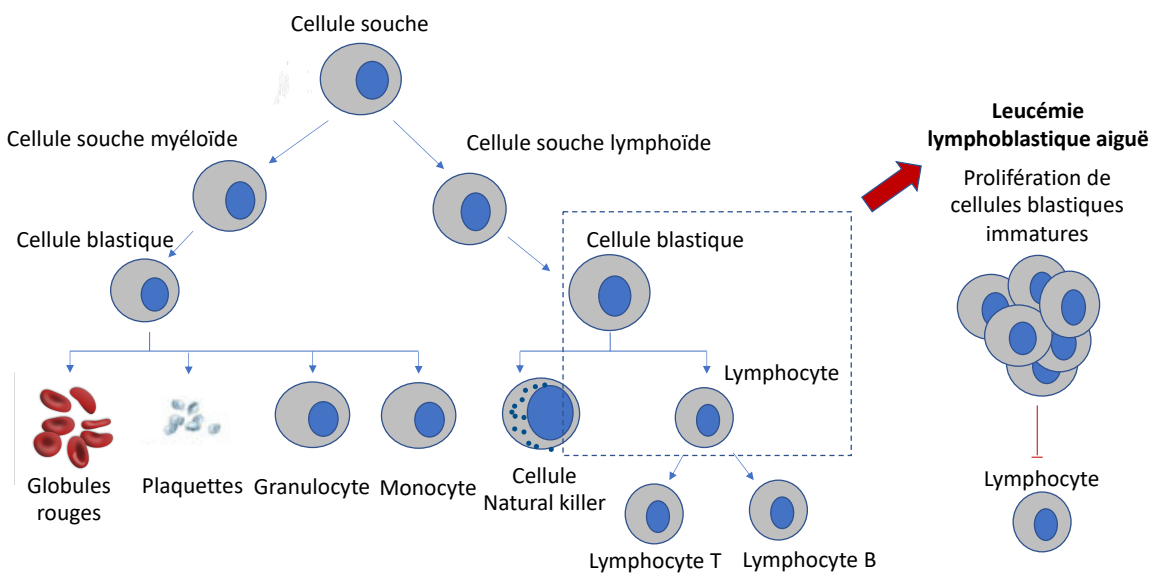


Figure 2. – Pathogénèse de la leucémie lymphoblastique aiguë

Des aberrations génétiques des précurseurs lymphoïdes causent une prolifération anormale, une expansion clonale, une différenciation aberrante et une apoptose diminuée. Ces dysfonctions des précurseurs lymphoïdes résultent en la multiplication de cellules lymphoïdes immatures (lymphoblastes), soit des précurseurs de cellules sanguines bloqués à un stade précoce de leur différenciation.

1.1.2 Facteurs de risque prédisposant à la LLA

La plupart des LLA surviennent chez des individus en bonne santé. Des facteurs prédisposant à la LLA n'ont été identifiés que chez un petit nombre de patients et incluent la susceptibilité génétique héréditaire et l'exposition à certains facteurs environnementaux [37]. Des syndromes congénitaux sont reconnus pour augmenter le risque de leucémie : les anomalies chromosomiques constitutionnelles (trisomie 21 [42], maladie de Fanconi [43,44]), la mutation du gène suppresseur de tumeur *TP53* (syndrome de Li-Fraumeni [45][45]) et les déficits immunitaires constitutionnels (ataxie-télangiectasie [46]) [37]. Des variantes génétiques héréditaires ont été associées au risque de LLA pédiatrique : *ARID5B* (différenciation et développement hématopoïétique), *IKZF1* (développement des lymphoïdes), *CEBPE* (croissance cellulaire), *CDKN2A* (suppresseur de tumeur), *CDKN2B* (suppresseur de tumeur), *PIP4K2A* (régulation de fonctions cellulaires : prolifération, survie et absorption du glucose) et *ETV6* (hématopoïèse et développement embryonnaire) [37,47,48]. La translocation constitutionnelle robertsonienne entre les chromosomes 15 et 21 [49] ainsi que certains polymorphismes mononucléotidiques (rs12402181 dans miR-3117 et rs62571442 dans miR-3689d2) [50] sont considérés comme facteurs prédisposant à la LLA [37]. Cependant, la plupart des enfants ayant ces facteurs génétiques ne développent pas la LLA. L'exposition aux radiations ionisantes et à des composantes toxiques (pesticides [51], benzène [52]) correspondent aux facteurs environnementaux reconnus [37]. Récemment, il a été suggéré qu'en absence d'exposition à des infections tôt dans la vie, des infections contractées plus tard durant l'enfance et une réponse immunitaire anormale ont un potentiel de déclencher les mutations génétiques secondaires critiques et de prédisposer au développement de la LLA [37,41,53,54].

1.1.3 Évaluation du pronostic de la LLA et plan de traitement

L'évaluation du pronostic est importante pour déterminer le plan et l'intensité du traitement. Le diagnostic et le pronostic de la LLA de l'enfant reposent sur l'examen morphologique des blastes en circulation sanguine et dans la moelle osseuse, l'immunophénotype et l'étude cytogénétique et moléculaire des blastes [38]. L'âge des patients, le taux de globules blancs, les sous-types cytogénétiques/génétiques et la présence de blastes dans le système nerveux central (SNC) sont les facteurs qui déterminent le pronostic de la LLA [38]. La B-LLA possède de nombreux sous-types

génétiq ues caractérisés par des altérations chromosomiques majeures ; un nombre anormal de chromosomes ou des réarrangements chromosomiques (délétions, translocations) qui entraînent la dérégulation des protéines par la formation de gènes chimères (formés de fragments d'ADN d'origines diverses) ou la régulation à la hausse de gènes codant pour des facteurs de transcription hématopoïétiques, des modificateurs épigénétiques, des récepteurs de cytokines ou des tyrosines kinases [37]. L'hyperdiploïdie (>50 chromosomes) est l'anomalie chromosomique la plus courante chez les enfants atteints de B-LLA. L'ETV6-RUNX1 résultant de la translocation chromosomique t (12 ; 21) fait également partie des sous-types les plus courants chez les enfants atteints de B-LLA [38]. À l'inverse, ces deux sous-types sont moins fréquents chez les adolescents et jeunes adultes (AJA) par rapport aux enfants plus jeunes. L'hyperdiploïdie et les sous-types ETV6-RUNX1 sont associés à des pronostics favorables chez l'enfant [38] alors que plusieurs anomalies chromosomiques sont définies comme des biomarqueurs pronostiques de maladie à haut risque : hypodiploïdie (30-39 chromosomes), la quasi-haploïdie (< 30 chromosomes), translocations KMT2A (MLL), Fusion t (17 ; 19)/TCF3-HLF, et BCR-ABL1 (chromosome de Philadelphie) [37,38].

La T-LLA résulte d'un processus en plusieurs étapes dans lequel les mutations génétiques s'accumulent et modifient le contrôle normal de la croissance, de la différenciation, de la prolifération et de la survie des cellules pendant la thymopoïèse. La génétique de cette maladie est très hétérogène, avec des anomalies chromosomiques présentes chez presque tous les patients [37]. La leucémie de la lignée de cellule T est caractérisée par l'activation de mutations de *NOTCH1* et des réarrangements des facteurs de transcription *TLX1 (HOX11)*, *TLX3 (HOX11L2)*, *LYL1*, *TAL1* et *KMT2A* [38]. Le pronostic de toutes les formes de T-LLA est défavorable.

1.1.4 Signes cliniques de la LLA

Le diagnostic de LLA est généralement posé lorsque $\geq 20\%$ de lymphoblastes médullaires sont observés lors de l'examen hématopathologique de la ponction de la moelle osseuse [38]. Au moment du diagnostic, les enfants présentent un nombre variable de symptômes liés à l'infiltration des blastes dans la moelle osseuse, le système lymphoïde et les sites extramédullaires (y compris le SNC et les testicules) [38] : fatigue ou léthargie, symptômes non spécifiques (p. ex.,

fièvres, sueurs nocturnes, perte de poids), dyspnée, vertiges, infections, ecchymoses et saignements. Chez certains, seule la douleur aux extrémités ou aux articulations est observée [38]. Il s'agit d'une maladie qui se développe soudainement, notamment en quelques jours ou semaines [38]. Le diagnostic de la LLA est basé sur les directives de la classification 2016 de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). La classification de l'OMS regroupe les données génétiques, les caractéristiques cliniques, la morphologie cellulaire et des immunophénotypes, qui ont tous des implications importantes relatives au pronostic et à la gestion de la maladie [37].

1.2 Autres cancers chez l'enfant

Les tumeurs du SNC (cerveau et moelle épinière) peuvent être malignes ou bénignes et il en existe de nombreux types. Les tumeurs du SNC sont les tumeurs solides les plus courantes chez les enfants [55]. Le neuroblastome est la tumeur extra-crânienne la plus commune chez l'enfant. Cette tumeur solide prend forme à partir de cellules en développement du système nerveux sympathique et se présente généralement comme une masse abdominale. Le néphroblastome, plus communément appelé tumeur de Wilms, est la tumeur rénale la plus courante chez l'enfant et se présente généralement comme une pathologie abdominale. Ces deux types de cancers se manifestent généralement dans la petite enfance, le pic d'incidence de Wilms étant légèrement plus élevé, entre 3 et 4 ans [56].

Le lymphome, qui se développe initialement dans les lymphocytes, affecte aussi les enfants. Le système lymphatique comprend les ganglions lymphatiques, la rate, le thymus et la moelle osseuse. Le lymphome peut toucher toutes ces zones, mais principalement les ganglions [55]. Il existe deux principaux types de lymphomes, les non-hodgkiniens (les plus courants) et les hodgkiniens [55]. Il est à noter que les enfants atteints d'un lymphome non-hodgkinien présentent une maladie extranodale touchant le médiastin (région de la cage thoraxique), l'abdomen et/ou la tête et le cou, ainsi que la moelle osseuse ou le SNC [57]. Le virus d'Epstein-Barr est considéré comme facteur de risque du lymphome hodgkinien chez l'enfant [58].

Les sarcomes sont des tumeurs solides des os, des muscles et d'autres tissus mous. Il existe de nombreux types de sarcomes chez l'enfant. L'ostéosarcome est un cancer fréquent des os, localisé le plus souvent dans les os des bras et des jambes. Le sarcome d'Ewing est une autre

tumeur osseuse commune, affectant souvent les os du bassin, de la poitrine, des bras et des jambes [55].

L'hépatoblastome est la forme la plus courante de cancer du foie chez les enfants et se rencontre le plus souvent chez les nourrissons et les très jeunes enfants [55].

1.3 Cancer chez les adolescents et les jeunes adultes

Il convient de noter que la période de l'adolescence et jeunes adultes (15-29 ans) représente une phase transitoire quant aux types de cancer identifiés. Certaines tumeurs développées chez les individus au cours de cette période ont les caractéristiques des tumeurs retrouvées chez les enfants, tandis que d'autres s'apparentent à celles des adultes [59]. Effectivement cette période représente une transition entre les types non épithéliaux, en particulier les leucémies aiguës et les tumeurs embryonnaires qui sont fréquents pendant l'enfance, et les types épithéliaux (c'est-à-dire les carcinomes) qui sont responsables de la plupart des cancers chez les personnes âgées [60].

1.4 Incidence des cancers chez l'enfant par rapport aux cancers chez l'adulte

En moyenne 880 enfants canadiens de moins de 15 ans reçoivent un diagnostic de cancer chaque année et l'incidence des cancers pédiatriques est restée relativement stable depuis 1992 [61]. La leucémie représente 32 % de tous les cancers pédiatriques et est le cancer le plus fréquent chez les enfants, la LLA étant le type de leucémie pédiatrique le plus répandu [59,62]. Après les leucémies, les cancers du SNC (19 %) et les lymphomes (11 %) sont les cancers pédiatriques les plus fréquents [59]. En revanche, la combinaison des cancers de la prostate, du sein, du poumon et colorectal représentait la moitié de tous les cancers diagnostiqués chez les adultes au Canada en 2017 [59]. Chez les adolescents et jeunes adultes, le cancer de la thyroïde est celui le plus fréquemment diagnostiqué (17 %) suivi par le cancer du testicule (14 %) et le lymphome de Hodgkin (11 %) [59].

1.5 Taux de survie des cancers de l'enfant par rapport aux cancers de l'adulte

Avec l'optimisation du traitement et des soins de soutien, un nombre croissant de survivants du cancer pédiatrique atteignent l'âge adulte [6]. Plus particulièrement, pour la LLA, les meilleurs taux de survie résultent des progrès réalisés dans la compréhension de la génétique moléculaire et de la pathogenèse de la maladie, de la mise en oeuvre de la thérapie adaptée aux risques, de l'utilisation ciblée de nouveaux agents et de la greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) allogénique (greffe d'un parent à un receveur) [38]. Le temps de survie de 5 ans des cancers chez l'enfant est en moyenne de 82 %, allant de 70 % pour le neuroblastome à plus de 90 % pour la LLA [5]. Chez les adultes, les taux de survie à cinq ans sont supérieurs à 88 % pour les cancers de la thyroïde, des testicules, du sein et de la prostate, mais inférieurs à 20 % pour les cancers du pancréas, de l'œsophage et du poumon [59,63].

1.6 Traitements de la LLA pédiatrique

Connaître les différents types de traitements contre la LLA permet de mieux comprendre leur impact à long terme chez les survivants. En général, la plupart des enfants atteints d'un cancer sont traités par chimiothérapie, chirurgie, radiothérapie ou une combinaison de deux ou plusieurs de ces modalités. De nouvelles approches telles la thérapie ciblée ou l'immunothérapie sont aussi utilisées soit comme traitement principal ou en combinaison avec les traitements standards. La GCSH peut être utilisée dans les cas de cancer avec un pronostic très défavorable ou chez des enfants ne répondant pas aux traitements conventionnels [64].

Les approches thérapeutiques diffèrent selon le type de cancer, l'âge au moment du diagnostic, le pronostic du cancer et son stade. Les traitements pour les enfants et les adolescents et jeunes adultes ont tendance à être plus agressifs que ceux pour les adultes [5,65].

L'approche thérapeutique de la LLA est un programme complexe et très intensif. Les plans de traitement diffèrent au niveau de la sélection des médicaments, de la posologie et la durée des traitements selon l'âge du patient et en fonction des sous-types de LLA. Cependant, les principes de base demeurent similaires. Le traitement de la LLA est effectué en différentes phases,

comprenant l'induction, la consolidation, le traitement du SNC prophylactique ou curatif, l'intensification et l'entretien [38]. Certains plans de traitement peuvent inclure des agents ciblés ou la GCSH [38]. Des agents chimiothérapeutiques comme la vincristine, la prednisone, la mercaptopurine, le méthotrexate et le cyclophosphamide sont utilisés depuis les années 1950 et 1960 [66]. Dans les années 1970, les anthracyclines et la L-asparaginase ont été introduites comme agents chimiothérapeutiques. Une autre avancée majeure dans la gestion de la LLA dans les années 1970 a été l'introduction de la radiothérapie crânienne (RTC) prophylactique pour éviter la rechute du SNC. Cependant, l'utilisation de la RTC pour traiter la LLA a fortement diminué depuis les années 70 en raison des risques élevés de séquelles neurocognitives tardives, d'endocrinopathie et de cancers secondaires qui lui sont associés. [67]. Depuis les années 1980, lorsque le SNC est touché, la chimiothérapie intrathécale (injection du médicament dans l'espace sous-arachnoïdien, qui contient le liquide céphalorachidien) peut remplacer la radiothérapie crânienne prophylactique.

Depuis les quarante dernières années, peu de changements ont été apportés aux types d'agents chimiothérapeutiques durant les différentes phases de traitement [66]. Cependant, les thérapies sont de plus en plus personnalisées pour limiter la toxicité des traitements et pour augmenter leur efficacité [66]. Malgré l'évolution vers des agents ayant des cibles moléculaires et biologiques spécifiques, la chimiothérapie et la radiothérapie cytotoxiques continuent d'être utilisées pour le traitement de la LLA pédiatrique [66]. De plus, la thérapie ciblée et l'immunothérapie étant des approches thérapeutiques développées au cours des dernières années, les populations de survivants de la LLA pédiatrique visées par les études des dernières années n'ont pas reçu ces types de traitements.

1.6.1 Description des types de traitements pour la LLA pédiatrique

1.6.1.1 Chimiothérapie

Une partie des progrès réalisés en matière de survie aux cancers de l'enfant est due au développement des chimiothérapies combinées (utilisation d'agents multiples) et de la thérapie multimodale (application de différents types de traitement) [64]. La plupart des cellules cancéreuses se caractérisent par une prolifération plus rapide que les cellules normales. Ainsi,

plusieurs agents utilisés pour le traitement du cancer ciblent le processus de réplication cellulaire ou la capacité de réparation de l'ADN [68]. Le cycle cellulaire est la séquence d'étapes dans laquelle une cellule copie son matériel génétique afin de permettre la division cellulaire. Le cycle cellulaire est divisé en quatre phases : G1, S, G2 et M. Un agent de chimiothérapie peut agir sur une seule phase ou plusieurs phases du cycle [68]. Les principales catégories d'agents chimiothérapeutiques utilisées pour le traitement de la LLA sont les agents alkylants, les antimétabolites, les anthracyclines, les alcaloïdes, les antibiotiques antitumoraux et enzymes spécifiques de l'asparaginase [68] (**Tableau 1**). La LLA étant caractérisée par des cellules cancéreuses à croissance rapide, la réponse à la chimiothérapie est généralement bonne [68].

1.6.1.1.1 Agents alkylants et agents à base de platine

Les agents alkylants et les agents à base de platine (cyclophosphamide, dacarbazine, lomustine, ifosfamide, procarbozine, busulfan, melphalan) partagent tous un mécanisme d'action commun, mais différent par leur activité clinique. Ils agissent en se liant à l'ADN ayant une charge négative. De ce fait, les étapes (réplication, transcription et base) conduisant à la duplication du matériel génétique de la cellule sont considérablement affectées. En outre, l'alkylation de l'ADN conduit à des ruptures et à la réticulation des brins d'ADN. En altérant l'ADN de cette manière, l'activité cellulaire est arrêtée et la cellule meurt [68].

Ces médicaments sont actifs dans toutes les phases du cycle cellulaire. Par conséquent, ils sont très puissants et sont utilisés pour traiter de nombreux types de cancer, y compris les tumeurs solides et les leucémies [68].

1.6.1.1.2 Antimétabolites

En général, tous les antimétabolites (ex. méthotrexate, mercaptopurine, clofarabine, cytarabine) interfèrent avec les voies métaboliques normales. Ces molécules sont confondues par la cellule avec des métabolites normaux, ce qui empêche donc les métabolites normaux d'être incorporés à l'ADN, inhibant le développement normal et la division cellulaire. Le méthotrexate, un des antimétabolites les plus puissants et les plus utilisés dans le traitement de cancer, inhibe la dihydrofolate réductase, une enzyme cruciale à la synthèse des bases puriques, et de la thymine

indispensable pour la synthèse de l'ADN [68], entraînant des lésions de l'ADN et la mort cellulaire. L'antimétabolite 6-mercaptopurine interfère aussi avec la synthèse des nucléotides.

1.6.1.1.3 Anthracyclines

Un grand nombre des médicaments anticancéreux actuellement efficaces sont développés à partir de sources naturelles. La daunorubicine a été isolée à partir du *Streptomyces*, un champignon du sol. La doxorubicine, une autre anthracycline, a été isolée à partir d'une souche mutée du même champignon [68]. Les anthracyclines s'intercalent entre les paires de bases de l'ADN, limitant ainsi la liaison de l'enzyme ADN-topoisomérase II. Il s'agit d'une enzyme essentielle pour le clivage des doubles brins d'ADN, processus permettant la réparation, la transcription et la réplication de l'ADN [69]. Cette classe d'agents chimiothérapeutiques n'est pas spécifique au cycle cellulaire [68].

1.6.1.1.4 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe d'agents chimiothérapeutiques aussi dérivés de végétaux. La vincristine, une vinca-alcaloïde, utilisé pour traiter la LLA est dérivée des feuilles de la pervenche ou la *Vinca rosea* [68]. Les vinca-alcaloïdes se lient à la tubuline, une protéine microtubulaire, et désorganisent le réseau microtubulaire lors de la mitose [68]. Ces agents empêchent la polymérisation de la tubuline et ainsi la formation de microtubules, conduisant à une dépolymérisation des microtubules existants. Ces médicaments sont actifs spécifiquement pendant la phase M, la dernière phase du cycle cellulaire [68].

1.6.1.1.5 Corticostéroïdes

Les glucocorticoïdes (dexaméthasone, prednisone) ont été parmi les premiers médicaments utilisés dans le traitement de la LLA de l'enfant et sont demeurés des composantes essentielles de la thérapie. Leur effet cytotoxique serait déclenché par leur liaison aux récepteurs des glucocorticoïdes (GR) [70]. Ces derniers se trouvent dans le cytoplasme des cellules sous forme inactive, en complexes avec différentes protéines telles des protéines de choc thermique. Suite à la liaison du glucocorticoïde, son récepteur se dissocie des protéines du complexe, s'homodimérise et transloque dans le noyau. Le dimère de GR se lie aux éléments de réponse des glucocorticoïdes pour transactiver l'expression des gènes cibles. Les GR qui demeurent sous

forme monomérique répriment plutôt l'activité de certains facteurs de transcription pro-inflammatoires dont la protéine d'activation 1 (AP-1) ou le facteur nucléaire-κB (NF-κB). Ces deux processus inhibent la production de cytokines et modifient l'expression de divers oncogènes, ce qui induit l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose [70,71].

1.6.1.1.6 Asparaginase

L'effet anti-leucémique de l'asparaginase est dû à l'incapacité des cellules leucémiques de synthétiser des quantités suffisantes de L-asparagine (Asn) et dépendent donc de sources extracellulaires. L'asparaginase catalyse la conversion de l'Asn en acide aspartique et en ammoniac, ce qui a pour effet d'épuiser l'Asn sérique. En conséquence, cela affame les cellules leucémiques en Asn qui est nécessaire à la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines, entraînant finalement la mort cellulaire [72].

Tableau 1. – Agents chimiothérapeutiques utilisés pour le traitement de la LLA et leur mécanisme d'action

Agents chimiothérapeutiques	Mécanismes d'actions
Agents alkylants et agents à base de platine	Altération de l'ADN, perturbe l'activité cellulaire
Antimétabolites	Lésion de l'ADN, interfère avec la synthèse des nucléotides
Anthracyclines	Perturbation du clivage des doubles brins de l'ADN
Alcaloïdes	Désorganisation du réseau microtubulaire lors de la mitose
Asparaginase	Affame les cellules leucémiques en L-asparagine, mort cellulaire
Corticostéroïdes	Inhibition de la production de cytokines et modification de l'expression de divers oncogènes

1.6.1.2 Radiothérapie

La radiothérapie utilise les rayonnements ionisants pour détruire les cellules malignes tout en minimisant les dommages aux tissus sains. Les radiations endommagent le matériel génétique des cellules et affectent le cycle cellulaire ce qui se reflète par un arrêt de la croissance et de la réplication cellulaire et cause ainsi la mort cellulaire [73]. Bien que son utilisation première ait été

la pratique standard pour la prévention des rechutes du SNC dans le traitement plus ancien de la LLA pédiatrique, la RTC est de plus en plus remplacée par d'autres stratégies thérapeutiques en raison du risque élevé de séquelles [67,74].

En effet, une utilisation très sélective de la RTC a été adoptée pour les cas à haut risque de rechute [75]. De plus, la réduction des doses d'irradiation grâce à une thérapie systémique améliorée permet de limiter les toxicités [75]. L'utilisation de la RTC est maintenant généralement limitée aux patients présumés présenter un risque accru de rechute dans le SNC ou dans un autre site. Ceci inclut généralement des sous-groupes de patients présentant une maladie manifeste du SNC au moment du diagnostic initial, un immunophénotype de cellules T, un taux initial élevé de globules blancs ou une réponse initiale aux traitements lente [74].

1.6.1.3 Greffe de cellules souches hématopoïétiques

La GCSH allogéniques a permis d'améliorer les issues cliniques des enfants atteints de la LLA présentant certaines caractéristiques à haut risque (ex. anomalies génétiques récurrentes : *KMT2A* remanié) et/ou le caractère d'une maladie persistante [38,76,77]. La greffe des cellules souches ayant été prélevées soit dans la moelle osseuse, le sang périphérique ou le sang de cordon ombilical, est effectuée après que le patient ait reçu un régime de conditionnement composé de doses élevées de chimiothérapie associées ou non à de la radiothérapie [78].

1.6.1.4 Thérapie ciblée

La thérapie ciblée consiste en une classification relativement nouvelle de médicaments qui, contrairement aux types de chimiothérapie mentionnés précédemment, dépend des caractéristiques moléculaires spécifiques de la tumeur. Ces agents peuvent être incorporés aux différentes phases du traitement de la LLA ou encore servir en cas de rechute ou de maladie réfractaire [38].

Les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK) sont des médicaments de thérapie ciblée qui bloquent l'activation de ces enzymes. Les tyrosines kinases et les facteurs de croissances agissent de concert pour contrôler la croissance et la division cellulaire. Lorsque ce système est perturbé, souvent à cause d'une mutation génétique, les processus de croissance et de division cellulaire sont affectés [79]. Le mésylate d'imatinib est un ITK utilisé dans le traitement de la LLA pédiatrique

à chromosome de Philadelphie positif. Le dasatinib et le ruxolitinib sont des ITK qui sont étudiés dans le traitement de la LLA à haut risque [38].

Les inhibiteurs de protéasomes sont des médicaments qui bloquent l'action des protéasomes dans les cellules cancéreuses. Ce complexe cellulaire élimine les protéines dont la cellule n'a plus besoin. Ainsi s'ils sont inactivés, les protéines s'accumulent et peuvent entraîner la mort de la cellule cancéreuse [80]. Le bortézomib est un type de thérapie inhibitrice des protéasomes utilisé pour traiter les rechutes de LLA pédiatrique [38].

1.6.1.5 Immunothérapie

L'immunothérapie est une approche qui agit sur le système immunitaire d'un patient afin de lutter contre sa maladie. Son utilisation vise à stimuler les cellules immunitaires impliquées dans la reconnaissance et la destruction des cellules cancéreuses [81]. Différentes approches d'immunothérapie ont été développées et impliquent différents agents médicamenteux. Les anticorps monoclonaux se lient uniquement aux antigènes spécifiques des cellules cancéreuses et induisent une réponse immunologique ciblant uniquement celles-ci [68]. Les anticorps bispécifiques (blinatumomab) sont utilisés pour le traitement des LLA réfractaires en bloquant des signaux tumoraux spécifiques. Ces anticorps se lient uniquement aux antigènes spécifiques de deux molécules différentes à la fois, permettant le rapprochement de deux types cellulaires, notamment une cellule cancéreuse et un lymphocyte T capable de la détruire. Pour leur part, la thérapie cellulaire et les cellules CAR-T visent plutôt à armer le système immunitaire contre la tumeur. Ce type de traitement combine deux thérapies à la fois, soit la thérapie génique et la thérapie cellulaire. Il s'agit de modifier *in vitro* des lymphocytes T prélevés dans le sang du patient pour induire l'expression de récepteurs spécifiques qui reconnaissent un antigène tumoral. Une fois modifiées, ces cellules CAR-T sont multipliées et réinjectées chez le patient avec comme objectif la destruction des les cellules cancéreuses [81].

1.6.2 Protocole de traitement de la LLA de l'enfant

L'induction, la première phase du protocole de traitement de la LLA pédiatrique, vise à réduire la charge tumorale en éliminant autant de cellules leucémiques que possible de la moelle osseuse et rétablir une hématopoïèse normale pour atteindre la rémission [37,38]. Cette phase s'étend

en général sur une période de 4 à 6 semaines. Une combinaison d'agents de chimiothérapie incluant de la vincristine, des corticostéroïdes (par exemple, prednisone, dexaméthasone) et de L-asparaginase/pegaspargase avec ou sans anthracyclines (par exemple, daunorubicine, doxorubicine) est donné durant cette phase [38]. L'objectif de la consolidation/intensification, la deuxième phase, est d'éliminer tous les lymphoblastes restants après le traitement d'induction, en éradiquant davantage la maladie résiduelle. La phase de consolidation est la phase de traitement la plus modulée par le pronostic du patient. Durant cette phase, les patients reçoivent un traitement plus ou moins intensif selon l'évaluation de leur risque de rechute lié à leur maladie [38]. Dans cette phase, la combinaison de médicaments et la durée du traitement peuvent varier. Toutefois, la combinaison de médicaments utilisée est similaire à celle de la phase d'induction [38]. Le méthotrexate à doses élevées, la cytarabine, la 6-mercaptopurine (6-MP), le cyclophosphamide, la vincristine, les corticostéroïdes et la L-asparaginase/pegaspargase sont fréquemment incorporés dans la phase de consolidation. Cette phase de traitement peut impliquer 4 à 6 cycles courts de thérapie sur une période de 12 semaines et, dans certains contextes, elle peut durer jusqu'à 8 mois [38]. Cette séquence est suivie d'une phase d'intensification tardive qui comprend aussi une combinaison similaire de médicaments utilisés pendant la phase de consolidation. L'objectif de ce traitement d'entretien est de prévenir la rechute de la maladie. Les médicaments comprennent une combinaison de 6-MP et de méthotrexate (généralement avec l'ajout de vincristine et de corticostéroïdes donnés périodiquement) et la durée varie de 2 à 3 ans [37,38].

Le SNC est protégé par la barrière hématoencéphalique ce qui limite l'accès de la chimiothérapie systémique. Pour contourner cette problématique, la chimiothérapie intrathécale ou la RTC est donnée pour prévenir la propagation de la leucémie au SNC ou pour traiter une leucémie qui s'y est déjà propagée. Le traitement de prophylaxie de RTC ou de chimiothérapie intrathécale du SNC est généralement administrée à tous les patients tout au long du traitement de la LLA [37,38].

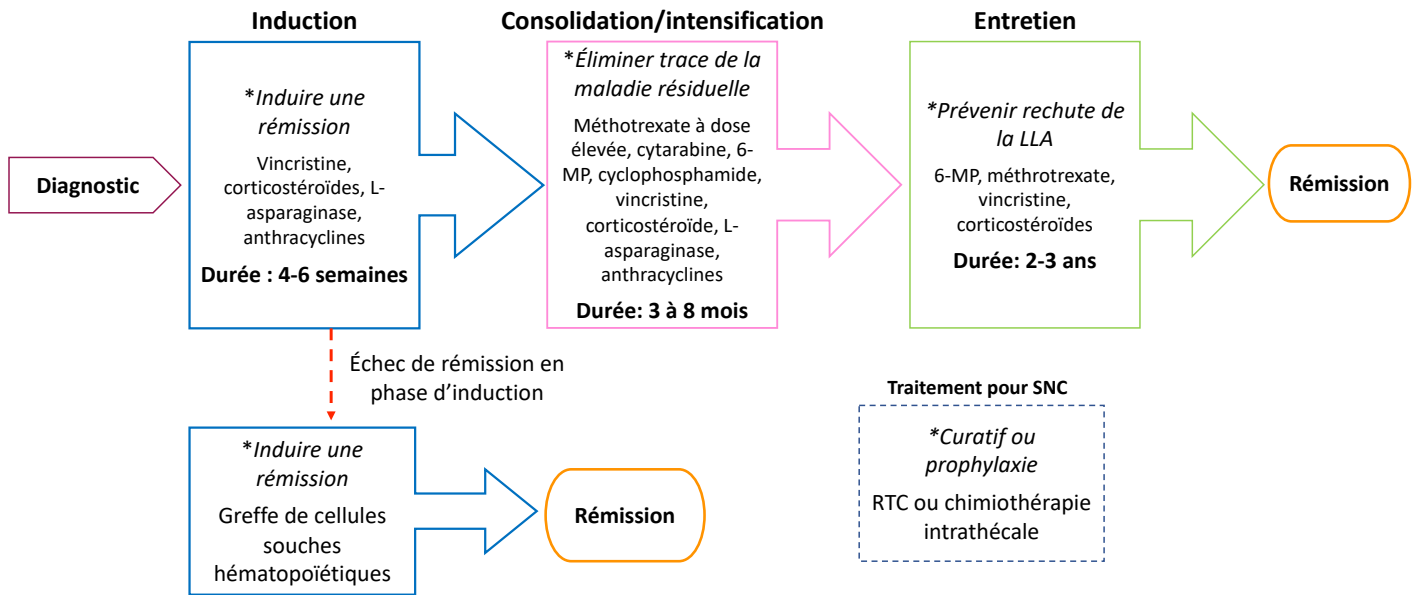


Figure 3. – Protocole de traitements de la leucémie lymphoblastique aiguë pédiatrique

2 Le syndrome métabolique et ses composantes

À long terme, les survivants de cancer pédiatrique sont susceptibles de développer des désordres cardiométabolique, composantes du SM. Le but de la section suivante est de passer en revue la définition du SM chez l'adulte et l'enfant ainsi que les caractéristiques de chacune de ses composantes (résistance à l'insuline, obésité, hypertension et dyslipidémie).

2.1 Syndrome métabolique

La lipotoxicité, l'inflammation de bas grade, la résistance à l'insuline/dysglycémie, la dyslipidémie athérogène et l'obésité sont généralement considérées comme étant au cœur de la pathogenèse du SM [82-86]. L'interaction entre la dysfonction du tissu adipeux, l'action de l'insuline et les composantes du SM a été observée et décrite dans la littérature (revue dans [82,87]). Malgré le rôle essentiel du tissu adipeux en excès dans la physiopathologie du SM, d'autres voies métaboliques telles la lipogenèse *de novo*, la bêta-oxydation, l'utilisation du pyruvate et la synthèse de serine et de glutathion sont nécessairement impliquées, car les traits d'un SM peuvent être observés chez des individus minces [82,88]. Par contre, la répartition de la masse grasse et la proportion de masse grasse par rapport à la masse maigre chez un individu mince peuvent impacter le développement des composantes du SM [88][85]. Les complications les plus communes du SM sont le DT2, la stéatose hépatique non alcoolique, l'athérosclérose et la déficience cognitive [82,86]. Néanmoins, il n'y a pas de consensus quant à la définition du SM autant chez l'adulte que chez l'enfant et l'adolescent. Plusieurs variables et valeurs seuils peuvent être utilisées pour l'ensemble des critères du SM. Le critère central de la définition diffère d'un organisme à l'autre [82,83] (**Tableau 2**). Le NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program—Adult Treatment Panel III), un groupe d'experts américains, considère qu'au moins trois des critères définis doivent être rencontrés pour définir un SM chez l'adulte, et ce en n'exigeant pas la présence d'une insulino-résistance. À l'inverse, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) basait leur définition émise en 1998 sur la présence de résistance à l'insuline [25]. La Fédération internationale du diabète (FID) met l'obésité abdominale au centre de sa définition [25]. Lors d'une rencontre en 2009, la FID, l'American Heart Association, le National Heart, Lung,

and Blood Institute et d'autres organisations ont émis une série de critères unifiés [83,89]. Les critères sont les mêmes que ceux définis par le NCEP ATP III révisé en 2004, à l'exception du critère lié à l'obésité abdominale [83,90]. Lors de la rencontre, ces organismes ont conclu qu'il restait des études à faire quant au critère du tour de taille [83,89].

Plusieurs définitions du SM ont été suggérées pour les enfants et les adolescents, mais sans arriver à un consensus [91,92]. Entre autres, Cook (2003), Ferranti (2004) et la FID (2007) ont proposé leur définition en considérant les mêmes composantes que pour les adultes soit la glycémie à jeun, le tour de taille, la concentration des triglycérides (TG) et les lipoprotéines de haute densité-cholestérol (HDL-C) ainsi que la pression artérielle (**Tableau 3**). Ferranti propose des critères plus sévères pour l'obésité, la concentration de TG et HDL-C tandis que l'IDF propose le critère de l'hyperglycémie plus sévère et rend le critère d'obésité obligatoire pour définir un SM chez les enfants et adolescents [91,92]. Cependant, tous utilisent les percentiles pour le tour de taille au lieu des valeurs absolues afin de compenser la variation de la distribution du gras lors du développement de l'enfant plus spécifiquement durant les phases prépubertaire et pubertaire [93]. La multitude de définitions du SM rend difficile l'interprétation et la comparaison des données entre différentes populations plus particulièrement chez l'enfant et l'adolescent [82,91]. Les résultats d'une étude chez des adolescents obèses soulignent des différences importantes dans l'identification du SM en utilisant les critères proposés par Cook, Ferranti et la FID [91].

Les interactions complexes et les relations causes-effets entre l'ensemble des facteurs rendent difficile l'identification de la contribution précise de chacun des composantes dans la définition du SM. Il est à noter que chacun des facteurs peut être présent seul sans être associé aux autres [84,85]. L'American Academy of Pediatrics recommande de mettre l'accent sur le dépistage des facteurs de risque cardiovasculaire et des comorbidités associées, plutôt que sur le SM chez la population pédiatrique [92].

Tableau 2. – Définitions du syndrome métabolique selon l’OMS, l’ATP III du NCEP et la FID chez l’adulte

	OMS	ATP III du NCEP		FID	Définition harmonisée ¹
		2001	2004		
Critères diagnostique	Diabète, AGJ, IG ou RI ± 2 autres facteurs de risque	≥3 facteurs de risque		Obésité centrale (selon groupe ethnique) ± 2 autres facteurs de risque	≥3 facteurs de risque
Glycémie	Diabète, AGJ, IG ou insulino-résistance	GJ≥6,1 mmol/L	GJ≥5,6 mmol/L	GJ≥5,6 mmol/L (ou diagnostic de DT2)	GJ≥5,6 mmol/L
TA	≥140/90 mm Hg	≥130/85 mm Hg		≥130/85 mm Hg (ou traitement pour HTA)	≥130/85 mm Hg
TG	≥1,7 mmol/L	≥1,7 mmol/L		≥1,7 mmol/L (ou recevant un traitement)	≥1,7 mmol/L
HDL-C	<0,9 mmol/L (hommes)	<1,0 mmol/L (hommes)		<1,0 mmol/L (hommes)	<1,0 mmol/L (hommes)
	<1,0 mmol/L (femmes)	<1,3 mmol/L (femmes)		<1,3 mmol/L (femmes) (ou recevant un traitement)	<1,3 mmol/L (femmes)
<i>Valeurs-seuils selon les populations</i>					
Europoïdes, Afrique subsaharienne et du Moyen-Orient (Arabes) :					
Obésité abdominale	Rapport taille/hanches :	TT :		TT≥94 cm (hommes)	TT ≥102 cm (hommes); ≥88 cm (femmes)
	>0,90 (hommes)	>102 cm (hommes)		TT≥80 cm (femmes)	Europoïde, Moyen-Orient, Afrique subsaharienne, Méditerranéen :
	>0,85 (femmes)	>88 cm (femmes)		Sud-asiatiques, malaisiennes, asiatiques, indiennes, chinoises, japonaises et ethniques de l’Amérique du Sud et centrale :	TT≥94 cm (hommes); ≥80 cm (femmes)
de l’Amérique du Sud et centrale :					
TT≥90 cm (hommes)					
TT≥80 cm (femmes)					
Asiatique, Japon, Amérique central et du sud :					
TT≥90cm (hommes); ≥80 (femmes)					

Fonction rénale	Excrétion urinaire d'albumine >20µg/mi ou RAC ≥ 30mg/g	S/O	S/O	S/O
------------------------	--	-----	-----	-----

¹ Définition harmonisée émise en 2009 par un comité conjoint composé de: FID; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. AGJ, anomalie de la glycémie à jeun; ATP III du NCEP, Adult Treatment Panel III du National Cholesterol Education Program; DT2, diabète type 2; FID, Fédération internationale du diabète; GJ, glycémie à jeun; HDL-C, lipoprotéines de haute densité-cholestérol; IG, intolérance au glucose; IMC, indice de masse corporelle; OMS, Organisation mondiale de la santé; RAC = rapport albuminurie-créatinurie; S/O, sans objet; TA = tension artérielle; TG = triglycérides; TT = tour de taille.

Source : Tableau tiré et adapté du guide Les lignes directrices de pratique clinique de l'Association canadienne du diabète, 2008 et 2018 [86,94][79,91] et du «Joint Scientific Statement : Harmonizing the Metabolic Syndrome», 2009 [89].

Tableau 3. – Définitions du syndrome métabolique selon Cook, Ferranti et la FID chez l'enfant et l'adolescent

	Cook et al.[95][92]	de Ferranti et al.[96][93]	Zimmet et al.[93][90] Définition de la FID pour les 10-16 ans
Critères diagnostic	≥3 facteurs de risque	≥3 facteurs de risque	Obésité centrale ± 2 autres facteurs de risque
Obésité abdominale	TT≥90 ^e percentile (selon l'âge et le sexe, NHANES III)	TT≥75 ^e percentile	TT≥90 ^e percentile ou seuil des adultes si inférieur
Glycémie	GJ≥6,1 mmol/L	GJ≥6,1 mmol/L	GJ≥5,6 mmol/L ou DT2 connu
Triglycérides	≥1,24 mmol/L	≥1,13 mmol/L	≥1,7 mmol/L ou traitement pour TG élevé
HDL-C	≤1,03 mmol/L	≤1,3 mmol/L	≤1,03 mmol/L
Hypertension	≥90 ^e percentile (selon âge, sexe, et taille)	≥90 ^e percentile	≥130/85 mm Hg (ou traitement pour HTA)

GJ, glycémie à jeun; HDL-C, lipoprotéines de haute densité-cholestérol; TG, triglycéride; TT, tour de taille.

Source : Tableau tiré et adapté de l'article «The Metabolic Syndrome in Children and Adolescents : Shifting the Focus to Cardiometabolic Risk Factor Clustering» publié par American Academy of Pediatrics, 2017 [92].

2.2 Résistance à l'insuline

Une majorité des cellules humaines utilisent le glucose comme substrat primaire. L'insuline est essentielle à la captation cellulaire du glucose. L'insuline se lie aux récepteurs sur plusieurs tissus et organes tels le foie, les muscles, les tissus adipeux et les vaisseaux sanguins et active une cascade d'effets biologiques [92]. La liaison de l'insuline au récepteur de l'insuline déclenche une cascade de signalisation activée en aval par la phosphorylation des résidus tyrosines des protéines substrats du récepteur de l'insuline (IRS-1 ou IRS-2), suivie de la phosphorylation de différentes kinases (P13K, AKT, PKC, S6K1) et mTOR. Ces événements entraînent la translocation du transporteur de glucose 4 (GLUT4) vers la membrane, ce qui facilite la captation du glucose (**Figure 4**). Une déficience à n'importe quel point de la cascade de phosphorylation a un impact sur la sensibilité à l'insuline [97].

La résistance à l'insuline est un état physiopathologique dans lequel les niveaux normaux ou élevés d'insuline produisent des effets biologiques atténués. La captation du glucose par les tissus insulino-sensibles (muscle et tissu adipeux) est alors réduite [98]. La synthèse du glycogène par le

foie et la glycolyse par les muscles sont réduites, ce qui a pour effet d'augmenter l'hyperglycémie. Cette élévation du glucose dans le sang peut être repoussée par une hyperinsulinémie compensatoire. Ce n'est que lorsque la fonction des cellules bêta pancréatiques commence à décliner que les niveaux de glucose augmentent dans la circulation. La résistance à l'insuline a souvent été considérée comme la composante centrale du SM et a été associée à l'obésité, la dyslipidémie, l'hypertension et l'athérosclérose [98]. Cependant, l'hyperglycémie n'est pas généralement le premier indicateur du SM mais se développe ultérieurement. L'estimation de la résistance à l'insuline est un meilleur indicateur que l'hyperglycémie [84,91]. Lors d'une résistance à l'insuline, la lipolyse est augmentée au niveau des adipocytes ce qui a pour conséquence d'augmenter les acides gras libres en circulation [99,100]. De plus, un foie résistant à l'insuline n'est plus en mesure de maintenir une homéostasie normale du glucose, car la suppression de la production hépatique du glucose est alors altérée [92].

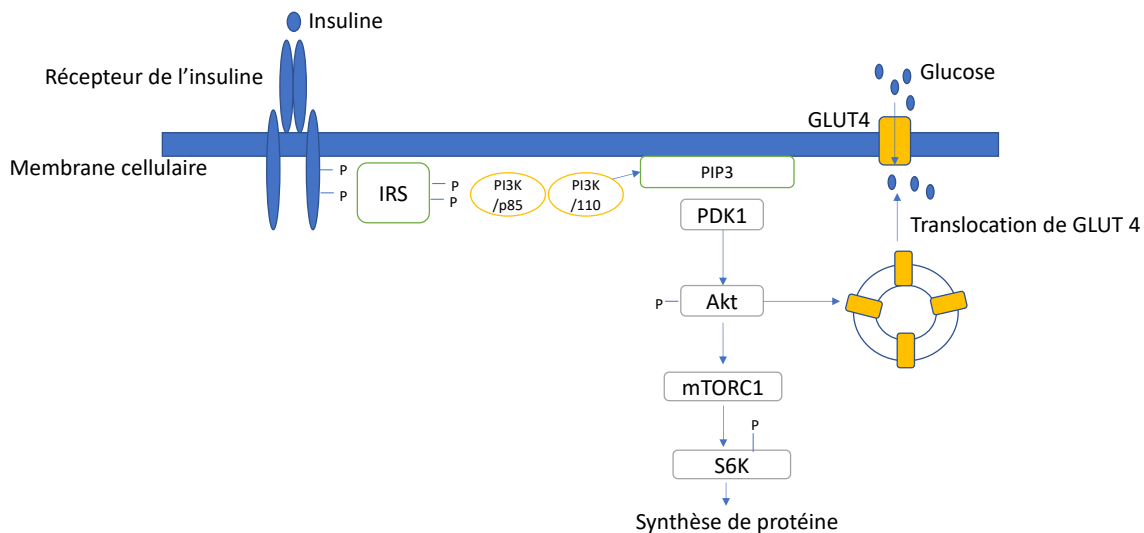


Figure 4. – Représentation schématique simplifiée de la voie PI3K dans la signalisation de l'insuline

La liaison de l'insuline au récepteur de l'insuline déclenche une cascade de signalisation activée en aval par la phosphorylation des résidus tyrosine des protéines substrats du récepteur de l'insuline (IRS-1 et IRS-2). La kinase phosphatidylinositol-3 (PI3K) est l'une des protéines importantes activées par la

phosphorylation des IRS-1 et IRS-2. À son tour, la PI3K phosphoryle en position 3 les phosphoinositides membranaires (PIP3) ce qui permettra la phosphorylation de la protéine kinase B (PBK ou Akt). L'Akt intervient dans la plupart des effets métabolique de l'insuline, entre autres en régulant le transport du glucose et la synthèse protéique via mTOR. L'Akt active la translocation du transporteur de glucose 4 (GLUT4) vers la membrane, ce qui facilite la captation du glucose.

2.3 Obésité

Le surpoids et l'obésité sont définis, chez les individus de plus de 18 ans, par un indice de masse corporelle (IMC) ≥ 25 et ≥ 30 kg/m². Il est à noter que l'IMC ne distingue pas la masse maigre de la masse grasse ainsi que la distribution dans les divers tissus adipeux [101]. De plus, l'obésité abdominale sous-cutanée ou viscérale, qui est le plus à risque pour la santé, n'est pas reflétée par l'IMC. Le poids corporel peut demeurer stable chez un individu tout en gagnant de la graisse et en perdant de la masse musculaire [102].

L'obésité est une maladie chronique complexe. Plusieurs facteurs peuvent prédisposer au développement de l'obésité (**Figure 5**) et influencer le résultat d'un apport calorique en excès des besoins pour maintenir un métabolisme normal. Les interactions complexes entre la génétique de l'hôte, le microbiote intestinal et une multitude de facteurs environnementaux peuvent être sous-jacents à son développement. La mutation d'un seul gène serait la cause du développement de l'obésité d'un nombre restreint d'obèses (5 à 7 %) [103,104]. Une mutation dans le gène *MC4R* (récepteur de la mélanocortine 4) est la cause la plus commune de l'obésité monogénique [101,104]. Ce gène code pour une protéine qui est un régulateur clé de l'homéostasie énergétique, de l'apport alimentaire et de la régulation du poids corporel au niveau de l'hypothalamus. Néanmoins, chez la plupart des individus, la prédisposition génétique à l'obésité est polygénique, dont le phénotype est provoqué par l'effet synergique de variantes de plusieurs gènes [101]. En début de vie, période critique du développement, certains facteurs peuvent augmenter le risque d'obésité tels le diabète gestationnel chez la mère, le petit poids à la naissance ou de mauvaises pratiques d'alimentation du nourrisson. Les facteurs liés à l'environnement jouent pour leur part un très grand rôle dans le développement de l'obésité. Un environnement obésogène comprend l'urbanisation, l'augmentation de la sédentarité et l'accès à des aliments obésogènes en grande quantité [105]. Dans ce contexte, l'étude de Bouchard et

coll. réalisée chez des jumeaux identiques a démontré la grande variabilité interindividuelle dans la distribution du stockage de l'énergie sous forme de tissus adipeux ou maigre en réponse aux changements environnementaux [106].

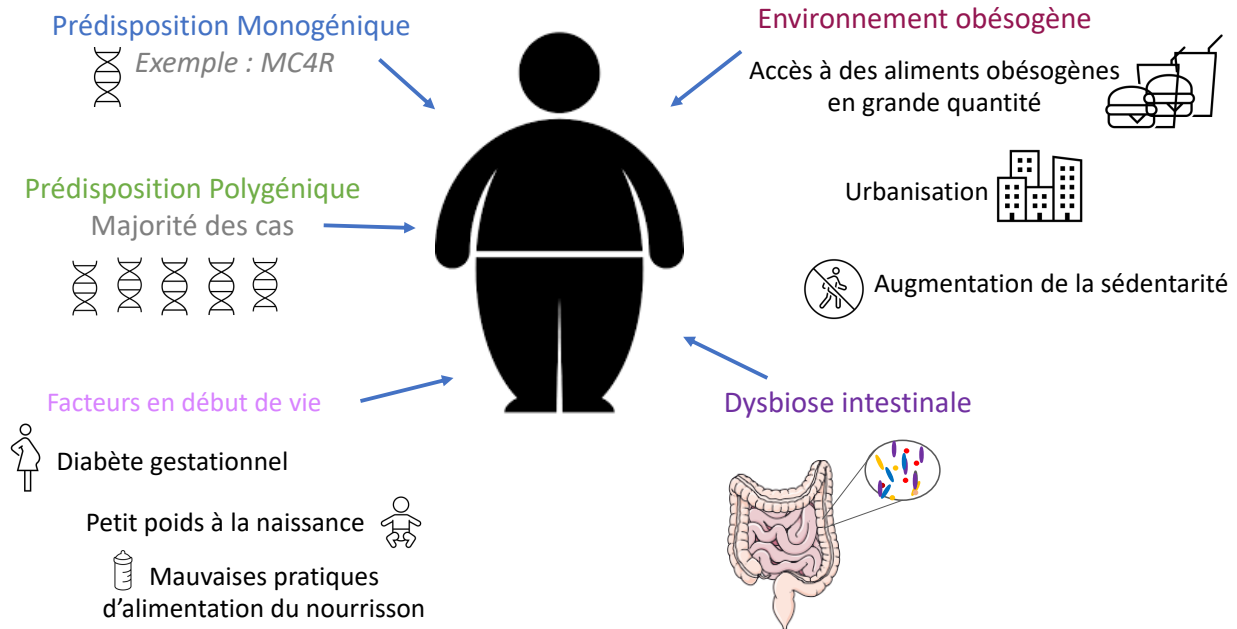


Figure 5. – Facteurs potentiels prédisposant au développement de l'obésité

L'interaction entre la génétique de l'hôte, le microbiote intestinal et une multitude de facteurs environnementaux peuvent être sous-jacents à son développement.

Lorsque l'apport en énergie excède la dépense énergétique, 60-80 % du surplus d'énergie est emmagasiné sous forme de graisse. Le reste est stocké sous forme de glycogène, utilisé pour la biosynthèse de protéines ou perdu dans la thermogenèse [101]. La vitesse et la gravité de la progression de l'obésité, de la résistance à l'insuline et du DT2 sont intimement liées à des interactions complexes entre des facteurs génétiques et environnementaux [103]. De plus, on doit bien considérer dans cette équation le rôle du microbiote intestinal qui joue un rôle clé dans l'ensemble des sentiers métaboliques. Il est par ailleurs bien évident que la quantité et la nature des calories absorbées par l'appareil digestif sont affectées par le microbiote qui colonise l'intestin [103].

Bien que des études épidémiologiques aient montré qu'il existe une prévalence et une incidence plus élevées de DT2, de dyslipidémies et de maladies cardiovasculaires (MCV) en fonction de l'augmentation des valeurs d'IMC, il existe souvent une hétérogénéité remarquable parmi les individus ayant des valeurs d'IMC similaires [83]. Il convient de mentionner que des personnes ayant un IMC normal peuvent avoir un excès de tissu adipeux viscéral et des perturbations cardiométaboliques liées au SM [83]. Quant aux individus présentant un excès de tissu adipeux viscéral, ils sont caractérisés par les altérations indésirables de leur profil de risque cardiométabolique, comme la dyslipidémie, la résistance à l'insuline et l'hypertension [83,84,101]. L'obésité contribue à l'hyperglycémie, l'hypertriglycidémie, l'hypertension, les niveaux de HDL-C bas et la résistance à l'insuline ainsi qu'à l'augmentation du risque de MCV et de DT2 [83,84].

2.4 Hypertension

L'hypertension est une des causes évitables de morbidité et de mortalité prématurées. La pression systolique reflète la pression artérielle lorsque le cœur est contracté (systole), et la pression diastolique consiste en la pression artérielle pendant la relaxation (diastole) [107]. Chaque augmentation de 2 mmHg de la pression artérielle systolique est associée à une augmentation de 7 % du risque de décès par maladie coronarienne et de 10 % du risque de décès par accident vasculaire cérébral [107].

L'hypertension est généralement asymptomatique et est détectée par dépistage. Elle est diagnostiquée lorsque la pression systolique, diastolique ou les deux à la fois sont élevées. Les symptômes ne se manifestent que lorsque la pression artérielle atteint des niveaux très élevés (généralement >200 mmHg systolique) [107]. Elle constitue un facteur de risque d'évènements cardiovasculaires et de développement de lésions aux organes si elle n'est pas traitée [107]. L'équilibre entre le débit cardiaque et la résistance vasculaire périphérique permet de maintenir une pression artérielle normale [108]. L'hypertension est influencée par une grande variété de facteurs notamment l'âge, le surpoids et le manque d'activité physique. L'hypertension primaire, dont on ne trouve pas de cause spécifique, touche 95 % des patients [107]. Plusieurs mécanismes physiologiques sont impliqués dans le maintien d'une pression artérielle normale, à savoir le

système nerveux sympathique activé par les barorécepteurs artériels, le système rénine-angiotensine-aldostérone et les substances vasoactives (p. ex. oxyde nitrique et endothéline). Ces systèmes complexes gèrent le degré de vasodilatation ou de vasoconstriction dans la circulation systémique ainsi que la rétention ou l'excrétion de sodium et d'eau afin de maintenir un volume sanguin adéquat. Leur dérèglement contribue au développement de l'hypertension [84,108].

2.5 Dyslipidémie

La dyslipidémie athérogène consiste en une agrégation d'anomalies des lipides et lipoprotéines qui se résume par (a) un flux accru d'acides gras libres (b) des concentrations de TG élevées (c) un faible taux de HDL-C (d) une quantité accrue de lipoprotéines de faible densité (LDL) petites et denses, et (e) des niveaux d'apolipoprotéines (Apo) B élevés [84,89,109].

2.5.1 Synthèse et composition des lipoprotéines

Le cholestérol ester et les TG, étant des lipides hydrophobes, doivent être transportés dans la circulation sanguine en association avec des protéines [110]. Les lipoprotéines sont des particules complexes qui ont un noyau hydrophobe central de lipides non polaires, principalement de cholestérol estérifié et de TG. Ce noyau hydrophobe est entouré d'une couche amphipatique composée de phospholipides, de cholestérol libre et d'Apo, qui facilitent la formation et le fonctionnement des lipoprotéines [110,111]. Les lipoprotéines plasmatiques sont divisées en sept classes selon leur taille, leur composition lipidique et leurs Apo soient : chylomicrons, résidus de chylomicrons, lipoprotéines de très basse densité (VLDL), lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), LDL, HDL et Lp (a) [110]. Chacune de ces particules a des fonctions différentes.

Chylomicrons

Les chylomicrons, produits par l'intestin, sont de grandes particules riches en TG. Ils participent au transport des TG et du cholestérol alimentaires vers les tissus périphériques et le foie. L'Apo B-48 est la protéine de structure centrale et chaque particule de chylomicron contient une molécule d'Apo B-48. L'Apo E fait également parti du chylomicron. La taille des chylomicrons varie en fonction de la quantité de gras ingéré [110]. Les résidus de chylomicrons vont se fixer au foie par des récepteurs de l'Apo E pour y être dégradés.

VLDL, IDL, LDL

Les VLDL, produites par le foie, sont aussi riches en TG, mais de source endogène. Chaque particule de VLDL contient une molécule d'Apo B-100 qui est sa protéine de structure centrale. La taille des particules de VLDL peut varier en fonction de la quantité de TG transportée dans la particule. La disponibilité des TG est le principal déterminant du taux de synthèse des VLDL. Lorsque la production de TG dans le foie est augmentée, les particules de VLDL sécrétées sont grandes, mais demeurent bien plus petites que les chylomicrons [110]. Inversement, si la quantité de TG est limitée dans le foie, l'Apo B nouvellement synthétisée est rapidement dégradée par le protéasome. Les particules de VLDL sont transportées vers les tissus périphériques où les TG sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase et les acides gras sont libérés.

L'élimination des TG des VLDL les transforme en des IDL qui sont plus enrichies en cholestérol relativement aux VLDL. Les TG restants dans les particules IDL sont hydrolysés par la lipase hépatique, ce qui entraîne une nouvelle diminution du contenu en TG. Les apolipoprotéines sont alors transférées des particules IDL à d'autres lipoprotéines, ce qui entraîne la formation de LDL. Ainsi, les LDL sont un produit du métabolisme des VLDL et sont particulièrement enrichis en cholestérol [110]. Les LDL transportent la majorité du cholestérol qui se trouve dans la circulation. Chaque particule de LDL contient une molécule d'Apo B-100. La famille des LDL est constituée de particules dont la taille et la densité varient [110].

HDL

Pour leur part, les particules de HDL sont enrichies en cholestérol et en phospholipides. L'Apo A-I, produite par le foie et l'intestin, est leur protéine de structure centrale, et chaque particule de HDL peut contenir plusieurs molécules d'Apo A-I. Les particules de HDL sont très hétérogènes et peuvent être classées en fonction de leur densité, de leur taille, de leur charge ou de leur composition en apolipoprotéines [110]. Les HDL jouent un rôle essentiel dans le transport inverse du cholestérol à partir des tissus périphériques vers le foie. En outre, les particules de HDL ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antithrombotiques et anti-apoptotiques [110].

En bref, les lipoprotéines assurant le transport des lipides de source endogène facilitent le mouvement des TG synthétisés dans le foie vers les muscles et le tissu adipeux. Elles fournissent également un véhicule pour le transport du cholestérol du foie vers les tissus périphériques. Les résidus de chylomicron, VLDL, IDL, LDL et Lp(a) sont, en grande quantité, tous proathérogènes alors que le HDL est antiathérogène [110,111].

2.5.1.1 Risque cardiovasculaire lié aux lipoprotéines

Le risque cardiovasculaire lié à la dyslipidémie est souvent évalué selon des paramètres lipidiques classiques : cholestérol, TG, HDL-C et LDL-C [112]. Les dosages de LDL-C et HDL-C sont importants, mais pas suffisants pour définir les risques cardiometaboliques, car il apparaît que la composition des lipoprotéines plutôt que leur concentration prédit le développement de l'athérosclérose [113,114]. Par exemple, les particules de HDL sont très hétérogènes, et des preuves croissantes suggèrent que leur potentiel athéroprotecteur dépend non seulement de leur concentration en cholestérol, mais également de leur composition et leurs propriétés physiologiques uniques [115-118]. Il est à noter que des études ont démontré que des niveaux plus élevés de HDL-C ne sont pas associés à une réduction du risque d'évènements cardiovasculaires chez des patients avec des MCV avancées [119,120]. Afin que la plupart des cellules périphériques puissent réduire leur contenu en cholestérol, n'ayant pas de mécanisme pour cataboliser le cholestérol en surplus, le processus de transport inverse du cholestérol effectué par les HDL est nécessaire. D'un point de vue clinique, le transport inverse du cholestérol joue un rôle important dans la prévention de l'athérosclérose [110]. De plus, les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antithrombotiques et anti-apoptotiques des HDL peuvent également contribuer à leur capacité à freiner ou empêcher l'athérosclérose [110].

Le contenu en cholestérol des LDL de petite taille a été associé à un risque accru d'athérosclérose [110,121,122] et de MCV [123]. Les premiers stades de l'accumulation de cholestérol dans les vaisseaux sanguins (athérosclérose) se produisent lorsque les particules de LDL circulants dans le sang pénètrent à travers la paroi interne des vaisseaux sanguins et y demeurent piégées. La fonction normale du LDL est de fournir du cholestérol aux cellules. Cependant un excès de cholestérol et d'acides gras saturés alimentaires entraîne une baisse de l'activation du récepteur des LDL et une augmentation du LDL-C en circulation [124]. Lorsque le taux de LDL-C dans le

plasma dépasse 2,6 mmol/L, les LDL peuvent excéder à la capacité de captation des récepteurs des LDL [124] et donc demeurer plus longtemps en circulation. Dans la paroi sous-endothéliale, les LDL sont oxydées et internalisées dans les macrophages, menant à la formation des cellules spumeuses. Les particules de LDL petites et denses ont une affinité réduite avec le récepteur des LDL. Elles demeurent donc plus longtemps en circulation et elles pénètrent plus facilement l'endothélium vasculaire. De plus, elles sont plus sensibles à l'oxydation, ce qui mène à une plus grande captation par les macrophages [110,111].

Des études ont montré une relation inverse entre la taille des lipoprotéines et leur capacité à traverser la barrière endothéliale pour pénétrer dans l'intima artérielle. Les chylomicrons et les gros VLDL ne pénètrent pas facilement la paroi artérielle. En revanche, les petits VLDL et IDL peuvent y pénétrer [111]. En ce sens, il est suggéré que les petites VLDL et IDL sont indépendamment associées à l'athérosclérose [111]. Les VLDL riches en TG favorisent l'activation de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP). Cette enzyme permet le transfert des esters de cholestérol du HDL vers des particules contenant de l'Apo B en échange de TG, formant des HDL riches en TG mais appauvris en cholestérol. Celles-ci sont plus susceptibles d'être catabolisées. Ainsi, les TG transférés aux HDL par l'activité de la CETP sont catabolisés par la lipase hépatique ce qui résulte à la formation de petites particules de HDL, la libération d'Apo A-1 et l'augmentation de la dégradation de l'Apo A-1 [109]. Le transport inverse du cholestérol est alors perturbé [110,125] ainsi que les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des particules de HDL [126] (**Figure 6**).

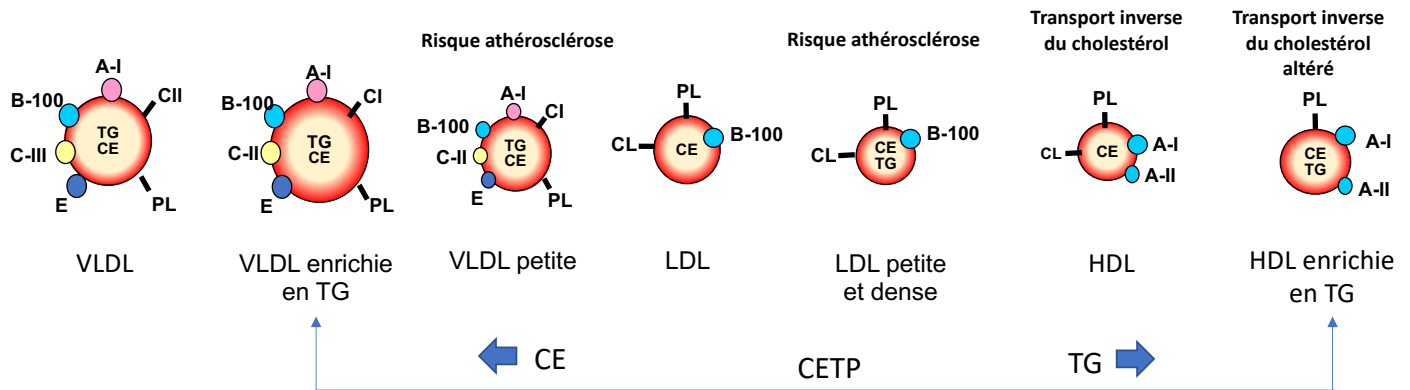


Figure 6. – Composition normale et altérée des lipoprotéines

Les VLDL riches en TG favorisent l'activation de la CETP. Cette enzyme permet le transfert des esters de cholestérol du HDL vers des particules contenant de l'Apo B en échange de TG. En conséquence, la fonction de transport inverse du cholestérol ainsi que les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des particules de HDL sont altérées. Les petites VLDL pénètrent facilement les parois artérielles et sont ainsi associées à l'athérosclérose. Les particules de LDL petites et denses ont une affinité réduite au récepteur des LDL, sont sensibles à l'oxydation et favorisent le développement de l'athérosclérose. CE, cholestérol estérifié; CL, cholestérol libre; CETP, protéine de transfert des esters de cholestérol; HDL, lipoprotéine de haute densité; LDL, lipoprotéine de basse densité; PL, phospholipide; VLDL, lipoprotéine de très basse densité; TG, triglycéride.

2.5.2 Apolipoprotéines : biomarqueurs du risque cardiovasculaire

Les apolipoprotéines composées d'une seule chaîne polypeptidique sont nécessaires pour stabiliser et assurer la cohésion et la solubilisation des complexes lipoprotéiniques pour solubiliser les lipides non polaires dans la circulation et, dans certains cas, pour reconnaître des récepteurs spécifiques. Elles sont classées comme Apo AI, AII, AIV, AV, B48, B100, CI, CII, CIII, D, E, H, J, L, M et Apo (a) [111]. En fait, les apolipoprotéines ont quatre fonctions principales : 1) elles jouent un rôle structurel; 2) elles guident la formation des lipoprotéines; 3) elles agissent comme ligands pour les récepteurs des lipoprotéines; et 4) elles servent d'activateurs ou d'inhibiteurs des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines [110].

Apo A-1

L'Apo A-I est synthétisée dans le foie et l'intestin et représente environ 70 % des protéines des HDL. Elle joue également un rôle dans l'interaction entre les HDL et les protéines A1 et G1 de la cassette de liaison à l'ATP (ABCA1 et ABCG1) pour acquérir le cholestérol et les phospholipides du foie, de l'intestin et des tissus périphériques. De plus, l'Apo A-I est un activateur de la lécithine : le cholestérol acyltransférase (LCAT), une enzyme qui convertit le cholestérol libre en ester de cholestérol [110].

Apo B-48

L'Apo B-48 est synthétisée dans l'intestin et constitue la principale protéine structurelle des chylomicrons. Il y a une seule molécule d'Apo B-48 par particule de chylomicron. Il est à noter que l'Apo B-48 n'est pas reconnue par le récepteur des LDL.

Apo B-100

L'Apo B-100 est synthétisée dans le foie. Elle est un ligand pour le récepteur des LDL et joue donc un rôle important dans la clairance des particules de VLDL et LDL.

Apo C

Les apolipoprotéines C sont synthétisées principalement dans le foie et s'échangent librement entre les particules de lipoprotéines. Elles se trouvent en association avec les chylomicrons, les VLDL et les HDL. L'Apo C-II est un cofacteur de la lipoprotéine lipase (LPL) et stimule donc l'hydrolyse des TG. Les mutations de perte de fonction de l'Apo C-II entraînent une hypertriglycéridémie marquée due à une incapacité à métaboliser les lipoprotéines riches en TG [110][108]. L'Apo C-III est un inhibiteur de la LPL. De plus, l'Apo C-III inhibe l'interaction des lipoprotéines riches en TG avec leurs récepteurs [110,111,127]. Il a été démontré récemment que l'Apo C-III aide à la formation de VLDL riches en TG dans le foie, stimulant la sécrétion de VLDL [127].

2.5.2.1 Risques cardiovasculaires liés aux apolipoprotéines

La composition des lipoprotéines en Apo est aussi considérée comme un facteur prédictif du risque cardiovasculaire, et en particulier le ratio Apo B-100/A-I qui constitue un des prédictifs les plus forts de maladie coronarienne [128,129]. Les résultats d'une étude prospective récente

chez 2256 patients chinois démontrent l'association entre le rapport Apo B/Apo A-1 et la gravité de l'atteinte coronarienne chez les patients porteurs de maladies coronariennes existantes. Le rapport Apo B/A-1 a permis une meilleure précision prédictive des résultats cliniques par rapport au score de risque Framingham et au ratio cholestérol total/HDL-C [130]. Un rapport Apo B100/Apo A-I plus élevé indique que davantage des particules athérogènes circulent dans le plasma, ce qui entraîne un plus grand risque d'athérosclérose [131]. L'Apo B est la protéine de structure des lipoprotéines athérogènes (VLDL, IDL et LDL). Chacune de ces lipoprotéines ayant une seule molécule d'Apo B, son niveau dans le plasma reflète le nombre total de particules athérogènes en circulation [132]. Sans l'augmentation de lipoprotéines contenant l'Apo B, le risque d'athérosclérose est réduit à presque nul [112]. Si l'Apo C-II à des concentrations modérées représente un activateur de la LPL pour la lipolyse des VLDL, son excès peut entraver l'activité de l'enzyme et la clairance des VLDL, entraînant une hypertriglycéridémie [133]. Une étude cas-témoins comprenant 352 patients atteints de maladies coronariennes et 395 témoins a d'ailleurs rapporté que des concentrations accrues d'Apo CII observées dans leur population étaient associées aux maladies coronariennes après ajustement pour les facteurs de risque cardiovasculaire [134]. Suite à l'inhibition de la clairance des VLDL par l'Apo C-III, les VLDL demeurent plus longtemps en circulation et sont converties en VLDL résiduels riches en TG entraînant ainsi une hypertriglycéridémie. En outre, la lipase hépatique hydrolyse les TG de ces VLDL résiduels pour la formation de LDL, en particulier de LDL petites et denses [126]. Une méta-analyse a permis d'estimer à 2,48 (intervalle de confiance de 1,48 à 4,32) le risque cumulé d'un événement cardiovasculaire avec une augmentation de 5 mg/dl de l'Apo C-III associé aux VLDL et LDL [127].

3 Désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancers pédiatriques

3.1 Prévalence des désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancer

Les survivants du cancer de l'enfant sont à risque de développer des effets secondaires sévères, bien des décennies après la fin de leurs traitements [6]. En particulier, ils peuvent développer des MCV (insuffisance cardiaque congestive, maladie coronarienne, infarctus du myocarde, arrêt cardiaque et accident vasculaire cérébral [135-139]), qui représentent la principale cause de décès prématuré après une récurrence de cancer ou un deuxième cancer [6,138,140]. Par conséquent, l'American Heart Association a identifié les survivants du cancer pédiatrique comme étant une population à haut risque de MCV [141]. Une grande partie des études visant à identifier les complications cardiométaboliques dans la population de survivants du cancer de l'enfant a été réalisée avec les survivants de la LLA pédiatrique étant les plus nombreux (**Tableau 4**). Néanmoins, des études ont tout de même été faites chez les survivants de cancers pédiatriques autres que la LLA (**Tableau 5**). Finalement, des études ont été réalisées chez des survivants de divers cancers pédiatriques ayant été traité par GCSH, puisque des complications cardiométaboliques à long terme peuvent aussi être associées à ce type de traitement (**Tableau 6**). De ces travaux résumés dans les 3 tableaux, il a été montré que les survivants du cancer de l'enfant peuvent souffrir de complications cardiométaboliques peu importe le type de cancer et/ou les traitements reçus. Ces complications incluent l'obésité [14,21,142-149], la dyslipidémie [15,21,144-147,150-153], la résistance à l'insuline [15,21,147,151,154,155], l'hypertension [156] et le SM [14,16,152]. Ces complications cardiométaboliques sont associées à des biomarqueurs pro-oxydants, inflammatoires et prothrombotiques [157,158]. Ainsi, les maladies cardiométaboliques pourraient représenter le lien entre le traitement du cancer, le développement des MCV et l'athérosclérose accélérée dans cette population. L'ensemble de ces données supportent la nécessité de poursuivre les recherches pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le développement de ces maladies cardiométaboliques et ainsi

détecter de nouvelles avenues thérapeutiques et élaborer un suivi plus adapté afin de restreindre les complications cardiométaboliques dans la population de survivants de cancer de l'enfant.

Tableau 4. – Syndrome métabolique et ses composantes chez les survivants de LLA et LMA pédiatriques: mécanismes proposés

Type de cancer	Traitement*	Temps de survie [†]	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
LLA	CT seulement, n=16 CT+RTC, n=10	13,3 ans	62% des survivants avaient au moins 1 FRCV 30% des survivants avaient > 2 FRCV	- Hypopituitarisme: DHC - Activité physique réduite en raison d'une capacité physique moindre	[23]
LLA	CT seulement, n= 422 CT+RTC, n= 1343	17,0 ans	↑ risque d'obésité chez les survivants traités avec de la RTC ≥ 20Gy vs la fratrie:	Insulte radio-induite variant selon l'âge de l'axe hypophyse-hypothalamus menant à une insensibilité à la leptine et/ou DHC	[143]
LLA	CT seulement, n= 25 CT+RTC, n= 50	24,6 ans (moyenne)	- Prévalence du SM: ∅ entre les survivants et la population générale - 60% des survivants traités avec la RTC et 20% des survivants non traités avec la RTC avaient ≥ 2 composantes du SM.	DHC	[144]
LLA	CT seulement, n=62 CT+RTC, n=18	6,3 ans	Prévalence du SM chez les survivants vs la population générale : - CT seulement: 2 fois ↑ -CT avec RTC: 5 fois ↑	- Inflammation de bas grade - Dysfonctionnement endothélial	[21]
LLA	CT seulement, n=78 CT+RTC, n=40	17,5 ans (depuis le dx)	- ↑ HOMA-IR chez les survivants (traité ou pas avec la RTC), vs chez la population générale - ↑ risqué de ≥ 3 FRCV chez les survivantes vs les femmes dans la population générale	- Interrelation potentielle entre la DHC, l'insensibilité à l'insuline et l'inactivité physique	[147]
LLA & tumeur de Wilms	CT seulement, n=56 CT+RTC, n=85	ND	- Tumeur de Wilms : survivants traités avec la RT+CT vs contrôles sains:	- DHC (survivants de la LLA)	[159]

Type de cancer	Traitement*	Temps de survie [†]	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
			<p>HT: 21.6% chez les survivants vs 1.4% chez les contrôles</p> <p>FRCV multiples: 16.2% chez les survivants vs 2.9% chez les contrôles</p> <p>- Tumeur de Wilms & LLA: traités avec la CT vs contrôles sains: ∅ observé</p> <p>- LLA, survivants traités avec la RT+CT: 15% avaient une DHC</p> <p>- Tumeur de Wilms, survivants traités avec la RT+CT: 18.9% atteints d'hypogonadisme</p>	- Hypogonadisme (survivants de tumeur de Wilms)	
LLA	CT seulement, n=104 CT+RTC, n=58	18 y	<p>- 13% des survivants ont développé un SM</p> <p>- Survivants traités avec la RTC vs survivants non traité avec la RTC: ↑ risque du SM déterminé par une plus grande prévalence de surpoids & HT</p>	- Dysfonctionnement endothélial causé par les anthracyclines et la radiothérapie (hypertension)	[14]
LLA	CT seulement, n=56	6,2 ans (moyenne)	<p>- Cohorte totale: prévalence de SM: 7.1% (selon critères IDF) and 5.4% (selon critère NCEP III)</p> <p>- Surpoids (mesuré par DXA) présent chez 53% des survivants sous-estimé par l'IMC selon l'âge présent chez 53% des survivants</p>	Données insuffisantes	[160]
LLA	CT seulement, n=49 CT+RTC, n=67	17,5 ans (moyenne)	<p>- Ratio leptine/kg de la masse de gras moyen plus élevé chez ♀ que ♂ & chez les survivants traités avec la RTC que ceux non traité avec la RTC</p> <p>- ↑ HOMA-IR associé avec ↑ ratio leptine: adiponectine</p>	<p>- Résistance centrale à la leptine</p> <p>- Changement de la composition de corps central</p>	[161]
LLA	CT seulement, n=277 CT+RTC, n=507	26,1 ans	<p>Survivants de la LLA vs valeurs de référence d'une étude nationale:</p> <p>Risque plus élevé de SM, HT, HDL-C bas, obésité, RI</p>	Aucun	[152]

Type de cancer	Traitement*	Temps de survie [†]	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
LLA & lymphome	CT seulement, n=35 CT+RTC, n=17	4 ans	Parmi les composantes du SM la prévalence des HDL-C bas était la plus commune (42%), suivi par l'obésité centrale (29%).	Données insuffisantes	[162]
LLA, LNH, LH	CT seulement, n=889 CT+glucocorticoïdes, n=686 CT+RTC, n=196 CT+glucocorticoïdes+RTC, n=196	16,5 ans	- Prévalence de surpoids (26%) chez les survivants, comparable à la fratrie et à la population générale - Aucune preuve d'une relation dose-réponse entre les doses cumulées de glucocorticoïdes et le surpoids - Aucune preuve que la RTC a modifié l'effet de la dose cumulée de glucocorticoïdes sur le surpoids	- Effets cataboliques des glucocorticoïdes sur la composition musculaire, adipeuse et maigre	[22]
LLA	CT seulement, n=133 CT+RTC, n=32	ND	- Niveau le plus élevé d'exposition aux corticostéroïdes associé à l'obésité et à l'HT - L'intensité des traitements et la RTC ne sont pas indépendamment associés à l'IMC ou aux changements de pression artérielle	- Effets dose-réponse des corticostéroïdes sur la gluconéogenèse et le métabolisme et la distribution des graisses - Effets inotropes et vasoconstricteurs sur le système cardiovasculaire	[156]
LLA	CT seulement, n=37 CT+RTC, n=31	16,0 ans	- Cohorte totale: ↑ Pression systolique et diastolique vs valeurs de référence d'une étude nationale - ♀: ↑ IMC vs valeurs de référence d'une étude nationale - ♀: ↑ IMC chez les survivants traités avec la RTC vs non traité avec la RTC	- Inactivité physique (plus importante chez les femmes) - Neuropathie associée à la vincristine, entraînant des troubles de la marche, une faiblesse musculaire et l'inactivité physique - Effets des stéroïdes sur la composition corporelle - Dommages à l'endothélium vasculaire	[10]
LLA	CT seulement, n=70	13,4 ans (moyenne,	- ↑ IMC z-score au diagnostic associé avec ↑ risque de surpoids/obésité à la fin des traitements	- Dysfonction hypothalamo-hypophyse	[163]

Type de cancer	Traitement*	Temps de survie [†]	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
	CT+RTC, n=13	depuis le dx)	- Gain de poids durant les traitements associé avec le surpoids / obésité 5 ans suivant les traitements	- Mode de vie sédentaire	

*La CT comprend une combinaison de drogues standard incluant: L-asparaginase, mercaptopurine, méthotrexate, vincristine, agents alkylants, épipodophyllotoxines, glucocorticoïdes, cyclophosphamide, cytarabine. †Le temps de survie au moment de l'étude est exprimé en temps médian sauf indication contraire. CT, chimiothérapie; DHC, déficience en hormone de croissance; Dx, diagnostic; DXA, absorptiométrie à rayons X en double énergie; FRCV, facteur de risque cardiovasculaire; HDL, lipoprotéine à haute densité; HOMA-IR, modèle d'évaluation de l'homéostasie de la résistance à l'insuline; HT, hypertension; IDF, International Diabetes Federation; IMC, indice de masse corporelle; LDL, lipoprotéine à basse densité; LH, lymphome de Hodgkin; LLA, leucémie lymphoblastique aiguë; LNH, lymphome non-Hodgkin; RT, radiothérapie; IMC, indice de masse corporelle; NCEP, National Cholesterol Education Program; ND, no data; Réf., référence; RI, résistance à l'insuline; RTC, radiothérapie crânienne; RT, radiothérapie; SM, syndrome métabolique; ↑, augmentation; ∅, pas de différence.

Tableau 5. – Syndrome métabolique et ses composantes chez les survivants de cancer pédiatriques autres que la LLA : mécanismes proposés

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
Études transversales					
Sarcome (Ewing)	CT seulement, n=5	17,3 ans	Survivants vs population générale	- Hypogonadisme	[145]
	CT+radiation local, n=27		- ↑ risque ≥ 2 composantes du SM	- Inflammation (PAI-1 et bêta-2 microglobuline dans l'urine)	
	Radiation locale comprenait:		- ↑ risque d'HT	- Inactivité physique	
	RTC, n=8		- ↑ risque d'hypertriglycéridémie		
	RT des poumons, n=5		- ♂: ↑ risque d'obésité abdominale		
	ICT, n=7				

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
Tumeur cérébrale	Résection/biopsie, n=51/1 CT, n=17 RTC, n=20	6,2 ans	- Surpoids, obésité et obésité abdominale associé avec RTC, dommage hypothalamique/hypophysaire, DHC et capacités motrices réduites. - RTC associé avec hypercholestérolémie, ↑LDL-C, HT & SM. - Mobilité réduite associée avec hypercholestérolémie - Dommage hypothalamique/hypophysaire associé avec le SM et DHC	- Dommage à l'axe hypothalamo-hypophysaire (DHC) - Capacités motrices réduites	[146]
Tumeur cérébrale	Chirurgie total / partiel résection Boost de RT (54 Gy) CT, combinaison de drogue standard	5,9 ans (moyenne)	Survivants vs contrôles: ↑ tour de taille et HOMA-IR, mais dans les limites normales	Lésion hypothalamique / DHC	[164]
Tumeur de Wilms, neuroblastome	Néphrectomie, n= 74 Adrénalectomie, n=46 CT, n=90 RT de l'abdomen RT, n=42 RT du thorax, n=2 RT du cou, n=1 RT de la colonne vertébrale RT, n=1	26,2 ans	- Survivants vs contrôles: ↑ risque de ≥ 2 composants de SM chez les survivants de néphroblastome & neuroblastome - Survivants traités avec irradiation de l'abdomen vs sans irradiation: ↑ hypertension, TG, LDL-C, acides gras libres, % de gras viscéral, mais ↓ tour de taille	- Augmentation du gras viscéral - Lésions à l'endothélium vasculaire	[165]
LLA, LMA, tumeur du SNC, LH, LNH,	RTC, n=3044 RT abdominale, n=1462	ND	Survivants vs contrôles sains: -↑ risque de diabète	Irradiation abdominale: - Dommages aux îlots pancréatiques et altération de la sécrétion d'insuline	[166]

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
tumeur de Wilms, neuroblastome, sarcome des tissus mous, tumeur osseuse	ICT, n=112 Agents de CT: Agents alkylants, n=4299 Corticostéroïdes, n=4222 Anthracyclines, n=3362		↑ risque de diabète avec: - ICT - Irradiation abdominale - RTC	(dysfonctionnement des cellules β) - Altération des hormones produites par le tissu adipeux après irradiation (leptine, résistine et adiponectine) Irradiation corporelle totale: - Dommages aux îlots pancréatiques et altération de la sécrétion d'insuline (dysfonctionnement des cellules β) mais dans une moindre mesure que l'irradiation abdominale - DHC (surtout si le traitement est reçu à un jeune âge) - Hypogonadisme - Augmentation de la graisse viscérale et de la libération d'acides gras libres (impact sur la résistance à l'insuline)	
LLA, LMA, tumeur du SNC, LH, LNH, tumeur de Wilms, neuroblastome, sarcome des tissus mous, tumeur osseuse	RTC, n=3044 RT abdominale, n=1462 ICT, n=112 CT agents: Agents alkylants, n=4299 Corticostéroïdes, n=4222 Anthracyclines, n=3362	ND	- Les survivants sont plus susceptibles que la fratrie de prendre des médicaments pour l'HT, la dyslipidémie et le diabète - Les survivants ne sont pas plus susceptibles que la fratrie de souffrir d'obésité ou de FRCV - Facteurs associés au développement de FRCV - Plus âgé à l'entrevue (≥40 vs <30 ans) - Exposition aux ICT - Irradiation à la poitrine et abdomen - Inactivité physique	Lésion vasculaire et fibrose vasculaire	[151]

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
Leucémie, TCG intracrânienne, tumeur du cerveau, neuroblastome, autres	CT, n=98 RTC, n=33 GCSH, n=32 GCSH +ICT, n=30	3,9 ans (moyenne)	- Dose de RTC: corrélée positivement avec l'IMC et le tour de taille - 62.2% des survivants avaient au moins une valeur anormale de lipide - TG corrélée positivement avec % de la masse grasse - HDL-C corrélée négativement avec % de la masse grasse	- Composition des graisses corporelles défavorable - Dommage à l'axe hypothalamo-hypophysaire / DHC	[167]
Tumeur solide ou lymphome (incluant leucémie)	Pas de RT, pas de CT, n=252 RT, pas de CT, n=488 Pas de RT, CT, n=686 RT et CT, n=1144	28 ans	- Survivants traités avec ≥ 10 Gy à la queue du pancréas: \uparrow risque du diabète - \uparrow du risque de diabète par Gy de traitement de RTC chez les survivants âgés < 2 ans au moment de la RT vs les survivants plus vieux exposés à la RT	Dommages à la queue du pancréas par radiation où les îlots de Langerhans sont principalement situés	[168]
Tumeur solide maligne non cérébrale	Chirurgie, n=126 CT, n=135 Irradiation locale, n=58 RTC, n=12 GCSH, n=29	9,6 ans (moyenne)	- 44 patients (31.7%) avaient au moins une anomalie endocrinienne: hypogonadisme (11.5%), hypothyroïdisme (9.4%), petite taille (9.4%), DHC (8.6%) et composantes du SM (15.1%) - Risque d'endocrinopathie associé à la RTC, aux radiations locales, à la GCSH et être plus âgé à la dernière visite.	- DHC (HT, HDL-C bas et hypertriglycémie) - Hypothyroïdisme (profil lipidique perturbé) - Hypogonadisme (composition corporelle, métabolisme des lipides, pression artérielle et vaisseaux sanguins)	[169]
Cancers chez AJA (sein, thyroïde, mélanome, testicule, LH, LNH, cervix et autres)	ND	4,4 ans (moyenne)	Survivants vs contrôles n'ayant pas eu de cancer: \uparrow ratio du taux d'incidence de mortalité, cancer secondaire, maladie cérébrovasculaire, dyslipidémie, maladie cardiaque, hypogonadisme, insuffisance rénale et troubles de la thyroïde	Aucun	[139]
Leucémie, lymphome, sarcome,	CT seulement, n=136 CT+RT, n=104	ND	- 51 survivants (19%) souffraient d'HT	Dommage hypothalamique	[170]

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
tumeur de Wilms, tumeur du cerveau, neuroblastome, TCG, autres	RTC, n=47 GCSH+ICT, n=12 HSCT, n=20 Néphrectomie radicale, n=16		- ↑ risque d'HT associé avec le sexe masculin et être âgé ≥18 ans - 89 survivants (32.2%) souffrent de surpoids/obésité - ↑ risqué de surpoids/obésité associé avec la RTC, être plus vieux (≥18 ans) et le sexe masculin		
Cancers pédiatriques (leucémie, lymphome et cancer du SNC)	ND	11,2 ans (moyenne)	- survivants vs contrôles pairés pour le sexe et âge: ↑ risque de diabète - Survivants traités entre 6 et 10 ans vs survivants plus âgés: ↑ risque de diabète - Cancers ayant le > risque de diabète: leucémie et lymphome	Dompage au pancréas et tissu adipeux viscéral	[171]

* Le temps de survie au moment de l'étude est exprimé en temps médian sauf indication contraire. AJA, adolescent et jeunes adultes; CT, chimiothérapie; DHC, déficience en hormone de croissance; FRCV, facteur de risque cardiovasculaire; GCSH, Greffe de cellules souches hématopoïétiques; HDL, lipoprotéine à haute densité; HT, hypertension; LH, lymphome de Hodgkin ; ICT, irradiation corporelle totale; LLA, leucémie lymphoblastique aiguë; LNH, lymphome non-Hodgkin; RTC, radiothérapie crânienne; SM, syndrome métabolique; SNC, système nerveux central; ND, pas de donnée; Réf., référence; RT, radiothérapie; ICT, irradiation corporelle totale; TCG, tumeur des cellules germinales; TG, triglycéride; ↑, augmentation.

Tableau 6. – Syndrome métabolique et ses composantes chez les survivants de cancer pédiatrique traité avec une greffe de cellules souches hématopoïétiques : mécanismes proposés

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
Études prospectives					
LLA & LMA	CT seulement, n=97 CT+RTC, n=27 GCSH +ICT, n=43	15,4 ans	- Cohorte totale: 9.2% avaient un SM - GCSH et ICT associés avec TG et glucose à jeun élevés et HDL-C bas	- Hypogonadisme - Hypothyroïdisme - Dompage endothélial	[15]

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
	GCSH pas d'ICT, n= 17			- Insultes nutritionnelles pendant une période de plasticité développementale aboutissant à un phénotype de SM	
LLA, LMA, HL, NHL, tumeur du cerveau, sarcome, autres	CT seulement, n=103 CT+RT, n=163 GCSH+ ICT, n=29 GCSH, n=45	16,1 ans	- ICT et DHC ↑ le risque d'hypercholestérolémie et hypertriglycéridémie - ↑ risque d'hypercholestérolémie chez les survivants qui ont subi une GCSH autologue ou une CT à base de platine - ↑ risque d'obésité chez les survivants qui ont eu une tumeur de cerveau et l'exposition aux anthracyclines	- Dommages hypothalamiques / hypophysaires dus à la chirurgie ou à la radiothérapie - Troubles de la mobilité dus à une lésion cérébrale - Moins d'activité physique et malnutrition en raison de la détresse psychologique et /ou des troubles dépressifs	[172]
Leucémie & autres maladies hématologiques	CT seulement, n=9 CT+RTC, n=4 GCSH+ ICT, n=18 GCSH pas d'ICT, n= 5	10,8 ans	Prévalence du SM: Survivants de GCSH : 39% Survivants de Non-GCSH: 8% Témoins sains: 0%	- Hypogonadisme et GVH chronique	[173]
LLA, LMA, LNH, LH, neuroblastome, tumeur de Wilms, tumeur osseuse, tumeur des tissus mous, tumeur du cerveau, autres	CT seulement, n=24 CT+RTC, n=137 CT+irradiation abdominal, n=20 GCSH+ ICT, n=35 GCSH, n=32	12,9 ans	- IMC similaire entre les survivants et la fratrie en santé (enfants) et les valeurs de référence d'une étude nationale (adultes) - Prévalence de l'adiposité abdominale presque doublé chez les survivants prépubères par rapport à une fratrie en bonne santé	- Catabolisme et malnutrition prolongés pendant les protocoles de traitements avec des conséquences sur les changements à long terme de la composition corporelle: masse maigre et musculaire inférieure - Dysfonctionnement mitochondrial dû à l'irradiation - Altération de la sécrétion d'adipocytokine par le tissu adipeux (adiponectine, TNFα et IL-6)	[154]

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
LLA	CT seulement, n=43 CT+RTC, n=5 GCSH + ICT, n=26	10,0 ans (depuis dx)	- 23.1% des survivants traités par ICT répondaient aux critères du SM vs 4,2% des survivants non traités par ICT - Survivants traités par GCSH: ↑ CRP & leptine, ↓ adiponectine	- Inflammation chronique - ↑ gras viscéral	[174]
LLA	CT seulement, n=12 GCSH + ICT, n=9	20 ans	- Survivants ayant reçu CT-seulement vs contrôles: pas de fréquence plus élevée des composantes du SM - Survivant GCSH vs contrôles: ratio hanche / taille plus élevée et dyslipidémie - Survivants traités par CT-seulement & ceux traités par ICT vs valeurs de référence d'une étude nationale: ↑ % de gras total - Survivants traités par GCSH vs valeurs de référence d'une étude nationale: ↓ % masse maigre	- Hypothyroïdisme (GCSH seulement) - Dysfonction gonadique après CT	[175]
LLA, LMA, autres	GCSH, n=24 GCSH+ICT, n=21	4,0 ans (avec TGN) 6,9 ans (avec ITG/DM)	Pas de prévalence accrue de l'obésité mais redistribution du tissu adipeux avec un accumulation au niveau abdominal	- Changements de la composition du corps central	[176]
Lymphome, leucémie aiguë et chronique, myélome multiple, autres	GCSH, n=891 GCSH+ICT, n=994	7,0 ans	- Prévalence de FRCVs ↑ parmi les survivants traités par une GCSH par rapport à la population générale - GvH aiguë grade II-IV ↑ risque de HT, diabète et dyslipidémie	- Dysfonctionnement gonadique - Lésions pancréatiques et / ou hépatiques radio-induites	[16]
LLA, LMA & lymphome	GCSH+ICT, n=85 GCSH+ICT, n=38	8,0 ans	- DHC, RTC et GvH grade II-IV aiguë associé avec le risque d'avoir des FRCVs - Comparé aux valeurs de référence d'une étude nationale pairées selon l'âge, le sexe et la race, la prévalence de TG élevé	- Obésité sarcopénique (excès de masse grasse associé à une réduction de la masse maigre musculaire) - Dysfonction du tissu adipeux (↑ inflammation)	[177]

Type de cancer	Traitement	Temps de survie*	Résultats clés	Mécanismes proposés	Réf.
			et HDL-C bas était plus élevé chez les survivants ayant reçu de l'ICT, mais pas pour l'intolérance au glucose, l'HT et les FRCVs	- Dérégulation neuroendocrine radio-induite de l'axe hypothalamo-hypophyse: a) insensibilité à la leptine b) activation des voies pro-inflammatoires (IKK β /NF- κ B) dans l'hypothalamus	

* Le temps de survie au moment de l'étude est exprimé en temps médian sauf indication contraire. CT, chimiothérapie; DHC, déficience de l'hormone de croissance; FRCV, facteur de risque cardiovasculaire; greffe de cellules souches hématopoïétiques; GvH, réaction du greffon contre l'hôte; HL, hormone lutéinisante; HR, «hazard ratio»; HT, hypertension; ITG/DM, intolérance au glucose/diabète mellitus; LLA, leucémie lymphoblastique aiguë; LMA, leucémie myéloïde aiguë; OR, «odd ratio»; Réf., référence; RT, radiothérapie; TG, triglycéride; TGN, tolérance au glucose normale; TSH, hormone thyroïdienne; \uparrow , augmentation; \emptyset , pas de différence.

3.1.1 La prévalence de la dyslipidémie chez les survivants de LLA

Les anomalies des lipides plasmatiques ont été examinées afin de déterminer le risque cardiovasculaire dans une population de survivants de LLA pédiatrique. Différents groupes de recherche ont examiné les valeurs absolues du LDL-cholestérol (LDL-C) et du HDL-C après les traitements de RTC et de chimiothérapie [147,150,152,159,178]. Entre autres, comparés à la population générale, les survivants adultes [âge médian : 31,7 ans (18,9-59,1 ans)] étaient à plus grand risque d'avoir de niveaux de LDL-C élevés (risque relatif, RR=1,25), de TG élevés (RR=1,32) et de HDL-C bas (RR=1,78). Ces risques augmentés n'étaient significatifs que chez les survivants ayant été exposés à de la RTC [152].

Une autre étude a rapporté que les survivants [(23 hommes, âge médian de 25 ans (19 – 32 ans)] de LLA pédiatrique traités avec la RTC (médiane 24 Gy, 18-30 Gy) et la chimiothérapie avaient des niveaux de LDL-C, d'Apo B et TG plus élevés comparativement à des contrôles [178]. Parallèlement, les taux de HDL-C et d'Apo A1 étaient plus faibles chez les survivants [178]. On retrouve également que la déficience en hormone de croissance, induite par la RTC, a aussi été proposée comme mécanisme sous-jacent à la dyslipidémie observée.

À l'inverse, d'autres travaux ont trouvé très peu de différences des profils lipidiques des survivants de LLA pédiatrique par rapport à des personnes non atteintes de cancer [147,159]. Dans une première étude, le profil cardiométabolique de jeunes survivants de la LLA (n=118; âge médian : 23 ans (18 -37 ans) ayant été traités avec de la chimiothérapie avec ou sans RTC était comparé au profil d'un groupe contrôle plus âgé (30 – 37 ans). Aucune différence n'a été observée au niveau du profil lipidique, à l'exception du HDL-C qui était inférieur chez les femmes exposées à de la RTC [147]. Dans une autre étude comparant des survivants de la LLA (n=69; âge moyen : 24,5 ans) et de tumeur de Wilms (n=62; âge moyen : 25,9 ans) à un groupe contrôle (n=69, âge moyen : 26 ans), aucune différence n'a été trouvée chez les survivants ayant été traités avec de la chimiothérapie et de la RTC ou traités avec de la chimiothérapie seulement [159].

Il est intéressant de souligner que chez des jeunes adultes survivants de LLA pédiatrique, même si les concentrations de LDL-C se situaient à l'intérieur de l'intervalle normal, les particules de LDL étaient plus athérogènes avec une plus grande proportion de LDL de petite taille pour plus du

tiers de la cohorte [150]. Ce profil athérogène était plus fréquent chez les hommes que chez les femmes et chez les survivants traités par RTC par rapport à ceux ayant été traités seulement par chimiothérapie [150]. De plus, une masse élevée de tissu adipeux viscéral mesurée par tomographie était associée à la présence de petites LDL denses et à des taux plus élevés de LDL-C. Cette association était indépendante des autres mesures de la masse grasse, soit l'IMC et le poids [150].

De façon surprenante, la distribution des apolipoprotéines et la composition des lipoprotéines, qui sont toutes deux critiques au développement des MCV, n'ont pas été caractérisées chez les survivants de cancer pédiatrique.

3.2 Mécanismes potentiels sous-jacents au développement des désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancers pédiatriques

La nature et la sévérité du cancer et les protocoles thérapeutiques anticancéreux ont souvent été évoqués pour expliquer le développement des complications cardiométaboliques [7-9]. Malgré cela, notre compréhension des mécanismes sous-jacents au développement de ces complications demeure limitée. Même en absence de cause-effet, certains impliquent le SOx, l'inflammation chronique, la dysfonction du tissu adipeux, les perturbations endocriniennes (axe hypothalamus-hypophyse), le vieillissement cellulaire accéléré et les altérations épigénétiques (**Figure 7**). Les mécanismes proposés par les auteurs des différentes études sont résumés dans les **Tableaux 4, 5 et 6**.

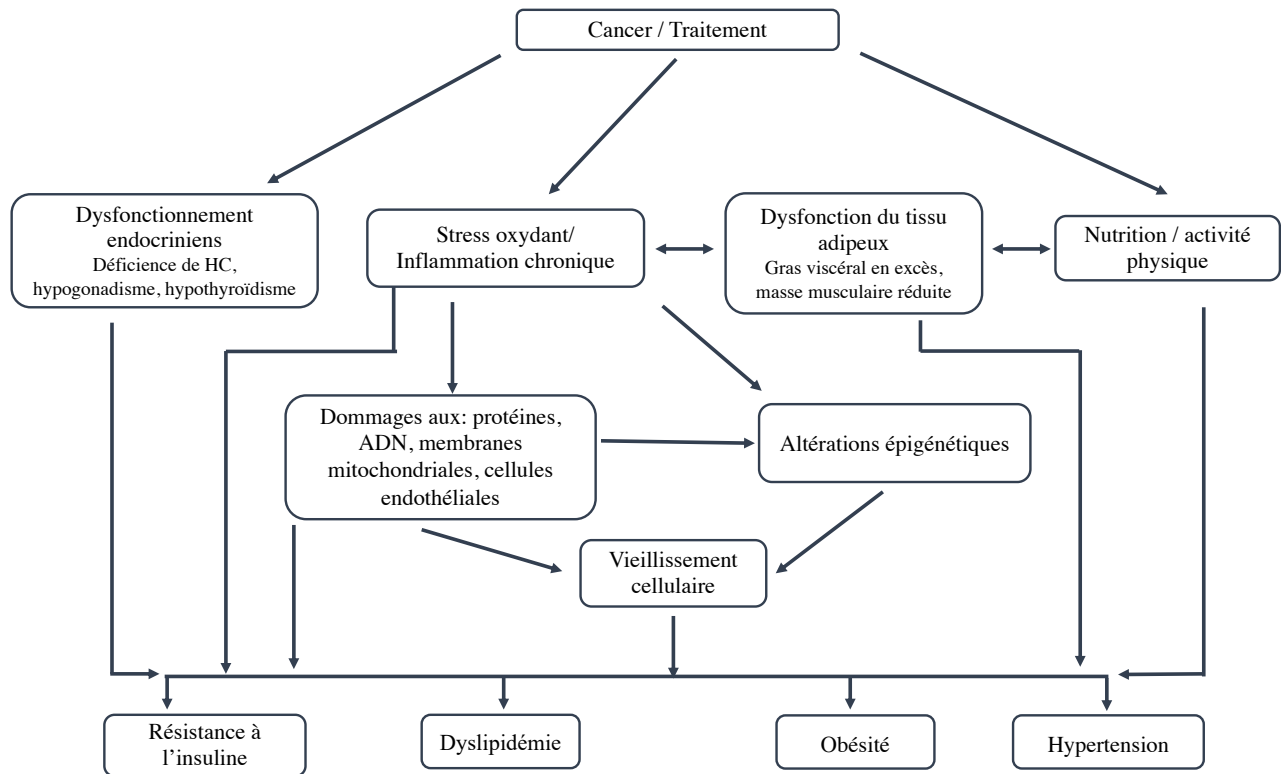


Figure 7. – Mécanismes potentiels sous-jacents au développement des complications cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique proposés dans la littérature [20,24,142,143,154,179-186].

La dysbiose intestinale en tant que mécanisme potentiel a été mal explorée chez les survivants du cancer. Néanmoins, dans les populations non cancéreuses, des altérations de l'écosystème intestinal ont déclenché une inflammation de bas grade, une accumulation excessive de graisse viscérale et une réduction de la sensibilité à l'insuline, processus qui augmentent collectivement le risque de complications cardiométaboliques [187-190].

Dans cette section, les mécanismes potentiels des complications cardiométaboliques des survivants au cancer de l'enfant sont décrits et discutés de manière critique.

3.2.1 Stress oxydant et inflammation chez les survivants de la LLA pédiatrique

Le SOx est causé par le déséquilibre entre la génération de radicaux libres et les défenses antioxydantes. Si les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ne sont pas éliminées, elles peuvent conduire à des dommages prononcés aux lipides, aux protéines et à l'ADN. Pour contrôler le flux des ERO, les cellules aérobies possèdent des enzymes antioxydantes endogènes qui comprennent

les superoxydes dismutases (SOD) et les glutathion peroxydases (GPx). Les effets néfastes de plusieurs agents chimiothérapeutiques sont potentiellement induits par le SOx et l'inflammation. Les traitements contre le cancer tels que les anthracyclines, le platine et les alkylateurs génèrent des niveaux élevés d'ERO [20,24,179,180,191,192]. De plus, pendant la chimiothérapie, on note une augmentation des produits de peroxydation lipidique, la faible capacité à piéger les radicaux libres (potentiel antioxydant) au niveau du sang, les concentrations réduites d'antioxydants tels que la vitamine E, la vitamine C et le β -carotène et la réduction marquée des niveaux de glutathion tissulaire [192]. Il est reconnu que la production excessive de radicaux libres et la présence chronique d'inflammation endommagent les protéines, l'ADN, les membranes mitochondriales, les cellules endothéliales, les lipides membranaires, et n'épargnent pas la barrière intestinale [192-198]. Une étude menée sur 24 survivants de la LLA âgés de 5 à 13 ans (3,2 ans après la fin du traitement) a mis en évidence leur système de défense affaibli contre le SOx [20]. Par rapport à un groupe témoin d'âge similaire, l'activité de la GPx érythrocytaire était plus faible et les niveaux de 8-oxo-dG dans les leucocytes circulants étaient plus élevés, exposant ainsi leur vulnérabilité aux radicaux libres [20].

Parallèlement, des niveaux élevés d'adipokines et de cytokines pro-inflammatoires ont été rapportés pendant [199-202] et après [203,204] la chimiothérapie, état qui persiste jusqu'à 5 ans après le début des traitements [205]. De plus, l'irradiation corporelle totale et les traitements immunosuppresseurs reçus lors de la GCSH favorisent la production d'adipokines et de cytokines pro-inflammatoires en association avec des perturbations cardiométaboliques [154,206,207]. La présence d'inflammation systémique et l'activation accrue du système immunitaire chez les jeunes adultes survivants de la LLA pédiatrique ont aussi été montrées [24,179,180]. En bref, par rapport à des contrôles sains, les survivants de LLA pédiatrique avaient des niveaux plus élevés de CRP, de cytokines (IL-6, IL-2, IL-10, IL-17a) et de marqueurs d'immunité (CD38 et HLA-DR sur les cellules T : CD4+ & CD8+; sCD163) [24,179,180]. Le CD163 soluble est un marqueur spécifique de l'activation des monocytes et macrophages que l'on trouve généralement à des niveaux élevés dans diverses conditions inflammatoires [208].

3.2.1.1 Dysfonction mitochondriale

Les dommages causés aux mitochondries par le SOx peuvent nuire à la bêta-oxydation des acides gras. Les anthracyclines, les traitements à base de platine et les alkylateurs réduisent la bêta-oxydation des acides gras mitochondriaux en inhibant l'enzyme clé "carnitine palmitotransférase-1" (CPT-1) [209,210]. À leur tour, les acides gras libres qui ne sont pas oxydés peuvent induire une dyslipidémie, plus particulièrement une hypertriglycéridémie, et augmenter le dépôt des lipides dans le foie [211] (**Figure 8**). L'excès d'acides gras libres et l'augmentation des VLDL enrichis en TG favorisent l'enrichissement des HDL en TG en échange de cholestérol estérifié par le CETP, ce qui réduit les niveaux de HDL-C tel que décrit précédemment [125,212]. Dans ces conditions, la libération en excès d'acides gras libres dans la circulation périphérique pourrait expliquer l'accumulation de gras ectopique dans les tissus et organes, principalement dans les muscles squelettiques et cardiaques, ainsi que dans le foie [213]. Il est à noter que le gras ectopique dans le foie et les muscles squelettiques altèrent la signalisation de l'insuline et amoindrit la sensibilité à l'insuline, entraînant une réduction de l'absorption musculaire du glucose et une diminution de la synthèse hépatique du glycogène [213]. La résistance à l'insuline musculaire devance la résistance à l'insuline hépatique. Le glucose non capté par les muscles squelettiques est détourné vers le foie, favorisant ainsi la lipogenèse hépatique *de novo* et l'hyperlipidémie [213]. Par ailleurs, les acides gras libres non utilisés pour la bêta-oxydation ou la formation de corps cétoniques sont ré-estérifiés en TG et incorporés aux VLDL qui sont sécrétés dans la circulation et amplifient l'hyperlipidémie [84].

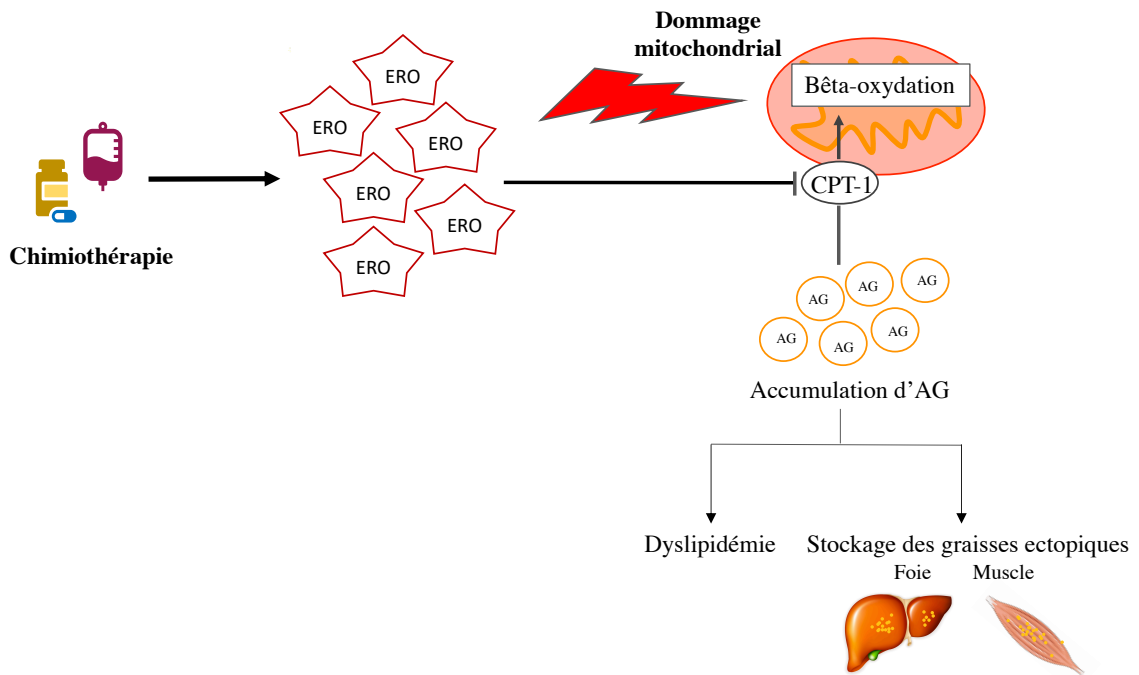


Figure 8. – Effet du stress oxydant sur les mitochondries.

Les traitements contre le cancer tels que les anthracyclines, le platine et les alkylateurs génèrent des niveaux élevés de ERO qui induisent le stress oxydant et l’inflammation. Les anthracyclines, le platine et les alkylateurs altèrent la bêta-oxydation des acides gras en réduisant le CPT-1. AG, acide gras; CPT-1, carnitine palmitoyltransférase 1; ERO, espèces réactives de l’oxygène.

3.2.1.2 Vieillesse cellulaire prématuré

Le vieillissement cellulaire est un phénomène qui implique 3 processus principaux interreliés : 1) l’accumulation de dommages non réparés de l’ADN et le raccourcissement des télomères suite au SOx ; 2) l’altération du renouvellement cellulaire et tissulaire, causée par l’épuisement des pools de cellules souches et de cellules progénitrices ; et 3) une inflammation systémique chronique. Chez des jeunes adultes survivants de la LLA (âge médian : 25 ans; 18 – 35 ans), comparativement à des contrôles en bonne santé, pairés pour l’âge et le sexe, les niveaux de cytokines pro-inflammatoires (IL-2, IL17a) et de protéine C-réactive étaient supérieurs et ce parallèlement à une attrition des télomères évidente [179]. Ces processus, compatibles avec l'apparition d'un vieillissement cellulaire accéléré, pourraient contribuer à expliquer le

développement de complications cardiométaboliques chez de jeunes adultes ayant survécu à un cancer pédiatrique [179].

On peut constater que le SOx et de façon plus marquée l'inflammation sont bien présents chez une grande proportion des survivants adultes de la LLA pédiatrique et sont en lien avec les complications cardiométaboliques. Dans la population générale, le SOx et l'inflammation sont associés aux complications cardiométaboliques, aux DT2 et aux MCV [157,211,214,215]. Sans aucun doute, le SM et ses complications observés chez les survivants du cancer de l'enfant constituent des causes multifactorielles, mais le SOx et l'inflammation demeurent fort probablement les deux moteurs de leur étiologie. Leur impact peut être vu à travers le vieillissement cellulaire accéléré et la dysfonction mitochondriale. Sans contredit, des études approfondies sont nécessaires pour définir les mécanismes précis des complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique afin de mettre en évidence le rôle des SOx/inflammation médié par les agents antinéoplasiques. De plus, l'identification de biomarqueurs de SOx et d'inflammation aideraient à une meilleure caractérisation des survivants, et identifier lesquels sont le plus à risque de développer des complications cardiométaboliques.

3.2.2 Dysfonctionnement du tissu adipeux chez les survivants de la LLA pédiatrique

Le tissu adipeux n'est pas simplement un réservoir de stockage d'énergie inerte. Au contraire, il est considéré aujourd'hui comme un organe endocrinien majeur. Les adipocytes et/ou les macrophages infiltrés dans le tissu adipeux, produisent des adipokines, comprenant entre autres la leptine, l'adiponectine, l'inhibiteur d'activateur du plasminogène-1 (PAI-1), le TNF- α , l'IL-6 et la résistine [216,217]. Ces molécules inflammatoires ayant des effets autocrines et paracrines (TNF- α , IL-6, IL1b et résistine) positionnent le tissu adipeux comme un organe pro-inflammatoire [157]. La sécrétion de ces médiateurs intervient dans la régulation métabolique (homéostasie du poids corporel, résistance à l'insuline, DT2, dyslipidémie), la dysfonction endothéliale, l'athérogenèse et les processus inflammatoires [157,216,218-220] (**Figure 9**).

Les survivants d'un cancer pédiatrique présentent un risque accru d'accumuler une adiposité viscérale excessive, ce qui peut influencer leur état inflammatoire. Les survivants de la LLA

pédiatrique ayant reçu de la RTC ont, comparativement à ceux n'ayant pas été exposés à ce traitement, des niveaux accrus d'adiposité viscérale et abdominale et de leptine, moins de masse maigre et des niveaux réduits de facteur de croissance analogue à l'insuline-1 (IGF-1) circulant [142]. Dans cette même étude, aucune infiltration de graisse dans le foie et les muscles n'a été observée [142], compte tenu du jeune âge des participants. De même, un excès d'adiposité couplé à une réduction de la masse musculaire a été rapporté chez des survivants de leucémie pédiatrique ayant reçu une GCSH [176,221]. Le même phénomène a été décrit chez les survivants prépubères et pubertaires de divers cancers pédiatriques [154]. Plusieurs agents chimiothérapeutiques induisent le SOx et l'inflammation, créant un environnement propice à une accumulation excessive de graisse viscérale qui pourrait persister pendant la survie. Lors d'inflammation de bas grade, les macrophages s'infiltrent généralement dans le tissu adipeux et induisent la dysfonction des adipocytes [216]. Entre autres, cette inflammation et la résistance à l'insuline des tissus adipeux entraînent une augmentation de la lipolyse, accroissant ainsi l'apport en acides gras au foie [213][95]. L'augmentation du flux des acides gras stimule la synthèse hépatique des TG, ce qui favorise l'assemblage de gros VLDL enrichies de TG et la production d'Apo B dans le foie. Ces conditions sont associées à l'hypertriglycéridémie et à un HDL-C bas [109] tel que discuté précédemment. Parallèlement à l'augmentation des taux de TG dans le plasma, la CETP assure la médiation de l'échange de TG et des esters de cholestérol entre les VLDL et les LDL ainsi qu'entre les VLDL et HDL [109]. L'augmentation des acides gras au foie provoque aussi une augmentation de la teneur hépatique en acétyl-CoA et une conversion accrue du glycérol en glucose ce qui favorise l'hyperglycémie à jeun et postprandiale [213]. Le SOx peut amplifier l'accumulation de graisses en stimulant la prolifération préadipocytaire et la différenciation adipocytaire et en augmentant la taille des adipocytes matures [193]. Le SOx diminue également la production par le tissu adipeux d'adiponectine anti-inflammatoire et augmente la synthèse des cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1b et IL-6) [193].

3.2.2.1.1 Cytokines inflammatoires : TNF-alpha et IL-6

L'IL-6 et TNF- α sont des cytokines pro-inflammatoires qui peuvent contribuer à la résistance à l'insuline et l'inflammation systémique. Le TNF- α et l'IL-6 activent les facteurs de transcription pro-inflammatoires NF- κ B et l'AP-1 dans les macrophages infiltrés dans le tissu adipeux, ce qui

entraîne une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires, exacerbant ainsi l'inflammation [126]. Cette inflammation altère la signalisation de l'insuline en activant la phosphorylation de la sérine et de la thréonine (Ser/Thr) des substrats du récepteur de l'insuline (IRS-1 et IRS-2) et, ainsi, diminuer la translocation du GLUT4 [193,222,223]. L'IL-6 augmente les niveaux de suppresseur de la signalisation des cytokines-3 (SOCS3) dans le tissu adipeux, les cellules musculaires et les hépatocytes. SOCS3 altère l'action de l'insuline en se liant au récepteur de l'insuline ou à ses substrats (IRS-1 et IRS-2), entraînant leur ubiquitination et leur dégradation [224]. La signalisation du TNF- α active les kinases intracellulaires, la kinase c-Jun N-terminale (JNK) et la kinase IKB (IKK) qui entraînent la phosphorylation accrue de la sérine du IRS-1, plutôt que la phosphorylation normale de la tyrosine. La phosphorylation de la sérine de l'IRS-1 entrave la signalisation de l'insuline en entraînant une diminution de l'activation de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) qui, à son tour, inhibe la protéine kinase Akt2, diminuant ainsi la translocation du GLUT4 vers la membrane plasmique (revue dans [126]). Les survivants du cancer pédiatrique étant plus à risque d'accumuler de la graisse viscérale [142,154,176,221], la production de cytokines par les tissus adipeux serait alors un mécanisme pouvant contribuer au développement de la résistance à l'insuline.

3.2.2.1.2 Adipokines : leptine, adiponectine, résistine, vistatine et PAI-1

Les hormones protéiques adiponectine et leptine sont principalement sécrétées par les adipocytes [225]. Chez l'adulte, leurs taux circulants sont proportionnels au pourcentage de graisse corporelle [226]. La concentration plasmatique d'adiponectine est réduite chez les obèses et les diabétiques et inversement associée avec la résistance à l'insuline [84,227,228]. De plus, les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6) inhibent la synthèse adipocytaire d'adiponectine [126,229]. À l'opposé, dans des macrophages traités avec de l'adiponectine, la production de TNF- α stimulée par le lipopolysaccharide est supprimée [230,231]. L'adiponectine a des actions métaboliques imitant celles de l'insuline : elle module la régulation du glucose et l'oxydation des acides gras, inhibe la néoglucogenèse hépatique par l'activation de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) [126,232,233] et stimule la production endothéliale d'oxyde nitrique (NO) [126,220]. L'adiponectine augmente la sensibilité à l'insuline par l'entremise de ses récepteurs, AdipoR1 (muscles) et AdipoR2 (foie) [234]. La leptine, une hormone anorexigène, dont les niveaux

en circulation sont associés avec la masse adipeuse totale [101], a d'autres fonctions métaboliques [84]. Elle joue un rôle majeur dans l'homéostasie énergétique à long terme. La résistance à la leptine entrave la voie catabolique qui régule la satiété et la dépense énergétique [161,235,236]. La leptine communique au système nerveux central l'information sur la disponibilité énergétique aiguë et l'état des réserves d'énergie. Au niveau de l'hypothalamus, elle active les neurones qui synthétisent les peptides anorexigènes et supprime l'activité des neurones orexigènes [101]. Chez les personnes sensibles à la leptine, sa signalisation entraîne une diminution de l'apport alimentaire et une augmentation des dépenses énergétiques pour maintenir en équilibre les réserves d'énergie [101]. Malgré des niveaux élevés de leptine, l'obésité est caractérisée par une résistance à la leptine. Il a été suggéré que la résistance à la leptine résulte d'une inflammation hypothalamique et d'une gliose (prolifération de cellules gliales, tissu de soutien du système nerveux central) [101].

La résistine est un biomarqueur inflammatoire reconnu et un médiateur potentiel des maladies cardiométaboliques associées à l'obésité [84,235]. Son expression génique est régulée par des molécules pro-inflammatoires tels que le TNF- α , le PAI-1 et l'IL-6. De plus, sa production par les adipocytes augmente en présence d'obésité [235]. La résistine se fixe aux récepteurs de l'insuline au niveau des adipocytes, des cellules hépatiques et musculaires, ce qui peut induire la résistance à l'insuline et l'hyperinsulinémie, jouant potentiellement un rôle dans le développement du DT2 [235]. La résistine induit également la sécrétion de molécules d'adhésion cellulaire et d'endothéline-1 par les cellules endothéliales, montrant son implication dans la dysfonction de l'endothélium vasculaire [235].

La visfatine est principalement produite par le tissu adipeux viscéral. Par contre, il a été suggéré que, dans ce tissu, elle est principalement libérée par les macrophages plutôt que par les adipocytes [237]. La visfatine semble agir comme une adipokine dans l'inflammation, l'obésité, le syndrome métabolique et les MCV, y compris la néphropathie diabétique [238-240]. Plus particulièrement, les données actuelles suggèrent que la visfatine est importante pour la sécrétion normale d'insuline [241,242], mais sa relation avec le risque de diabète et la progression de celui-ci soulève encore des discussions [241,243-246]. Elle joue aussi un rôle dans la régulation du métabolisme énergétique [238].

La sécrétion de PAI-1 favorise un état prothrombotique [84]. La fibrinolyse est un processus physiologique antithrombotique qui dissout les caillots sanguins une fois qu'ils ne sont plus nécessaires à l'hémostase [235]. Le PAI-1 est un puissant inhibiteur physiologique de la fibrinolyse. Son augmentation est considérée comme un facteur de risque majeur de maladie cardiovasculaire. Le PAI-1 est sécrété par le foie (hépatocytes), les vaisseaux vasculaires (cellules endothéliales) et le tissu adipeux. Un niveau élevé de PAI-1 circulant est fréquemment observé dans l'obésité abdominale [235]. L'association entre le PAI-1, les événements cardiovasculaires et les troubles cardiométaboliques est bien établie [235].

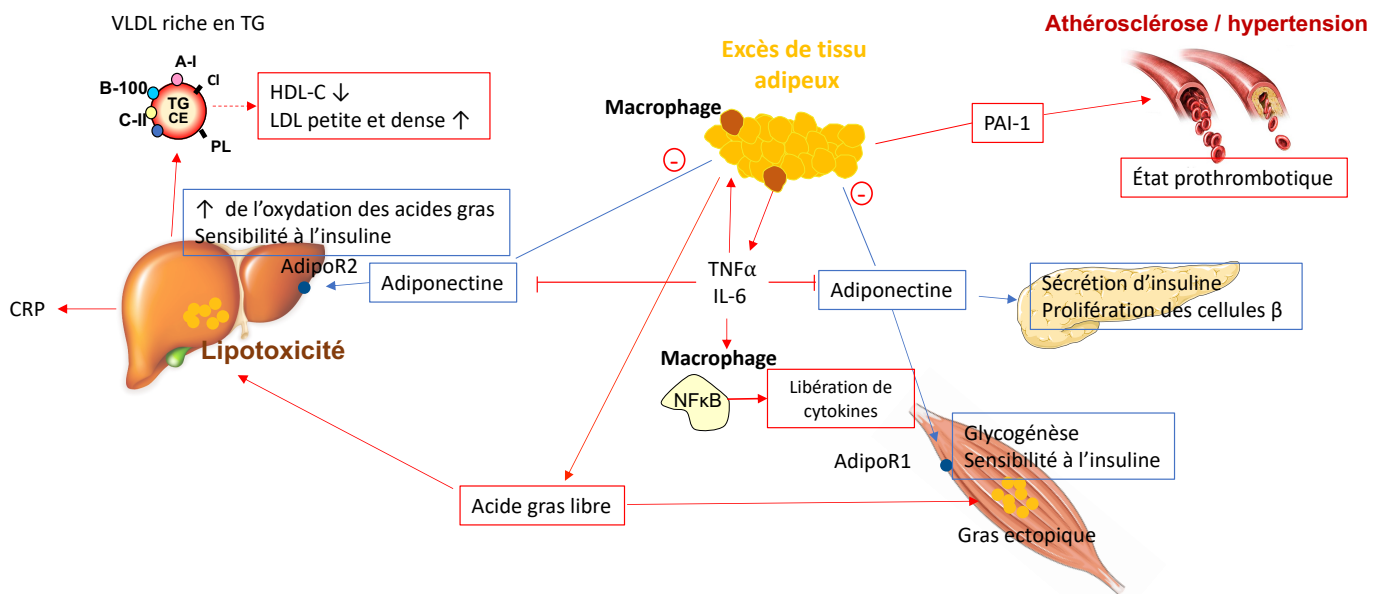


Figure 9. – Effets délétères d'un excès de tissus adipeux

Un nombre excessif de cellules adipeuses et de macrophages perturbe les activités de cet organe endocrinien. Les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6) sont générées par le tissu adipeux et les macrophages résidents. Le TNF- α et l'IL-6 activent la translocation au noyau du facteur de transcription pro-inflammatoire NF-KB, ce qui entraîne une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires, exacerbant ainsi l'inflammation systémique. Cette inflammation altère la signalisation de l'insuline. Les cytokines inhibent aussi la synthèse adipocytaire d'adiponectine. Dans les cellules β des îlots pancréatiques, l'adiponectine augmente la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose via l'activation de l'AMPK et augmente la fonction et la prolifération des cellules β . L'adiponectine augmente la sensibilité à l'insuline par l'entremise de ses récepteurs, AdipoR1 (muscles) et AdipoR2 (foie). L'adiponectine module

la régulation du glucose et l'oxydation des acides gras, inhibe la néoglucogenèse hépatique et la lipogenèse par l'activation de l'AMPK. Un niveau élevé de PAI-1 en circulation favorise un état prothrombotique. L'augmentation du flux des acides gras dans le foie stimule la synthèse hépatique des TG, ce qui favorise l'assemblage de gros VLDL enrichies de TG et la production d'Apo B dans le foie. Ces conditions sont associées à l'hypertriglycéridémie et à un faible taux de HDL-C. Figure adaptée de Min-Woo Lee [247].

3.2.3 Dysfonction endothéliale chez les survivants de la LLA pédiatrique

L'endothélium vasculaire joue un rôle essentiel dans la régulation du tonus artériel, du flux sanguin, de l'inflammation et de la thrombose [248]. Les processus inflammatoires dans l'endothélium vasculaire font référence à l'expression de gènes pro-inflammatoires et de molécules d'adhésion cellulaire, ainsi qu'au recrutement, à la migration et à l'infiltration des cellules en circulation. Ces mécanismes, exacerbés par le SOx, sont au cœur de la physiopathologie des maladies vasculaires [249]. Les anthracyclines et la bléomycine, agents chimiothérapeutiques, augmentent la production de radicaux libres et induisent un SOx [181]. Si ce dernier persiste, il peut entraîner le découplage de la synthase de l'oxyde nitrique endothéliale (eNOS), générant des anions superoxydes plutôt que le NO nécessaire à la relaxation vasculaire, ce qui peut contribuer au développement de MCV chez les survivants d'un cancer pédiatrique [165,181,182,250]. Les résultats d'une étude pilote ont démontré que, malgré des similitudes dans les paramètres de santé cardiovasculaire (IMC, tension artérielle et forme physique), les survivants de LLA pédiatrique (n=16) avaient un indice d'hyperémie inférieur à celui de leur fratrie en santé (n=16), ce qui est un indicateur d'une mauvaise santé endothéliale [186]. Un dysfonctionnement endothélial a également été signalé chez les survivants à long terme de la LLA de l'enfant qui avaient une réponse globale réduite de la vasodilatation dépendante du flux de l'artère brachiale par rapport à des contrôles sains [251]. Dans ces études, l'hypothèse de l'effet toxique des agents chimiothérapeutiques (SOx et inflammation) sur l'endothélium a été émise, mais n'a pas été démontrée.

Le développement d'une dysfonction endothéliale et d'une MCV précoce peut être partiellement expliqué par l'exposition des cellules endothéliales aux acides gras libres, aux adipokines et aux

cytokines pro-inflammatoires [157,212]. Les cytokines inflammatoires peuvent altérer l'activation de la eNOS conduisant à un dysfonctionnement vasomoteur [212,248]. De plus, un volume de graisse viscérale plus élevé a été associé à une altération de la vasodilatation débit-dépendante [248,252,253]. Des études expérimentales et cliniques ont démontré que la dysfonction endothéliale peut précéder le développement de la résistance à l'insuline [212,254,255]. Il a été suggéré que les dommages causés à l'endothélium par les traitements du cancer contribuent à la progression des composantes du SM [15]. Chez l'animal et chez l'homme, il a été effectivement démontré que l'absence d'activité ou une activité réduite de l'enzyme eNOS est associée à la résistance à l'insuline [254-257]. Des souris déficientes en eNOS développent une résistance à l'insuline et des anomalies métaboliques, y compris un dysfonctionnement mitochondrial et des taux élevés de TG et d'acides gras libres en circulation [256,257]. Chez l'homme, des polymorphismes dans le gène *NOS3*, codant pour la eNOS, ont été associés à la résistance à l'insuline [254,255].

3.2.4 Dysfonctions endocriniennes chez les survivants de la LLA pédiatrique

Le contrôle homéostatique de l'équilibre énergétique est fortement régulé par un réseau neuronal complexe dans lequel l'hypothalamus joue un rôle clé grâce à sa connexion au tronc cérébral et à diverses régions du cerveau antérieur [258,259]. Le cancer et/ou ses traitements peuvent endommager l'axe hypothalamus-hypophyse et engendrer des déséquilibres dans l'hormone de croissance, les gonadotrophines (FSH et LH), l'hormone stimulant la thyroïde (TSH) et l'adrénocorticotropine (ACTH), ce qui se traduit par des complications cardiométaboliques [218]. L'hypothalamus et l'hypophyse sont particulièrement sensibles aux radiations, quoique l'impact de la chimiothérapie n'a pas été étudié de manière approfondie [218].

3.2.4.1 Récepteur de la leptine

Les dommages à l'hypothalamus ou la régulation négative des récepteurs hypothalamiques de la leptine peuvent entraîner une résistance centrale à la leptine. Dans une étude transversale réalisée chez des survivants de LLA pédiatrique (n=116), des rapports leptine : adiponectine plus élevés ont été associés à des mesures de graisse corporelle et de résistance à l'insuline [161]. Cette dernière a également été observée chez les sujets qui n'étaient pas en surpoids ou obèses,

mais n'était pas associée au ratio leptine : adiponectine [161]. Par conséquent, il a été proposé que pendant l'exercice et le repos, les survivants stockaient inadéquatement de l'énergie [161]. Dans une cohorte de survivants adultes de la LLA pédiatrique (n=1765) et par rapport à leurs frères et sœurs, l'exposition à de la RTC à des doses ≥ 20 Gy était associée à un risque accru d'obésité, en particulier pour les femmes traitées à un jeune âge [143]. Les auteurs ont suggéré que ces résultats étaient des conséquences d'une insulte induite par la RTC en fonction de l'âge et en lien avec l'axe hypothalamus-hypophyse, provoquant une insensibilité aux récepteurs de la leptine et/ou des carences en hormone de croissance [143]. Chez les enfants survivants de tumeurs solides malignes non cérébrales (n=139), 31,7 % d'entre eux présentaient au moins une anomalie endocrinienne, notamment l'hypogonadisme (11,5 %), l'hypothyroïdie (9,4 %), une petite taille (9,4 %), un déficit en hormone de croissance (8,6 %) et des composantes du SM (15,1 %) [169].

3.2.4.2 Hormone de croissance

L'hormone de croissance stimule la synthèse des protéines et contribue à la lipolyse. De plus, elle active la synthèse de l'hormone IGF-1 par le foie qui a des effets analogues à l'insuline. L'IGF-1 stimule entre autres la croissance des tissus, l'absorption du glucose par les tissus périphériques et la synthèse protéique [218]. La carence en hormone de croissance chez les enfants pré-pubères entraîne une diminution de la croissance. De surcroît, elle est associée à des changements dans la composition corporelle soit une masse maigre réduite et une masse grasse plus élevée, des caractéristiques anthropométriques associées à la dyslipidémie et à la résistance à l'insuline [218]. La carence en hormone de croissance causée par le traitement RTC est généralement permanente, tandis que la carence en hormone de croissance déclenchée par la chimiothérapie est temporaire [260]. Par conséquent, les enfants connaissent généralement une croissance de rattrapage à la fin du traitement de chimiothérapie [260]. Dans une étude rétrospective, 2 survivants de la LLA pédiatrique parmi 235 traités par chimiothérapie (sans RTC) ont eu besoin d'une thérapie de remplacement de l'hormone de croissance après avoir été diagnostiqués avec un retard de croissance et un déficit en hormone de croissance [260]. Dans une étude prospective italienne chez des survivants adultes du cancer pédiatrique [n = 340 ; diagnostics les plus courants : tumeurs hématologiques malignes (n = 227) et tumeurs cérébrales (n = 51)], une

relation directe a été rapportée entre la carence en hormone de croissance et un risque accru de dyslipidémie (hypercholestérolémie et hypertriglycéridémie) [172]. Selon une étude de Gurney et coll. (n = 75 survivants de LLA), une forte corrélation a été établie entre la RTC et une carence en hormone de croissance [144]. De plus, la carence en hormone de croissance était associée à un niveau inférieur d'IGF-1, la glycémie à jeun plus élevée, l'obésité abdominale et la dyslipidémie, en particulier chez les femmes [144]. Les auteurs d'une étude chez des survivants adultes de LLA pédiatrique ont suggéré que la déficience en hormone de croissance était sous-jacente au développement de la dyslipidémie chez les survivants ayant été traités avec la RTC, la relation entre la déficience en hormone de croissance et la RTC était co-linéaire [152]. Cependant, Follin et al. rapportent que la thérapie de remplacement de l'hormone de croissance pendant 12 mois (n = 18) et 24 mois (n = 13) n'a pas amélioré le profil lipidique post-traitement des survivants de LLA [261]. Inversement, d'autres facteurs de risque de MCV ont été améliorés après un traitement de 12 mois : il y a eu une diminution de la glycémie et de la masse grasse et une augmentation de la masse musculaire et maigre. De plus, le nombre de patients répondant aux critères du SM selon la définition de la FID était abaissé (6 vs. 1 après 12 mois) [261]. Dans d'autres travaux, il est mentionné qu'après 12 mois de remplacement physiologique de l'hormone de croissance, seules des améliorations mineures sont observées dans la composition corporelle, les profils lipidiques et la densité minérale osseuse chez les survivants adultes d'un cancer pédiatrique déficients en hormone de croissance (tumeur cérébrale et LLA) [262]. Les auteurs concluent que la carence en hormone de croissance n'est peut-être pas le facteur le plus important contribuant au profil lipidique défavorable et à la composition corporelle observés chez les survivants [262].

3.2.4.3 Hormone stimulant la thyroïde (THS) et gonadotrophine (FSH et LH)

L'orchidectomie, la radiothérapie ou la chimiothérapie peuvent diminuer les niveaux de testostérone et d'œstrogène, favorisant ainsi l'obésité centrale, la résistance à l'insuline et la dyslipidémie [158,218]. À cet égard, de faibles niveaux de testostérone ont été associés à une prévalence plus élevée du SM et à l'obésité viscérale, la résistance à l'insuline et la dyslipidémie chez les survivants du cancer de la prostate [263], de tumeur de Wilms [159] et de leucémie [15,264].

La radiothérapie locale de la tête et du cou peut provoquer une insuffisance de l'hormone thyroïdienne, une protéine importante pour la régulation des TG, du HDL-C et du glucose en relation avec le SM [218,265,266]. En fait, l'hypothyroïdie se manifeste principalement après une irradiation du cou dans le lymphome de Hodgkin et les cancers de la tête et du cou et après une irradiation corporelle totale dans les cancers hématologiques [218,267-270]. De plus, les agents alkylants ont été associés à l'hypothyroïdie dans les tumeurs malignes non cérébrales [169]. Une étude menée auprès de survivants de la LLA de l'enfant (n = 184) a identifié une tendance à un risque plus élevé de SM chez les patients atteints d'hypothyroïdie [15].

Malgré les preuves d'un dysfonctionnement endocrinien chez les survivants du cancer, les résultats de l'hormonothérapie substitutive sont mitigés dans leur impact sur les complications cardiométaboliques [261,262]. Ainsi, les dysfonctionnements endocriniens ne semblent représenter qu'une partie de l'équation dans le développement des complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique.

3.2.5 Génétique et épigénétique chez les survivants de la LLA pédiatrique

La génétique peut sans équivoque contribuer au développement de complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique. De plus, étant donné que les mécanismes épigénétiques sont très sensibles à l'environnement tels que la nutrition et les produits chimiques [271], ils peuvent être affectés par les traitements du cancer.

Le polymorphisme Gln223Arg du gène du *récepteur de la leptine (LEPR)* a été associé à l'obésité chez les femmes ayant survécu à la LLA pendant leur enfance (n = 600). Les femmes porteuses de ce polymorphisme et traitées avec de la RTC (≥ 20 Gy) étaient plus à risque d'avoir un IMC ≥ 25 kg/m² (OR : 6,1, IC à 95 % : 2,1-22,04) [184]. De plus, dans une étude d'association pangénomique réalisée dans une population de survivants du cancer pédiatrique (n = 1996 y compris n = 838 leucémie), des variantes génétiques liées à des gènes liés à la croissance, à la réparation et à la connectivité neuronales étaient associées à un risque accru d'obésité chez les survivants exposés à la RTC [272]. Les polymorphismes ont été identifiés à proximité ou à l'intérieur des 4 régions génomiques : *FAM155A*, *SOX11*, *CDH18* et *GLRA3*. Ces gènes sont impliqués dans la réparation et la connectivité neuronale. L'association la plus forte a été trouvée

pour un SNP situé près de la région du gène *FAM155A* qui est exprimé dans l'hypothalamus et l'hypophyse [272]. Dans le cadre de l'étude PETALE, le séquençage de l'exome entier a été effectué chez des survivants de LLA pédiatrique. Des variantes rares et communes dans les gènes *BAD* et *FCRL3* ont été corrélées avec le phénotype cardiométabolique extrême (≥ 3 facteurs de risque cardiométaboliques) tandis que d'autres variantes communes et rares (*OGFOD3* et *APOB* communes, *BAD* rares et communes et variantes *SERPINA6* communes) étaient associées à la dyslipidémie, l'obésité et la résistance à l'insuline [273]. *BAD* est un gène qui code pour une protéine membre de la famille des protéines Bcl-2 proapoptotiques. Ces protéines, en réponse à l'activation par l'hypoxie, les ERO, le retrait des nutriments ou les dommages à l'ADN, créent des pores dans la membrane mitochondriale à travers lesquels le cytochrome peut être libéré, entraînant la mort cellulaire [273]. Le gène *FCRL3*, pour sa part, code pour une protéine ayant un rôle dans la régulation immunitaire et qui peut contribuer au processus inflammatoire [273]. Aucune fonction précise n'a été rapportée pour le gène *OGFOD3* dans la littérature, mais dans cette étude, il a été associé au terme ontologique de gène 2-oxoglutarate et à la protéine 3 contenant un domaine d'oxygénase dépendant du fer. La variante *SERPINA6* quant à elle a déjà été associée à des taux plasmatiques de cortisol [273].

De nombreuses modifications épigénétiques surviennent dans le cadre du processus normal de vieillissement cellulaire. Globalement, les profils de méthylation globale de l'ADN, de la méthylation spécifique de certains gènes et de méthylation des histones sont altérés lors du processus de vieillissement normal [274]. L'exposition à des agents chimiothérapeutiques couramment utilisés pour traiter entre autres la LLA induit une hyperméthylation de l'ADN dans les cellules cancéreuses [275]. Ceux-ci incluent l'étoposide (inhibiteur de la topoisomérase II), la doxorubicine (anthracycline), la vincristine (inhibiteur de microtubule), le cytarabine et le méthotrexate (antimétabolites) [275]. Bien que ces agents chimiothérapeutiques soient efficaces pour endommager les cellules cancéreuses, ils induisent également une hyperméthylation de l'ADN des cellules normales et peuvent accélérer le processus de vieillissement [274]. Très peu d'études ont encore démontré le lien entre l'accélération du processus normal de vieillissement cellulaire par méthylation de l'ADN chez les survivants du cancer et pendant les traitements contre le cancer. D'autres médicaments sont plutôt des agents hypométhylants de l'ADN, mais

qui ne sont pas utilisés dans le traitement de la LLA [276]. Une étude portant sur 44 survivants adultes du cancer pédiatrique, principalement composé de LLA, de LMA et de lymphome de Hodgkin et non hodgkinien [non irradié, n = 30, irradiation corporelle totale (ICT)/GCSH, n = 14] a été conçue pour examiner la présence d'altérations immunitaires de longue durée [277]. Les résultats ont démontré que plus de 10 ans après les traitements, les survivants traités par ICT/GCSH avaient des profils de méthylation de l'ADN altérés dans leurs cellules T, en particulier dans les gènes contrôlant les processus immunitaires et inflammatoires et le SOx [277]. Dans cette étude, une analyse de l'ontologie de gènes (GO) a été réalisée sur 419 gènes contenant des cytosines méthylées différemment. Des enrichissements pour les termes GO liés au SOx (15/77 termes GO) et aux processus immunitaires (21/77 termes GO) ont été identifiés, comprenant des gènes liés à la régulation positive et négative de la production de cytokines. Une méthylation différentielle a également été observée au niveau des microARN (miARN), y compris le miR-124 qui est lié à la polarisation et à l'inflammation des lymphocytes T. Étant donné que l'inflammation et le SOx sont associés au vieillissement cellulaire, l'âge biologique a été évalué en utilisant la méthode Epigenetic-Aging-Signature. Les auteurs ont constaté que les deux groupes de survivants avaient un âge biologique prévisible plus élevé que leur âge chronologique, le groupe qui avait été traité par ICT/GCSH présentant un âge biologique prévisible plus élevé [277].

Bien que limités, les résultats rapportés jusqu'à présent sont prometteurs quant au rôle de ce mécanisme dans le développement de complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer. De toute évidence, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour renforcer notre compréhension du rôle du vieillissement cellulaire prématuré chez les survivants du cancer.

4 Nutrition et complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique

De mauvaises habitudes alimentaires et d'hygiène de vie sont des facteurs importants qui contribuent au développement de complications cardiométaboliques dans la population générale [25-27]. Inversement, de saines habitudes alimentaires peuvent protéger contre le développement de la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et l'hypertension [28-32]. Toutefois, à ce jour, peu d'études ont évalué la relation entre l'état nutritionnel et l'alimentation et les complications cardiométaboliques spécifiquement chez les survivants de cancer pédiatrique.

L'évaluation de l'alimentation peut se faire de différentes façons. D'abord, les apports de nutriments, soient les macronutriments (protéines, glucides, lipides) et les micronutriments (p. ex. vitamine D, calcium), peuvent être étudiés quantitativement de façon isolée. Toutefois, dans la diète, les nutriments sont consommés en combinaison les uns avec les autres. Ainsi, les habitudes alimentaires peuvent aussi être analysées par l'identification de schémas alimentaires (ex. diète « occidentale », diète méditerranéenne) ou de scores alimentaires [ex. *Mediterranean Diet Quality Index for Children and Adolescents* (KIDMED) [278], *Health Eating Index* (HEI) [278], *Dietary Inflammatory Index* (DII) [279]. Ces analyses permettent de considérer l'ensemble du contenu des aliments, la composition et la variété de la diète et les interactions complexes entre les aliments et les nutriments [280,281].

4.1 État nutritionnel des survivants de cancer pédiatrique : carences en macro- et micronutriments

Plusieurs des études ayant évalué le statut nutritionnel chez les survivants de cancer pédiatrique ont porté sur la vitamine D, cela souvent en lien avec la santé osseuse. Le statut en vitamine D a été évalué entre autres dans deux études, la première chez des survivants de la LLA pédiatrique et la deuxième chez des survivants de différentes formes de cancer pédiatrique. Une proportion importante (53%) du groupe de survivants de la LLA pédiatrique présentait une insuffisance en vitamine D (concentration sérique 25(OH)D entre 37,5 et 50 nmol/L) et 12 % de la cohorte

présentait une carence en vitamine D (<37,5 nmol/L) [282]. Dans la cohorte de survivants de différentes formes de cancer pédiatrique, une plus grande proportion (25 %) présentait une carence en vitamine D alors que 23 % présentait une insuffisance en vitamine D [283]. De plus en plus de données obtenues au sein de populations diverses supportent que la carence en vitamine D soit reliée au développement de MCV [284] et le DT2 [285]. Les concentrations de 25(OH)D ont aussi été corrélées négativement avec l'HOMA-IR, l'hyperinsulinémie et positivement avec le taux de HDL-C dans une population de femmes adultes avec un syndrome des ovaires polykystiques [286]. Chez des femmes obèses et non-obèses, les concentrations de 25(OH)D ont été inversement associées à l'IMC, au tour de taille et l'hypertension [287]. Il est à noter, que les femmes auxquelles un SM avait été identifié, les concentrations de 25(OH)D les plus faibles étaient liées à un risque plus élevé d'hypertension, d'hyperglycémie et de DT2 [287]. Des études sont nécessaires pour valider de telles associations entre les niveaux de vitamine D et les complications cardiométaboliques dans une population de survivants de cancer pédiatrique.

À part les investigations portant sur l'état nutritionnel lié à la composition corporelle et le statut en vitamine D, il n'existe que très peu d'études visant l'état nutritionnel des survivants de la LLA pédiatrique. Une étude a évalué le statut en vitamine E sérique, vitamine B12 et acide folique chez des enfants survivants de LLA âgés entre 5 à 18 ans, ayant reçu de la chimiothérapie à base de vincristine et présentant ou non une neuropathie [288]. Aucune carence en vitamine E n'a été observée pour l'ensemble de la cohorte (n=80). Par contre, 9 enfants (11%) présentaient une carence en acide folique alors que 25 enfants (31%) présentaient une carence en vitamine B12. La présence des carences en ces micronutriments n'était pas différente chez les enfants avec ou sans neuropathie [288].

L'état nutritionnel durant la période des traitements du cancer pédiatrique est à considérer comme facteur de risque pour le développement de complications cardiométaboliques à l'âge adulte. Au début des années 90, Barker et Hales ont proposé que les carences nutritionnelles pendant la période de plasticité du développement (pré et postnatale) puissent entraîner un phénotype de SM plus tard dans la vie [289,290]. Ce concept a été initialement établi chez les nourrissons de très faible poids à la naissance [290]. Oudin et coll. ont suggéré que ce mécanisme pourrait être applicable aux survivants du cancer pédiatrique, car ils souffrent souvent de

malnutrition pendant la période de traitement, ce qui coïncide à des phases importantes de développement [15]. Cette hypothèse, cependant, n'a pas encore été validée dans les populations de survivants du cancer.

4.2 Apports alimentaires et adhérence aux recommandations nutritionnelles des survivants de la LLA pédiatrique

Comme la population générale, les survivants de LLA pédiatrique respectent peu les recommandations nutritionnelles [185,291]. Ainsi, on peut comprendre la relation observée entre une nutrition inadéquate et le risque accru de développer des séquelles à long terme chez les survivants de LLA [183,185,292], tandis que l'inclusion de nutriments ou de régimes alimentaires spécifiques s'est révélée protectrice [183,292].

Robien et coll. ont évalué l'apport alimentaire habituel de 72 survivants de la LLA pédiatrique (âge moyen : 29,9 ans) en les comparant à plusieurs lignes directrices : les recommandations 2007 du Fonds mondial de recherche contre le cancer/Institut américain de recherche sur le cancer (WCRF/AICR) en matière de prévention du cancer, le régime DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) et du guide alimentaire 2005 du ministère de l'Agriculture des États-Unis (USDA). Dans cette étude, les survivants de la LLA pédiatrique avaient des apports excessifs en sodium et en sucre mais insuffisants en céréales à grains entiers, selon les recommandations du WCRF/AICR pour la prévention du cancer [185]. Seulement la moitié des participants consommait un minimum de 5 fruits et légumes par jour et $\leq 30\%$ de l'apport énergétique total en matières grasses, comme le recommandent le régime DASH et le guide alimentaire de l'USDA [185]. Ainsi, les apports alimentaires habituels de plusieurs survivants de LLA pédiatrique ne sont pas en accord avec les recommandations visant à réduire leur risque d'obésité, de MCV et des composantes du SM [185]. Des observations similaires ont été faites chez 164 survivants de la LLA pédiatrique (âge médian : 20,5 ans). Les apports en produits laitiers, fruits, légumes et céréales à grains entiers étaient inférieurs à ceux recommandés par le guide alimentaire de l'USDA, tandis que l'apport énergétique fourni par les sucreries était, en moyenne, 70% supérieur aux recommandations [291]. De plus, moins de 30% des participants rencontraient les apports

nutritionnels recommandés (ANR) en vitamine D, calcium, potassium ou magnésium et cela à tout âge [291].

Une mauvaise adhérence aux recommandations nutritionnelles a aussi été observée chez des enfants survivants de cancers pédiatriques (50 % de LLA) âgés de moins de 13 ans et en rémission depuis moins de 5 ans [293]. Vingt pour cent des enfants participant à cette étude étaient en surpoids ou obèses et 54 % consommaient plus que leurs besoins énergétiques estimés. De plus, 50%, 32 % et 44 % des enfants ne répondaient pas aux besoins en folate, calcium et fer respectivement [293]. Dans un autre groupe de jeunes survivants de la LLA (âge médian= 11,7 ans), aucun des survivants ne respectaient les ANR en matière de fibres alimentaires et de potassium [294]. Seuls 4 %, 19 %, 24 % et 29 % avaient respecté les recommandations concernant la consommation de vitamine D, de sodium, de calcium et de graisses saturées, respectivement. Les apports moyens, par rapport aux apports recommandés, étaient de 32 % pour la vitamine D, 50 % pour le potassium, 63 % pour les fibres et 85 % pour le calcium, mais était de 115 % pour les graisses saturées et 143 % pour le sodium [294].

Dans une cohorte suisse de survivants adultes de cancers pédiatriques, principalement de leucémie, lymphome et de tumeur du système nerveux central, les habitudes alimentaires des participants étaient similaires à celles de leurs frères et sœurs et de la population générale [295]. Cependant, tout comme la population générale, un pourcentage élevé des survivants n'adhérait pas aux recommandations de la Société Suisse de Nutrition pour les apports de fruits (66 %), légumes (89 %), viande (57 %), poisson (70 %) et produits laitiers (82 %) [295]. Semblablement, sur la base d'un système de pointage de 9 points mesurant le respect des directives de la Société américaine du cancer en matière d'alimentation saine (consommation de fruits et légumes, de céréales complètes et de viande rouge et transformée), les survivants de cancers pédiatriques (n=431) n'adhéraient pas à des comportements plus sains par rapport à des contrôles d'un même groupe d'âge et n'ayant pas eu de cancer (n=361) [296]. Seuls 20 survivants (4,8 %) adhéraient totalement aux recommandations. Moins d'un quart respectait les recommandations en matière de fibres (10,2 %) ou consommaient au moins 5 fruits et légumes par jour (17,7 %), tandis que moins de la moitié (46,2 %) respectait les recommandations en matière de viande rouge et transformée (< 510 g par semaine) [296].

En bref, les survivants de cancer pédiatrique ne s'alimentent guère mieux que la population générale malgré leur risque accru de développer des complications cardiométaboliques.

4.3 Qualité de l'alimentation des survivants de la LLA pédiatrique

Dans la population générale, un régime alimentaire typiquement occidental, caractérisé par une consommation plus importante d'aliments frits et de boissons sucrées, a été associé à l'incidence des composantes du SM et de l'athérosclérose [25-27]. Inversement, les régimes à base de plantes et de céréales à grains entiers peuvent protéger contre la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et l'hypertension [28-32]. De même, plusieurs micronutriments clés (polyphénols, vitamines et minéraux : par exemple les vitamines A, C, E et le sélénium) présentent des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes [28,297]. L'adhésion à une diète méditerranéenne améliore la capacité d'efflux du cholestérol des HDL, le statut antioxydant et la capacité vasoprotectrice dans la population générale [298]. De plus, des associations ont été constatées entre l'apport en folate et en magnésium et HDL-C, HDL₂, HDL₃ et Apo AI [299]. Malgré cela, juste quelques études ont mesuré les liens entre la qualité de l'alimentation et le développement de complications cardiométaboliques chez les survivants de LLA pédiatrique.

Le régime méditerranéen a été associé à une réduction de l'incidence de plusieurs maladies chroniques parmi la population non cancéreuse telles que l'obésité, le DT2, le SM et les MCV [300-303]. Chez les survivants de LLA pédiatrique (n=117 ; âge médian : 23 ans), une plus grande adhésion à une diète méditerranéenne a été associée à la baisse de l'adiposité viscérale, de l'adiposité sous-cutanée, du tour de taille et de l'IMC [183]. La diète méditerranéenne se caractérise par une consommation élevée d'une variété de céréales à grains entiers non transformés ou peu transformés, de fruits, de légumes, de poisson et de légumineuses, une consommation régulière de fruits secs, de noix, de graines et de miel, une faible consommation de viande et de produits laitiers et une quantité modérée d'alcool. La principale source de matières grasses dans ce régime est l'huile d'olive extra-vierge.

Une moins bonne qualité de l'alimentation, mesurée avec l'indice de saine alimentation-2005 (HEI-2005), un score qui évalue l'alimentation globale selon les lignes directrices américaines de 2005 [304], a été associée à une plus grande masse grasse chez les survivants d'un cancer

pédiatrique [292]. Par contre les participants de cette étude avaient un régime alimentaire similaire à celui de leurs frères et sœurs. Aucune différence marquée n'a été constatée dans les apports caloriques quotidiens moyens (98% contre 100% des apports recommandés) ou dans les scores moyens du HEI-2015 (55,5 contre 53,3). Les deux groupes ont obtenu un moins bon pointage pour la consommation de légumes vert foncé et de céréales complètes. Il est à noter que le score HEI-2005 moyen des survivants exposés à la RTC était plus faible que chez ceux n'ayant pas été exposés à la RTC [292].

Dans un groupe de 22 enfants (âge médian = 11,7 ans) survivants de la LLA, la moyenne de l'indice HEI-2010, une version actualisée du score HEI-2005, était de 52,7, soit environ 50 % de l'indice maximum. Les survivants, diagnostiqués depuis 10 ans ou plus, avaient un indice HEI-2010 plus faible que ceux qui avaient reçu leur diagnostic depuis moins de 5 ans. Le score HEI consiste à l'addition de pointages individuelles alloués à 13 groupes d'aliments, sur la base d'un apport minimal ou maximal selon le groupe. Parmi les composantes individuelles, les fruits, les légumes, les légumes verts et les haricots, les fruits de mer et les protéines végétales, les acides gras et le sodium ont obtenu moins de 50 % des pointages maximaux, ce qui suggère une faible adhésion des enfants aux lignes directrices américaines de 2010 pour ces composantes [294].

4.4 Évaluation des apports alimentaires

Les questionnaires de fréquence alimentaire (QFA), les journaux alimentaires et les rappels de 24 h sont des outils qui peuvent être utilisés pour estimer la consommation alimentaire individuelle. Ces outils ont des limites et sont sujets à des erreurs de mesure et à des biais. La quantification d'apports alimentaires précis à l'aide des QFA exige des répondants d'accomplir des tâches cognitives complexes et difficiles (p. ex. mémoire et abstractions/estimation de moyennes dans le temps) [305] et demande du temps pour les compléter. Pour ces raisons, le processus de collecte de données alimentaires peut générer un désintérêt chez les participants. Il convient de considérer ces difficultés dans l'étude des apports alimentaires et plus particulièrement chez les enfants et les adolescents [306,307]. De plus, comme les QFA sont limités par le contenu des listes d'aliments, ils doivent être adaptés aux objectifs de l'étude et aux populations à l'étude. D'autre part, les journaux alimentaires auto-déclarés peuvent être

incomplets ou manquer de détails sur les quantités ou les types d'aliments consommés. Un participant peut modifier son régime alimentaire pour simplifier la tâche ou peut déclarer ce qui est, selon lui, un régime idéal (biais de désirabilité). Un faible taux de réponse peut également poser un problème. Les QFA administrés par un intervieweur garantissent la réponse du participant, mais prennent beaucoup de temps, tant pour le participant que pour l'intervieweur. L'intervieweur peut également aider le participant à quantifier les apports. Les QFA sont des outils courants pour estimer la consommation alimentaire habituelle et sont utilisés dans les études épidémiologiques pour étudier les associations entre le régime alimentaire et les maladies [308].

4.5 Activité physique

Le niveau de l'activité physique est une covariable importante à considérer dans l'évaluation de la relation de la nutrition et les complications cardiométaboliques. Dans la population générale, la pratique d'activité physique et le maintien d'une bonne forme cardiorespiratoire et musculaire réduisent le risque de développer des complications cardiométaboliques [309-311]. De plus, le niveau d'activité physique modérées à vigoureuses a été inversement associé à la présence de complications cardiométaboliques chez de jeunes adultes [312]. Ainsi, l'association entre la forme cardiorespiratoire, les niveaux d'activité physique et les résultats cardiométaboliques a été évaluée au sein de la cohorte PETALE (survivants de la LLA pédiatrique; n = 247). Il a été démontré qu'une bonne forme cardiorespiratoire était associée à une prévalence plus faible de l'obésité et à un faible taux de HDL-cholestérol [313]. Dans une autre cohorte de moindre envergure (n = 21, âge médian : 21,5 ans), les survivants de la LLA pédiatrique avaient une moins bonne forme physique (mesurée avec VO_{2peak}) que les contrôles sains appariés par âge et par sexe [12]. Plusieurs agents de chimiothérapie peuvent endommager les organes, ce qui peut limiter à long terme la capacité des survivants du cancer à pratiquer des activités physiques. Entre autres, la vincristine est associée au développement de neuropathies périphériques [10,12] qui peut réduire la force musculaire et altérer l'équilibre. Les anthracyclines sont associées à une cardiotoxicité à long terme (dysfonction ventriculaire et arythmie) [11] et la cyclophosphamide à une fonction pulmonaire réduite [12,314], ce qui entraîne une altération de la capacité cardiovasculaire.

Pendant le traitement du cancer, les enfants sont beaucoup plus inactifs que leurs pairs [12], ce qui nuit au développement de leur musculature et à leur capacité à faire de l'activité physique [12]. Chez 19 survivants d'un neuroblastome (âge médian : 22 ans), les composantes d'une santé fragile (faible masse maigre, faible volume d'activité physique, faiblesse et lenteur) ont été plus fréquemment observées que dans un groupe contrôle sans historique de cancer (50 % contre 0 %) [315]. Dans une étude transversale, les survivants de la LLA pédiatrique (n = 365 ; âge médian : 28,5 ans, intervalle : 24-32) avaient une masse maigre et un pourcentage de masse maigre inférieurs à ceux des contrôles appariés en fonction de l'ethnie, de l'âge et du sexe. Dans cette étude, la masse maigre était associée aux apports en protéines, à l'entraînement en résistance et à la pratique régulière d'activité physique tant chez les survivants que chez les contrôles [316].

5 Microbiote intestinal, endotoxémie métabolique et complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer pédiatrique

5.1 Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal, avec ses 10^{14} microorganismes composés de 3 millions de gènes, est essentiel au fonctionnement normal de l'organisme. Plus de 1000 espèces ont été identifiées dans l'intestin à l'aide de techniques génétiques [103]. Un tiers du microbiote intestinal est commun à la plupart des individus tandis que les deux autres tiers sont spécifiques aux individus, façonnant une sorte d'empreinte digitale. Actuellement, le microbiote intestinal est considéré comme un organe en soi, qui vit en symbiose avec son hôte et remplit diverses fonctions, notamment la digestion de substrats non digérés, fournissant jusqu'à 10 % des besoins énergétiques [103,317], la mise en place et la maturation du système immunitaire [318,319], la préservation de la barrière muqueuse de l'intestin, la production de certaines vitamines (B et K) et la protection contre les micro-organismes pathogènes [103,320]. Au cours de la dernière décennie, il a été constaté que le microbiote intestinal exerce une influence significative sur l'homéostasie épithéliale ainsi que sur un grand nombre de maladies intestinales et extra-intestinales. En particulier, la dysbiose est associée à plusieurs troubles cardiométaboliques. L'effet du microbiote intestinal sur les complications cardiométaboliques, telles que le diabète et l'obésité seraient médiés par une interaction de plusieurs communautés bactériennes qui ensemble créent un réseau fonctionnel [103].

Des facteurs exogènes et endogènes déstabilisateurs provoquent des variations du microbiote intestinal par une altération de sa diversité et de sa composition, provoquant l'expansion de taxons (tel famille, genre ou espèce) bactériens délétères. Les modifications du microbiote intestinal peuvent être induites par des changements alimentaires, des agents chimiques (par exemple des médicaments incluant les antibiotiques) [321-325], le système immunitaire [326], le péristaltisme gastro-intestinal dysfonctionnel [327], la génération de SOx [328], la présence de

bactériophages [329] et même le stress psychologique [329]. Les actions combinées de facteurs distincts exacerbent la modulation du microbiote, favorisant des états pathologiques.

De grands changements dans le ratio entre les phyla du microbiote intestinal ou l'expansion de nouveaux groupes bactériens conduisent à un déséquilibre favorisant la maladie, appelé dysbiose. Il a été rapporté que la chimiothérapie utilisée dans le traitement du cancer modifie la composition et la diversité du microbiote intestinal [321-325]. La diversité du microbiote peut aussi être affectée par la radiothérapie abdominale et pelvienne [330,331]. Néanmoins, très peu d'études ont évalué si ces changements se perpétuent dans le temps [180,330-332]. Il a été proposé que les altérations du microbiote intestinal qui se produisent pendant le traitement pourraient avoir un impact sur la santé cardiométabolique longtemps après la fin des traitements contre le cancer [333,334]. Le but de la section suivante est de passer en revue les quelques études portant sur la dysbiose intestinale à différents moments de la chimiothérapie du cancer pédiatrique jusqu'à la survie.

5.2 Microbiote intestinal pendant et après le cancer chez l'enfant

Très peu d'études sur le microbiote intestinal pendant et après le traitement du cancer chez l'enfant ont été publiées [180,321,323,332]. Néanmoins, toutes les études publiées à ce jour ont confirmé que les traitements contre le cancer, principalement la chimiothérapie, étaient associés à un déséquilibre ou une dysbiose intestinale pendant et après les traitements [180,321,323,332]. Il a été proposé que non seulement les effets bactériostatiques/bactéricides directs des agents chimiothérapeutiques puissent moduler le microbiote, mais que leurs actions immunosuppressives sévères pourraient également affecter la régulation immunologique de la croissance bactérienne [335]. Cependant, la plupart des enfants cancéreux reçoivent une combinaison d'agents chimiothérapeutiques et d'antibiotiques à large spectre comme traitement prophylactique ou thérapeutique. Il est donc difficile de déterminer avec précision l'impact des différents agents de chimiothérapie et des antibiotiques sur la dysbiose intestinale. De plus, le microbiote altéré par les antibiotiques peut ne pas retrouver son phénotype d'origine après la fin du traitement [211,336]. Jusqu'à présent, il est difficile de déterminer si les changements observés dans le microbiote intestinal sont un facteur causal du cancer lui-même plutôt que la

conséquence unique des traitements [337,338]. Les quelques études qui ont caractérisé la dysbiose intestinale sur l'échelle de temps en relation avec le cancer pédiatrique ont été réalisées (1) au diagnostic du cancer ; (2) pendant les traitements de chimiothérapie ; et (3) au cours de la survie (**Tableau 7**).

5.2.1 Composition du microbiote intestinal au diagnostic du cancer

À ce jour, une seule étude a évalué la composition du microbiote intestinal chez des patients atteints de LLA pédiatrique au moment du diagnostic (n = 28, âge médian : 9,9 ans) [339]. Avant toute chimiothérapie et par rapport à leurs frères et sœurs en santé, il a été constaté une diversité bactérienne plus faible, accompagnée d'une abondance relative réduite de *Lachnospiraceae* (qui comprend les groupes *Clostridium* XIVa et IV) et *Roseburia* dans le groupe LLA. Par contre, les deux groupes étaient dominés par les *Bacteroides*, *Prevotella* et *Faecalibacterium* et partageaient de nombreux taxons [339]. La diversité du microbiote s'est accrue après le début de la chimiothérapie en comparaison avec le profil au moment du diagnostic. Malheureusement, aucune donnée n'est disponible sur le profil du microbiote après la fin du traitement de chimiothérapie [339].

5.2.2 Composition du microbiote intestinal durant les traitements de chimiothérapie

Dans une étude portant sur 9 enfants atteints de LMA, des échantillons de matières fécales ont été prélevés au cours de 4 cycles de chimiothérapie consécutifs sur 36 cycles [323]. Un échantillon supplémentaire a été prélevé au moins 6 semaines après la fin des traitements. À des fins de comparaison, 11 échantillons provenant d'un seul contrôle sain ont été recueillis sur une période de deux mois. Tous les patients avaient reçu des antibiotiques à la fois pour la prophylaxie et la gestion de la neutropénie fébrile [323]. Les traitements de chimiothérapie et antibiothérapie ont entraîné une diminution importante des bactéries anaérobies qui a été en partie compensée par une augmentation des entérocoques potentiellement pathogènes [323]. De plus, à tous les points dans le temps durant le traitement, la biomasse de bactéries par gramme de matières fécales sèches était 100 fois inférieure à celle du contrôle sain. Il a été suggéré que les antibiotiques ne pouvaient pas expliquer à eux seuls la diminution observée des bactéries anaérobies pendant le

traitement. Avant un nouveau traitement de chimiothérapie, la diversité bactérienne était partiellement rétablie, mais elle diminuait à nouveau après le cycle suivant même si la prophylaxie antibiotique était maintenue entre les cycles de chimiothérapie [323]. Dans les échantillons prélevés pendant le traitement et par rapport au contrôle sain, l'abondance de quatre groupes de bactéries anaérobies était plus faible : les espèces *Bacteroides*, *Clostridium* cluster XIVa, *Faecalibacterium* (*F. prausnitzii*) et *Bifidobacterium*. Le nombre total de *Bacteroides* et *Bifidobacterium* était encore nettement inférieur à celui du contrôle sain, six semaines après la fin de la chimiothérapie, alors qu'une récupération a été observée pour le *Clostridium* cluster XIVa et le *Faecalibacterium prausnitzii* [323]. En bref, la diversité microbienne intestinale était diminuée pendant les traitements et l'équilibre entre les bactéries aérobies et anaérobies était perturbé en faveur des cocci aérobies à Gram positif potentiellement pathogènes [323]. Des expériences *in vitro* dans la même étude ont confirmé un effet bactériostatique direct des agents chimiothérapeutiques daunorubicine, étoposide et cytarabine [323].

Chez des patients adultes atteints d'un lymphome non hodgkinien (n = 8 ; âge moyen : 50,5 ans) après avoir reçu une série de traitements de conditionnement pour la GCSH, on a constaté une diminution de la diversité alpha, définie comme la richesse en espèces ou le nombre d'espèces différentes dans un échantillon [325]. Parallèlement, une réduction importante de *Faecalibacterium* et une augmentation de l'abondance d'*Escherichia* ont été observées [325].

De même dans un groupe de 17 personnes adultes (âge moyen : 59 ans) ayant reçu une chimiothérapie avec ou sans antibiotiques concomitants, les *Bacteroides* ont été très peu affectés par les traitements, mais les *Clostridium* des groupes IV et XIVa se sont avérés sensibles à la chimiothérapie et aux antibiotiques [324]. Dans une autre étude chez 28 patients atteints de lymphome non hodgkinien (âge médian : 55 ans), l'abondance de Firmicutes (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*) et d'Actinobacteria (*Bifidobacterium*) était diminuée, tandis que la richesse des Proteobacteria (*Enterococcaceae* et *Enterobacteriaceae*) était amplifiée après chimiothérapie (sans antibiotiques) [322]. Contrairement à d'autres études, les *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* et *Escherichia coli* avaient diminué chez les patients LLA (n = 36, âge moyen : 6,1 ans) suite à l'analyse d'échantillons de selles prélevés trois jours après la fin d'un cycle de méthotrexate à forte dose, par rapport aux niveaux trouvés avant le traitement [321]. Toutefois, une récupération partielle

du contenu de ces bactéries sept jours après la fin du traitement au méthotrexate a été constatée, à l'exception d'*E. Coli* qui avait dépassé ses niveaux initiaux [321]. En outre, la biomasse bactérienne mesurée dans les selles, un jour avant le début du traitement au méthotrexate à forte dose, était inférieure de 29,6 % par rapport aux échantillons provenant d'enfants en bonne santé (n = 36 ; âge moyen : 5,8 ans) [321]. Chez 43 patients adultes (âge moyen : 61 ans) ayant un cancer colorectal (âge moyen : 61,0 ans) et ayant subi une chirurgie radicale combinée à une chimiothérapie adjuvante, après 5 cycles de chimiothérapie, il n'y avait aucune différence significative dans la diversité et la composition du microbiote par rapport au pré traitement [340]. Néanmoins, le rapport entre les *Bacteroidetes* aux *Firmicutes* avait augmenté et les *Bacteroidetes* à Gram négatif étaient plus abondants après la chimiothérapie, entraînant un changement dans le rapport des bactéries à Gram positif et à Gram négatif [340].

Des modèles d'animaux non cancéreux ont également été utilisés pour étudier le mode par lequel les agents chimiothérapeutiques (spécifiquement le méthotrexate) affectent le microbiote intestinal et la muqueuse gastro-intestinale [341,342]. Dans un modèle de rats, 4 à 6 jours après le traitement au méthotrexate, la diversité du microbiote intestinal et un certain nombre de bactéries fécales étaient diminués, tandis que des bactéries potentiellement entéropathogènes (*Bacteroides*, *Enterococci* et *Enterobacteriaceae*) avaient augmenté [341].

5.2.3 Composition du microbiote intestinal après les traitements de chimiothérapie et chez les survivants

À notre connaissance, seules deux études ont analysé le profil du microbiote intestinal des enfants et des AJA survivants du cancer. Elles ont observé que la dysbiose intestinale persistait après la fin des traitements contre le cancer [180,332]. Dans la première étude, 73 survivants adultes de la LLA pédiatrique (âge médian : 23 ans) présentaient une diversité microbienne inférieure à celle des contrôles sains d'après les mesures de la diversité alpha obtenus à partir d'échantillons de frottis anal [180]. Les auteurs ont montré que les survivants de la LLA partageaient les mêmes caractéristiques de la dysbiose microbienne que les personnes atteintes de maladies chroniques telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, qui se caractérisaient par une plus faible abondance de *Faecalicabacterium*, *Ruminococaceae* et *Lachnospiraceae* [180].

En plus des différences observées dans les communautés bactériennes, les gènes liés aux voies fonctionnelles du métabolisme des purines, de la réparation de l'ADN et du métabolisme des protéines recombinantes et du tryptophane se sont révélés plus abondants dans le microbiome des survivants. Inversement, les gènes associés à la motilité, la sporulation et la chimiotaxie bactérienne étaient moins abondants que chez les contrôles [180]. Ces résultats reflètent les altérations de différentes voies fonctionnelles du microbiote intestinal chez les survivants. Dans la seconde étude, la diversité microbienne fécale a été examinée chez 13 survivants du lymphome hodgkinien et leurs 13 jumeaux non affectés (âge moyen : 29 ans) [332]. Si les différences de diversité microbienne étaient modestes, les survivants du lymphome hodgkinien avaient moins d'unités taxonomiques opérationnelles (OTU) uniques que leurs jumeaux-contrôles. Toutefois, cette différence ne s'est pas avérée statistiquement significative lorsqu'une analyse conservatrice a été réalisée (impliquant le rejet des OTU rares) [332].

Ces quelques études ont certainement montré que la dysbiose intestinale est présente à différents moments pendant ou après les traitements du cancer. Cependant, l'impact de divers agents chimiothérapeutiques et antibiotiques sur le microbiote intestinal est encore mal connu. À cet égard, des études supplémentaires sont nécessaires pour clarifier le rôle de chaque agent chimiothérapeutique et des antibiotiques dans la dysbiose intestinale. Néanmoins, on ne dispose pas de données suffisantes pour déterminer si la modification du microbiote se perpétue à long terme chez les survivants du cancer pédiatrique. Il est mandataire de lancer des études afin d'examiner le profil du microbiote intestinal chez les patients nouvellement diagnostiqués, à différents moments au cours des traitements et après la fin du traitement dans une perspective à long terme.

Tableau 7. – Microbiote intestinal durant et après la chimiothérapie

Type de cancer	Participants	Chimiothérapie	Utilisations d'antibiotiques prophylactiques et/ou thérapeutiques	Calendrier de la collecte des échantillons	Impact sur la diversité des microbiotes intestinaux	Impact sur l'abondance bactérienne	Réf.
LLA	<p>Patients atteints de cancer n=28</p> <p>Fratrie en bonne santé n=23</p>	Protocole de traitement de leucémie : induction, consolidation et entretien	Sulfaméthoxazole et triméthoprim en prophylaxie	<p>Échantillons de matières fécales collectés:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Au moment du diagnostic avant que le patient reçoive la CT 2. Durant la CT (à l'induction, la consolidation et l'entretien) 3. Un seul échantillon chez la fratrie 	<p><u>Patients (au diagnostic) vs fratrie</u></p> <p>Plus faible diversité du microbiote chez les patients</p> <p><u>Patients en cours de CT vs avant la CT</u></p> <p>La diversité du microbiote a augmenté au cours de la CT</p>	<p><u>Patients (au diagnostic) vs fratrie</u></p> <p>Abondance plus faible</p> <p><i>Anaerostipes, Coprococcus, Roseburia, Ruminococcus</i> et Lachnospiraceae (inclus les groupes <i>Clostridium</i> XIVa et IV)</p>	[339]
LMA	<p>Patients atteints de cancer n=9</p> <p>Témoins en bonne santé n=1</p>	Protocole de traitement AML-97 du groupe «Dutch Childhood Oncology» (36 cycles de CT, doses élevées de cytarabine, daunorubicine, et étoposide; amsacrine)	<p>Tous les patients ont reçu des antibiotiques prophylactiques:</p> <p>Colistine, néomycine et amphotéricine B par voie orale ou avec ciprofloxacine et itraconazol</p>	<p>Échantillons de matières fécales collectés:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Durant 4 cycles de CT consécutifs Pendant 4 cycles consécutifs de CT sur 36 cycles (2 échantillons par cycle ; jour 2 du cycle ; jour 11 du cycle 2. Après les traitements (au 	<p><u>Patients en cours de CT vs après traitement</u></p> <p>La diversité du microbiote était la plus faible pendant les cycles I et III de la CT.</p> <p><u>Patients (après traitement) vs contrôles</u></p> <p>Les échantillons post-traitement ont montré une diversité</p>	<p><u>Patients (après 4 cycles de CT) vs contrôles</u></p> <p>Abondance plus faible:</p> <p>Espèces de <i>Bacteroides</i>, <i>Clostridium</i> cluster XIVa, <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> et <i>Bifidobacterium</i>.</p> <p>Récupération partielle après traitement</p> <p><i>Bifidobacterium</i> et espèces de <i>Bacteroides</i></p> <p><u>Totalement récupéré après le traitement</u></p>	[323]

Type de cancer	Participants	Chimiothérapie	Utilisations d'antibiotiques prophylactiques et/ou thérapeutiques	Calendrier de la collecte des échantillons	Impact sur la diversité des microbiotes intestinaux	Impact sur l'abondance bactérienne	Réf.
				moins 6 semaines après) 3. 11 échantillons d'un seul contrôle sain ont été collectés sur une période de 2 mois	comparable à celle du contrôle sain.	<i>Clostridium XIVa</i> et <i>F. prausnitzii</i>	
LNH	Patients atteints de cancer n=8	Régime de conditionnement myéloablatif pendant 5 jours consécutifs, comprenant des doses élevées de carmustine, d'étoposide, d'aracytine et de melphalan	La plupart des participants ont reçu des antibiotiques en prophylaxie avant la thérapie de conditionnement (pénicilline V et cotrimoxazole). Au cours de la CT, les patients n'ont pas reçu d'antibiotiques concomitants.	Échantillons de matières fécales collectés: 1. avant l'administration de la CT 2. 7 jours plus tard immédiatement avant la GCSH	<u>Avant vs après la CT</u> Forte réduction de la diversité alpha	<u>Avant vs après la CT</u> <u>Diminution de l'abondance :</u> <i>Faecalibacterium</i> et <i>Bifidobacterium</i> <u>Augmentation de l'abondance:</u> <i>Escherichia</i>	[325]
Cancers chez l'adulte	Patients atteints de cancer n=17 Témoins en bonne santé appariés selon le sexe et l'âge	Un seul cycle de CT immunosuppresseur. Seuls deux patients n'avaient pas reçu de traitement CT préalable.	Avec ou sans antibiotiques concomitants	Échantillons de matières fécales collectés: 1. avant le jour de la CT 2. 1-4 jours après la CT	Pas de données	<u>1 -4 jours après la CT vs avant la CT</u> <u>Diminution de l'abondance:</u> <i>Clostridium</i> cluster XIVa, <i>Clostridium</i> clusters IV, <i>Bacteroides</i> et <i>Bifidobacteria</i> <u>5-9 jours après la CT vs 1-4 jours après la CT</u>	[324]

Type de cancer	Participants	Chimiothérapie	Utilisations d'antibiotiques prophylactiques et/ou thérapeutiques	Calendrier de la collecte des échantillons	Impact sur la diversité des microbiotes intestinaux	Impact sur l'abondance bactérienne	Réf.
	n=17			3. 5-9 jours après la CT 4. Témoins sains ont donné 4 échantillons pendant les mêmes 2 semaines que les patients		<p>Rétablissement de l'abondance:</p> <p><i>Clostridium</i> cluster XIVa, <i>Clostridium</i> clusters IV, <i>Bacteroides</i> et <i>Bifidobacteria</i></p> <p><u>Patients vs contrôles</u></p> <p>Diminution du nombre total de bactéries après la chimiothérapie > toute variation du nombre total de bactéries observée chez les contrôles</p>	
LNH	<p>Patients atteints de cancer</p> <p>n=28</p>	<p>Régime de conditionnement myéloablatif pendant 5 jours consécutifs, comprenant des doses élevées de carmustine, d'étoposide, d'aracytine et de melphalan.</p> <p>La GCSH a eu lieu le 7e jour.</p>	Sans antibiotiques concomitants	<p>1. Échantillons de matières fécales collectés:</p> <p>a. avant l'administration de la CT</p> <p>b. 7 jours plus tard immédiatement avant la GCSH</p>	<p><u>Après vs avant la CT</u></p> <p>Réduction de la diversité alpha</p>	<p><u>Après vs avant la CT:</u></p> <p>Diminution de l'abondance au niveau du phylum:</p> <p>Firmicutes et Actinobacteria</p> <p>Augmentation de l'abondance au niveau du phylum :</p> <p>Proteobacteria</p> <p>Diminution de l'abondance au niveau du genre:</p> <p><i>Ruminococcus, Oscillospira, Blautia, Lachnospira,</i></p> <p><i>Roseburia, Dorea, Coprococcus, Anaerostipes, Clostridium, Collinsella, Adlercreutzia</i> et</p> <p><i>Bifidobacterium</i></p> <p>Augmentation de l'abondance au</p>	[322]

Type de cancer	Participants	Chimiothérapie	Utilisations d'antibiotiques prophylactiques et/ou thérapeutiques	Calendrier de la collecte des échantillons	Impact sur la diversité des microbiotes intestinaux	Impact sur l'abondance bactérienne	Réf.
						niveau du genre: <i>Citrobacter, Klebsiella, Enterococcus, Megasphaera</i> et <i>Parabacteroides</i>	
LLA	Patients atteints de cancer n=36 Témoins en bonne santé n=36	Forte dose de méthotrexate	Pas d'utilisation d'antibiotiques pendant deux semaines avant la CT à forte dose de méthotrexate	Échantillons de matières fécales collectés: 1. la veille de la CT 2. 3 jours après la CT 3. sept jours après la CT	Patients vs contrôles Baisse de 29,6 % de la biomasse	3^e jours après la CT vs avant la CT Diminution de l'abondance: <i>Bifidobacteria, Lactobacillus</i> et <i>E. coli</i> Partiellement récupéré le 7^e jour: <i>Bifidobacteria</i> et <i>Lactobacillus</i> Totalement récupéré et l'abondance augmenté le 7^e jour : <i>E. coli</i>	[321]
Cancer colorectal	Patients atteints de cancer n=43	Chirurgie radicale suivie du protocole standardisé CapeOx (oxaliplatine et capécitabine)	Ornidazole et céphalosporine pour la préparation gastro-intestinale préopératoire et la prévention des infections postopératoires.	Échantillons de matières fécales collectés: 1. Lors de l'inscription à l'hôpital 2. 3 semaines après l'opération 3. À la fin des 1 ^{er} et 5 ^e cycles de CT	Richesse et diversité avant et après l'opération: Aucune différence significative dans les indices de Shannon, Simpson, Chao et Ace Diversité entre la pré-CT et les cycles multiples de la thérapie CapeOx:	Après vs avant la CT Augmentation dans: Ratio entre les bacteroides et les Firmicutes Diminution de l'abondance: <i>Morganella, Pyramidobacter, Proteus, Escherichia-Shigella</i> Augmentation de l'abondance: <i>Bilophila, Comamonas, Collinsella, Butyricimonas, Eggerthella,</i>	[340]

Type de cancer	Participants	Chimiothérapie	Utilisations d'antibiotiques prophylactiques et/ou thérapeutiques	Calendrier de la collecte des échantillons	Impact sur la diversité des microbiotes intestinaux	Impact sur l'abondance bactérienne	Réf.
LH	Survivants [durée moyenne depuis le diagnostic (fourchette): 22.5 (10-36) ans] n=13 Témoins en bonne santé n=13 (jumeau non atteint)	Pas d'information	Pas d'information	Échantillons de selles collectés à domicile: 1. Survivants 2. Témoins en bonne santé	Aucune différence constatée Survivants vs contrôles Une modeste réduction de la diversité-alpha se traduit par une diminution du nombre d'OTU uniques. La différence n'était pas significative lorsque l'analyse de la diversité se limitait à des OTU abondants	<i>Anaerostipes</i> . Pas de données	[332]
LLA	Survivants (≥ 5 ans depuis la fin des traitements) n=73 Témoins en bonne santé n=61	Traitement de leucémie	Pas d'information	Échantillons fécaux provenant d'écouvillons anaerobes stériles: 1. Survivants 2. Témoins en bonne santé	Survivants vs contrôles 1. Réduction de la diversité alpha (mesurée par le Chao1, les OTU observés et la distance phylogénétique) 2. Pas de regroupement en groupes distincts avec des estimations de la bêta-diversité	Survivants vs contrôles Augmentation de l'abondance au niveau du phylum: <i>Bacteroidetes et Proteobacteria</i> Augmentation de l'abondance au niveau du genre: <i>Firmicutes members (Tissierellaceae et Staphylococaceae), Actinobacteria (e.g. genre Corynebacterium)</i> Diminution de l'abondance: <i>Ruminococaceae, Lachnospiraceae and Faecalibacterium,</i>	[180]

CT, chimiothérapie; GCSH, greffe de cellules souches hématopoïétiques; LH, lymphome hodgkinien; LLA, leucémie lymphoblastique aiguë; LMA, leucémie myéloïde aiguë; LNH, lymphome non hodgkinien; OTU, operational taxonomic unit.

5.3 Microbiote intestinal : mécanisme central sous-jacent au développement des perturbations cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique

Comme mentionné précédemment, le SOx, l'inflammation chronique, le dysfonctionnement du tissu adipeux, les perturbations endocriniennes, le vieillissement cellulaire, les dommages aux organes et les altérations épigénétiques sont tous des mécanismes potentiels sous-jacents au développement de complications cardiométaboliques chez les survivants du cancer de l'enfant. Les contributions exactes de la dysbiose intestinale à ces mécanismes sont encore inconnues. Le but de cette section est d'examiner de manière exhaustive le rôle émergent de la dysbiose intestinale dans les complications retrouvées chez les des survivants adultes du cancer de l'enfant, en particulier les complications cardiométaboliques, incluant le rôle de l'endotoxémie métabolique résultante d'une dysbiose intestinale.

5.3.1 Dysbiose intestinale, inflammation périphérique et endotoxémie

On peut postuler que le microbiote intestinal puisse influencer le métabolisme de l'hôte en modifiant les voies de signalisation inflammatoires [189] dans une population de survivants du cancer, quoiqu'aucune étude jusqu'à présent n'a encore pu directement évaluer cette hypothèse (**Figure 10**). La dysbiose intestinale mène à la diminution de la production d'acide gras à chaîne courte (AGCC), de l'épaisseur de la couche de mucus amoindrie et de la défense antimicrobienne. Ces conditions sont connues pour créer un environnement favorable à la translocation de molécules microbiennes, communément nommées "modèles moléculaires associés aux agents pathogènes" (PAMP) tels que le lipopolysaccharide (LPS), le peptidoglycane et la flagelline, de l'intestin vers la circulation sanguine, un phénomène appelé endotoxémie métabolique [190,343]. Les niveaux circulants de LPS et d'autres PAMPS en circulation ont été associés à la résistance à l'insuline, à l'intolérance au glucose, à la dyslipidémie, à la stéatose hépatique [190], au DT2 et à l'obésité [187].

Des études indiquent que la dysbiose intestinale est liée à l'accumulation de gras viscéral et à l'obésité abdominale [188,344,345], même si les mécanismes sous-jacents ne sont pas encore

bien compris dans la population générale et encore moins dans les populations de survivants du cancer. Néanmoins, de fortes associations ont été trouvées entre les profils microbiens fécaux et la graisse totale et viscérale chez 1313 jumeaux adultes [188]. La diversité alpha était négativement associée à l'obésité et était inférieure chez les individus avec une plus grande adiposité abdominale et plus de gras viscéral [188]. De plus, les OTUs appartenant aux *Oscillospira*, *Lachnospira* et *Ruminococcus* étaient négativement associées à la masse grasse viscérale [188]. Par conséquent, la plus faible abondance de *Ruminococcaceae* et de *Lachnospiraceae* et la diversité globale du microbiome qui ont été signalées chez les survivants du cancer pédiatrique [180] pourrait favoriser une accumulation excessive de gras viscéral [180,332] et influencer indirectement l'état inflammatoire.

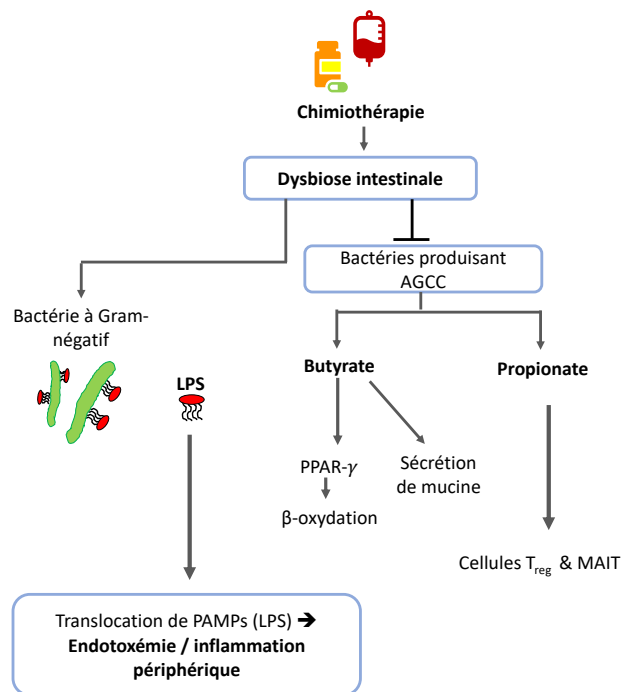


Figure 10. – Contribution de la dysbiose intestinale à la modification des voies de signalisation inflammatoire.

Les traitements contre le cancer, principalement la chimiothérapie, sont associés à une dysbiose intestinale. La dysbiose intestinale mène à la diminution de la production d'AGCC, de l'épaisseur de la couche de mucus et de la défense antimicrobienne. Le butyrate active le facteur de transcription PPAR-γ

dans les colonocytes. La signalisation de PPAR- γ favorise la bêta-oxydation comme métabolisme énergétique. Cette consommation d'oxygène permet de maintenir un milieu anaérobie dans le côlon. Un appauvrissement en butyrate mène à une plus grande disponibilité en oxygène qui favorise la prolifération des bactéries à Gram négatif *Enterobacteriaceae* et augmente les niveaux de LPS. Le propionate régule la production de facteurs antimicrobiens via les cellules immunitaires Treg (fonctions anti-inflammatoires) et MAIT (rôle antimicrobien). Une diminution de la production de propionate peut contribuer à réduire l'abondance de ces cellules immunitaires. Les bactéries productrices de butyrate jouent également un rôle dans la composition de la couche de mucus, via la stimulation de la synthèse des mucines. Les agents chimiothérapeutiques peuvent causer des lésions structurelles et fonctionnelles aux jonctions serrées augmentant la perméabilité intestinale. AGCC : acide gras à chaîne courte ; LPS: lipopolysaccharide. Adaptée de Cani 2018 [190].

5.3.1.1 Rôle anti-inflammatoire des acides gras à chaîne courte

Les AGCC sont des produits métaboliques de la fermentation anaérobie par les communautés microbiennes. Les trois principaux AGCC (acétate, propionate et butyrate) jouent un rôle important dans la physiologie de l'hôte. En plus de constituer une source d'énergie majeure pour les colonocytes, ils influencent l'environnement et l'écologie microbiens en communiquant avec les cellules hôtes. Entre autres, ils régulent l'expression génique des cellules immunitaires et agissent comme des suppresseurs d'inflammation [346].

Le butyrate est synthétisé par certains groupes bactériens tels que *F. prausnitzii*, *Clostridium XlVa* et *Roseburia* [190]. Une abondance réduite des bactéries productrices de butyrate pendant ou après les traitements contre le cancer a été associée négativement aux biomarqueurs inflammatoires périphériques IL-6 et CRP [180]. Par conséquent, il est possible que la réduction de ces espèces commensales affecte le statut inflammatoire des patients et des survivants [347].

Byndloss *et al.* ont démontré dans un modèle de souris traitées avec l'antibiotique streptomycine que le butyrate contribue à l'écosystème du microbiote en maintenant des conditions anaérobies dans la lumière intestinale [348]. Ils ont montré que le butyrate active le facteur de transcription "récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes" (PPAR- γ) [349] dans les colonocytes. La signalisation de PPAR- γ favorise la bêta-oxydation au niveau des colonocytes comme métabolisme énergétique. Cette consommation d'oxygène permet de maintenir un

milieu anaérobie dans le côlon [348,350]. Une plus grande disponibilité en oxygène favorise la prolifération des bactéries à Gram négatif *Enterobacteriaceae* [348] et peut simultanément augmenter les niveaux de LPS [351].

5.3.1.2 Endotoxémie métabolique

Le LPS, une endotoxine, est un composant majeur de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Il s'agit d'une molécule amphiphile constituée de composantes polysaccharidiques hydrophiles liées à une composante hydrophobe appelée lipide A (généralement 6 chaînes acyles attachées à un disaccharide phosphorylé). Le lipide A est la sous-unité toxique du LPS [352,353] (**Figure 11**). La toxicité du LPS varie selon la composition de la portion lipidique qui diffère partiellement selon les espèces et les souches de bactéries [352,353]. Le LPS est libéré de la paroi cellulaire bactérienne par excrétion ou par lyse bactérienne [352].

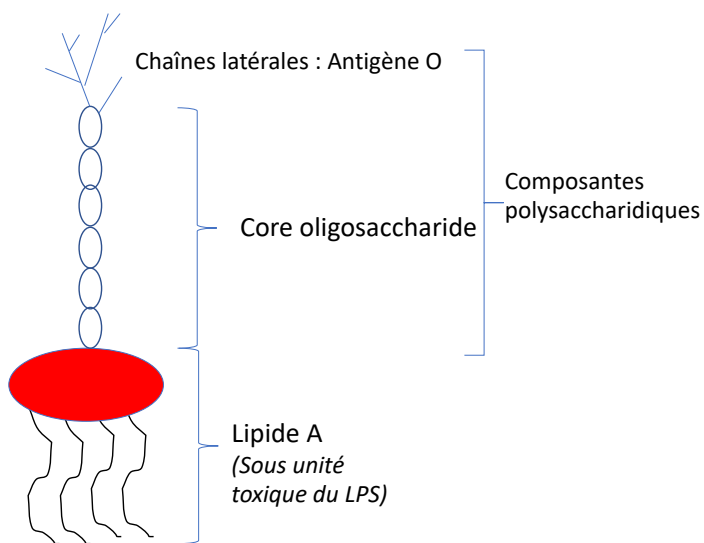


Figure 11. – Composantes du lipopolysaccharide

Dans la circulation systémique, suite à une translocation intestinale, le LPS se lie à la protéine plasmatique de liaison au LPS (LBP) qui a la capacité unique de reconnaître les multimères du LPS. La LBP, dont la synthèse est induite par des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF- α) et les hormones glucocorticoïdes, est principalement produite par le foie. Le LPS et la LBP forment un complexe avec le groupe de récepteurs de différenciation 14 (CD14). La CD14 est une protéine

multifonctionnelle ayant une spécificité pour le LPS et la LBP et forme avec le toll-like receptor 4 (TLR4) un complexe qui active le système d'immunité innée. La CD14 existe sous deux formes, à savoir une forme glycoprotéique liée à la membrane (mCD14) qui agit à la surface des monocytes, des macrophages et des leucocytes polymorphonucléaires, et une forme soluble circulante (sCD14). Les deux formes de CD14 sont capables de se lier au complexe LPS-LBP. Le complexe LPS-LBP-CD14 se lie au récepteur TLR4 et le co-récepteur MD2 (myeloid differentiation protein-2) à la surface des macrophages, qui par la suite active le facteur de transcription NF- κ B [354,355]. Cette cascade de signalisation entraîne la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires [353] (**Figure 12**). Cette infiltration du complexe LPS/LBP dans des organes, tels que le foie ou le tissu adipeux, déclenche une réponse immunitaire innée induisant une inflammation de bas grade [187,222].

À l'inverse, le sCD14 peut faciliter la neutralisation de l'activité des endotoxines en permettant le transfert du LPS vers les HDL. Ceux-ci transportent le LPS vers le foie et favorisent son élimination par la voie biliaire [352,353]. La LBP et le sCD14 sont considérés comme des marqueurs de l'exposition aux endotoxines dans le plasma, car leur demi-vie (24-48 h) est plus longue que celle du LPS (<8 min chez la souris et jusqu'à 3 h chez l'homme) [356]. À noter, les niveaux de LPS en circulation sont difficiles à mesurer en raison de difficultés techniques telles que la fluctuation de ses niveaux en circulation tout au long de la journée [357]. Par conséquent, la mesure des niveaux de LBP plasmatiques consiste en une stratégie méthodologique permettant d'évaluer la réponse immunitaire innée associée à la translocation du LPS.

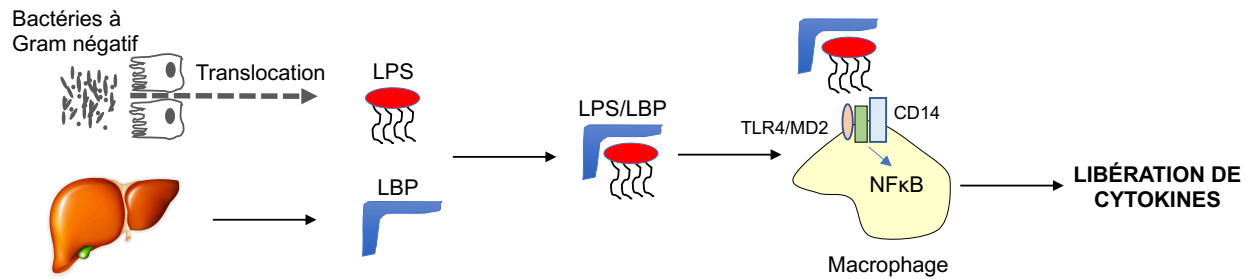


Figure 12. – Dysbiose intestinale et endotoxémie

Dans la circulation systémique et suite à une translocation intestinale, le LPS se lie à la protéine plasmatique de liaison au LPS (LBP). Le LPS et la LBP forment un complexe avec le groupe de récepteurs de différenciation 14 (CD14). Le complexe LPS-LBP-CD14 se lie au récepteur TLR4 et le co-récepteur MD2 (myeloid differentiation protein-2) à la surface des macrophages, qui par la suite entraîne une cascade de signalisation qui mène à la phosphorylation de IκB et à la translocation de NF-κB au noyau. Cette cascade de signalisation entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires. LPB, protéine plasmatique de liaison au LPS; LPS, lipopolysaccharide; MD2, myeloid differentiation protein-2; TLR4, toll-like receptor.

5.3.1.3 Rôle de protection de la barrière intestinale contre l'endotoxémie métabolique

L'amélioration de l'intégrité de la barrière intestinale, comprenant une couche de mucus épaisse et une structure adéquate de jonctions serrées des cellules épithéliales, empêche la translocation des bactéries et des PAMP [358]. L'administration de méthotrexate à des doses élevées provoque des lésions structurelles et fonctionnelles du tractus gastro-intestinal, comme cela a été démontré dans un modèle de rat. En fait, le méthotrexate augmente la perméabilité intestinale en altérant 2 des 3 protéines servant au maintien des jonctions serrées: zonula occludens (ZO) -1 et occludine [342].

La couche de mucus de l'épithélium intestinal agit comme une barrière mécanique. Cette couche protectrice de mucus est composée de glycoprotéines, de peptides en trèfle (trefoil factors ou TFF) et de mucines produites par les cellules caliciformes [358] et sa composition est essentielle dans la protection contre l'inflammation. Les bactéries productrices de butyrate jouent un rôle dans la composition de la couche de mucus, car le butyrate stimule la synthèse des mucines. Ainsi, l'abondance réduite de ces bactéries productrices de butyrate signalée chez les patients atteints

de cancer et les survivants [180,322,324] peut avoir un impact sur l'intégrité de la couche de mucus.

Le propionate régule la production de facteurs antimicrobiens par les cellules immunitaires. En particulier, il favorise la génération *de novo* de cellules T spécifiques [Treg et cellules T invariantes associées aux muqueuses (MAIT)] dans le colon [190,359]. Une diminution de la production de propionate peut contribuer à réduire l'abondance de ces cellules immunitaires [190]. Les cellules Treg ont des fonctions anti-inflammatoires [354] et les cellules MAIT de la muqueuse intestinale et de l'épithélium biliaire ont des rôles antimicrobiens. Une réduction de l'abondance de *Lachnospiraceae*, producteur de propionate, a été rapportée pendant et après la chimiothérapie [180,322] et pourrait éventuellement affecter l'état inflammatoire des patients traités pour un cancer et des survivants.

La plupart des études sur le microbiote intestinal chez les survivants du cancer pédiatrique se sont concentrées sur la richesse et la composition de celui-ci. L'évaluation de la biomasse et de la fonction des communautés bactériennes est essentielle pour mieux comprendre les mécanismes permettant d'élaborer les meilleures thérapies appropriées.

Il est possible que l'endotoxémie, causée par des modifications du microbiote intestinal pendant le traitement de la LLA pédiatrique, déclenche un état pro-oxydant et pro-inflammatoire conduisant au développement de complications cardiométaboliques observées chez les survivants adultes. Des études sont nécessaires pour valider la présence d'endotoxémie dans cette population et sa relation avec le développement de complications cardiométaboliques.

5.3.2 Modulation du microbiote intestinal par la diète et les nutriments fonctionnels

L'alimentation joue un rôle important dans le maintien de la composition normale du microbiote [360]. Pendant les traitements contre le cancer, l'alimentation est souvent altérée [211], ce qui peut entraîner une dysbiose intestinale [185] et modifier simultanément le nombre de bactéries productrices de métabolites. À leur tour, une augmentation ou une diminution de ces métabolites [par ex. AGCC et triméthylamine-N (TMA)] peuvent avoir un impact sur plusieurs voies métaboliques [361]. Cependant, les changements induits par la diète ou tout autre facteur environnemental, peuvent varier en fonction du patrimoine génétique des individus.

La dysbiose intestinale est présente à différents moments pendant et après les traitements contre le cancer, et une relation potentielle entre la dysbiose microbienne, le SOx et l'inflammation périphérique est très probable. Ainsi, les stratégies de modulation du microbiote intestinal qui pourraient rétablir l'homéostasie microbienne, prévenir l'inflammation chronique et, par conséquent le développement d'effets tardifs chez les survivants du cancer pédiatrique, sont à explorer. Dans la population générale, des études d'intervention nutritionnelle ont été menées pour manipuler le microbiote intestinal afin d'améliorer le profil microbien de l'hôte [362-364], alors qu'aucune étude spécifique n'a été menée dans des populations de survivants du cancer pédiatrique.

Différents nutriments fonctionnels ont le potentiel de moduler le microbiote intestinal. Les prébiotiques, selon la définition de la FAO/OMS, sont des composants alimentaires (oligosaccharides ou polysaccharides à chaîne courte) qui, bien que non digestibles par le corps humain, ont un effet bénéfique sur l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'un nombre restreint de bactéries présentes dans le côlon [365]. Les prébiotiques constituant un sous-groupe de fibres alimentaires se trouvent dans les aliments courants, tels que les légumes et les céréales complètes et peuvent être ajoutés dans les yogourts.

Les probiotiques sont plutôt des bactéries et des levures vivantes et, lorsqu'ils sont administrés sous une forme viable et en quantités adéquates, ils sont bénéfiques pour la santé humaine. Ils sont généralement ajoutés aux yogourts ou pris comme compléments alimentaires [365]. Les probiotiques ont potentiellement des propriétés anti-inflammatoires, hypoglycémiques, insulinothropes, antioxydantes et satiétogènes [366].

Des études ont indiqué que les probiotiques et les prébiotiques affectent le DT2 et les MCV en modifiant le microbiote intestinal, en régulant la signalisation de l'insuline et en réduisant le cholestérol [367-373]. Par contre, d'autres études n'ont pas constaté d'amélioration significative chez les patients diabétiques ou ont constaté une amélioration très modeste [374,375] et sur les niveaux des lipides [376,377]. En outre, les résultats de ces études ne sont pas comparables en raison de l'hétérogénéité des méthodologies de ces études. En effet, celles-ci peuvent différer au niveau des souches de probiotiques ou sources de prébiotiques, des ingrédients des

préparations données, des doses de supplémentation en probiotiques et en prébiotiques ou la durée de l'intervention. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier la souche ou multisouches de probiotique à utiliser, ainsi que pour définir le dosage approprié et la durée du traitement. L'élucidation des effets réels des probiotiques et de leurs mécanismes d'action sur le microbiote intestinal demeure un défi [378]. De plus, les pré- et probiotiques n'ont pas été étudiés dans une population de survivants du cancer. Par ailleurs, tout comme pour les prébiotiques, les polyphénols peuvent affecter les communautés du microbiote intestinal et stimuler la production bactérienne des AGCC. [379]. Ils pourraient donc exercer des effets bénéfiques de manière indirecte sur le métabolisme de l'hôte.

6 Hypothèses et objectifs

6.1 Problématique

Les taux de survie au cancer se sont grandement améliorés durant les dernières décennies [1-4]. Tout particulièrement, chez l'enfant, le taux de survie de 5 ans des cancers est en moyenne de 82 %, allant de 70 % pour le neuroblastome à plus de 90 % pour la LLA [5]. Cependant, cette survie a un coût. Les survivants du cancer pédiatrique sont à risque de développer des effets secondaires sévères, bien des décennies après la fin de leurs traitements [6]. En particulier, ils peuvent développer des MCV (insuffisance cardiaque congestive, maladie coronarienne, infarctus du myocarde, arrêt cardiaque et accident vasculaire cérébral [135-139]), qui représentent la principale cause de décès prématuré après une récurrence de cancer ou un deuxième cancer [6,138,140]. Il a été montré que les survivants de la LLA pédiatrique peuvent souffrir de complications cardiométaboliques, facteurs de risque de MCV, peu importe le type de traitements reçus. Ces complications incluent l'obésité [14,21,142-144,147-149], la dyslipidémie [15,21,144,145,147,150-152], la résistance à l'insuline [15,21,147,154,155], l'hypertension [156] et le SM dans sa globalité [14,16,152]. De plus, des anomalies des lipides plasmatiques ont été identifiées dans des populations de survivants [152,162], par exemple les valeurs absolues des LDL-C et des HDL-C. Par contre, la composition des lipoprotéines, critique au développement des MCV, n'a pas été caractérisée dans cette population.

Alors que la plupart des études ont visé des cohortes de survivants adultes, la période au cours de laquelle les complications cardiométaboliques apparaissent n'est pas déterminée, soit pendant l'enfance, l'adolescence, ou même le jeune adulte. La chimiothérapie et la radiothérapie ont souvent été associées au développement des complications cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique [16-19] bien que leur étiologie précise ne soit pas entièrement comprise. Plusieurs mécanismes sous-jacents au développement de ces complications ont toutefois été proposés. Ils comprennent le SOx [20], l'inflammation chronique [21], le dysfonctionnement du tissu adipeux [22], les troubles endocriniens [23] et le vieillissement cellulaire accéléré [24].

Étonnamment, peu d'études ont évalué la relation entre l'alimentation et les complications cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique. Dans la population générale, de mauvaises habitudes alimentaires ont été associées à l'incidence des composantes du SM et de l'athérosclérose [25-27]. Inversement, de saines habitudes alimentaires peuvent protéger contre la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et l'hypertension [28-32]. Également, il a été démontré que le microbiote intestinal est impliqué dans la pathogenèse et la progression des complications cardiométaboliques dans la population générale [33,34]. Ce rôle a été peu étudié chez la population de survivants de cancer pédiatrique, alors que les traitements pourraient mener à des modifications importantes de la composition et de la diversité du microbiote intestinal. Il est possible que l'endotoxémie, causée par la dysbiose pendant le traitement de la LLA chez l'enfant, déclenche un état pro-oxydant et pro-inflammatoire conduisant au développement de complications cardiométaboliques.

De surcroît, l'identification des biomarqueurs et des mécanismes biologiques pourrait ouvrir de nouvelles pistes de stratégies préventives et thérapeutiques visant à minimiser les séquelles à long terme tout en améliorant le suivi des patients et, optimisant leur qualité de vie.

L'ensemble des travaux constituant cette thèse a été réalisé dans le cadre de l'étude PETALE au CHUSJ à Montréal. Dans son ensemble, cette étude multidisciplinaire vise à évaluer les séquelles à long terme des survivants de la LLA pédiatrique, à savoir la cardiotoxicité, les complications cardiométaboliques, les problèmes neurocognitifs, la morbidité osseuse et les problèmes de qualité de vie [35]. Une pléthore de données cliniques, biologiques, psychosociales, nutritionnelles et génétiques de 246 survivants de la LLA pédiatriques a été collectée de 2013 à 2018.

6.2 Hypothèses

6.2.1 Hypothèse 1 : Complications cardiométaboliques

Les adolescents et jeunes adultes québécois survivants de la LLA ont un risque plus élevé de développer des complications cardiométaboliques comparativement à la population canadienne. Plus particulièrement, ils présentent des anomalies importantes dans le profil plasmatique des

lipides et des apolipoprotéines, ainsi que dans la composition des lipoprotéines. Ces altérations ont le potentiel d'augmenter le risque de MCV chez ces derniers.

6.2.2 Hypothèse 2 : Nutrition et complications cardiométaboliques

Plusieurs survivants de la LLA pédiatrique ont de mauvaises habitudes alimentaires et respectent peu les recommandations nutritionnelles. Leur alimentation inadéquate a le potentiel d'augmenter leur risque de développer des complications cardiométaboliques, notamment la dyslipidémie. En outre, une alimentation inadéquate peut influencer l'état nutritionnel des survivants de la LLA reflété par une composition corporelle à risque (obésité abdominale, augmentation de gras viscérale). De plus, de mauvaises habitudes alimentaires peuvent potentiellement influencer négativement le statut en micronutriments.

6.2.3 Hypothèse 3 : Dysbiose intestinale et endotoxémie

Nous stipulons que les modifications du microbiote intestinal, induites par la LLA, les traitements et l'alimentation, sont impliquées dans la genèse des complications cardiométaboliques observées chez les survivants. La dysbiose intestinale chez les survivants de la LLA crée un environnement favorable à l'endotoxémie métabolique qui est associée à un état pro-oxydant et pro-inflammatoire conduisant au développement de complications cardiométaboliques.

6.3 Objectifs généraux et spécifiques

6.3.1 Objectif 1 : Complications cardiométaboliques

Étudier l'état de santé cardiométabolique des survivants de la LLA composant la cohorte PETALE.

Objectifs spécifiques

- 1.1 Évaluer la prévalence des complications cardiométaboliques chez les participants de la cohorte PETALE;
- 1.2 Comparer leur risque de complications cardiométaboliques par rapport à la population canadienne du même âge;
- 1.3 Identifier les prédicteurs de leurs complications cardiométaboliques;
- 1.4 Caractériser leur profil lipidique.

1.5 Comparer la composition de leurs lipoprotéines et la distribution de leurs apolipoprotéines à celles de contrôles sains.

6.3.2 Objectif 2 : Nutrition et complications cardiométaboliques

Étudier l'état nutritionnel en association avec l'état de santé cardiométabolique des survivants de la LLA composant la cohorte PETALE.

Objectifs spécifiques

2.1 Développer un QFA spécifique pour la population canadienne-française permettant d'évaluer l'alimentation habituelle et les nutriments favorisant la santé des os et les antioxydants et développer un outil de calcul lié à ce questionnaire;

2.2 Valider le QFA et vérifier sa reproductibilité;

2.3 Étudier les associations entre les apports de macro- et micronutriments calculés à partir des données compilées du QFA et le risque de présenter des niveaux de HDL-C faibles dans la cohorte PETALE;

2.4 Évaluer le statut en vitamine D des participants de la cohorte PETALE, en utilisant les recommandations du consensus d'experts de 2016 sur la classification du statut nutritionnel de la vitamine D;

2.5 Qualifier l'alimentation des participants de la cohorte PETALE en utilisant les scores nutritionnels établis à partir des données compilées du QFA;

2.6 Étudier les associations entre la qualité du régime alimentaire et la présence de complications cardiométaboliques, le profil métabolique et inflammatoire des participants de la cohorte PETALE.

6.3.3 Objectif 3 : Dysbiose intestinale et endotoxémie

Étudier les mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans le développement des facteurs de risques cardiométaboliques chez les survivants de la LLA composant la cohorte PETALE.

Objectifs spécifiques

3.1 Examiner, via une revue de littérature exhaustive, (i) les mécanismes potentiels impliquant le microbiote intestinal dans le développement des complications

- cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique ; et (ii) les effets bénéfiques potentiels de l'alimentation et les nutriments fonctionnels sur le microbiote intestinal ;
- 3.2 Explorer les associations entre les marqueurs d'inflammation, de SOx, d'endotoxémie et de la fonction endothéliale, ainsi que les facteurs de risque cardiométaboliques chez les survivants de LLA de la cohorte PETALE ;
- 3.3 Explorer la relation entre l'endotoxémie et les complications cardiométaboliques médiée par l'inflammation à l'aide de modélisation d'équations structurelles ;
- 3.4 Comparer le profil du microbiote intestinal (composition et diversité) entre des participants de la cohorte PETALE présentant un phénotype cardiométabolique correct à ceux ayant un phénotype extrême, ayant comme référence un groupe de contrôles n'ayant jamais subi de cancer ;
- 3.5 Développer et tester un modèle murin permettant de mettre en évidence les causes-effets, donc les mécanismes dans le développement des complications cardiométaboliques.

7 Méthodes

Pour l'ensemble des objectifs, les données ont été collectées dans le cadre de l'étude PETALE au CHUSJ [35]. Les détails du design de l'étude ont fait l'objet d'une publication [35]. Tous les participants ont été rencontrés dans la phase 1 (n = 246). Les participants identifiés avec des phénotypes extrêmes à la phase 1 (ceux avec les meilleurs et les pires résultats relatifs aux séquelles à long terme) ont été contactés pour des études subséquentes (phase 2, n = 100). Dans cette étude à plusieurs volets, les participants ont fait l'objet d'une évaluation clinique, biologique et psychosociale complète ciblant le SM, la cardiotoxicité, la morbidité osseuse, les problèmes neurocognitifs et les questions de qualité de vie. Entre autres, lors de leur visite, les participants ont complété une évaluation biochimique, anthropométrique, clinique et nutritionnelle pour évaluer leur état de santé cardiométabolique et leur état nutritionnel.

Le Comité d'éthique institutionnel du CHUSJ a approuvé l'étude qui a été menée conformément aux principes de la Déclaration d'Helsinki. Un consentement écrit a été obtenu de manière éclairée par les participants à l'étude et/ou les parents/tuteurs.

7.1 Population étudiée

Les participants ont été recrutés entre janvier 2013 et décembre 2016. Les participants (n = 246) étaient d'ascendance européenne vivant dans la province de Québec. Les participants étaient éligibles à l'étude PETALE s'ils rencontraient les critères détaillés dans le **Tableau 8**.

Tableau 8. – Critères d'éligibilité pour les participants à l'étude PETALE

Critères d'inclusion

- Avoir reçu un diagnostic de LLA entre 1987 et 2010
- Avoir moins de 19 ans au moment du diagnostic de LLA
- Avoir reçu les traitements au CHUSJ en suivant des protocoles définis
- Être en rémission ≥ 5 ans post-diagnostic

Critères d'exclusion

- Patients incapables de coopérer
 - Survivants ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques
 - Survivants ayant souffert d'une LLA réfractaire
 - Survivants ayant une maladie osseuse congénitale
 - Survivants recevant des médicaments néfastes pour les os pour une maladie autres que la LLA
-

L'âge médian des participants était de 21,7 ans, allant de 8,5 à 41,0 ans et la durée médiane de survie était de 15,2 ans. Au total, 147 participants (59,5 %) avaient reçu de la radiothérapie crânienne. Compte tenu de la réduction de l'utilisation de la RTC dans les protocoles plus récents, une plus grande proportion de survivants adultes avaient reçu de la RTC par rapport aux survivants enfants (69,8 contre 40,0 %). Pour tous les protocoles, les doses de RTC se situaient entre 10 et 20 Gy.

Selon les objectifs de cette thèse, soit la totalité de la cohorte ou de ses sous-groupes ont été incorporés dans les différentes études.

7.2 Évaluation anthropométrique

Lors de la visite, les participants ont subi des évaluations anthropométriques. Le poids et la taille ont été mesurés avec une échelle calibrée et une jauge de hauteur. Le tour de taille a été mesuré dans le plan horizontal du bord supérieur de la crête iliaque, comme recommandé par le troisième groupe de traitement pour adultes du National Cholesterol Education Program (NCEP ATP III) [380]. Le rapport taille/taille, tour de taille (cm)/hauteur (cm)) et l'indice de masse corporelle (IMC, poids (kg)/taille (m)²) ont été calculés.

7.3 Évaluation biochimique

Des échantillons de sang à jeun ont été collectés dans des tubes contenant 1 g/L d'EDTA et conservés sur de la glace jusqu'à la centrifugation. Le plasma a été séparé dans les 45 minutes suivant sa collecte et conservé à -80 ° C jusqu'à l'analyse. Les globules blancs et rouges ont été isolés et conservés à -80 ° C jusqu'à l'analyse. Les concentrations d'insuline à jeun, de glucose, de cholestérol total, de TG et de HDL-C ont été mesurées comme décrit précédemment [381]. Les LDL-C ont été calculées en utilisant la formule de Friedewald [382]. L'indice d'évaluation du modèle d'homéostasie (HOMA-IR) a été calculé à l'aide de la formule : [insuline à jeun (mU/mL) x glucose à jeun (mmol/L)]/22,5.

Les concentrations des apolipoprotéines plasmatiques (A-I, A-IV, B-100, C-II, C-III et E) et les protéines adiponectine, résistine, PAI-1, leptine, visfatin, protéine carbonyle, LPS, LBP et E-sélectine ont été dosées par des kits ELISA commerciaux. Le glutathion total a été mesuré dans les globules rouges par spectrophotométrie avec la méthode de recyclage du glutathion. L'ADN mitochondrial a été déterminé par PCR quantitative en temps réel. Les molécules d'adhésion (ICAM-1 et VCAM-1 et IL-6 et TNF- α) ont été mesurées avec des kits ELISA multiplex V-PLEX. Le profilage des métabolites de la vitamine D a été réalisé par spectrométrie de masse (MS-QTOF).

Les lipoprotéines ont été isolées par ultracentrifugation. La composition lipidique et apolipoprotéinique a été analysée dans chaque lipoprotéine par tests enzymatiques et par SDS-PAGE, respectivement. Un gel SDS-PAGE non dénaturant de 2 % à 16 % a été utilisé pour évaluer la taille des particules de LDL comme décrit précédemment [383,384].

7.4 Évaluation des apports alimentaires et activité physique

Un QFA a été développé et administré aux participants par 2 nutritionnistes (QFA en Annexe). Un journal alimentaire de 3 jours (JA-3j) a été remis aux participants lors des visites 1 et 2. Pour valider le QFA, le JA-3j a été utilisé comme outil de référence. Pour la reproductibilité, les QFA des visites 1 et 2 ont été utilisés. Un outil de calcul des nutriments validé construit à l'interne a été utilisé pour évaluer les apports en nutriments dérivés du QFA. Les apports en énergie, en macronutriments et en micronutriments ont été calculés pour tous les participants. De plus, les aliments du QFA ont été classés en groupes alimentaires : viande, poisson et fruits de mer, produits laitiers, matières grasses, légumes, légumineuses, fruits et restauration rapide. Les groupes alimentaires ont également été classés en sous-groupes : viande blanche, viande rouge, viande transformée, produits laitiers non sucrés, produits laitiers sucrés, noix et graines, grains raffinés avec sucre ajouté, grains raffinés sans sucre ajouté et grains entiers.

Les JA-3j ont été analysés avec l'application Nutrific® développée par le Département des sciences alimentaires et de la nutrition de l'Université Laval (www.nutrific.fsaa.ulaval.ca).

Les données recueillies à l'aide des QFA ont été utilisées pour calculer des scores nutritionnels : MEDAS (*Mediterranean Diet Adherence Screener*), KIDMED (*Mediterranean Diet Quality Index* pour les enfants et adolescents), HDI (*Healthy Diet Indicator*), HEI-2015 (*Healthy Eating Index*), E-DII (*Energy-adjusted Dietary Inflammatory Index*) et FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*). Les JA-3j ont été utilisés pour calculer le pourcentage des calories provenant des aliments ultra-transformés selon la classification NOVA.

L'évaluation des besoins énergétiques estimés a été calculée en tenant compte de l'âge, du sexe, du poids, de la taille et du niveau d'activité physique. L'ANR des nutriments a été déterminé pour chaque participant selon leur groupe d'âge et leur sexe en utilisant les recommandations (g/jour) publiées par Santé Canada.

Les activités physiques quotidiennes modérées à vigoureuses ont été mesurées à l'aide du questionnaire « *Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire* » [385,386] et le questionnaire « *Tecumseh Self-Administered Occupational Physical Activity Questionnaire* » [387] administrés par un kinésiologue.

7.5 Revue de littérature

Une recherche documentaire a été effectuée à l'aide de MEDLINE et PUBMED. Les articles publiés en anglais de janvier 2000 à décembre 2018 ont été inclus. Les termes de recherche étaient : **survivants du cancer** : «childhood cancer survivor» ou «pediatric cancer survivor» ou «leukaem* survivor» ou «leukem* survivor» ou «hematological malignanc* survivor» ou «heamatological malignanc* survivor» ou «lymphom*» ou «neoplasm*» ou «tumor» ou «sarcoma» ou «chemotherapy» ou «radiotherapy» ou «hematopoietic stem cell» ou «adult-onset cancer survivor» ou «breast cancer survivor» ou «prostate cancer survivor» ou «testicular cancer survivor»; **complications cardiométaboliques** : «metabolic syndrome» ou «obesity» ou «insulin resistance» ou «diabetes» ou «dyslipidemia» ou «hypertension» ou «oxidative stress» ou «inflammation»; **dysbiose intestinale** : «gut microbiota» ou «dysbiosis» ou «richness» ou «diversity». Les études sélectionnées visaient à comprendre : 1) les mécanismes sous-jacents des complications cardiométaboliques chez les enfants et les adultes ayant survécu à un cancer ; 2) les effets à court et à long terme du cancer et de son traitement sur la dysbiose intestinale; et 3) le rôle de la dysbiose intestinale dans le développement des complications cardiométaboliques.

7.6 Évaluation du microbiote intestinal

Un échantillon fécal a été collecté dans une sous-cohorte de 22 survivants présentant un phénotype cardiométabolique correct à extrême : 11 sujets sans aucune complication cardiométabolique et 11 sujets avec au moins 2 facteurs de risque parmi l'obésité, la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et l'hypertension artérielle. Les critères d'exclusion étaient : maladie inflammatoire de l'intestin, maladie cœliaque, côlon irritable, grossesse, diarrhée ≥ 3 fois par jour pendant ≥ 3 mois durant la dernière année, présence de sang dans les selles, symptômes de maladies gastro-intestinales, utilisation d'antibiotiques et/ou de probiotiques dans le dernier mois. À des fins de comparaison, 11 participants contrôles n'ayant jamais eu de cancer ont été recrutés. Les mêmes critères d'exclusion ont été considérés. Seule une collecte de selle a été obtenue des contrôles. L'ADN total a été extrait des échantillons de selles par rupture mécanique et avec le FastDNA Spin Kit comme décrit précédemment [388] et quantifié à l'aide d'un fluorimètre Qubit. La composition du microbiote a été déterminée par l'amplification et le

séquençage de la région 16Sv4 méthode amplement utilisée pour identifier et classer les bactéries [389,390], à la plateforme de séquençage Illumina à l'Université d'Ottawa en collaboration avec le laboratoire de Dr Alain Stintzi. Les données de séquençage ont été filtrées dans un pipeline bio-informatique standardisé en utilisant les programmes FASTX-Toolkit, QIIME et des scripts R personnalisés qui comprend [391] : (1) le contrôle de la qualité et le prétraitement des lectures de séquences; (2) le regroupement des lectures en unités taxonomiques opérationnelles (OTU); (3) la classification taxonomique et l'estimation des abondances relatives des phylotypes; (4) la génération de mesures et de graphiques de diversité; et (5) l'évaluation de la capacité métabolique des bactéries. L'analyse bioinformatique permet d'obtenir la classification taxonomique à tous les niveaux (bactéries, genre ou phylum) et la diversité alpha et bêta. Les résultats ont été normalisés sur la concentration d'ADN total de chacun des échantillons. Les résultats ont aussi été normalisés sur la biomasse bactérienne déterminée par PCR quantitative à l'aide des amorces décrites précédemment [392] (forward : ACTCCTACGGGAGGCAGCAG ; reverse : ATTACCGCGGCTGCTGG, hybridation : 55°C) et conçues pour amplifier toutes les souches bactériennes du microbiote intestinal. Les amplicons ont été quantifiés par fluorescence à l'aide de PowerUp SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems) à l'aide de l'appareil 7500 Fast Real-Time PCR System. Les analyses statistiques ont été complétées avec l'outil d'analyse MetagenomeSeq. Il s'agit d'un modèle gaussien à inflation de zéro conçu pour déterminer les caractéristiques (ex. OTU, espèces, famille, phylum) qui ont une abondance différente entre deux ou plusieurs groupes d'échantillons multiples [393].

7.7 Modèle murin

Un protocole expérimental impliquant un modèle murin xénogénique de la LLA a été développé en collaboration avec le laboratoire de Dr Elie Haddad au Centre de recherche du CHUSJ. La technique de xéngreffe de la LLA chez la souris immunodéficiente [type de souris : NOD/SCID/gamma c- (NSG)] a été utilisée. Elle consiste à reproduire la leucémie humaine à l'aide d'une greffe de cellules leucémiques humaines (blastes : cellules lymphoïdes immatures) de patients nouvellement diagnostiqués. Ces souris NSG sont issues de la colonie du laboratoire de Dr Elie Haddad. On retrouve la schématisation de l'étude à la **Figure 13**.

L'approbation éthique pour cette étude a été obtenue auprès du Comité Scientifique du CHUSJ ainsi que du Comité institutionnel de bonnes pratiques animales en recherche (CIBPAR) du CHUSJ.

7.7.1 Sélection des blastes pour les greffes

Les trois sources de blastes sélectionnées provenaient de la banque de cellules amplifiées de patients nouvellement diagnostiqués avec la LLA du département d'hémo-oncologie du CHUSJ (Dr E. Haddad, CER #3527) et dont le génotype du métabolisme du méthotrexate est connu. Les critères de sélections des blastes ont été : (1) maladie ayant pour souche des cellules pré-B; (2) absence de rechute et de cancer secondaire chez le patient; (3) absence de résistance au méthotrexate durant les traitements; et (4) la cinétique de la maladie chez la souris NSG était de 30 à 90 jours.

7.7.2 Composition des groupes de souris NSG

Deux groupes de 3 et un groupe de 2 souris NSG regroupées selon le blaste reçu et un groupe contrôle (n=2) ont été utilisés pour un total de 10 souris (**Tableau 9**). Le petit nombre de souris inclus dans la phase exploratoire ne permettant pas d'ajouter un facteur confondant (soit le sexe des souris), des souris NSG femelles ont été sélectionnées pour les expériences. Ceci en s'appuyant sur les résultats rapportés de l'étude PETALE qui indiquent une prédominance de la prévalence de l'obésité et de la résistance à l'insuline chez la femme survivante de la LLA pédiatrique.

Tableau 9. – Description des groupes de souris NSG inclus dans l'étude

Groupes déterminés selon greffe reçue	Nombre de souris	Souris traitées au méthotrexate
Blaste 17-2014	3	2
Blaste 09-2013	3	2
Blaste 16-2013	2	1
Salin (contrôles)	2	0

7.7.3 Greffes des souris

Souris avec LLA

La greffe de 1 à 5 millions de cellules mononuclées de patient nouvellement diagnostiqué avec la LLA suspendues dans 100 µl de solution saline a été faite par injection dans la veine latérale de la queue chez les souris âgées de 7 à 9 semaines. Durant la période post-greffe, les prises de sang par la veine saphène (100 µL) ont été effectuées hebdomadairement pour évaluer le développement de la leucémie par détection de cellules leucémiques circulant dans le sang. Le marqueur utilisé a été la concentration de CD45 humain versus les CD45 murin et ceci déterminé par cytométrie en flux. L'appareil BD FACS Canto de la plateforme de cytométrie en flux du CHUSJ a été utilisé.

Souris contrôles

Les souris contrôles âgées de 7 à 9 semaines ont été greffées avec une solution saline tamponnée au phosphate. Les prises de sang hebdomadaire ont été effectuées chez les souris contrôles afin d'être utilisées comme contrôle négatif quant à la présence de CD45 humain mesuré par cytométrie en flux.

7.7.4 Traitement avec le méthotrexate

Souris avec LLA

Les traitements ont débuté lorsque les souris ont été diagnostiquées comme malades selon des critères préétablis (niveau de cellules leucémiques en circulation >5 %). À ce point, une souris par groupe de blaste n'a pas été traitée afin d'évaluer l'impact de la maladie seule (sans traitement) sur le développement de complications cardiométaboliques (**Tableau 9**). Les autres ont été traitées au méthotrexate à 5 mg/kg en intrapéritonéal pour une durée de 7 semaines (4 jours aux 2 semaines soit 3 semaines de traitement). L'état clinique a été suivi de près durant le traitement. Celui-ci a été arrêté si la proportion de blastes dans le sang périphérique augmentait au lieu de diminuer et/ou si les signes cliniques de la maladie (perte de poids, léthargie, pelage ébouriffé) chez les animaux traités se détérioraient malgré le traitement.

Souris contrôles

Les souris contrôles n'ont reçu aucun traitement.

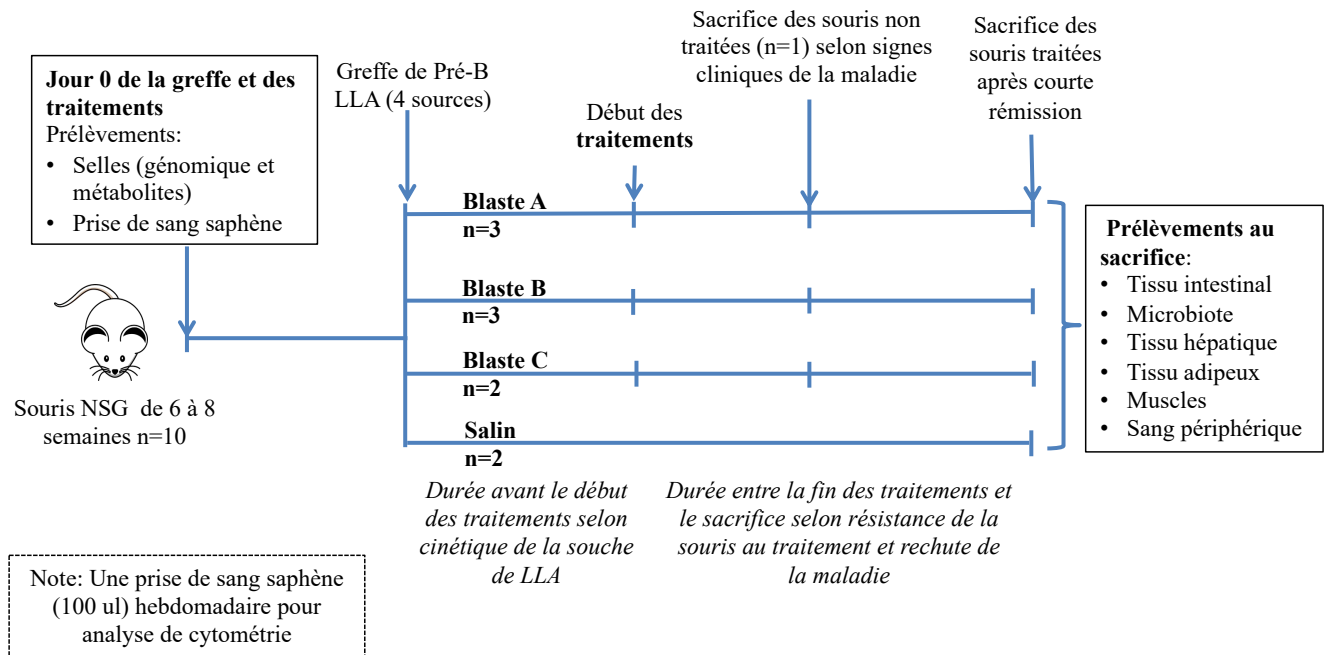


Figure 13. – Schéma récapitulatif des expériences pour tester le modèle murin xénogénique de la LLA

7.7.5 Sacrifice des souris

Souris avec la LLA

Les souris traitées ont été sacrifiées 4 semaines après la fin des traitements ou avant s'il y avait observation de signes de rechute de la maladie (augmentation de cellules leucémiques, perte de poids, léthargie et pelage ébouriffé). Plus précisément, les souris ont été sacrifiées par saignée intracardiaque sous anesthésie générale à isoflurane 3-5% par inhalation dans une boîte à induction et une dislocation cervicale a été effectuée selon le PNF 301.02. Au moment du sacrifice, les tissus ont été prélevés (foie, intestin, tissu adipeux mésentérique et rate) et mesurés ou pesés. Les tissus prélevés ont été conservés à -80 °C jusqu'à leur analyse.

Les souris n'ayant pas été traitées au méthotrexate ont été sacrifiées lorsque les cellules leucémiques ont atteint 50-90% du volume sanguin circulant et/ou lors de l'observation de signes

apparents de splénomégalie soit un abdomen légèrement gonflé, une perte de poids, une léthargie et un pelage ébouriffé.

Souris contrôles

Les souris contrôles ont été sacrifiées en même temps que les derniers sacrifices de souris greffées et traitées.

7.7.6 Évaluation biochimique

Les échantillons de sang ont été collectés lors de la saignée intracardiaque au moment du sacrifice dans des tubes contenant 1 g/L d'EDTA et conservés sur de la glace jusqu'à la centrifugation. Le plasma a été séparé dans les 45 minutes suivant sa collecte et conservé à -80 °C jusqu'à l'analyse. Une partie du foie (0.1 g) a été homogénéisée pour doser les lipides. Les TG, le cholestérol total et les phospholipides ont été mesurés par tests enzymatiques dans le plasma alors que les TG, le cholestérol total, le cholestérol libre et les phospholipides ont été dosés par les mêmes tests dans un homogénat du foie.

8 Résultats

8.1 Article 1

Cardiometabolic risk factors in childhood, adolescent and young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia – A PETALE cohort

Emile Levy, Mariia Samoilenko, Sophia Morel, Jade England, Devendra Amre, Laurence Bertout, Simon Drouin, Caroline Laverdière, Maja Krajnovic, Daniel Sinnett, Geneviève Lefebvre, Valérie Marcil

Article publié dans la revue *Scientific Reports – Nature* en décembre 2017.

Cet article répond aux objectifs spécifiques 1.1, 1.2 et 1.3

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a participé à la coordination de l'étude, la collecte de données, la compilation des données, l'analyse et la révision du manuscrit.

CARDIOMETABOLIC RISK FACTORS IN CHILDHOOD, ADOLESCENT AND YOUNG ADULT SURVIVORS OF ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA SURVIVORS – A PETALE COHORT

Emile Levy¹, Mariia Samoilenko³, Sophia Morel¹, Jade England², Devendra Amre², Laurence Bertout², Simon Drouin², Caroline Laverdière², Maja Krajinovic², Daniel Sinnett², Geneviève Lefebvre³, Valérie Marcil^{1*}

Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Departments of ¹Nutrition and ²Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5, ³Department of Mathematics, Université du Québec à Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3P8.

Corresponding author:

Dr. Valerie Marcil
GI-Nutrition Unit
Sainte-Justine UHC
3175 Côte Ste-Catherine room 4.17.006
Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5
Tel.: (514) 345-4931 (3272)
Fax: (514) 345-4999
E-mail: valerie.marcil@umontreal.ca

Running title: Cardiometabolic risk factors in leukemia survivors

ABSTRACT

Our objectives were to assess the prevalence of cardiometabolic complications in children, adolescents, and young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL), to identify their predictors and the risk compared to the Canadian population. We performed a cardiometabolic assessment of cALL survivors from the PETALE cohort (n=247, median age at visit of 21.7 years). In our group, overweight and obesity affected over 70% of women. Pre-hypertension and hypertension were mostly common in men, both adults (20%) and children (19%). Prediabetes was mainly present in women (6.1% of female adult survivors) and 41.3% had dyslipidemia. Cranial radiation therapy was a predictor of dyslipidemia (RR: 1.60, 95% CI: 1.07-2.41) and high LDL-cholesterol (RR: 4.78, 95% CI: 1.72-13.28). Male gender was a predictor for pre-hypertension and hypertension (RR: 5.12, 95% CI: 1.81-14.46). Obesity at the end of treatment was a predictor of obesity at interview (RR: 2.07, 95% CI: 1.37-3.14) and of metabolic syndrome (RR: 3.04, 95% CI: 1.14-8.09). Compared to the general population, cALL survivors were at higher risk of having the metabolic syndrome, dyslipidemia, pre-hypertension/hypertension and high LDL-cholesterol, while the risk for obesity was not different. Our results support the need for early screening and lifestyle intervention in this population.

Keywords: Metabolic syndrome, dyslipidemia, obesity, hypertension, diabetes, childhood acute lymphoblastic leukemia survivors, children, adolescents, young adults

INTRODUCTION

Childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL) is the most common pediatric malignancy accounting for almost one-third of all childhood cancers. With the advent of multimodality therapy, the long-term survival rate of children with ALL has remarkably improved and now exceeds 80% [1]. Nevertheless, for many patients the price for this success is very high since a majority of survivors will be afflicted by long-term treatment-related sequelae. Indeed, survivors of cALL are at increased risk for long-term cardiovascular complications, with a higher cardiac standardized mortality ratio of 3.8 compared with the US population [2], and a 6.9-fold greater likelihood of developing cardiac complications when compared with a group of siblings [3]. Furthermore, studies have reported that survivors of cALL are at increased risk of metabolic syndrome characterized by obesity, insulin resistance, dyslipidemia and hypertension [4-6], aortic calcifications [7] and arterial changes [8] that are suggestive of premature atherosclerosis and cardiovascular disease. Even during childhood, cardiovascular risk factors, including adiposity, physical inactivity, dyslipidemia and insulin resistance, have been identified in survivors [9]. The reported prevalence of metabolic syndrome in adults surviving cALL ranges between 6.9 to 39% [6,10-13]. This wide range can be explained by the heterogeneity and inconsistency among studies as some were conducted in non-homogeneous populations, only assessed certain risk factors, or included patients who received treatment regimens encompassing multiple decades.

The high prevalence of obesity and cardiometabolic complications in cALL survivors is not fully understood. Cranial radiotherapy (CRT) was found associated with elevated fat mass, hyperleptinemia, and impaired insulin sensitivity [14]. Since treatment protocols are now trending towards less use and lower doses of CRT, one could ask whether patients treated with modern therapy are still at risk of long-term cardiometabolic complications [15]. While CRT in doses of 20 Gray (Gy) or more was identified as the primary risk factor for obesity [16], doses between 10 and 20 Gy used in more recent protocols were also associated with an increased risk [16] indicating that survivors are still at risk despite lower CRT exposition. Other possible risk factors for obesity in cALL survivors include age and body mass index (BMI) at diagnosis [17-19]. Furthermore, the age of onset of cardiometabolic complications in cALL survivors remains nebulous since most studies have dealt with adult patients, with little data on childhood,

adolescent and young adult (CAYA) survivors. Finally, few comprehensive comparisons to cohorts of national data have been carried out, especially in CAYA.

RESULTS

Patient characteristics

Demographic and treatment characteristics relevant for the following analyses are outlined in **Table 1**. A total of 247 cALL survivors were included in this study (49.4% male). Median age at PETALE (*Prévenir les effets tardifs des traitements de la leucémie aigüe lymphoblastique chez l'enfant*) interview was 21.7 years old, ranging from 8.5 to 41.0 years (34.4% children), and median survival time was 15.2 years. A total of 147 participants (59.5%) received CRT. Given the reduction of CRT use in more recent protocols, a larger proportion of adult survivors received CRT as opposed to pediatric survivors (69.8 vs. 40.0%). For all protocols, doses of CRT ranged between 10 and 20 Gy.

Prevalence of cardiometabolic complications in the PETALE cohort

The prevalence of cardiometabolic complications and the distribution of outcomes according to cut-off values are presented in **Table 2** and in **Supplementary Table 2**. Data show that overweight and obesity were highly prevalent, particularly in women (affecting over 70% of them). Pre- and hypertension was mostly common in men (20%) and in boys (19%). Prediabetes was mainly present in women (prevalence of 6.1%). Importantly, we found a very high prevalence of dyslipidemia in all groups, as 41.3% of patients presented with one or more abnormal lipid values. In particular, we found low HDL-cholesterol (high-density lipoprotein – cholesterol) in 23.1% of patients, high LDL-cholesterol (low-density lipoprotein – cholesterol) in 17.4% and high triglycerides in 12.2%. When combining all four cardiometabolic risk factors, only 35.2% of adults and 48.2% of children did not have any risk factor. A total of 61 patients (24.7%) cumulated two or more risk factors. Additionally, metabolic syndrome afflicted 22 participants (8.9%) as per the International Diabetes Federation (IDF) definition and 14 adults (8.6%) using the National Cholesterol Education Program- Adult Treatment Panel (NCEP-ATP) III definition.

Predictors of cardiometabolic complications among cALL survivors

Univariate analyses indicated that age at interview (per unit of year) was significantly associated with obesity (Relative risk, RR: 1.03, 95% confidence interval (CI): 1.00-1.06), dyslipidemia (RR: 1.04, 95% CI: 1.02-1.06), prediabetes (RR: 1.11, 95% CI: 1.01-1.22), metabolic syndrome as per the IDF definition (RR: 1.09, 95% CI: 1.03-1.15) and accumulating 2 or more risk factors (RR: 1.06, 95% CI: 1.02-1.09) (**Table 3**). Male gender was associated with pre-hypertension/hypertension (RR: 4.10, 95% CI: 1.74-9.68) but was protective for obesity (RR: 0.60, 95% CI: 0.41-0.88). Exposure to CRT was only significantly predictive of dyslipidemia (RR: 1.56, 95% CI: 1.11-2.18) (**Table 3**) and particularly of high LDL-cholesterol (RR: 5.17, 95% CI: 2.11-12.68) (**Supplementary Table 3**). Being obese at the end of cALL treatment was significantly associated with the presence of obesity at interview (RR: 2.17, 95% CI: 1.47-3.21) and metabolic syndrome – IDF definition (RR: 3.23, 95% CI: 1.28-8.14) (**Table 3**). However, delta BMI percentile was not a predictor of long-term cardiometabolic complications in our cohort.

As outlined in **Table 4** and **Supplementary Table 4**, multiple log-binomial regression analyses revealed that CRT exposure remained a predictor of dyslipidemia (RR: 1.60, 95% CI: 1.07-2.41) and high LDL-cholesterol (RR: 4.78, 95% CI: 1.72-13.28) along with age at interview (RR: 1.05, 95% CI: 1.01-1.08 and RR: 1.11, 95% CI 1.04-1.19 respectively). Male gender stayed a predictor for pre- and hypertension (RR: 5.12, 95% CI: 1.81-14.46) in the corresponding adjusted model but did not remain significant for obesity. Moreover, obesity at the end of treatment was predictor of obesity at interview (RR: 2.07, 95% CI: 1.37-3.14) and metabolic syndrome (IDF definition, RR: 3.04, 95% CI: 1.14-8.09). No associations were found with the variation in BMI percentile between diagnosis and the end of treatment. Of note, metabolic syndrome as defined by the NCEP-ATP III and prediabetes could not be analyzed with multiple log-binomial or Poisson regressions because of convergence problems identified by the SAS procedure PROC GENMOD.

Comparison to control cohort

Compared to CHMS controls and after adjusting for age and gender, cALL survivors were significantly at higher risk of having the metabolic syndrome (IDF definition), dyslipidemia, pre-hypertension/hypertension while the risk for obesity was not different (**Figure 1A**). Survivors were also at higher risk of accumulating 2 or more complications and having high LDL-cholesterol.

Adjusting for the presence of obesity hardly modified the RR (**Figure 1B**). Stratification according to CRT exposure revealed that only CRT recipients were more likely than CHMS controls to have cardiometabolic complications as the RR were not significant in survivors not exposed to CRT (**Figures 1C and 1D**). However, in participants not exposed to CRT, the relative risk for pre-hypertension and hypertension was close to significance (RR= 1.93, 95% CI 0.96-3.88). Prediabetes, high glucose and glycated hemoglobin (HbA1c) could not be included in the analysis given that the number of cases in the CHMS cohort was too low to respect Statistics Canada confidentiality policies.

DISCUSSION

One of the main objectives of the PETALE initiative was to characterize early-onset late adverse effects in a homogenous population of CAYA cALL survivors exposed to Dana Farber Cancer Institute protocols from 1987 to 2005. Evaluation of this cohort exposed the high prevalence of cardiometabolic complications and supported an increased cardiovascular risk compared to the general Canadian population, extending the observations obtained by other groups in older cohorts [4-9,20].

Depending on the definition, we identified the metabolic syndrome in 11.7 and 8.6% of adults (both genders combined) while, in children, 7.3% of boys and no girls were afflicted. These results are similar to that of the French L.E.A. study that has reported an overall metabolic syndrome prevalence of 6.9% (NCEP-ATP III definition) in a relatively young cohort (mean age of 24.2 years) [10]. Furthermore, we found that more than 60% of our cohort presented with at least one cardiometabolic risk factor, similar to what Kourti and al. had found when they investigated 52 survivors from cALL 37 months after the completion of therapy and treated with chemotherapy alone (median age at visit of 15.2 years). In their study, the three criteria for the metabolic syndrome (high triglyceride levels, glucose intolerance, and obesity) were fulfilled by only three subjects (5.76%), while 55.7% had at least one criterion for metabolic syndrome [21]. In the PETALE cohort, the RR for metabolic syndrome (IDF definition) was 2.23 and remained significant only in participants exposed to CRT (RR of 2.50). The RR was not significant when the NCEP-ATP III definition was used, probably because of a smaller cohort size since this definition applies only to adults. The St. Jude Lifetime Cohort Study identified a RR of 1.76 of metabolic syndrome

compared to the general population and using the NCEP-ATP III definition [6]. Like us, this higher risk was only significant in those who were exposed to CRT [6]. Saultier and collaborators have found age at interview, male gender and BMI at diagnosis as risk factors for metabolic syndrome and no relation was revealed with CRT exposition, while BMI at end of treatment was not analyzed in this particular study [10]. Finally, an interesting finding of our study is that obesity at the end of treatment was the only predictor of metabolic syndrome that remained significant in the multivariate model, again advocating for early prevention and intervention during treatment in children.

Although our results showed that a large proportion of the PETALE cohort was afflicted with overweight (19.0%) and obesity (32.8%), the risk was not superior compared to the general population even after stratification for CRT exposure. Moreover, being obese did not explain the increased risk of dyslipidemia, pre-hypertension/hypertension or high LDL-cholesterol as adjusting for obesity status did not modify our findings, suggesting that obesity might not be the mechanism explaining their development. In line with our results, a study including very young survivors (median age of 13.3 years) demonstrated that, for standard risk patients, rates of overweight and obesity are not greater than those in non-cancer peers [15]. While we did not find significant associations with the variation of BMI percentile between diagnosis and the end of treatment, obesity at the end of cALL treatment was a strong predictor of obesity in survivors. Similarly, Razzouk et al. [22] observed that young age (<6 years) and overweight/obesity at diagnosis were the best predictors of obesity at adulthood in a study of 456 childhood ALL and lymphoma survivors. That study concluded that BMI weight category at diagnosis, rather than type of central nervous system treatment received, predicted adult weight in long-term survivors of childhood hematologic malignancies. Contrary to us, the authors did not analyze the association with obesity at end of treatment.

The prevalence of dyslipidemia in the PETALE cohort was particularly high, affecting more than 40% of participants. These numbers are superior to another study performed on young cALL survivors (median age of 11.7, range: 7–22) that found 23.3% of 60 patients with dyslipidemia [23]. Our results showed that CRT exposure and older age at interview were predictors of this late effect, specifically for high LDL-cholesterol. Also, cALL survivors were at higher risk of dyslipidemia

than the general population, a finding that, after stratification according to CRT, did not remain statistically significant in those who received chemotherapy alone. These high rates and elevated risk of dyslipidemia raise concerns, especially since a study reported that only 5.7% of young cALL survivors were screened for lipids [24] whereby our findings suggest that they should have a rigorous follow-up. Defining risk factors for dyslipidemia is thus important to improve early screening with frequent, early and appropriate risk-based follow-up for cALL survivors.

Given their young age, the high prevalence (20%) of pre-hypertension and hypertension in male PETALE participants is concerning. We found that male gender, rather than CRT exposure, was strongly predictive of this outcome. Prevalence of hypertension in other studies ranged from 8.3 to 36.7% in which the impact of gender was not mentioned [10,23,25,26]. We also observed an increased risk of pre-hypertension and hypertension compared to the general population that remained significant after controlling for obesity. Similarly to us, the study on the St. Jude Lifetime Cohort found a higher risk compared to controls (RR of 4.23) and for male gender (RR of 1.23) [6]. Results from a French cohort of cALL survivors also reported male sex (Odds ratio, OR=3.47) and age at last evaluation (OR=1.08 for each additional year of follow-up) as risk factors for increased arterial pressure [10]. Although the etiology of hypertension in cALL survivors is not fully understood, the developing cardiovascular system of children is thought to be highly susceptible to the toxic effects of chemotherapeutic agents [25] that could directly or indirectly cause endothelial damage [27,28]. Furthermore, even though we found that the risk of having pre-hypertension or hypertension was higher in survivors exposed to CRT, the RR was close to statistical significance for unexposed participants suggesting that both CRT exposure and chemotherapeutic agents contribute to the risk. Several studies have supported that cALL survivors are at increased risk of type 2 diabetes [6,29,30]. The prevalence of prediabetes was low in our study (n=8 participants), given the young average age of our cohort, preventing significant associations and causing convergence problems in our multiple models. However, age at interview was marginally associated with prediabetes. Another study showed that in adolescent cancer survivors 5 years or more from diagnosis, anthracyclines, platinum, CRT, and steroids were most strongly associated with insulin resistance [4]. Chow *et al.* demonstrated the development of insulin resistance in pediatric patients undergoing maintenance therapy, as

measured prior to and during or soon after a 5-day course of corticosteroids [31]. In our analyses, for the same age range in the CHMS cohort the number of subjects with prediabetes was too little to respect confidentiality policies, indicating the very low prevalence of this outcome in the general population.

ALL treatment may contribute to deteriorate cardiometabolic health through several mechanisms, for example by damaging endocrine organs or afflicting endothelial function and adipose tissue metabolism [32]. CRT has been proposed as a contributing factor to the development cardiometabolic complications [6,13] and a higher prevalence was reported when chemotherapy is combined with radiotherapy [33]. Our study supported these findings as only survivors exposed to CRT were at higher cardiometabolic risk than the general population. However, other studies indicated that chemotherapy alone could promote these late effects. The prevalence of insulin resistance [30], obesity [33] and other cardiovascular risk factors [30] were found significantly higher in young adult survivors of cALL than in controls, whether or not patients were exposed to CRT. However, in our study, we did not find any relation between CRT and obesity. Similarly, a study from Children's Oncology Group including 1,638 children enrolled in cALL treatment protocol from 1996 to 2002 revealed that the increased risk of obesity was independent of CRT [34].

In summary, our study with the PETALE cohort revealed the higher risk of cardiometabolic complications in CAYA cALL survivors. Those who were exposed to CRT were especially at higher risk despite doses of 20 Gy or less. Obesity at the end of treatment was a predictor of obesity at interview and of metabolic syndrome, male gender was predictive of pre-hypertension and hypertension and CRT exposure of dyslipidemia, specifically high LDL-cholesterol. Our results support the need for early lifestyle intervention, preferable during treatment in childhood. Identifying early predictors of cardiometabolic complications will help develop targeted prevention strategies for long-term complications and personalize follow-up.

METHODS

Aims

There is a need to assess the cardiometabolic risk in populations of CAYA cALL survivors and to

identify early predictors for these complications in order to tailor treatments and follow-up for patients most at risk. Hence, the objectives of this study were to: (1) assess the prevalence of obesity, hypertension, insulin resistance, dyslipidemia and metabolic syndrome in CAYA survivors of cALL; (2) identify if exposure to CRT in doses less than 20 Gy, age at diagnosis and obesity status during and after treatment can predict long-term cardiometabolic complications and; (3) evaluate the risk of cardiometabolic risk factors in CAYA cALL survivors as compared to the general Canadian population.

PETALE Cohort

Participants included in this study were survivors of cALL recruited as part of the PETALE study at Sainte-Justine University Health Center (SJUHC) in Montreal, Canada. This study was designed to characterize long-term effects in cALL survivors [35]. Briefly, subjects enrolled in the PETALE study were treated for cALL at SJUHC with the Dana Farber Cancer Institute protocols [36]. Survivors less than 19 years old at diagnosis, more than 5 years post diagnosis and who have never experienced a relapse were invited to participate. At visit, participants completed a core laboratory assessment as well as anthropometric and clinical evaluations. Participants were residents of the Province of Quebec, Canada and of European descent belonging to a population with an established genetic founder effect [37,38].

Comparison Cohort

Controls were selected from Cycle 3 (2012–2013) of the Canadian Health Measures Survey (CHMS). Procedures and methods for data collection for the survey have been described previously [39,40]. This survey, conducted by Statistics Canada, was completed by a sample of the population representing approximately 96.3% of Canadians aged 6 to 79 years. The ethics approval process for the CHMS has been described previously and all participants gave their informed consent [41]. For each metabolic complication, PETALE participants were merged with the Caucasian CHMS controls who had no prior cancer history, were not pregnant, were in the same age range as the PETALE study participants, and for which corresponding clinical measurements were available (565 to 2212 controls depending of the metabolic outcome). Since outcome prevalence between the residents of the Province of Quebec and the residents of

Canada (including all provinces) were not statistically significant, analyses were performed using the entire Canadian cohort in order to increase power.

Outcome measurements

Cut-off values used to determine cardiometabolic outcomes in children (<18 years old) and adults are summarized in **Supplementary Table 1**. BMI was calculated as weight (kg) / height (m)². For subjects 18 years old and over, BMI ≥ 25 kg/m² was defined as overweight whereas BMI ≥ 30 kg/m² referred to obesity. For children and adolescents, BMI $\geq 85^{\text{th}}$ and $< 97^{\text{th}}$ percentile referred to overweight and $\geq 97^{\text{th}}$ percentile to obesity according to the World Health Organization BMI charts [42]. For adults, waist circumference was classified as normal (<94 cm in men and <80 cm in women), borderline (≥ 94 cm and <102 cm in men and ≥ 80 cm and <88 cm in women) [43] or high (≥ 102 cm in men and ≥ 88 cm in women) [44]. For children, waist circumference below the 90th percentile was defined as normal, $\geq 90^{\text{th}}$ and $< 95^{\text{th}}$ percentile as borderline and $\geq 95^{\text{th}}$ percentile as high [45]. Overall obesity was determined by presenting at least one of two factors: obese according to BMI and/or high waist circumference.

Arterial pressure was measured in the morning on the right arm of the subjects seated and at rest. Hypertension and pre-hypertension were determined when either systolic or diastolic readings were above current recommendations in adults (normal <130/85; pre-hypertension: $\geq 130/85$ and <140/90; hypertension $\geq 140/90$) [46] and in children (normal: <90th percentile; pre-hypertension: $\geq 90^{\text{th}}$ and <95th percentile and hypertension $\geq 95^{\text{th}}$ percentile according to age and height) [47]. Participants currently taking drugs to treat hypertension were also considered hypertensive.

Blood samples were drawn in the morning, after an overnight fasting. Serum was used to assess prediabetes by measuring glucose and glycated hemoglobin (HbA1c). For fasting glucose, values <5.6 mmol/L were considered optimal, ≥ 5.6 and <6.1 mmol/L were considered at risk and ≥ 6.1 and <7.0 mmol/L indicated prediabetes and ≥ 7.0 mmol/L diabetes [48]. For HbA1c, values <5.5% (<37 mmol/mol) were optimal, between 5.5 and 5.9% (37 and 41 mmol/mol) at risk and between 6.0% and 6.4% (42 and 46 mmol/mol) referred to prediabetes [48]. Overall prediabetes was defined as presenting at least one of two factors: blood fasting glucose ≥ 6.1 mmol/L and/or

HbA1c $\geq 6.0\%$ (42 mmol/mol) [48].

Dyslipidemia was evaluated in fasting serum. In adults, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol < 2.6 mmol/L was considered optimal, ≥ 2.6 and < 3.4 mmol/L borderline and ≥ 3.4 mmol/L high [49]. Triglycerides levels < 1.3 mmol/L were classified optimal, ≥ 1.3 and < 1.7 mmol/L borderline [50] and ≥ 1.7 mmol/L high [49]. High-density lipoprotein (HDL)-cholesterol < 1.03 in men and < 1.3 mmol/L in women were considered low [49]. In children, LDL-cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol values were classified according to the recent guidelines of the National Heart, Lung and Blood Institute for gender and age group and were classified as optimal, borderline or abnormal [50]. Dyslipidemia was determined by having at least one factor: high LDL-cholesterol; high triglycerides; low HDL-cholesterol and/or on drug treatment.

As per the National Cholesterol Education Program- Adult Treatment Panel (NCEP-ATP) criteria [51], metabolic syndrome was identified as presence of three or more of the following: (i) waist circumference ≥ 102 cm in men and ≥ 88 cm in women; (ii) hypertriglyceridaemia ≥ 1.70 mmol/L or on drug treatment; (iii) low HDL < 1.03 mmol/L in men and < 1.3 mmol/L in women or on therapy; (iv) systolic blood pressure ≥ 130 mmHg or diastolic ≥ 85 mmHg or on treatment and; (v) hyperglycaemia ≥ 5.55 mmol/L or on treatment. According to the International Diabetes Federation (IDF) [52], metabolic syndrome was defined in participants 16 years and older having waist circumference ≥ 94 cm in men and ≥ 80 cm in women, plus any two of the following factors: (i) triglycerides ≥ 1.70 mmol/L or on drug treatment; (ii) HDL < 1.03 mmol/L in men and < 1.3 mmol/L in women or on therapy; (iii) systolic ≥ 130 mmHg or diastolic ≥ 85 mmHg or on treatment and; (iv) fasting blood glucose ≥ 5.6 mmol/L. For children 10 to < 16 years old, metabolic syndrome (IDF) was defined as waist circumference $\geq 90^{\text{th}}$ percentile plus any two of: (i) triglycerides ≥ 1.70 mmol/L; (ii) HDL < 1.03 mmol/L; (iii) systolic ≥ 130 mmHg or diastolic ≥ 85 mmHg and; (iv) fasting blood glucose ≥ 5.6 mmol/L.

The cumulative number of cardiometabolic risk factors was determined by adding the presence of these four factors: obesity, pre-hypertension/hypertension, prediabetes and dyslipidemia.

Measurements of overweight, obesity and body mass index during treatments

Data on weight and height at diagnosis and at end of treatment were used to assess BMI percentiles according to age and gender. Presence of overweight and obesity was evaluated using the World Health Organization BMI charts as described above [42]. Delta BMI percentile was calculated as [Δ BMI percentile = percentile BMI at end of treatment - percentile BMI at diagnosis].

Statistical analyses

Descriptive statistics were used to report the characteristics of the cALL survivors and the distribution of cardiometabolic outcomes in the PETALE cohort. In our study, the prevalence of many outcome measures was larger than 15%. Since odds ratio (OR) cannot be interpreted as a RR when outcome is not rare [53], we used log-binomial regression models for the estimation of RR (both unadjusted and adjusted) and corresponding 95% confidence intervals (CI). We first performed a series of simple log-binomial regression analyses to assess the association between each cardiometabolic complication and each targeted potential predictors: gender, age at interview, age at diagnosis, exposure to CRT, obesity at diagnosis, obesity at the end of treatment and delta BMI percentile. A multiple log-binomial regression analysis using the same set of predictors was then performed for each outcome. Poisson regression with robust variance estimates was applied in the case of non-convergent *log-binomial* models [54,55].

To estimate the RR and 95% CI of having a particular cardiometabolic complication among cALL survivors versus CHMS controls, we performed log-binomial regression or Poisson regression with robust variance estimates analysis [54] with adjustment for sex and age at visit. Secondary stratified analyses comparing PETALE sub-cohorts defined by exposure to CRT (exposed vs. unexposed) to CHMS controls were subsequently executed. To assess whether being cALL survivor is associated with the outcomes independently of obesity status, we then adjusted each model for presence of obesity at interview. Analyses were performed using SAS 9.4 and SAS Studio. A P-value <0.05 was considered significant.

REFERENCES

1. Pui, C.H.; Mullighan, C.G.; Evans, W.E.; Relling, M.V. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* **2012**, *120*, 1165-1174. 10.1182/blood-2012-05-378943
2. Mertens, A.C.; Yasui, Y.; Neglia, J.P.; Potter, J.D.; Nesbit, M.E., Jr.; Ruccione, K.; Smithson, W.A.; Robison, L.L. Late mortality experience in five-year survivors of childhood and adolescent cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2001**, *19*, 3163-3172.
3. Mody, R.; Li, S.; Dover, D.C.; Sallan, S.; Leisenring, W.; Oeffinger, K.C.; Yasui, Y.; Robison, L.L.; Neglia, J.P. Twenty-five-year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* **2008**, *111*, 5515-5523. 10.1182/blood-2007-10-117150
4. Baker, K.S.; Chow, E.J.; Goodman, P.J.; Leisenring, W.M.; Dietz, A.C.; Perkins, J.L.; Chow, L.; Sinaiko, A.; Moran, A.; Petryk, A., *et al.* Impact of treatment exposures on cardiovascular risk and insulin resistance in childhood cancer survivors. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* **2013**, *22*, 1954-1963. 10.1158/1055-9965.EPI-13-0610
5. Oeffinger, K.C. Are survivors of acute lymphoblastic leukemia (ALL) at increased risk of cardiovascular disease? *Pediatr Blood Cancer* **2008**, *50*, 462-467; discussion 468. 10.1002/pbc.21410
6. Nottage, K.A.; Ness, K.K.; Li, C.; Srivastava, D.; Robison, L.L.; Hudson, M.M. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br J Haematol* **2014**. 10.1111/bjh.12754
7. Gurney, J.G.; Ojha, R.P.; Ness, K.K.; Huang, S.; Sharma, S.; Robison, L.L.; Hudson, M.M.; Kaste, S.C. Abdominal aortic calcification in young adult survivors of childhood acute

- lymphoblastic leukemia: results from the St. Jude Lifetime Cohort study. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *59*, 1307-1309. 10.1002/pbc.24134
8. Dengel, D.R.; Kelly, A.S.; Zhang, L.; Hodges, J.S.; Baker, K.S.; Steinberger, J. Signs of early sub-clinical atherosclerosis in childhood cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2014**, *61*, 532-537. 10.1002/pbc.24829
 9. Steinberger, J.; Sinaiko, A.R.; Kelly, A.S.; Leisenring, W.M.; Steffen, L.M.; Goodman, P.; Mulrooney, D.A.; Dietz, A.C.; Moran, A.; Perkins, J.L., *et al.* Cardiovascular risk and insulin resistance in childhood cancer survivors. *J Pediatr* **2012**, *160*, 494-499. S0022-3476(11)00813-4 [pii] 10.1016/j.jpeds.2011.08.018
 10. Saultier, P.; Auquier, P.; Bertrand, Y.; Vercasson, C.; Oudin, C.; Contet, A.; Plantaz, D.; Poiree, M.; Ducassou, S.; Kanold, J., *et al.* Metabolic syndrome in long-term survivors of childhood acute leukemia treated without hematopoietic stem cell transplantation: an L.E.A. study. *Haematologica* **2016**. 10.3324/haematol.2016.148908
 11. R, H.S. The new hypertension guidelines. *J Clin Hypertens (Greenwich)* **2013**, *15*, 748-751. 10.1111/jch.12171
 12. Oudin, C.; Simeoni, M.C.; Sirvent, N.; Contet, A.; Begu-Le Coroller, A.; Bordigoni, P.; Curtillet, C.; Poiree, M.; Thuret, I.; Play, B., *et al.* Prevalence and risk factors of the metabolic syndrome in adult survivors of childhood leukemia. *Blood* **2011**, *117*, 4442-4448. 10.1182/blood-2010-09-304899
 13. van Waas, M.; Neggers, S.J.; Pieters, R.; van den Heuvel-Eibrink, M.M. Components of the metabolic syndrome in 500 adult long-term survivors of childhood cancer. *Ann Oncol* **2010**, *21*, 1121-1126. 10.1093/annonc/mdp414
 14. Bulow, B.; Link, K.; Ahren, B.; Nilsson, A.S.; Erfurth, E.M. Survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia, with radiation-induced GH deficiency, exhibit hyperleptinaemia and impaired insulin sensitivity, unaffected by 12 months of GH treatment. *Clinical endocrinology* **2004**, *61*, 683-691. 10.1111/j.1365-2265.2004.02149.x

15. Lindemulder, S.J.; Stork, L.C.; Bostrom, B.; Lu, X.; Devidas, M.; Hunger, S.; Neglia, J.P.; Kadan-Lottick, N.S. Survivors of standard risk acute lymphoblastic leukemia do not have increased risk for overweight and obesity compared to non-cancer peers: a report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* **2015**, *62*, 1035-1041. 10.1002/pbc.25411
16. Garmey, E.G.; Liu, Q.; Sklar, C.A.; Meacham, L.R.; Mertens, A.C.; Stovall, M.A.; Yasui, Y.; Robison, L.L.; Oeffinger, K.C. Longitudinal changes in obesity and body mass index among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* **2008**, *26*, 4639-4645. 10.1200/JCO.2008.16.3527
17. Breene, R.A.; Williams, R.M.; Hartle, J.; Gattens, M.; Acerini, C.L.; Murray, M.J. Auxological changes in UK survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia treated without cranial irradiation. *Br J Cancer* **2011**, *104*, 746-749. 10.1038/bjc.2011.16
18. Brown, A.L.; Lupo, P.J.; Danysh, H.E.; Okcu, M.F.; Scheurer, M.E.; Kamdar, K.Y. Prevalence and Predictors of Overweight and Obesity Among a Multiethnic Population of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors: A Cross-Sectional Assessment. *J Pediatr Hematol Oncol* **2016**, *38*, 429-436. 10.1097/MPH.0000000000000555
19. Chow, E.J.; Pihoker, C.; Hunt, K.; Wilkinson, K.; Friedman, D.L. Obesity and hypertension among children after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **2007**, *110*, 2313-2320. 10.1002/cncr.23050
20. Tonorezos, E.S.; Vega, G.L.; Sklar, C.A.; Chou, J.F.; Moskowitz, C.S.; Mo, Q.; Church, T.S.; Ross, R.; Janiszewski, P.M.; Oeffinger, K.C. Adipokines, body fatness, and insulin resistance among survivors of childhood leukemia. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *58*, 31-36. 10.1002/pbc.22964
21. Kourti, M.; Tragiannidis, A.; Makedou, A.; Papageorgiou, T.; Rousso, I.; Athanassiadou, F. Metabolic syndrome in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia after the completion of chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol* **2005**, *27*, 499-501. 00043426-200509000-00050 [pii]

22. Razzouk, B.I.; Rose, S.R.; Hongeng, S.; Wallace, D.; Smeltzer, M.P.; Zacher, M.; Pui, C.H.; Hudson, M.M. Obesity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia and lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2007**, *25*, 1183-1189. 10.1200/JCO.2006.07.8709
23. Bayram, C.; Yarali, N.; Fettah, A.; Demirel, F.; Tavit, B.; Kara, A.; Tunc, B. Evaluation of Endocrine Late Complications in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors: a report of single-center experience and review of the literature. *Turk J Haematol* **2016**. 10.4274/tjh.2015.0332
24. Lin, M.H.; Wood, J.R.; Mittelman, S.D.; Freyer, D.R. Institutional adherence to cardiovascular risk factor screening guidelines for young survivors of acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* **2015**, *37*, e253-257. 10.1097/MPH.0000000000000320
25. Lipshultz, S.E.; Adams, M.J.; Colan, S.D.; Constine, L.S.; Herman, E.H.; Hsu, D.T.; Hudson, M.M.; Kremer, L.C.; Landy, D.C.; Miller, T.L., *et al.* Long-term cardiovascular toxicity in children, adolescents, and young adults who receive cancer therapy: pathophysiology, course, monitoring, management, prevention, and research directions: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* **2013**, *128*, 1927-1995. 10.1161/CIR.0b013e3182a88099
26. Essig, S.; Li, Q.; Chen, Y.; Hitzler, J.; Leisenring, W.; Greenberg, M.; Sklar, C.; Hudson, M.M.; Armstrong, G.T.; Krull, K.R., *et al.* Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* **2014**, *15*, 841-851. 10.1016/S1470-2045(14)70265-7
27. Kubota, M.; Nakata, R.; Adachi, S.; Watanabe, K.; Heike, T.; Takeshita, Y.; Shima, M. Plasma homocysteine, methionine and S-adenosylhomocysteine levels following high-dose methotrexate treatment in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia or Burkitt lymphoma: association with hepatotoxicity. *Leuk Lymphoma* **2014**, *55*, 1591-1595. 10.3109/10428194.2013.850684

28. Ociepa, T.; Bartnik, M.; Zielezinska, K.; Prokowska, M.; Urasinska, E.; Urasinski, T. Abnormal correlation of circulating endothelial progenitor cells and endothelin-1 concentration may contribute to the development of arterial hypertension in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Hypertens Res* **2016**, *39*, 530-535. 10.1038/hr.2016.22
29. Neville, K.A.; Cohn, R.J.; Steinbeck, K.S.; Johnston, K.; Walker, J.L. Hyperinsulinemia, impaired glucose tolerance, and diabetes mellitus in survivors of childhood cancer: prevalence and risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* **2006**, *91*, 4401-4407. 10.1210/jc.2006-0128
30. Oeffinger, K.C.; Adams-Huet, B.; Victor, R.G.; Church, T.S.; Snell, P.G.; Dunn, A.L.; Eshelman-Kent, D.A.; Ross, R.; Janiszewski, P.M.; Turoff, A.J., *et al.* Insulin resistance and risk factors for cardiovascular disease in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* **2009**, *27*, 3698-3704. 10.1200/JCO.2008.19.7251
31. Chow, E.J.; Pihoker, C.; Friedman, D.L.; Lee, S.J.; McCune, J.S.; Wharton, C.; Roth, C.L.; Baker, K.S. Glucocorticoids and insulin resistance in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* **2013**, *60*, 621-626. 10.1002/pbc.24364
32. Kavey, R.E.; Allada, V.; Daniels, S.R.; Hayman, L.L.; McCrindle, B.W.; Newburger, J.W.; Parekh, R.S.; Steinberger, J.; American Heart Association Expert Panel on, P.; Prevention, S., *et al.* Cardiovascular risk reduction in high-risk pediatric patients: a scientific statement from the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science; the Councils on Cardiovascular Disease in the Young, Epidemiology and Prevention, Nutrition, Physical Activity and Metabolism, High Blood Pressure Research, Cardiovascular Nursing, and the Kidney in Heart Disease; and the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation* **2006**, *114*, 2710-2738. 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.179568
33. Trimis, G.; Moschovi, M.; Papassotiriou, I.; Chrousos, G.; Tzortzatos-Stathopoulou, F. Early indicators of dysmetabolic syndrome in young survivors of acute lymphoblastic leukemia

- in childhood as a target for preventing disease. *J Pediatr Hematol Oncol* **2007**, *29*, 309-314. 10.1097/MPH.0b013e318059c249
34. Withycombe, J.S.; Post-White, J.E.; Meza, J.L.; Hawks, R.G.; Smith, L.M.; Sacks, N.; Seibel, N.L. Weight patterns in children with higher risk ALL: A report from the Children's Oncology Group (COG) for CCG 1961. *Pediatr Blood Cancer* **2009**, *53*, 1249-1254. 10.1002/pbc.22237
 35. Marcoux, S.; Drouin, S.; Laverdiere, C.; Alos, N.; Andelfinger, G.U.; Bertout, L.; Curnier, D.; Friedrich, M.G.; Kritikou, E.A.; Lefebvre, G., *et al.* The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2016**. 10.1002/pbc.26361
 36. Vrooman, L.M.; Neuberg, D.S.; Stevenson, K.E.; Asselin, B.L.; Athale, U.H.; Clavell, L.; Cole, P.D.; Kelly, K.M.; Larsen, E.C.; Laverdiere, C., *et al.* The low incidence of secondary acute myelogenous leukaemia in children and adolescents treated with dexrazoxane for acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium. *Eur J Cancer* **2011**, *47*, 1373-1379. S0959-8049(11)00204-8 [pii] 10.1016/j.ejca.2011.03.022
 37. Krajinovic, M.; Labuda, D.; Richer, C.; Karimi, S.; Sinnett, D. Susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 genetic polymorphisms. *Blood* **1999**, *93*, 1496-1501.
 38. Sinnett, D.; Krajinovic, M.; Labuda, D. Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* **2000**, *38*, 447-462. 10.3109/10428190009059264
 39. Bryan, S.; St-Denis, M.; Wojtas, D. Canadian Health Measures Survey: clinic operations and logistics. *Health reports* **2007**, *18 Suppl*, 53-70.
 40. Tremblay, M.; Wolfson, M.; Connor Gorber, S. Canadian Health Measures Survey: rationale, background and overview. *Health reports* **2007**, *18 Suppl*, 7-20.

41. Day, B.; Langlois, R.; Tremblay, M.; Knoppers, B.M. Canadian Health Measures Survey: ethical, legal and social issues. *Health reports* **2007**, *18 Suppl*, 37-51.
42. Van den Broeck, J.; Willie, D.; Younger, N. The World Health Organization child growth standards: expected implications for clinical and epidemiological research. *European journal of pediatrics* **2009**, *168*, 247-251. 10.1007/s00431-008-0796-9
43. Alberti, K.G.; Zimmet, P.; Shaw, J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* **2005**, *366*, 1059-1062. S0140-6736(05)67402-8 [pii] 10.1016/S0140-6736(05)67402-8
44. National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, E.; Treatment of High Blood Cholesterol in, A. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* **2002**, *106*, 3143-3421.
45. Katzmarzyk, P.T. Waist circumference percentiles for Canadian youth 11-18y of age. *Eur J Clin Nutr* **2004**, *58*, 1011-1015. 10.1038/sj.ejcn.1601924
1601924 [pii]
46. Stern, R.H. The new hypertension guidelines. *J Clin Hypertens (Greenwich)* **2013**, *15*, 748-751. 10.1111/jch.12171
47. Paradis, G.; Tremblay, M.S.; Janssen, I.; Chiolero, A.; Bushnik, T. Blood pressure in Canadian children and adolescents. *Health reports* **2010**, *21*, 15-22.
48. Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert, C.; Goldenberg, R.; Punthakee, Z. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Canadian journal of diabetes* **2013**, *37 Suppl 1*, S8-11. 10.1016/j.jcjd.2013.01.011
49. Genest, J.; McPherson, R.; Frohlich, J.; Anderson, T.; Campbell, N.; Carpentier, A.; Couture, P.; Dufour, R.; Fodor, G.; Francis, G.A., *et al.* 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and

- prevention of cardiovascular disease in the adult - 2009 recommendations. *Can J Cardiol* **2009**, *25*, 567-579.
50. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics* **2011**, *128 Suppl 5*, S213-256. peds.2009-2107C [pii]
10.1542/peds.2009-2107C
51. Grundy, S.M.; Brewer, H.B., Jr.; Cleeman, J.I.; Smith, S.C., Jr.; Lenfant, C.; National Heart, L.; Blood, I.; American Heart, A. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2004**, *24*, e13-18. 10.1161/01.ATV.0000111245.75752.C6
52. Zimmet, P.; Alberti, K.G.; Kaufman, F.; Tajima, N.; Silink, M.; Arslanian, S.; Wong, G.; Bennett, P.; Shaw, J.; Caprio, S., *et al.* The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* **2007**, *8*, 299-306. 10.1111/j.1399-5448.2007.00271.x
53. McNutt, L.A.; Wu, C.; Xue, X.; Hafner, J.P. Estimating the relative risk in cohort studies and clinical trials of common outcomes. *Am J Epidemiol* **2003**, *157*, 940-943.
54. Spiegelman, D.; Hertzmark, E. Easy SAS calculations for risk or prevalence ratios and differences. *Am J Epidemiol* **2005**, *162*, 199-200. 10.1093/aje/kwi188
55. Zou, G. A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data. *Am J Epidemiol* **2004**, *159*, 702-706.

ACKNOWLEDGEMENTS

Expert assistance by nutritionist Catherine Bazinet in the classification of cardiometabolic risk factors is gratefully acknowledged.

Funding

This work was supported by the Institute of Cancer Research (ICR) of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society (CCS), Cancer Research Society (CRS), Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research (OICR) and Pediatric Oncology Group of Ontario (POGO) (grant number: TCF 118694) and by a Transition Grant from the Cole Foundation. The sponsors had no involvement in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

EL, CL, MK, DS and VM and CL conceived the study. EL, SM, LB, SM, CL, MK, DS and VM participated in the design and coordination. EL, SM, LB and VM and collected the data. EL, MS, SM, SD, DA, GL and VM analyzed the data. EL and VM wrote the manuscript. All authors have read, edited and approved this manuscript.

ADDITIONAL INFORMATION

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the Institutional Review Board of SJUHC and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants or parents/guardians.

Availability of data and materials

The datasets generated and/or analysed during the current study are not publicly available due to confidentiality reasons but are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing Financial interests

The authors declare that they have no competing interests.

Table 1. Demographic and treatment characteristics of survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia from the PETALE cohort

Characteristic	PETALE		
	Total (N=247)	Adults (N=162)	Children (N=85)
Gender, N (%)			
Male	122 (49.4)	80 (49.4)	42 (49.4)
Female	125 (50.6)	82 (50.6)	43 (50.6)
Age at interview, years			
Mean (SD)	22.1 (6.3)	25.5 (5.1)	15.7 (1.8)
Median (range)	21.7 (8.5-41.0)	24.7 (18.0-41.0)	16.2 (8.5-17.9)
Age at cancer diagnosis, y			
Mean (SD)	6.6 (4.6)	7.9 (5.0)	4.2 (2.2)
Median (range)	4.7 (0.8-18.0)	6.5 (0.8-18.0)	3.6 (1.2-11.0)
Time from diagnosis, y			
Mean (SD)	15.5 (5.2)	17.7 (5.0)	11.5 (2.5)
Median (range)	15.2 (5.4-28.2)	18.3 (6.2-28.2)	11.9 (5.4-15.6)
Risk groups, N (%)			
Standard risk	113 (45.8)	59 (36.4)	54 (63.5)
High risk	128 (51.8)	100 (61.7)	28 (32.9)
Very high risk	6 (2.4)	3 (1.9)	3 (3.53)
Treatment protocol, N (%)			
DFCI 87-01	24 (9.7)	24 (14.8)	0 (0.0)
DFCI 91-01	46 (18.6)	46 (28.4)	0 (0.0)
DFCI 95-01	73 (29.6)	56 (34.6)	17 (20.0)
DFCI 2000-01	77 (31.2)	21 (13.0)	56 (65.9)
DFCI 2005-01	27 (10.9)	15 (9.3)	12 (14.1)
CRT exposure, N (%)			
Total	147 (59.5)	113 (69.8)	34 (40.0)
DFCI 87-01	18 (7.3)	18 (11.1)	0 (0.0)
DFCI 91-01	37 (15.0)	37 (22.8)	0 (0.0)
DFCI 95-01	45 (18.2)	34 (21.0)	11 (12.9)
DFCI 2000-01	33 (13.4)	17 (10.5)	16 (18.8)
DFCI 2005-01	14 (5.7)	7 (4.3)	7 (8.2)

CRT, cranial radiation therapy; DFCI, Dana Farber Cancer Institute. CRT doses were ranging between 10 and 20 gray.

Table 2. Distribution of cardiometabolic outcomes in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia from the PETALE cohort

	Total (N=247)	Adults (N=162)	Men (N=80)	Women (N=82)	Children (N=85)	Boys (N=42)	Girls (N=43)
	N (%)						
Obesity							
Normal	119 (48.2)	71 (43.8)	47 (58.7)	24 (29.3)	48 (56.5)	22 (52.4)	26 (60.5)
Overweight	47 (19.0)	39 (24.1)	19 (23.8)	20 (24.4)	8 (9.4)	4 (9.5)	4 (9.3)
Obesity	81 (32.8)	52 (32.1)	14 (17.50)	38 (46.3)	29 (34.1)	16 (38.1)	13 (30.2)
Hypertension							
Normal	217 (87.9)	141 (87.0)	64 (80.0)	77 (93.9)	76 (89.4)	34 (81.0)	42 (97.7)
Pre-/hypertension	30 (12.2)	21 (13.0)	16 (20.0)	5 (6.1)	9 (10.6)	8 (19.0)	1 (2.3)
Prediabetes							
Normal	239 (96.8)	155 (95.7)	78 (97.5)	77 (93.9)	84 (98.8)	42 (100.0)	42 (97.7)
Prediabetes	8 (3.2)	7 (4.3)	2 (2.5)	5 (6.1)	1 (1.2)	0 (0.0)	1 (2.3)
Dyslipidemia							
Normal	145 (58.7)	84 (51.9)	45 (56.2)	39 (47.6)	61 (71.8)	26 (61.9)	35 (81.4)
Dyslipidemia	102 (41.3)	78 (48.1)	35 (43.8)	43 (52.4)	24 (28.2)	16 (38.1)	8 (18.6)
Cardiometabolic risk factors							
0 risk factor	98 (39.7)	57 (35.2)	35 (43.8)	22 (26.8)	41 (48.2)	15 (35.7)	26 (60.5)
1 risk factor	88 (35.6)	61 (37.7)	28 (35.0)	33 (40.2)	27 (31.8)	16 (38.1)	11 (25.6)
2 risk factors	51 (20.7)	36 (22.2)	13 (16.3)	23 (28.1)	15 (17.7)	9 (21.4)	6 (14.0)
3 risk factors	9 (3.6)	7 (4.3)	3 (3.8)	4 (4.9)	2 (2.3)	2 (4.8)	0 (0.0)
4 risk factors	1 (0.4)	1 (0.6)	1 (1.25)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Metabolic syndrome							
NCEP-ATP III (N=162)	14 (8.6)	14 (8.6)	5 (6.3)	9 (11.0)	-	-	-
IDF	22 (8.9)	19 (11.7)	9 (11.3)	10 (12.2)	3 (3.6)	3 (7.3)	0 (0.0)

The number of cardiometabolic risk factors was determined by adding the presence of these four factors: obesity/overweight, pre-hypertension/hypertension, insulin resistance and dyslipidemia. NCEP-ATP III: National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III; IDF: International Diabetes Federation.

Table 3. Predictors of cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: simple log-binomial regression univariate analyses

	Obesity	Dyslipidemia	Prediabetes	Pre-AHT/AHT	Metabolic syndrome (NCEP)	Metabolic syndrome (IDF)	≥2 Risk factors
Relative Risk (95% CI)							
CRT (yes vs. none)	1.36 (0.93-2.00)	1.56* (1.11-2.18)	4.76 (0.60-38.11)	1.87 (0.87-4.03)	2.60 (0.60-11.19)	2.33 (0.89-6.11)	1.76* (1.07-2.90)
Gender (males vs. females)	0.60 (0.41-0.88)	1.02 (0.76-1.38)	0.34 (0.07-1.66)	4.10* (1.74-9.68)	0.57 (0.20-1.62)	1.24 (0.56-2.76)	0.87 (0.56-1.35)
Age at diagnosis (per unit of year)	1.02 (0.98-1.06)	1.02 (0.99-1.05)	1.09 (0.96-1.24)	1.02 (0.95-1.09)	1.01 (0.92-1.12)	1.06 (0.98-1.14)	1.02 (0.98-1.07)
Age at interview (per unit of year)	1.03* (1.00-1.06)	1.04* (1.02-1.06)	1.11* (1.01-1.22)	1.01 (0.96-1.06)	1.03 (0.94-1.13)	1.09* (1.03-1.15)	1.06* (1.02-1.09)
Obesity at the end of treatment (yes vs. none)	2.17* (1.47-3.21)	1.09 (0.72-1.65)	1.01 (0.12-8.82)	1.07 (0.42-2.68)	2.33 (0.74-7.35)	3.23* (1.28-8.14)	1.70 (0.98-2.94)
Δ Percentile BMI (unit=5%)	1.03 (0.98-1.07)	0.98 (0.94-1.01)	1.03 (0.87-1.22)	0.99 (0.91-1.07)	1.06 (0.96-1.18)	1.06 (0.96-1.16)	1.02 (0.97-1.08)

Simple log-binomial regression analysis for each cardiometabolic complication as a function of each predictor was performed. CRT: cranial radiotherapy; BMI: body mass index; AHT: arterial hypertension; IDF: International diabetes Federation; NCEP, National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III); CI: confidence interval. Δ BMI percentile = percentile BMI at end of treatment - percentile BMI at diagnosis. *P<0.05.

Table 4. Predictors of cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: multiple regression univariate analyses

	Obesity	Dyslipidemia	Pre-AHT/AHT	Metabolic syndrome (IDF)	≥2 Risk factors
	Relative Risk (95% CI)				
CRT (yes vs none)	1.30 (0.82-2.05)	1.60* (1.07-2.41)	1.42 (0.61-3.35)	2.45 (0.68-8.76)	1.63 (0.89-3.01)
Gender (males vs. females)	0.66 (0.44-1.00)	1.01 (0.73-1.41)	5.12* (1.81-14.5)	1.56 (0.59-4.07)	1.02 (0.60-1.72)
Age at diagnosis (per unit of year)	1.02 (0.97-1.08)	0.96 (0.92-1.01)	1.04 (0.94-1.15)	1.04 (0.93-1.18)	1.00 (0.93-1.08)
Age at interview (per unit of year)	1.00 (0.96-1.05)	1.05* (1.01-1.08)	0.98 (0.89-1.07)	1.05 (0.96-1.16)	1.02 (0.97-1.08)
Obesity at the end of treatment (yes vs none)	2.07* (1.37-3.14)	1.05 (0.71-1.55)	1.19 (0.48-2.97)	3.04* (1.14-8.09)	1.55 (0.88-2.73)
Δ Percentile BMI (unit=5%)	1.02 (0.97-1.06)	0.98 (0.95-1.02)	1.00 (0.93-1.07)	1.06 (0.96-1.17)	1.02 (0.96-1.07)

Multiple log-binomial regression (or Poisson regression with robust variance estimates for obesity) analysis was performed with a model including the predictors: gender, exposure to CRT, age at diagnosis, age at interview, obesity at end of treatment and delta BMI percentile. CRT: cranial radiotherapy; BMI: body mass index; AHT: arterial hypertension; IDF: International diabetes Federation. Δ BMI percentile = percentile BMI at end of treatment - percentile BMI at diagnosis. Metabolic syndrome as defined by the National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) and prediabetes could not be analyzed because of convergence problems. *P<0.05.

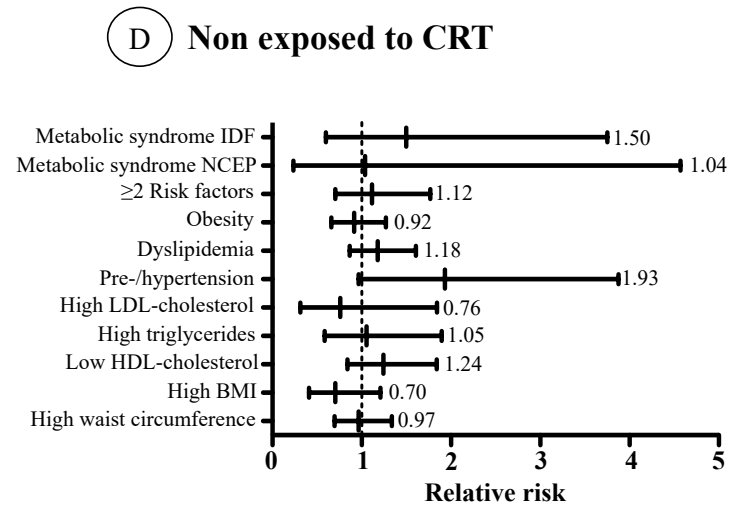
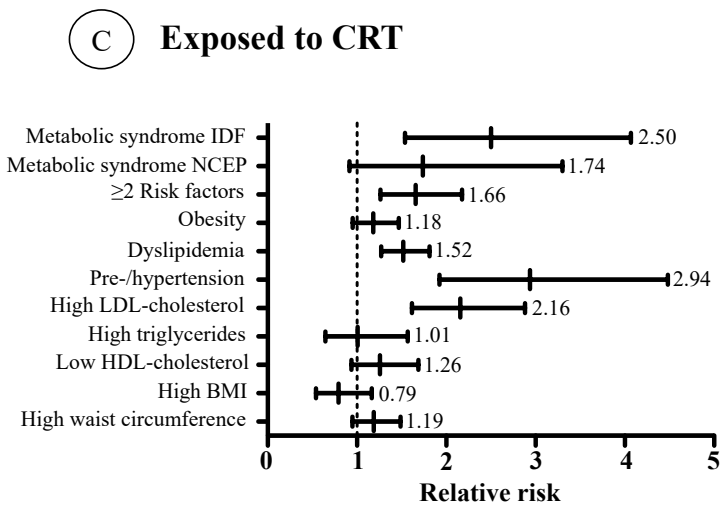
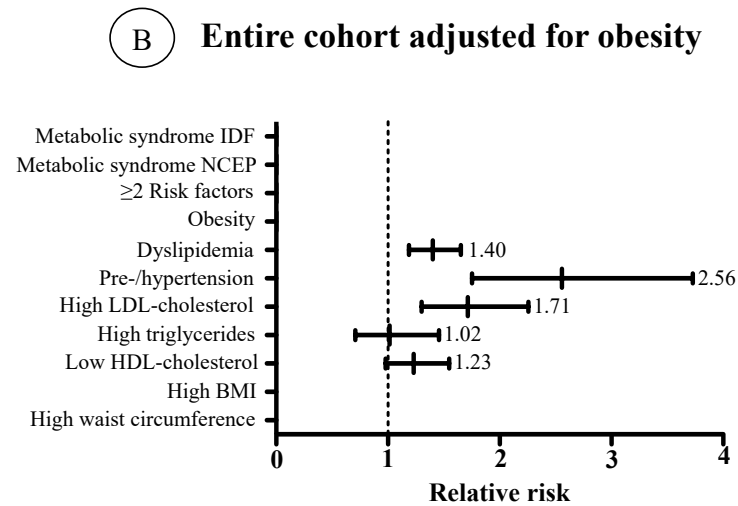
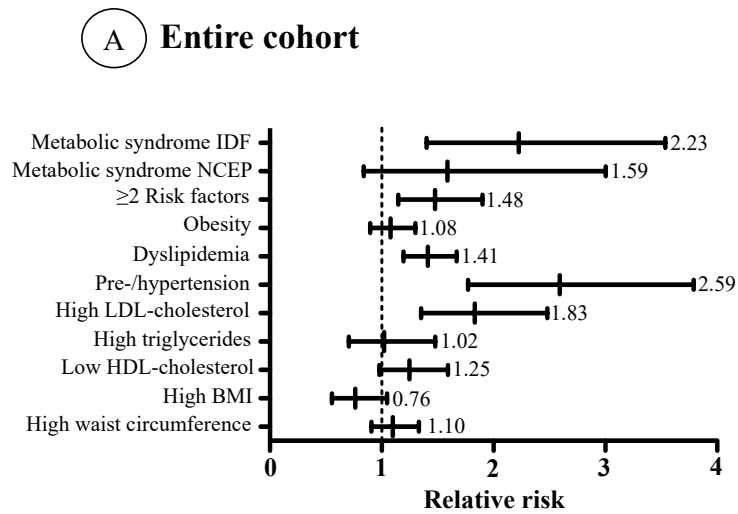


Figure 1. Comparison of cardiometabolic risk factors among PETALE and Canadian Health Measures Survey cohorts. IDF, International Diabetes Federation; NCEP-ATP III, National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III; LDL: low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; BMI, body mass index.

Supplementary Table 1. Cut-off values for cardiometabolic outcomes

Risk factor	Adults	Children
BMI		
Overweight	>25 and <30 kg/m ²	>85 th and <97 th percentile
Obesity	≥30 kg/m ²	≥97 th percentile
Waist circumference		
Borderline	≥94 and <102 cm (men); ≥80 and <88 cm (women)	≥90 th and <95 th percentile
High	≥102 cm (men) and ≥88 cm (women)	≥95 th percentile
Hypertension		
Pre-hypertension	≥130/85 and <140/90 mmHg	≥90 th and <95 th percentile for age and height
Hypertension	≥140/90 mmHg	≥95 th percentile for age and height
Blood fasting glucose		
At risk	≥5.6 and <6.1 mmol/L	≥5.6 and <6.1 mmol/L
Prediabetes	≥6.1 mmol/L	≥6.1 mmol/L
Glycated hemoglobin		
At risk	≥5.5 and <6%	≥5.5 and <6%
Prediabetes	≥6% and <6.5%	≥6% and <6.5%
Triglycerides		
Borderline	≥1.3 and <1.7 mmol/L	≥1.00 and <1.47 mmol/L
High	≥1.7 mmol/L	≥1.47 mmol/L
LDL-cholesterol		
Borderline	≥2.6 and <3.4 mmol/L	≥2.85 and <3.36 mmol/L
High	≥3.4 mmol/L	≥3.36 mmol/L
HDL-cholesterol		
Low	<1.03 (men) and <1.3 mmol/L (women)	<1.03 mmol/L

BMI, body mass index; HOMA-IR, homeostasis model assessment; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein.

Supplementary Table 2. Distribution of cardiometabolic outcomes according to cut-off values of survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia from the PETALE cohort

	Total (N=247)	Adults (N=162)	Men (N=80)	Women (N=82)	Children (N=85)	Boys (N=42)	Girls (N=43)
	N (%)						
BMI							
Normal	152 (61.5)	92 (56.8)	49 (61.2)	43 (52.4)	60 (70.6)	26 (61.9)	34 (79.1)
Overweight	60 (24.3)	42 (25.9)	21 (25.3)	21 (25.6)	18 (21.2)	11 (26.2)	7 (16.2)
Obesity	35 (14.2)	28 (17.3)	10 (12.50)	18 (22.0)	7 (8.2)	5 (11.9)	2 (4.7)
Waist circumference							
Normal	131 (53.0)	80 (50.0)	56 (70.00)	25 (30.5)	50 (58.8)	24 (57.1)	26 (60.5)
Borderline	38 (15.4)	32 (19.7)	13 (16.2)	19 (23.2)	6 (7.1)	2 (4.8)	4 (9.3)
High	78 (31.6)	49 (30.3)	11 (13.8)	38 (46.3)	29 (34.1)	16 (38.1)	13 (30.2)
Systolic blood pressure							
Normal	222 (89.9)	145 (89.5)	66 (82.5)	79 (96.3)	77 (90.6)	35 (83.3)	42 (97.7)
Pre-hypertension	21 (8.5)	14 (8.6)	11 (13.7)	3 (3.7)	7 (8.2)	6 (14.3)	1 (2.3)
Hypertension	4 (1.6)	3 (1.9)	3 (3.8)	0 (0)	1 (1.2)	1 (2.4)	0 (0)
Diastolic Blood pressure							
Normal	239 (96.8)	155 (95.7)	76 (95.0)	79 (96.3)	84 (98.8)	41 (97.6)	43 (100)
Pre-hypertension	7 (2.8)	6 (3.7)	3 (3.7)	3 (3.7)	1 (1.2)	1 (2.4)	0 (0)
Hypertension	1 (0.4)	1 (0.6)	1 (1.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Fasting blood glucose							
Optimal	217 (87.9)	136 (84.0)	63 (78.7)	73 (89.0)	81 (95.3)	39 (92.9)	42 (97.7)
At risk	23 (9.3)	19 (11.7)	15 (18.8)	4 (4.9)	4 (4.7)	3 (7.1)	1 (2.3)
Prediabetes	7 (2.8)	7 (4.3)	2 (2.5)	5 (6.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HbA1c							
Optimal	210 (85.0)	142 (87.6)	71 (88.8)	71 (86.6)	68 (80.0)	33 (78.6)	35 (81.4)
At-risk	33 (13.4)	17 (10.5)	8 (10.0)	9 (11.0)	16 (18.8)	9 (21.4)	7 (16.3)
Prediabetes	4 (1.6)	3 (1.9)	1 (1.2)	2 (2.4)	1 (1.2)	0 (0.00)	1 (2.3)
HOMA-IR							
Normal	207 (83.8)	133 (82.1)	69 (86.2)	64 (78.0)	74 (87.1)	37 (88.10)	37 (86.0)

High	40 (16.2)	29 (17.9)	11 (13.8)	18 (22.0)	11 (12.9)	5 (11.90)	6 (14.0)
Triglycerides							
Optimal	175 (70.8)	120 (74.0)	64 (80.0)	56 (68.3)	55 (64.7)	27 (64.3)	28 (65.1)
Borderline	42 (17.0)	21 (13.0)	6 (7.5)	15 (18.3)	21 (24.7)	12 (28.6)	9 (20.9)
High	30 (12.2)	21 (13.0)	10 (12.5)	11 (13.4)	9 (10.6)	3 (7.1)	6 (14.0)
LDL-cholesterol							
Optimal	139 (56.3)	73 (45.1)	33 (41.2)	40 (48.8)	66 (77.7)	34 (81.0)	32 (74.4)
Borderline	65 (26.3)	53 (32.7)	27 (33.8)	26 (31.7)	12 (14.1)	4 (9.5)	8 (18.6)
High	43 (17.4)	36 (22.2)	20 (25.00)	16 (19.5)	7 (8.2)	4 (9.5)	3 (7.0)
HDL-cholesterol							
Optimal	190 (76.9)	119 (73.5)	66 (82.5)	53 (64.6)	71 (83.5)	31 (73.8)	40 (93.0)
Low	57 (23.1)	43 (26.5)	14 (17.5)	29 (35.4)	14 (16.5)	11 (26.2)	3 (7.0)

BMI, body mass index; HOMA-IR, homeostasis model assessment; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; HbA1c: glycated hemoglobin.

Supplementary Table 3. Predictors of cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: simple log-binomial regression univariate analyses

	High BMI	High waist circumference	High TG	High LDL-cholesterol	Low HDL-cholesterol	High glucose	High HbA1c
	Relative Risk (95% CI)						
CRT (yes vs. none)	1.30 (0.68-2.50)	1.29 (0.87-1.90)	1.18 (0.58-2.36)	5.17* (2.11-12.68)	1.17 (0.73-1.87)	4.08 (0.50-33.39)	2.04 (0.22-19.34)
Gender (males vs. females)	0.77 (0.41-1.43)	0.54 (0.37-0.80)	0.78 (0.40-1.54)	1.29 (0.75-2.24)	0.80 (0.51-1.27)	0.41 (0.08-2.07)	0.34 (0.04-3.24)
Age at diagnosis (per unit of year)	1.01 (0.95-1.08)	1.01 (0.97-1.05)	1.05 (0.98-1.12)	0.98 (0.92-1.05)	1.01 (0.96-1.06)	1.13 (0.98-1.29)	1.04 (0.86-1.27)
Age at interview (per unit of year)	1.08* (1.03-1.12)	1.02 (0.99-1.05)	1.04 (0.99-1.09)	1.06* (1.02-1.09)	1.03 (0.99-1.06)	1.14* (1.03-1.26)	1.08 (0.94-1.24)
Obesity at the end of treatment (yes vs. none)	2.90* (1.40-5.54)	2.23* (1.50-3.30)	1.93 (0.78-4.02)	0.84 (0.37-1.88)	1.09 (0.60-2.01)	CP	4.05 (0.27-63.37)
Δ Percentile BMI (unit=5%)	1.01 (0.94-1.08)	1.03 (0.99-1.07)	0.96 (0.89-1.04)	0.96 (0.90-1.03)	0.99 (0.94-1.04)	1.07 (0.89-1.30)	0.90 (0.68-1.19)

Simple log-binomial regression analysis for each cardiometabolic complication as a function of each predictor was performed. CRT: cranial radiotherapy; BMI: body mass index; RR: relative risk; CI: confidence interval; TG: triglycerides; LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein. Δ BMI percentile = percentile BMI at end of treatment - percentile BMI at diagnosis. CP: This analysis could not be performed because of convergence problems. *P<0.05.

Supplementary Table 4. Predictors of cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: multiple log-binomial univariate analyses

	High BMI	High waist circumference	High TG	High LDL-cholesterol	Low HDL-cholesterol
	Relative Risk (95% CI)				
CRT (yes vs. none)	1.07 (0.49-2.36)	1.36 (0.87-2.15)	1.29 (0.55-3.01)	4.78* (1.72-13.28)	1.22 (0.70, 2.13)
Gender (males vs. females)	0.95 (0.48-1.90)	0.65 (0.41-1.03)	0.80 (0.37-1.75)	1.12 (0.64-1.94)	0.80 (0.48, 1.33)
Age at diagnosis (per unit of year)	0.97 (0.88-1.07)	1.04 (0.99-1.11)	1.06 (0.96-1.17)	0.87 (0.81-0.95)	0.97 (0.90, 1.05)
Age at interview (per unit of year)	1.11* (1.02-1.20)	1.00 (0.95-1.05)	0.98 (0.91-1.07)	1.11* (1.04-1.19)	1.05 (0.99, 1.10)
Obesity at the end of treatment (yes vs. none)	2.73* (1.32-5.63)	2.14* (1.36-3.38)	1.94 (0.84-4.49)	0.74 (0.34-1.58)	1.00 (0.53, 1.88)
Δ Percentile BMI (unit=5%)	0.99 (0.92-1.06)	1.01 (0.97-1.05)	0.97 (0.89-1.05)	0.96 (0.90-1.01)	0.99 (0.94, 1.04)

Multiple log-binomial regression analysis was performed with a model including the predictors: gender, exposure to CRT, age at diagnosis, age at interview, obesity at end of treatment and delta BMI percentile. CRT: cranial radiotherapy; BMI: body mass index; RR; CI: confidence interval; TG: triglycerides; LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein. Δ BMI percentile = percentile BMI at end of treatment - percentile BMI at diagnosis. *P<0.05.

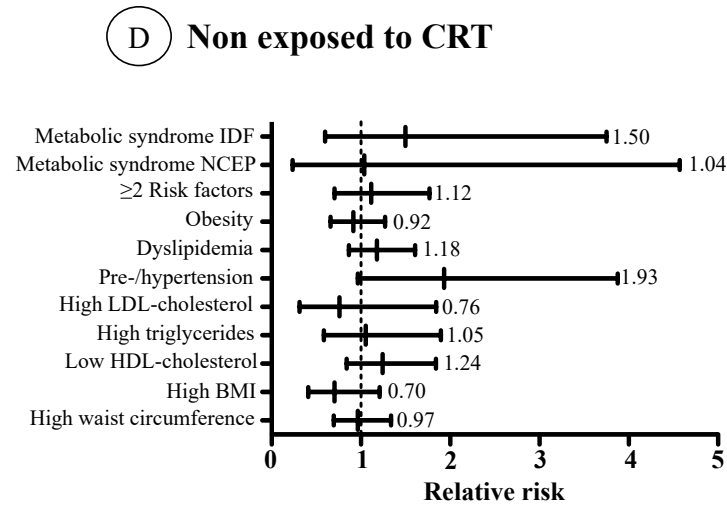
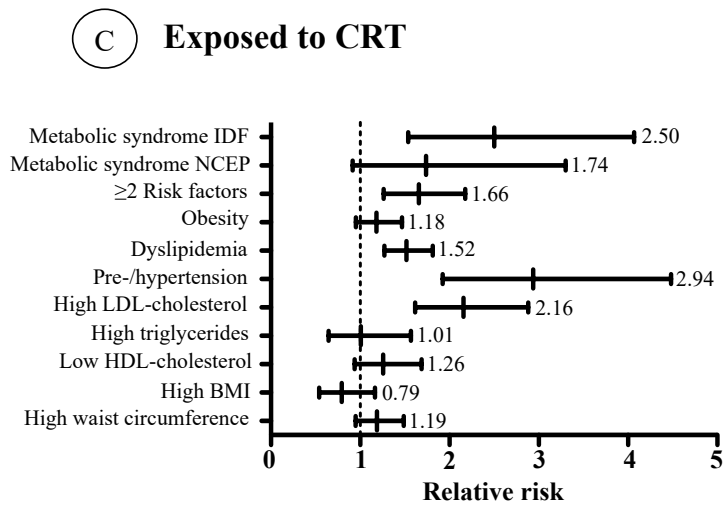
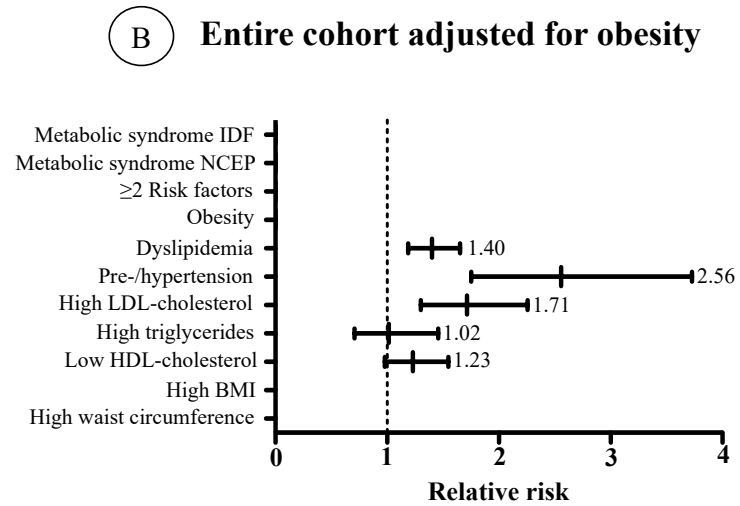
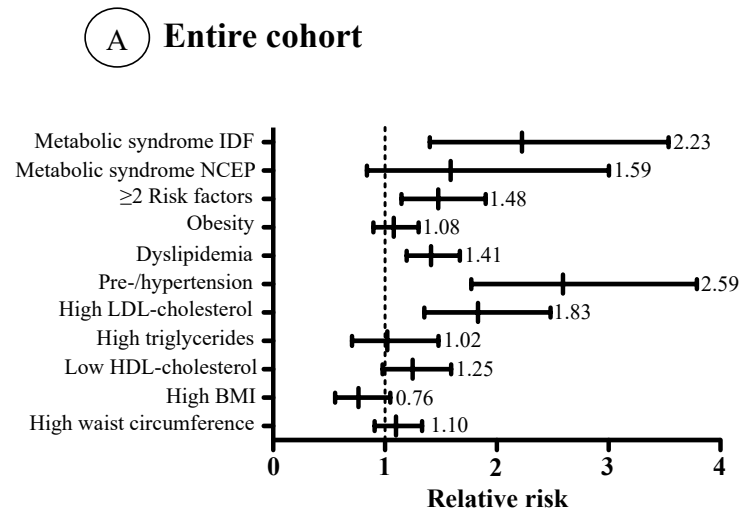


Figure 1. Comparison of cardiometabolic risk factors among PETALE and Canadian Health Measures Survey cohorts. IDF, International Diabetes Federation; NCEP-ATP III, National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III; LDL: low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; BMI, body mass index.

8.2 Article 2

Lipid and lipoprotein abnormalities in acute lymphoblastic leukemia survivors

Sophia Morel, Jade Leahy, Maryse Fournier, Benoit Lamarche, Carole Garofalo, Guy Grimard, Floriane Poulain, Edgard Delvin, Caroline Laverdière, Mariia Krajinovic, Simon Drouin, Daniel Sinnett, Valérie Marcil, Emile Levy.

Article publié dans la revue *Journal of Lipid Research* en mars 2017

Cet article répond aux objectifs spécifiques 1.4 et 1.5

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a contribué à la conception des expériences, a effectué l'ensemble des expériences, a compilé les données, fait les analyses statistiques et a interprété les résultats et a rédigé le manuscrit.

LIPID AND LIPOPROTEIN ABNORMALITIES IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA SURVIVORS

Sophia Morel^{1,2}, Jade Leahy^{1,2}, Maryse Fournier^{1,2}, Benoit Lamarche³, Carole Garofalo¹, Guy Grimard⁴, Floriane Poulain¹, Edgard Delvin¹, Caroline Laverdière^{1,4}, Maja Krajinovic^{1,4}, Simon Drouin¹, Daniel Sinnett^{1,4}, Valérie Marcil^{1,2}, and Emile Levy^{1,2,3*}

¹Research Centre, Sainte-Justine University Hospital Health Center, Departments of ²Nutrition and

⁴Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5

³Institute of Nutrition and Functional Foods, Laval University, Quebec, Quebec, Canada, G1V 0A6

Address for correspondence:

*Dr. Emile Levy
GI-Nutrition Unit
CHU Sainte-Justine
3175 Sainte-Catherine Road
Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5
Tel.: (514) 345-7783
Fax: (514) 345-4999
E-mail: emile.levy@recherche-ste-justine.qc.ca

Running Title: Lipid and lipoprotein characterization in childhood leukemia survivors

Abbreviations: ALL, acute lymphoblastic leukemia; cALL, childhood acute lymphoblastic leukemia; CVD, cardiovascular disease; CM, chylomicrons; EC, esterified cholesterol; FC, free cholesterol; HDL-C, HDL-cholesterol; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; LDL-C, LDL-cholesterol; LDLR, LDL receptor; MetS, metabolic syndrome; PL, phospholipids; SDS-PAGE, SDS-polyacrylamide gel; SNP, single nucleotide polymorphism; TC, total cholesterol; TMU, tetramethylurea.

ABSTRACT

Survivors of acute lymphoblastic leukemia (ALL), the most common cancer in children, are at increased risk of developing late cardiometabolic conditions. However, the mechanisms are not fully understood. The study aimed to characterize plasma lipid profile, Apolipoprotein (Apo) distribution and lipoprotein composition of 80 childhood ALL survivors compared to 22 healthy controls. Our results show that, despite their young age, 50% of the ALL survivors displayed dyslipidemia, characterized by increased plasma TG and LDL-cholesterol, as well as decreased HDL-cholesterol. ALL survivors exhibited lower plasma Apo A-I and higher Apo B-100 and C-II levels, along with elevated Apo C-II/C-III and B-100/A-I ratios. VLDL fractions of dyslipidemic ALL survivors contained more TG, free cholesterol and phospholipid moieties, but less protein. Differences in Apo content were found between ALL and controls for all lipoprotein fractions except HDL₃. Especially, HDL₂ showed reduced Apo A-I and raised Apo A-II, leading to a depressed Apo A-I/A-II ratio. Analysis of VLDL-Apo Cs disclosed a trend for higher Apo C-III₁ content in dyslipidemic ALL survivors. In conclusion, this thorough investigation demonstrates a high prevalence of dyslipidemia in ALL survivors while highlighting significant abnormalities in their plasma lipid profile and lipoprotein composition. Special attention must, therefore, be paid to these subjects given the atherosclerotic potency of lipid and lipoprotein disorders.

Keywords: dyslipidemia, lipid and lipoprotein metabolism, apolipoproteins, atherosclerosis, cancer, acute lymphoblastic leukemia survivors, clinical studies, cardiovascular diseases, metabolic syndrome.

INTRODUCTION

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) accounts for 25% of all childhood malignancies and represents the most common form of leukemia in children. Cure rates for ALL now exceed 85% allowing a growing number of childhood survivors to live into adulthood (1). However, survivors face severe, even life-threatening, long-term sequelæ decades after the end of treatments (2, 3). Of interest, ALL survivors are at increased risk of developing cardiovascular conditions, including congestive heart failure, coronary artery disease, myocardial infarction, cardiac arrest and cerebrovascular accidents (4-6). Studies on pediatric ALL survivors have reported a high prevalence of the typical components of the metabolic syndrome (MetS) such as obesity (7), hypertension (8), glucose tolerance (9) or dyslipidemia (10), and clustering of the 3 surrogates of MetS was also described (11). While chemo- and radiotherapy have often been associated with the development of these disorders in childhood cancer survivors (12-15), the precise etiology and the mechanisms of these late complications are not fully understood.

In view of the presence of metabolic disorders, lipid abnormalities were examined to appraise the cardiovascular risk in populations of long-term ALL survivors. Various research groups have focused on absolute LDL-cholesterol (LDL-C) and HDL-cholesterol (HDL-C) levels after treatment with cranial radiotherapy and chemotherapy. Compared with the general population, ALL survivors were found to be at higher risk of high LDL-C (relative risk, RR=1.25), elevated TG (RR=1.32) and low HDL-C (RR=1.78) levels. These increased risks were particularly notable in those who were exposed to cranial radiotherapy (11). Similarly, another but smaller study found that childhood ALL survivors treated with cranial radiotherapy and chemotherapy had higher LDL-C and lower HDL-C values than did controls (16). Other studies did not find differences between ALL survivors and non-cancer subjects (17, 18), apart from HDL-C, which was decreased in women exposed to cranial radiotherapy (18). In addition, despite LDL-C concentrations in the normal range, an atherogenic LDL profile was identified in young adult ALL survivors (10). LDL-C and HDL-C measurements are important but clearly not sufficient to identify cardiometabolic risk, as it appears that lipoprotein composition rather than concentration predicts atherosclerosis (19, 20).

For example, HDL particles are highly heterogeneous and growing evidence suggests that their atheroprotective potential depends on their component composition and unique functional properties rather than their cholesterol concentrations (21-24). This was corroborated by studies that showed higher levels of HDL-C are not associated with reduced risk of cardiovascular events in patients with advanced cardiovascular disease (CVD) (25, 26). In addition, a stronger correlation was found between CVD and small sized-LDL rather than with LDL-C concentrations (27). Accordingly, cholesterol of small sized-LDL was associated with an increased risk of subclinical atherosclerosis (28), CVDs (29) and future disadvantageous outcomes (30). Apo composition of lipoproteins is also considered a predictor of cardiovascular risk, as the Apo B-100/A-I ratio constitutes one of the strongest predictors of coronary heart disease (31).

The lipid disorders in the present study are for the first time reported in a French-Canadian population of childhood ALL (cALL) survivors who are part of a unique population from the province of Quebec (Canada). Historically, this settler group, expanded rapidly in relative isolation due to linguistic, religious and geographic barriers, while reinforcing the strong genetic founder effect (32, 33). Although available literature generally reports an abnormal plasma lipid profile of ALL survivors, Apo distribution and lipoprotein core and surface composition have not been characterized in populations of childhood cancer survivors. Given the increased risk of cardiovascular diseases suspected in these subjects, the present study was designed to examine these important issues in a cohort of dyslipidemic and normolipidemic pediatric ALL survivors compared with healthy controls.

MATERIALS AND METHODS

Study population

The 80 ALL survivors included in this study were recruited between January 2012 and September 2014 as part of the PETALE program at the Sainte-Justine University Hospital Center in Montreal. The study design was described elsewhere (34). Briefly, it aimed to characterize long-term effects in cALL survivors namely cardiotoxicity, cardiometabolic complications, neurocognitive problems, bone morbidity, quality of life issues and genomic determinants. The PETALE cohort is comprised

almost exclusively of cALL survivors of European-descent from the province of Québec. Participants enrolled in the PETALE study were unrelated, under 19 at diagnosis, treated using Dana Farber Cancer Institute protocols (35), without hematopoietic stem cell transplantation, and more than 5 years event-free post diagnosis. For the present study, we included 40 adults and 40 adolescents (50% male) in order to create four groups: 20 men, 20 women, 20 boys and 20 girls. Recruitment started with the first PETALE participant and ended when a total of 20 subjects had been reached for each group. The anthropometric and clinical features of the participants are outlined in **Table 1**. For comparison purposes, 22 unrelated age- and gender-matched healthy controls who suffered from minor trauma (e.g., ankle sprains, mild strain injuries, broken leg) were recruited at the Orthopedics Clinic (adolescents) and within the Research Center (adults) of the Sainte-Justine Hospital. The exclusion criteria for their recruitment included an abnormal lipid profile, a chronic metabolic disease and/or a chronic inflammatory disease. Adults were defined as being ≥ 18 years of age and children < 18 years old. The Institutional Review Board of Sainte-Justine Hospital approved the study and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants and/or parents/guardians.

Biochemical analyses and LDL particle size

Overnight fasting blood samples were collected in tubes containing 1 g/L EDTA and were kept on ice until centrifugation. Plasma was separated within 45 min of collection and stored at -80°C until analysis. Fasting insulin, glucose, total cholesterol (TC), TG and HDL-C concentrations were measured as described previously (36). LDL-C was calculated using the Friedewald formula (37). Plasma Apos (A-I, A-IV, B-100, C-II, C-III and E) were determined by commercial ELISA kits. BMI was computed as weight in kg divided by height in m^2 . The homeostasis model assessment (HOMA-IR) index was calculated using the formula: $[\text{fasting insulin (mU/mL)} \times \text{fasting glucose (mmol/L)}] / 22.5$. Non-denaturing 2%–16% PAGE was used to assess LDL particle size as previously described (38, 39). LDL particle size was determined on the basis of the relative migration of plasma standards of known diameter and LDL peak particle size was computed as the estimated diameter for the major peak of each scan (38). An integrated (or mean) LDL size, corresponding to the weighed mean size of all LDL subclasses in each individual, was also assessed (40).

Lipoprotein isolation

Lipoprotein separation was carried out as previously described (41-43). Briefly, plasma was separated by low speed centrifugation (2,200 rpm, 20 min) at 4°C and the lipoprotein fractions were isolated by sequential ultracentrifugation with a Ti-50 rotor in a Beckman Model LE-80 ultracentrifuge. After removal of chylomicrons (CM) by preliminary centrifugation (25,000 rpm, 30 min), VLDL (1.006 g/ml), IDL (1.019 g/ml) and LDL (1.063 g/ml) were isolated by centrifugation at 40,000 rpm for 18 h at 4°C. Isolation of HDL₂ (1.125 g/ml) and HDL₃ (1.21 g/ml) was carried out at 40,000 rpm for 48 h at 4°C.

Characterization of lipoprotein composition

The total protein content of each lipoprotein was determined by the Bradford method with bovine serum albumin as a standard whereas phospholipids (PL) were measured using the Bartlett method (44). Commercial kits were used to quantify TG (Randox TRIGS, UK), TC and free cholesterol (FC) (Wako Diagnostics, USA) by enzymatic colorimetric methods. Esterified cholesterol (EC) was calculated as the difference between TC and FC. Lipoprotein composition was determined as percentage of TG, EC, FC, PL and total protein. The lipoprotein distribution of Apos was examined by electrophoresis on 4-20% gradient SDS-PAGE (41-43) and by tetramethylurea (TMU) gel electrophoresis (43). Electrophoretic analyses were performed in 22 controls and in 38 survivors selected according to their lipid profile (dyslipidemic and non-dyslipidemic: n = 26 for SDS-PAGE and n = 12 for TMU). Apo densitometric distribution was assessed using the ChemiDoc MP & Imaging System (Bio-Rad, USA) for band visualization followed by densitometric evaluation with the UN-SCAN-IT gel 6.1 software. Percent distribution of Apos was calculated as percent of total Apos.

Assessment of dyslipidemia

Dyslipidemia was determined by presenting at least one of three factors: high LDL-C, high TG, and/or low HDL-C. In adults, TG levels <1.3 mmol/L were classified as optimal, borderline (≥ 1.3 and <1.7 mmol/L) (45) and high (≥ 1.7 mmol/L) (46). Values of LDL-C <2.6 mmol/L were considered optimal, borderline between ≥ 2.6 and <3.4 mmol/L, and elevated when ≥ 3.4 mmol/L (46). Values of HDL-C <1.03 in men and <1.3 in women were considered low (46). In children, LDL-C, TG and

HDL-C values were compared with those of the National Heart, Lung and Blood Institute guidelines according to gender and age group and were classified as optimal, borderline or abnormal (45).

Whole-exome sequencing and analysis

APOE, *LDL receptor (LDLR)* and *LPL* gene variants were identified using whole-exome sequencing for the ALL survivor cohort. Sequencing data were obtained from the Sainte-Justine Hospital and Génome Québec Integrated Clinical Genomic Center using the SOLiD (ThermoFisher Scientific) or Illumina HiSeq 2500 platforms and then aligned on the Hg19 reference genome. Rare and common variants with a predicted functional impact on protein were identified using the functional annotation from ANNOVAR (47). Only variants with a PolyPhen-2 score ≥ 0.85 (48) or a SIFT score ≤ 0.1 (49) were labeled as “potentially damaging” and used for further analyses. Following this analysis, two polymorphisms were identified (rs7412 in *APOE* and rs118204057 in *LPL*). For validation, these two SNPs were genotyped in the survivor and control cohorts as described previously (50). Primers used were: rs7412, F: GCCGATGACCTGCAGAAG, R: CTGCCCATCTCCTCCATC, allele specific probes: GCAGAAGCGCCTGGC, GCAGAAGTGCCTGGC and rs118204057, F: CGAGTCGTCTTTCTCCTGAT, R: CTGGCTGAAAAGTACCTCCA, allele specific probes: CCAGAGGGTCCCCTG, CCAGAGAGTCCCCTG. Potential genotyping errors were assessed using Chi-square tests to evaluate the deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium.

Statistical analyses

ALL survivors were categorized according to their lipid status (dyslipidemic/non-dyslipidemic). Differences in plasma lipids, lipoproteins, Apos and in lipoprotein composition between groups were assessed using unpaired Student's *t*-tests or Mann-Whitney U tests depending on the normality of the distribution. Continuous variables are expressed as means \pm SEM unless otherwise specified. $P < 0.05$ was considered statistically significant. Statistical analyses were performed with GraphPad Prism Version 6.0.

RESULTS

Anthropometric and clinical characteristics of participants

The clinical characteristics of ALL survivors and healthy controls are shown in **Table 1**. The mean age of ALL survivors was 21.2 years and 50% were male. The mean of their survival time was 12.4 years and age at diagnosis was 6.6 years. Analysis of the entire cohorts revealed no significant differences between ALL survivors and controls in terms of age, gender distribution, BMI, glucose, insulin and HOMA-IR. Similarly, no differences between groups were noted after stratification by age (i.e., children vs. adults) with the exception of higher BMI in adult survivors compared with healthy adult controls.

Dyslipidemia in survivors of acute lymphoblastic leukemia

As outlined in **Figure 1A**, analysis of the entire cohort of survivors revealed dyslipidemia in 50% of subjects. Stratification of data according to age and gender demonstrated a lower prevalence of dyslipidemia in girls (15%) than in boys (50%). This trend was reversed in adulthood with a predominance of dyslipidemia in women (75%) compared with men (60%). It should be pointed out that 35% of girls were characterized with borderline lipid levels, a condition that may deteriorate in adulthood. In contrast, a difference of only 10% was observed between boys and men.

Next, we scrutinized the types of disturbances that define dyslipidemia (**Figure 1B**). Among ALL survivors, 15% had elevated TG, 16% disclosed high LDL-C and 31% displayed low HDL-C levels. While the type of dyslipidemia varied among groups, the most frequent abnormalities observed were low HDL-C and high TG. Specifically, 20% of women and men had high TG and 40% of men, women and boys presented with low HDL-C. High levels of LDL-C were mainly found in adults (15% of men and 35% of women).

We then compared fasting lipid values between the whole group of ALL survivors and age- and gender-matched healthy controls (**Table 2**). Results reveal a trend of increased LDL-C along with significantly decreased HDL-C values, which resulted in significantly higher ratios of LDL-C/HDL-C and TC/HDL-C than those of controls. Similarly, when we segregated the ALL survivor group

according to their normal and abnormal lipid profile, the dyslipidemic ALL subgroup disclosed higher concentrations of TG and LDL-C, lower concentrations of HDL-C as well more elevated ratios of LDL-C/HDL-C and TC/HDL-C than did controls. The same significant trend was observed when ALL children were analyzed separately from ALL adults. Only TG levels were found to be significantly different between non-dyslipidemic survivors and controls. In addition neither the mean LDL-C diameter nor the proportions of small dense LDL-C (diameter < 255 Å) showed any significant divergences among the groups (**Table 2**).

Plasma apolipoprotein profile

Several differences were observed between the plasma Apo profile of ALL survivors and that of healthy controls (**Table 3**). ALL survivors had significantly lower Apo A-I concentrations along with higher levels of Apo B-100 and Apo C-II. No significant divergences were seen in Apos A-IV, C-III and E concentrations. Calculation of important ratios revealed higher Apo C-II/C-III and B-100/A-I in the ALL survivor group. Stratification of the ALL survivor cohort according to age showed that both adults and children contributed to the observed differences (**Table 3**). Interestingly, Apos C-II and C-III were significantly higher in ALL survivors with hypertriglyceridemia (**Figure 2**). Compared with healthy controls, differences in Apos A-I, B-100, and Apo B100/A-I ratio were observed for ALL survivors with and without dyslipidemia (**Table 3**). However, compared with non-dyslipidemic ALL survivors, those presenting abnormal lipid profiles had lower Apo A-I concentrations, as well as C-II/C-III and B-100/TG ratios, but a higher plasma content in Apos C-II, C-III and E (**Table 3**). Similar trends were observed in the child and adult sub-groups.

Composition of lipid moieties in lipoprotein classes

Appraising the composition of lipoproteins in lipids and total proteins did not reveal significant differences in the relative content of VLDL and LDL between the entire cohorts of ALL survivors and controls (**Table 4**). However, lower PL percentages were noticed in IDL, HDL₃ and HDL₂ for both dyslipidemic and non-dyslipidemic survivors when compared with controls. Moreover, an increased proportion of FC characterized survivor HDL₂ particles. We calculated the weight ratio that estimates the size of lipoproteins by evaluating the mass ratio of core constituents (TG+EC) to surface constituents (FC+PR+PL), as lighter and larger particles are relatively enriched with TG

and EC (41). Our results showed a significant increase in the weight ratio of HDL₂ in ALL survivors (both sub-groups) when compared with controls. Comparing dyslipidemic with normolipidemic survivors revealed that the VLDL fraction of dyslipidemic subjects contained more TG, FC and PL, but dramatically less protein (**Table 4**). These alterations led to a higher weight ratio, indicating larger VLDL particles. Moreover, IDL content in FC was higher in ALL survivors with dyslipidemia. While no differences were noted in LDL fraction composition among sub-groups of ALL survivors and healthy controls, higher content of TG in HDL₃ and of TG and FC in HDL₂ characterized dyslipidemic survivors.

Composition of apolipoprotein moieties in lipoprotein classes

Table 5 summarizes the Apo composition of VLDL, IDL, LDL, HDL₃ and HDL₂ in ALL survivors and controls. Representative gels are shown in **Figure 3**. Differences in Apo distributions were detected between groups for all lipoprotein fractions. In contrast with higher Apo B-100 plasma concentrations in ALL survivors compared with controls (**Table 1**), the proportion of Apo B-100 among groups was similar in VLDL and reduced in LDL (**Table 5** and **Figure 3**). However, the percentage of Apo E was increased in the VLDL and IDL of both sub-groups of ALL survivors compared with controls. While all the differences were not significant, a tendency for an elevated percentage of Apo Cs was noted in VLDL and IDL for both sub-groups compared with controls and in the LDL of dyslipidemic survivors. Furthermore, the HDL₂ fraction showed reduced Apo A-I and augmented Apo A-II proportions, thereby resulting in a higher Apo A-I/A-II ratio in ALL survivors vs controls (**Table 5**). Similar to what was observed in VLDL fractions, Apo E was higher in the HDL₂ of dyslipidemic ALL survivors. No significant differences in the HDL₃ fraction were found between survivors and controls.

We further analyzed the distributions of Apo C isoforms in VLDL and HDL₂ fractions using TMU gels. Representative profiles are illustrated in **Figure 4** and Apo distribution is presented in **Table 6**. The separation of VLDL-Apo Cs revealed a tendency for higher content in the Apo C-III₁ isoform in dyslipidemic ALL survivors compared with healthy controls and to non-dyslipidemic ALL survivors. This trend was not observed in VLDL Apo C-III₂ or Apo C-II. Similar to what was observed on SDS-PAGE, no differences were noted in HDL₂ Apo content using the TMU gels.

***APOE*, *LDLR* and *LPL* gene polymorphisms**

To determine whether single nucleotide polymorphisms (SNPs) could account for the observed lipid alterations, we focused on the analysis of three major lipid-associated *APOE*, *LDLR* and *LPL* genes. The genetic characterization of the cohort revealed that rs7412 (*APOE*) minor allele frequency (MAF) was not different between ALL survivors and controls (0.125 vs. 0.136, respectively; odds ratio: 0.905; 95% confidence interval: 0.338-2.425). In the ALL survivor cohort, we found 59 carriers of the *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotype (77.6%), 15 carriers (19.7%) of $\epsilon 3/\epsilon 2$ and two (2.6%) of $\epsilon 2/\epsilon 2$ (**Supplemental Table S1**). In the control group, 16 participants (72.7%) were *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 3$ carriers, six (27.3%) had $\epsilon 3/\epsilon 2$ and none had the $\epsilon 2/\epsilon 2$ genotype. In the *LPL* gene, rs118204057 was identified in one survivor (1.3%) and none in healthy controls, while no SNP was identified in *LDLR* gene in ALL survivors. Moreover, our analyses revealed that the metabolic and lipid profile was not different between survivor and control carriers of the same genotype. However, in both groups, $\epsilon 3/\epsilon 2$ carriers had reduced LDL-C compared with $\epsilon 3/\epsilon 3$ (**Supplemental Table S1**).

DISCUSSION

The aim of this study was to scrutinize the lipid, Apo and lipoprotein abnormalities in pediatric ALL survivors in order to better understand their late cardiovascular risks. Our study focused on the PETALE cohort, which is unique due to its origin and its established genetic founder effect (51, 52). The homogenous ethnic background of the participants provided us with a significant advantage for association studies by reducing the number of confounding variables (51, 52). Overall, this study has identified important alterations in lipid and lipoprotein profiles. In particular, dyslipidemia was highly prevalent in ALL survivors of both genders and age groups. Of note, the proportion of women ALL survivors presenting with high TG (20%) was twice that of the one reported in the general Canadian population of women between 18 and 39 years old (53). Low HDL-C affected 40% of men in our cohort, while a general prevalence of 29% was reported for the same Canadian age group (53). Using the same Canadian Health Measure Survey, MacPherson et al. reported that 19.1% of boys had low HDL-C compared with 40% in our cohort (54). In both studies, cut-off values to classify dyslipidemia were identical to ours.

Our study also revealed differences in plasma Apo concentrations between ALL survivors with and without dyslipidemia compared with healthy controls. Predominantly, plasma Apo B-100 levels were significantly elevated while Apo A-I concentrations were decreased, leading to an increase in the B-100/A-I ratio in ALL survivors with and without dyslipidemia. This unbalanced ratio between potentially atherogenic Apo B-100 and anti-atherogenic Apo A-I particles is a predictor of cardiovascular risk (20, 31). It is noticeable that, for both plasma Apo A-I and B-100, similar alterations were observed in dislipidemic and non-dislipidemic survivors. To a lesser extent, alterations in plasma Apo Cs were identified in ALL subjects with dyslipidemia.

Dyslipidemia is a significant component of the MetS definition as stated by the National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III and International Diabetes Federation (55). The alterations in TG and HDL-C levels found in our study correspond to risk factors that define dyslipidemia in MetS. Since the presence of MetS increases the risk for type 2 diabetes and CVD in the general population (56), it is reasonable to include lipid profile analysis in the long-term follow-up of ALL survivors. In line with our results, a high prevalence of dyslipidemia was

reported in a cohort from the St. Jude Lifetime Cohort Study composed of older ALL survivors (median age of 31.7 years) (11).

To our knowledge, prior to our study, no information was available on lipid and Apo composition of lipoproteins in the survivorship context. Our findings disclose variations in the content of various lipoproteins. In subjects with dyslipidemia and particularly with hypertriglyceridemia, we found VLDL with a reduced protein moiety and an increased TG and FC content that resulted in a higher weight ratio and that reflected a larger particle size. Although the precise mechanism leading to hypertriglyceridemia in our population is unclear, it may indicate increased production of large-sized VLDL rather than an enhanced biogenesis of the number of VLDL particles by the liver as reflected by the lower ratio of Apo B-100/TG in dyslipidemic ALL survivors. Derangements in VLDL-TG degradation are also possible in view of the concomitantly high Apo C-II and C-III concentrations noted in the plasma and also observed using SDS-PAGE. In addition, the tendency of increased Apo C-III₁ in VLDL observed by TMU gels might impact on VLDL-TG degradation (57). If Apo C-II at moderate concentrations represents an activator of LPL for VLDL lipolysis, its excess (as we observed in ALL survivors) may impede LPL activity and VLDL clearance, thereby leading to hypertriglyceridemia (58). Moreover, because Apo C-III is a well-known inhibitor of LPL, higher levels suggest a delay in TG-rich lipoprotein clearance *from circulation* (59, 60). Altogether, these alterations in VLDL composition may affect VLDL catabolism and explain hypertriglyceridemia in ALL survivors.

Polymorphisms in *APOE*, *LPL* or *LDLR* could impact lipoprotein composition, lipid and Apo profile and thus contribute to CVD risk (61-64). The frequencies of *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 2$ and $\epsilon 2/\epsilon 2$ genotypes found in our ALL survivor cohort were slightly higher than those reported in adult Caucasian populations (65). This is in line with the previously reported higher $\epsilon 2$ allele frequency in the French-Canadian population of Québec than in other Caucasian populations (66). It was found that the $\epsilon 2$ allele potentially has a nil effect on CVD risk: while it may reduce LDL-C levels, it may also increase the accumulation of large VLDL and remnant TG-rich lipoproteins and, accordingly, we found lower LDL-C in $\epsilon 2/\epsilon 2$ carriers (61). However *APOE* genotypes did not appear to impact the differences observed between the two cohorts.

Furthermore, *LPL* G188E (rs118204057) is one of three missense mutations that account for > 97% of complete LPL deficiency in homozygous French-Canadian population (62). It could result in a very important increase of plasma TG levels (63). However, due to the complexity of interactions between genetic and environmental factors, G188E heterozygote carriers may develop hypertriglyceridemia generally later in adulthood (62, 67). In our cohort, the detection of only one heterozygote carrier of this allele prevented us from going further. Note that in the French-Canadian population of Quebec, the carrier frequency for familial LPL deficiency disorder is 1:40 (68), which is above the general population average (1 per million) (69) and is attributed to a founder effect (68). To our knowledge, none of the study participants showed symptoms of this disorder which usually manifests in childhood and includes abdominal pain, failure to thrive, hepatosplenomegaly, lipaemia retinalis or eruptive xanthomas (70). Apparently, the increased plasma TG levels and proportions in VLDL fractions observed in our study are, therefore, not related to LPL deficiency, but this assumption should be confirmed with the determination of LPL activity in view of the association of specific variants with mild hypertriglyceridemia (71).

Our data also documented important alterations in HDL₂ composition, Apo distribution and size, in dyslipidemic and non-dyslipidemic ALL survivors. The HDL₂ subtraction was enriched in TG and poorer in PL, indicators of increased particle size. The Apo A-I/A-II ratio was significantly reduced (given the high proportion of Apo A-II) but only a rising trend was noted in the Apo C-II/ C-III ratio. All these modifications may strongly compromise the protective role of HDL against CVD. Higher Apo A-II levels displayed pro-atherogenic potentials (72) and predicted the incidence of MetS and type 2 diabetes (73). In support of these assertions, some investigators stressed the opposite functions of Apos A-I and A-II: the former was more effective in enhancing reverse cholesterol transport and activating LCAT, whereas the latter exhibited its pernicious inhibitory effects (74-76).

In conclusion, this biochemical investigation highlights significant abnormalities in the plasma concentration and composition of lipids, Apos and lipoproteins of ALL survivors. Several of these alterations were more prominent in survivors defined as dyslipidemic although they were also observed in non-dyslipidemic survivors as well. Therefore, special attention must be paid to these subjects given the atherosclerotic potency of lipid and lipoprotein disorders.

ACKNOWLEDGMENTS/GRANT SUPPORT

This work was supported by a grant from the Institute of Cancer Research of the Canadian Institutes of Health Research, in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society, Cancer Research Society, Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research, J.A. DeSeve Research Chair in Nutrition and from the Fonds de Recherche du Québec en Santé and the Cole Foundation. The authors thank Mrs Schohraya Spahis, and Anita Franco for their technical assistance.

REFERENCES

1. Pui, C. H., C. G. Mullighan, W. E. Evans, and M. V. Relling. 2012. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* **120**: 1165-1174.
2. Essig, S., Q. Li, Y. Chen, J. Hitzler, W. Leisenring, M. Greenberg, C. Sklar, M. M. Hudson, G. T. Armstrong, K. R. Krull, J. P. Neglia, K. C. Oeffinger, L. L. Robison, C. E. Kuehni, Y. Yasui, and P. C. Nathan. 2014. Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* **15**: 841-851.
3. Mody, R., S. Li, D. C. Dover, S. Sallan, W. Leisenring, K. C. Oeffinger, Y. Yasui, L. L. Robison, and J. P. Neglia. 2008. Twenty-five-year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* **111**: 5515-5523.
4. Chen, M. H., S. D. Colan, and L. Diller. 2011. Cardiovascular disease: cause of morbidity and mortality in adult survivors of childhood cancers. *Circ Res* **108**: 619-628.
5. Gurney, J. G., R. P. Ojha, K. K. Ness, S. Huang, S. Sharma, L. L. Robison, M. M. Hudson, and S. C. Kaste. 2012. Abdominal aortic calcification in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the St. Jude Lifetime Cohort study. *Pediatr Blood Cancer* **59**: 1307-1309.

6. Mertens, A. C., Q. Liu, J. P. Neglia, K. Wasilewski, W. Leisenring, G. T. Armstrong, L. L. Robison, and Y. Yasui. 2008. Cause-specific late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* **100**: 1368-1379.
7. Janiszewski, P. M., K. C. Oeffinger, T. S. Church, A. L. Dunn, D. A. Eshelman, R. G. Victor, S. Brooks, A. J. Turoff, E. Sinclair, J. C. Murray, L. Bashore, and R. Ross. 2007. Abdominal obesity, liver fat, and muscle composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* **92**: 3816-3821.
8. Chow, E. J., C. Pihoker, K. Hunt, K. Wilkinson, and D. L. Friedman. 2007. Obesity and hypertension among children after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **110**: 2313-2320.
9. Neville, K. A., R. J. Cohn, K. S. Steinbeck, K. Johnston, and J. L. Walker. 2006. Hyperinsulinemia, impaired glucose tolerance, and diabetes mellitus in survivors of childhood cancer: prevalence and risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* **91**: 4401-4407.
10. Malhotra, J., E. S. Tonorezos, M. Rozenberg, G. L. Vega, C. A. Sklar, J. Chou, C. S. Moskowitz, D. A. Eshelman-Kent, P. Janiszewski, R. Ross, and K. C. Oeffinger. 2012. Atherogenic low density lipoprotein phenotype in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Lipid Res* **53**: 2747-2754.
11. Nottage, K. A., K. K. Ness, C. Li, D. Srivastava, L. L. Robison, and M. M. Hudson. 2014. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br J Haematol* **165**: 364-374.
12. Armenian, S. H., S. K. Gelehrter, and E. J. Chow. 2012. Strategies to prevent anthracycline-related congestive heart failure in survivors of childhood cancer. *Cardiol Res Pract* **2012**: 713294.
13. Harake, D., V. I. Franco, J. M. Henkel, T. L. Miller, and S. E. Lipshultz. 2012. Cardiotoxicity in childhood cancer survivors: strategies for prevention and management. *Future Cardiol* **8**: 647-670.

14. Lipshultz, S. E., S. R. Lipsitz, S. M. Mone, A. M. Goorin, S. E. Sallan, S. P. Sanders, E. J. Orav, R. D. Gelber, and S. D. Colan. 1995. Female sex and drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *N Engl J Med* **332**: 1738-1743.
15. Silverman, L. B. 2014. Balancing cure and long-term risks in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2014**: 190-197.
16. Link, K., C. Moell, S. Garwicz, E. Cavallin-Stahl, J. Bjork, U. Thilen, B. Ahren, and E. M. Erfurth. 2004. Growth hormone deficiency predicts cardiovascular risk in young adults treated for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J Clin Endocrinol Metab* **89**: 5003-5012.
17. Geenen, M. M., P. J. M. Bakker, L. C. M. Kremer, J. J. P. Kastelein, and F. E. van Leeuwen. 2010. Increased prevalence of risk factors for cardiovascular disease in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia and Wilms tumor treated with radiotherapy. *Pediatric Blood & Cancer* **55**: 690-697.
18. Oeffinger, K. C., B. Adams-Huet, R. G. Victor, T. S. Church, P. G. Snell, A. L. Dunn, D. A. Eshelman-Kent, R. Ross, P. M. Janiszewski, A. J. Turoff, S. Brooks, and G. L. Vega. 2009. Insulin resistance and risk factors for cardiovascular disease in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* **27**: 3698-3704.
19. Parish, S., R. Peto, A. Palmer, R. Clarke, S. Lewington, A. Offer, G. Whitlock, S. Clark, L. Youngman, P. Sleight, R. Collins, and C. International Studies of Infarct Survival. 2009. The joint effects of apolipoprotein B, apolipoprotein A1, LDL cholesterol, and HDL cholesterol on risk: 3510 cases of acute myocardial infarction and 9805 controls. *Eur Heart J* **30**: 2137-2146.
20. Walldius, G., and I. Jungner. 2004. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *Journal of Internal Medicine* **255**: 188-205.
21. Maranhao, R. C., and F. R. Freitas. 2014. HDL metabolism and atheroprotection: predictive value of lipid transfers. *Adv Clin Chem* **65**: 1-41.
22. Schwendeman, A., D. O. Sviridov, W. Yuan, Y. Guo, E. E. Morin, Y. Yuan, J. Stonik, L. Freeman, A. Ossoli, S. Thacker, S. Killion, M. Pryor, Y. E. Chen, S. Turner, and A. T. Remaley. 2015.

The effect of phospholipid composition of reconstituted HDL on its cholesterol efflux and anti-inflammatory properties. *J Lipid Res* **56**: 1727-1737.

23. Gursky, O. 2015. Structural stability and functional remodeling of high-density lipoproteins. *FEBS Lett* **589**: 2627-2639.

24. Guha, M., X. Gao, S. Jayaraman, and O. Gursky. 2008. Correlation of structural stability with functional remodeling of high-density lipoproteins: the importance of being disordered. *Biochemistry* **47**: 11393-11397.

25. Angeloni, E., F. Paneni, U. Landmesser, U. Benedetto, G. Melina, T. F. Lüscher, M. Volpe, R. Sinatra, and F. Cosentino. 2013. Lack of protective role of HDL-C in patients with coronary artery disease undergoing elective coronary artery bypass grafting. *European heart journal* **34**: 3557-3562.

26. Heinecke, J. 2011. HDL and cardiovascular-disease risk--time for a new approach? *N Engl J Med* **364**: 170-171.

27. Koba, S., Y. Yokota, T. Hirano, Y. Ito, Y. Ban, F. Tsunoda, T. Sato, M. Shoji, H. Suzuki, E. Geshi, Y. Kobayashi, and T. Katagiri. 2008. Small LDL-cholesterol is superior to LDL-cholesterol for determining severe coronary atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* **15**: 250-260.

28. Aoki, T., H. Yagi, H. Sumino, K. Tsunekawa, O. Araki, T. Kimura, M. Nara, T. Ogiwara, K. Nakajima, and M. Murakami. 2015. Relationship between carotid artery intima-media thickness and small dense low-density lipoprotein cholesterol concentrations measured by homogenous assay in Japanese subjects. *Clin Chim Acta* **442**: 110-114.

29. Hoogeveen, R. C., J. W. Gaubatz, W. Sun, R. C. Dodge, J. R. Crosby, J. Jiang, D. Couper, S. S. Virani, S. Kathiresan, E. Boerwinkle, and C. M. Ballantyne. 2014. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **34**: 1069-1077.

30. Arsenault, B. J., I. Lemieux, J. P. Despres, N. J. Wareham, R. Luben, J. J. Kastelein, K. T. Khaw, and S. M. Boekholdt. 2007. Cholesterol levels in small LDL particles predict the risk of

coronary heart disease in the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur Heart J* **28**: 2770-2777.

31. Walldius, G., I. Jungner, I. Holme, A. H. Aastveit, W. Kolar, and E. Steiner. 2001. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *The Lancet* **358**: 2026-2033.

32. Bherer, C., D. Labuda, M. H. Roy-Gagnon, L. Houde, M. Tremblay, and H. Vezina. 2011. Admixed ancestry and stratification of Quebec regional populations. *Am J Phys Anthropol* **144**: 432-441.

33. Heyer, E., M. Tremblay, and B. Desjardins. 1997. Seventeenth-century European origins of hereditary diseases in the Saguenay population (Quebec, Canada). *Hum Biol* **69**: 209-225.

34. Marcoux, S., S. Drouin, C. Laverdiere, N. Alos, G. U. Andelfinger, L. Bertout, D. Curnier, M. G. Friedrich, E. A. Kritikou, G. Lefebvre, E. Levy, S. Lippe, V. Marcil, M. J. Raboisson, F. Rauch, P. Robaey, M. Samoilenko, C. Seguin, S. Sultan, M. Krajinovic, and D. Sinnett. 2016. The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatr Blood Cancer*.

35. Vrooman, L. M., D. S. Neuberg, K. E. Stevenson, B. L. Asselin, U. H. Athale, L. Clavell, P. D. Cole, K. M. Kelly, E. C. Larsen, C. Laverdiere, B. Michon, M. Schorin, C. L. Schwartz, H. J. Cohen, S. E. Lipshultz, L. B. Silverman, and S. E. Sallan. 2011. The low incidence of secondary acute myelogenous leukaemia in children and adolescents treated with dexrazoxane for acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium. *Eur J Cancer* **47**: 1373-1379.

36. Lambert, M., G. Paradis, O'Loughlin, E. Delvin, and E. Levy. 2004. Insuline resistance syndrom in a representative sample of children and adolescents from Quebec, Canada. *International Journal of Obesity* **28**: 833-841.

37. Friedewald, W., R. Levy, and D. Fredrickson. 1976. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* **18**: 499-502.

38. St-Pierre, A. C., I. L. Ruel, B. Cantin, G. R. Dagenais, P.-M. Bernard, J.-P. Després, and B. Lamarche. 2001. Comparison of Various Electrophoretic Characteristics of LDL Particles and Their Relationship to the Risk of Ischemic Heart Disease. *Circulation Journal* **104**: 2295-2299.
39. Stan, S., E. Levy, E. E. Delvin, J. A. Hanley, B. Lamarche, J. O'Loughlin, G. Paradis, and M. Lambert. 2005. Distribution of LDL particle size in a population-based sample of children and adolescents and relationship with other cardiovascular risk factors. *Clin Chem* **51**: 1192-1200.
40. Tchernof, A., B. Lamarche, D. Prud'Homme, A. Nadeau, S. Moorjani, F. Labrie, P. J. Lupien, and J. P. Despres. 1996. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care* **19**: 629-637.
41. Levy, E., G. Lepage, M. Bendayan, N. Ronco, L. Thibault, N. Galeano, L. Smith, and C. C. Roy. 1989. Relationship of decreased hepatic lipase activity and lipoprotein abnormalities to essential fatty acid deficiency in cystic fibrosis patients. *Journal of Lipid Research* **30**: 1197-1209.
42. Levy, E., C. C. Roy, L. Thibault, B. A., B. P., and E. Seidman. 1994. Variable expression of familial heterozygous hypobetalipoproteinemia: transient malabsorption during infancy. *Journal of Lipid Research* **35**: 2170-2177.
43. Levy, E., A. Thibault, C. C. Roy, M. Bendayan, G. Lepage, and J. Letarte. 1988. Circulation lipids and lipoproteins in glycogen storage disease type I with nocturnal intragastric feeding. *Journal of Lipid Research* **29**: 215-226.
44. Bartlett, G. R. 1959. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* **234**: 466-468.
45. FOR, E. P. O. I. G., and R. R. I. CHILDREN. 2011. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics* **128**: S213.
46. Genest, J., R. McPherson, J. Frohlich, T. Anderson, N. Campbell, A. Carpentier, P. Couture, R. Dufour, G. Fodor, and G. A. Francis. 2009. 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult—2009 recommendations. *Canadian Journal of Cardiology* **25**: 567-579.

47. Wang, K., M. Li, and H. Hakonarson. 2010. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic acids research* **38**: e164-e164.
48. Adzhubei, I. A., S. Schmidt, L. Peshkin, V. E. Ramensky, A. Gerasimova, P. Bork, A. S. Kondrashov, and S. R. Sunyaev. 2010. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature methods* **7**: 248-249.
49. Ng, P. C., and S. Henikoff. 2003. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res* **31**: 3812-3814.
50. Ansari, M., G. Sauty, M. Labuda, V. Gagne, J. Rousseau, A. Moghrabi, C. Laverdiere, D. Sinnett, and M. Krajcinovic. 2012. Polymorphism in multidrug resistance-associated protein gene 3 is associated with outcomes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J* **12**: 386-394.
51. Krajcinovic, M., D. Labuda, C. Richer, S. Karimi, and D. Sinnett. 1999. Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 Genetic. *The American Society of Hematology* **93**: 1496-1501.
52. Sinnett, D., M. Krajcinovic, and D. Labuda. 2000. Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* **38**: 447-462.
53. Riediger, N. D., and I. Clara. 2011. Prevalence of metabolic syndrome in the Canadian adult population. *CMAJ* **183**: E1127-1134.
54. MacPherson, M., M. de Groh, and L. Loukine. 2016. Prevalence of metabolic syndrome and its risk factors in Canadian children and adolescents: Canadian Health Measures Survey Cycle 1 (2007-2009) and Cycle 2 (2009-2011).
55. Lorenzo, C., K. Williams, K. J. Hunt, and S. M. Haffner. 2007. The National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III, International Diabetes Federation, and World Health Organization definitions of the metabolic syndrome as predictors of incident cardiovascular disease and diabetes. *Diabetes Care* **30**: 8-13.

56. Grundy, S. M., J. I. Cleeman, S. R. Daniels, K. A. Donato, R. H. Eckel, B. A. Franklin, D. J. Gordon, R. M. Krauss, P. J. Savage, S. C. Smith, Jr., J. A. Spertus, F. Costa, A. American Heart, L. National Heart, and I. Blood. 2005. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* **112**: 2735-2752.
57. Mauger, J. F., P. Couture, N. Bergeron, and B. Lamarche. 2006. Apolipoprotein C-III isoforms: kinetics and relative implication in lipid metabolism. *J Lipid Res* **47**: 1212-1218.
58. Kei, A. A., T. D. Filippatos, V. Tsimihodimos, and M. S. Elisaf. 2012. A review of the role of apolipoprotein C-II in lipoprotein metabolism and cardiovascular disease. *Metabolism* **61**: 906-921.
59. Ito, Y., N. Asrolan, A. O'Connell, A. Walsh, and J. L. Breslow. 1990. Hypertriglyceridemia as a Result of Human Apo CIII Gene Expression in Transgenic Mice. *Science, New Series* **249**: 790-793.
60. Bobik, A. 2008. Apolipoprotein CIII and atherosclerosis: beyond effects on lipid metabolism. *Circulation* **118**: 702-704.
61. Yiqing, S., J. S. Meir, and L. Simin. 2004. Meta-Analysis: Apolipoprotein E Genotypes and Risk for Coronary Heart Disease. *Annals of Internal Medicine* **141**: 137-147.
62. Minnich, A., A. Kessling, M. Roy, C. Giry, G. DeLangavant, J. Lavigne, S. Lussier-Cacan, and J. Davignon. 1995. Prevalence of alleles encoding defective lipoprotein lipase in hypertriglyceridemic patients of French Canadian descent. *J Lipid Res* **36**: 117-124.
63. Merkel, M. 2002. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *The Journal of Lipid Research* **43**: 1997-2006.
64. Franceschini, N., H. Muallem, K. M. Rose, E. Boerwinkle, and N. Maeda. 2009. Low density lipoprotein receptor polymorphisms and the risk of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *J Thromb Haemost* **7**: 496-498.

65. Eichner, J. E., S. T. Dunn, G. Perveen, D. M. Thompson, K. E. Stewart, and C. Stroehla. 2002. Apolipoprotein E Polymorphism and Cardiovascular Disease: A HuGE Review. *American Journal of Epidemiology* **155**: 487-495.
66. Robitaille, N., G. Cormier, R. Couture, D. Bouthillier, J. Davignon, and L. Perusse. 1996. Apolipoprotein E polymorphism in a French Canadian population of northeastern Quebec: allele frequencies and effects on blood lipid and lipoprotein levels. *Human biology*: 357-370.
67. Wilson, D. E., M. Emi, P.-H. Iverius, A. Hat, L. L. Wu, E. Hillas, R. R. Williams, and J.-M. Lalouel. 1990. Phenotypic Expression of Heterozygous Lipoprotein Lipase Deficiency in the Extended Pedigree of a Proband Homozygous for a Missense Mutation. *The Journal of Clinical Investigation, Inc.* **86**: 735-750.
68. Gagne, C., L. D. Brun, P. Julien, S. Moorjani, and P. J. Lupien. 1989. Primary lipoprotein-lipase-activity deficiency: clinical investigation of a French Canadian population. *CMAJ* **140**: 405-411.
69. Rahalkar, A. R., F. Giffen, B. Har, J. Ho, K. M. Morrison, J. Hill, J. Wang, R. A. Hegele, and T. Joy. 2009. Novel LPL mutations associated with lipoprotein lipase deficiency: two case reports and a literature review. *Can J Physiol Pharmacol* **87**: 151-160.
70. Kolarova, H., M. Tesarova, S. Svecova, V. Stanecky, A. Pristoupilova, T. Zima, J. Uhrova, Y. Volgina, J. Zeman, and T. Honzik. 2014. Lipoprotein Lipase Deficiency: Clinical, Biochemical and Molecular Characteristics in Three Patients with Novel Mutations in the LPL Gene. *Folia Biologica* **60**: 235-243.
71. Hegele, R. A. 2016. Multidimensional regulation of lipoprotein lipase: impact on biochemical and cardiovascular phenotypes. *J Lipid Res* **57**: 1601-1607.
72. Alaupovic, P., W. J. Mack, C. Knight-Gibson, and H. N. Hodis. 1997. The role of triglyceride-rich lipoprotein families in the progression of atherosclerotic lesions as determined by sequential coronary angiography from a controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **17**: 715-722.

73. Onat, A., G. Hergenc, E. Ayhan, M. Ugur, and G. Can. 2009. Impaired anti-inflammatory function of apolipoprotein A-II concentrations predicts metabolic syndrome and diabetes at 4 years follow-up in elderly Turks. *Clin Chem Lab Med* **47**: 1389-1394.
74. Barbaras, R., P. Puchois, J. C. Fruchart, and G. Ailhaud. 1987. Cholesterol efflux from cultured adipose cells is mediated by LpAI particles but not by LpAI:All particles. *Biochem Biophys Res Commun* **142**: 63-69.
75. Durbin, D. M., and A. Jonas. 1999. Lipid-free apolipoproteins A-I and A-II promote remodeling of reconstituted high density lipoproteins and alter their reactivity with lecithin:cholesterol acyltransferase. *J Lipid Res* **40**: 2293-2302.
76. Lagrost, L., C. Dengremont, A. Athias, C. de Geitere, J. C. Fruchart, C. Lallemand, P. Gambert, and G. Castro. 1995. Modulation of cholesterol efflux from Fu5AH hepatoma cells by the apolipoprotein content of high density lipoprotein particles. Particles containing various proportions of apolipoproteins A-I and A-II. *J Biol Chem* **270**: 13004-13009.

Table 1. Clinical and biochemical characteristics of acute lymphoblastic leukemia survivors compared to age- and gender-matched controls

	Healthy Controls	ALL Survivors
<i>Total</i>	<i>n=22</i>	<i>n=80</i>
Age at visit (y)	21.23 ± 1.44	21.10 ± 0.83
Age at cancer diagnosis (y)	N/A	6.61 ± 0.53
Survival time (y)	N/A	12.38 ± 0.71
Gender (male, %)	50	50
Children (%)	45	50
BMI (kg/m ²)	22.53 ± 0.51	24.45 ± 0.64
Glucose (mmol/L)	5.11 ± 0.05	5.08 ± 0.06
Insulin (pmol/L)	55.32 ± 4.6	59.12 ± 4.34
HOMA-IR	1.82 ± 0.15 ²	1.95 ± 0.15
<i>Children</i>	<i>n=10</i>	<i>n=40</i>
Age at visit (y)	15.60 ± 0.31	15.28 ± 0.31
Age at cancer diagnosis (y)	N/A	4.36 ± 0.39
Survival time (y)	N/A	8.74 ± 0.42
Gender (male, %)	50	50
BMI (kg/m ²)	22.32 ± 0.87	22.08 ± 0.60
Glucose (mmol/L)	5.14 ± 0.09	4.90 ± 0.07
Insulin (pmol/L)	71.51 ± 5.5	60.51 ± 4.47
HOMA-IR	2.34 ± 0.16	1.92 ± 0.15
<i>Adults</i>	<i>n=12</i>	<i>n=40</i>
Age at visit (y)	25.92 ± 1.66	26.92 ± 0.61
Age at cancer diagnosis (y)	N/A	8.87 ± 0.84
Survival time (y)	N/A	16.02 ± 1.08
Gender (male, %)	50	50
BMI (kg/m ²)	22.70 ± 0.61	26.82 ± 1.01*
Glucose (mmol/L)	5.08 ± 0.06	5.25 ± 0.08
Insulin (pmol/L)	41.83 ± 4.1	57.77 ± 7.44
HOMA-IR	1.36 ± 0.14	1.98 ± 0.27

Subjects were stratified according to age (adults: ≥ 18 years old and children: < 18 years old). HOMA-IR was calculated using the formula: [fasting insulin (mU/mL) × fasting glucose (mmol/L)] / 22.5. ALL, acute lymphoblastic leukemia; HOMA-IR, homeostasis metabolic assessment-insulin resistance. Data are expressed as percentage or as means ± SEM. **P*<0.05 versus healthy controls.

Table 2. Plasma lipid and lipoprotein values in child and adult survivors of acute lymphoblastic leukemia and controls

	Healthy Controls	ALL Survivors		
		Entire Group	Subgroup without dyslipidemia	Subgroup with dyslipidemia
<i>Total</i>	<i>n=22</i>	<i>n=80</i>	<i>n=40</i>	<i>n=40</i>
TG (mmol/L)	0.91 ± 0.06	1.08 ± 0.07	0.75 ± 0.04*	1.42 ± 0.11** ^c
TC (mmol/L)	4.23 ± 0.14	4.41 ± 0.08	NA	NA
LDL-C (mmol/L)	2.40 ± 0.12	2.63 ± 0.07	2.33 ± 0.08	2.92 ± 0.10** ^c
HDL-C (mmol/L)	1.42 ± 0.05	1.29 ± 0.03*	1.40 ± 0.04	1.18 ± 0.05*** ^c
LDL mean diameter (Å)	254.4 ± 0.29	254.7 ± 0.18	254.8 ± 0.26	254.6 ± 0.25
Small dense LDL (%)	57.61 ± 2.65	53.60 ± 1.45	53.89 ± 2.29	53.30 ± 1.81
LDL/HDL-C	1.73 ± 0.10	2.17 ± 0.08*	1.74 ± 0.08	2.61 ± 0.11*** ^c
TC/HDL-C	3.03 ± 0.11	3.58 ± 0.10**	2.99 ± 0.09	4.18 ± 0.13*** ^c
<i>Children</i>	<i>n=10</i>	<i>n=40</i>	<i>n=27</i>	<i>n=13</i>
TG (mmol/L)	0.85 ± 0.07	0.94 ± 0.08	0.71 ± 0.05	1.42 ± 0.15** ^c
TC (mmol/L)	3.96 ± 0.22	4.20 ± 0.09	NA	NA
LDL-C (mmol/L)	2.24 ± 0.17	2.49 ± 0.09	2.40 ± 0.10	2.70 ± 0.16
HDL-C (mmol/L)	1.34 ± 0.06	1.28 ± 0.04	1.394 ± 0.05	1.03 ± 0.05*** ^c
LDL mean diameter (Å)	254.2 ± 0.42	254.8 ± 0.25	254.9 ± 0.29	254.6 ± 0.48
Small dense LDL (%)	60.73 ± 3.36	53.16 ± 1.87	52.28 ± 2.30	54.99 ± 3.24
LDL/HDL-C	1.69 ± 0.14	2.08 ± 0.12	1.79 ± 0.10	2.70 ± 0.22** ^c
TC/HDL-C	2.97 ± 0.15	3.45 ± 0.15	3.03 ± 0.11	4.33 ± 0.26*** ^c
<i>Adults</i>	<i>n=12</i>	<i>n=40</i>	<i>n=13</i>	<i>n=27</i>
TG (mmol/L)	0.95 ± 0.08	1.22 ± 0.11	0.82 ± 0.09	1.42 ± 0.14 ^b
TC (mmol/L)	4.45 ± 0.15	4.61 ± 0.14	NA	NA
LDL-C (mmol/L)	2.53 ± 0.15	2.76 ± 0.11	2.20 ± 0.12	3.03 ± 0.12* ^c

HDL-C (mmol/L)	1.49 ± 0.08	1.30 ± 0.05	1.40 ± 0.06	1.25 ± 0.07 ^{*, a}
LDL mean diameter (Å)	254.6 ± 0.4	254.7 ± 0.25	254.5 ± 0.54	254.7 ± 0.28
Small dense LDL (%)	55.02 ± 3.93	54.03 ± 2.24	57.22 ± 5.21	52.49 ± 2.20
LDL/HDL	1.77 ± 0.16	2.27 ± 0.12 [*]	1.64 ± 0.14	2.57 ± 0.13 ^{***, c}
TC/HDL-C	3.06 ± 0.17	3.71 ± 0.14 [*]	2.91 ± 0.14	4.10 ± 0.14 ^{***, c}

Dyslipidemia was defined when subjects presented at least one of three factors: high LDL-C, high TG, and/or low HDL-C. In adults, LDL-C < 3.4 mmol/L was considered normal and ≥ 3.4 mmol/L high. Triglycerides < 1.7 mmol/L and ≥1.7 mmol/L were classified as normal and high, respectively. HDL-C < 1.03 in men and <1.3 in women were considered low. In children, cut-off values were defined according to the guidelines of the National Heart, Lung and Blood Institute with consideration of gender and age. [373] ALL, acute lymphoblastic leukemia; TC, total cholesterol. Data are expressed as mean ± SEM. ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01, ^{***}*P* < 0.001 vs. healthy controls; ^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01, ^c*P* < 0.001 vs. ALL survivors without dyslipidemia.

Table 3. Plasma apolipoprotein profile of acute lymphoblastic leukemia survivors and controls

	Healthy Controls	ALL Survivors		
		Entire Group	Subgroup without Dyslipidemia	Subgroup with Dyslipidemia
<i>Total</i>				
Apos				
A-I (g/L)	2.64 ± 0.09 (22)	2.28 ± 0.06 (79)**	2.35 ± 0.07 (40)*	2.22 ± 0.09 (39)**
A-IV (µg/ml)	1.22 ± 0.12 (22)	1.28 ± 0.06 (53)	1.22 ± 0.09 (27)	1.34 ± 0.08 (26)
B-100 (g/L)	0.69 ± 0.02 (22)	0.85 ± 0.02 (78)***	0.86 ± 0.03 (39)***	0.83 ± .03 (39)**
C-II (µg/ml)	111.6 ± 6.82 (21)	131.9 ± 4.26 (80)*	123.3 ± 5.27 (40)	140.2 ± 6.51 (40)** ^a
C-III (µg/ml)	76.05 ± 3.47 (22)	86.22 ± 11.62 (79)	73.15 ± 11.60 (39)*	98.95 ± 19.93 (40)
E (µg/ml)	34.60 ± 0.91 (22)	31.70 ± 0.91 (80)	29.82 ± 0.98 (40)**	33.59 ± 1.48 (40) ^a
Ratios				
C-II/C-III	1.50 ± 0.83 (21)	2.53 ± 0.24 (79)**	2.81 ± 0.42 (39)**	2.25 ± 0.22 (40)*
B-100/TG	0.82 ± 0.06 (22)	0.99 ± 0.06 (78)	1.30 ± 0.10 (39)***	0.69 ± 0.05 (39) ^{*,c}
B-100/A-I	0.27 ± 0.01 (22)	0.38 ± 0.01 (78)***	0.37 ± 0.01 (39)***	0.39 ± 0.02 (39)***
<i>Children</i>				
Apos				
A-I (g/L)	2.41 ± 0.12 (10)	2.19 ± 0.07 (40)	2.26 ± 0.07 (27)	2.03 ± 0.14 (13) ^{*,a}
A-IV (µg/ml)	1.34 ± 0.24 (10)	1.22 ± 0.09 (27)	1.23 ± 0.12 (21)	1.15 ± 0.10 (6)
B-100 (g/L)	0.73 ± 0.03 (10)	0.85 ± 0.03 (40)*	0.84 ± 0.03 (27)	0.87 ± 0.05 (13)*
C-II (µg/ml)	109.3 ± 6.75 (9)	131.2 ± 5.55 (40)*	124.1 ± 6.84 (27)	146.1 ± 8.37 (13)**
C-III (µg/ml)	81.60 ± 3.67 (10)	78.03 ± 11.33 (39)	77.62 ± 16.43 (26)*	78.85 ± 9.73 (13)
E (µg/ml)	34.19 ± 1.14 (10)	29.79 ± 1.20 (40)	28.56 ± 1.22 (27)*	32.35 ± 2.62 (13)
Ratios				
C-II/C-III	1.36 ± 0.06 (9)	2.55 ± 0.36 (39)**	2.61 ± 0.49 (26)**	2.44 ± 0.47 (13)*
B-100/TG	0.91 ± 0.09 (10)	1.12 ± 0.10 (40)	1.34 ± 0.12 (27)**	0.67 ± 0.07 (13)*
B-100/A-I	0.31 ± 0.02 (10)	0.40 ± 0.02 (40)*	0.38 ± 0.02 (27)*	0.45 ± 0.04 (13)**
<i>Adults</i>				
Apos				
A-I (g/L)	2.84 ± 0.11 (12)	2.39 ± 0.09 (39)*	2.53 ± 0.13 (13)	2.32 ± 0.12 (26)**
A-IV (µg/ml)	1.13 ± 0.10 (12)	1.34 ± 0.09 (26)	1.21 ± 0.14 (2)	1.27 ± 0.13 (10)
B-100 (g/L)	0.65 ± 0.03 (12)	0.85 ± 0.03 (38)**	0.92 ± 0.04 (12)***	0.82 ± 0.04 (26)*
C-II (µg/ml)	113.3 ± 11.07 (12)	132.6 ± 6.54 (40)	122.5 ± 8.15 (13)	137.4 ± 8.81 (27)
C-III (µg/ml)	71.42 ± 5.12 (12)	94.20 ± 20.21 (40)	64.23 ± 12.01 (13)	108.6 ± 29.17 (27)
E (µg/ml)	34.94 ± 1.40 (12)	33.62 ± 1.31 (40)	32.44 ± 1.44 (13)	34.18 ± 1.81 (27)

Ratios				
C-II/C-III	1.61 ± 0.13 (12)	2.50 ± 0.31 (40)	3.22 ± 0.80 (13)	2.16 ± 0.23 (27)
B-100/TG	0.75 ± 0.07 (12)	0.88 ± 0.08 (38)	1.23 ± 0.14 (12)**	0.71 ± 0.07 (26) ^b
B-100/A-I	0.23 ± 0.02 (12)	0.37 ± 0.02 (38)***	0.38 ± 0.03 (12)***	0.37 ± 0.03 (26)**

ALL, acute lymphoblastic leukemia; Apo, apolipoprotein. Data are expressed as mean ± SEM (n). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. healthy controls; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$ vs. ALL survivors without dyslipidemia.

Table 4. Lipoprotein composition of acute lymphoblastic leukemia survivors compared with age- and gender-matched controls

Lipoprotein	Composition					Weight ratio (TG+EC):(FC+PL+P)
	TG	FC	EC	PL	PR	
<i>Percentage of total content</i>						
VLDL (1.006 g/ml)						
Controls	41.69 ± 2.05	4.65 ± 0.34	6.36 ± 0.67	18.53 ± 0.80	28.77 ± 2.79	1.00 ± 0.08
ALL survivors	44.90 ± 1.27	5.14 ± 0.17	5.66 ± 0.25	16.74 ± 0.39	27.56 ± 1.76	1.13 ± 0.05
No dyslipidemia	40.27 ± 1.89	4.68 ± 0.28	5.21 ± 0.40	15.36 ± 0.61**	34.48 ± 2.62	0.93 ± 0.07
Dyslipidemia	49.53 ± 1.36** ^c	5.60 ± 0.19** ^b	6.11 ± 0.31	18.13 ± 0.38 ^c	20.63 ± 1.78** ^c	1.33 ± 0.06** ^c
<i>Hypertriglyceridemia</i>	55.04 ± 1.44***	5.63 ± 0.37*	6.01 ± 0.62	18.73 ± 0.54	14.59 ± 1.55**	1.60 ± 0.08***
IDL (1.019 g/ml)						
Controls	27.65 ± 1.83	6.93 ± 0.32	13.94 ± 0.98	29.13 ± 1.94	22.35 ± 2.02	0.75 ± 0.05
ALL survivors	27.68 ± 0.83	7.92 ± 0.27	14.46 ± 0.72	24.02 ± 0.64**	25.93 ± 1.55	0.78 ± 0.03
No dyslipidemia	27.66 ± 1.21	7.44 ± 0.40	12.58 ± 0.99	23.27 ± 1.02**	29.06 ± 2.22*	0.73 ± 0.05
Dyslipidemia	27.69 ± 1.17	8.40 ± 0.36**	16.34 ± 0.97 ^b	24.76 ± 0.78*	22.80 ± 2.07 ^b	0.84 ± 0.04
LDL (1.063 g/ml)						
Controls	6.51 ± 0.45	11.02 ± 0.31	40.32 ± 1.09	27.73 ± 1.06	14.43 ± 0.50	0.89 ± 0.04
ALL survivors	7.15 ± 0.30	10.76 ± 0.20	40.64 ± 0.71	27.33 ± 0.41	14.11 ± 0.53	0.93 ± 0.02
No dyslipidemia	7.19 ± 0.45	10.62 ± 0.25	40.59 ± 0.91	27.28 ± 0.51	14.31 ± 0.59	0.91 ± 0.03
Dyslipidemia	7.11 ± 0.38	10.90 ± 0.30	40.70 ± 1.10	27.39 ± 0.64	13.91 ± 0.88	0.94 ± 0.03
HDL3 (1.210 g/ml)						
Controls	2.24 ± 0.22	2.06 ± 0.09	15.49 ± 0.76	31.89 ± 3.00	49.58 ± 2.53	0.20 ± 0.01
ALL survivors	2.17 ± 0.09	2.26 ± .07	16.35 ± 0.38	25.41 ± 0.48**	53.77 ± 0.69	0.23 ± 0.005
No dyslipidemia	1.92 ± 0.12	2.32 ± 0.08	16.66 ± 0.58	25.15 ± 0.74**	53.96 ± 1.00	0.23 ± 0.008

Dyslipidemia	2.41 ± 0.13 ^b	2.21 ± 0.11	16.05 ± 0.51	25.67 ± 0.60*	53.52 ± 0.96	0.23 ± 0.007
HDL2 (1.125 g/ml)						
Controls	3.14 ± 0.27	5.09 ± 0.23	20.14 ± 1.02	35.04 ± 1.28	36.60 ± 1.63	0.31 ± 0.02
ALL survivors	3.70 ± 0.16	6.29 ± 0.23*	22.36 ± 0.61	32.30 ± 0.40*	35.35 ± 0.64	0.36 ± 0.01*
No dyslipidemia	3.24 ± 0.20	5.93 ± 0.24*	22.56 ± 0.82	32.56 ± 0.43*	35.71 ± 0.86	0.36 ± 0.02*
Dyslipidemia	4.16 ± 0.24** ^b	6.66 ± 0.39*	22.16 ± 0.91	32.04 ± 0.67*	34.98 ± 0.97	0.37 ± 0.02*
Low HDL-C	4.01 ± 0.24*	6.91 ± 0.53*	21.91 ± 1.24	31.33 ± 0.72**	35.79 ± 1.32	0.36 ± 0.02

VLDL, IDL LDL, HDL₃ and HDL₂ of n=80 ALL survivors and n=22 gender- and age-matched healthy controls were characterized as described in Materials and Methods. ALL survivors were stratified in two groups according to their dyslipidemia status as described in Materials and Methods (n=40/group). Two additional subgroups were stratified among dyslipidemic survivors: hypertriglyceridemic ALL survivors (n = 12) and ALL survivors with low HDL (N = 25) ALL, acute lymphoblastic leukemia; FC, free cholesterol; EC, esterified cholesterol; PL, phospholipid; PR, protein. Data are expressed as percentage of total lipoprotein content ± SEM. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs. healthy controls; ^b*P* < 0.01, ^c*P* < 0.001 vs. ALL survivors without dyslipidemia.

Table 5. Composition of apolipoprotein moieties in lipoproteins of acute lymphoblastic leukemia survivors compared with age- and gender-matched controls using SDS-PAGE.

Lipoprotein	Composition in apolipoproteins						Ratio
	B-100	A-IV	E	A-I	Cs	A-II	A-I/A-II
<i>Percentage of total content</i>							
VLDL (1.006 g/ml)							
Controls	49.55 ± 3.12	16.41 ± 1.91	10.09 ± 1.16	10.82 ± 1.59	13.23 ± 1.61	-	-
ALL survivors	42.88 ± 1.92	13.88 ± 1.11	14.46 ± 0.83**	11.65 ± 1.00	17.00 ± 1.33	-	-
No dyslipidemia	44.08 ± 2.51	14.77 ± 1.07	13.69 ± 1.25	11.00 ± 1.21	16.38 ± 1.71	-	-
Dyslipidemia	41.69 ± 2.98	13.00 ± 1.97	15.23 ± 1.09**	12.31 ± 1.61	17.62 ± 2.09	-	-

IDL (1.019 g/ml)

Controls	79.18 ± 2.30	4.68 ± 0.51	4.75 ± 0.60	4.69 ± 0.82	6.54 ± 0.86	-	-
ALL survivors	57.81 ± 3.68***	9.96 ± 0.68***	8.35 ± 0.59***	8.15 ± 0.94*	15.81 ± 2.25**	-	-
No dyslipidemia	59.08 ± 4.41***	10.69 ± 0.92***	8.00 ± 0.88**	6.85 ± 1.08	15.31 ± 3.26	-	-
Dyslipidemia	56.54 ± 6.07***	9.23 ± 0.99***	8.69 ± 0.83***	9.46 ± 1.49*	16.31 ± 3.22**	-	-

LDL (1.063 g/ml)

Controls	65.77 ± 1.53	3.27 ± 0.21	4.32 ± 0.31	23.23 ± 1.64	3.55 ± 0.30	-	-
ALL survivors	68.73 ± 2.26	3.88 ± 0.36	4.50 ± 0.26	19.08 ± 2.13	3.89 ± 0.49	-	-
No dyslipidemia	67.69 ± 2.97	3.46 ± 0.51	4.23 ± 0.23	23.69 ± 2.79	2.85 ± 0.52	-	-
Dyslipidemia	71.62 ± 2.94*	4.31 ± 0.49	4.77 ± 0.47	14.46 ± 2.74**, ^b	4.92 ± 0.75 ^a	-	-

HDL3 (1.210 g/ml)

Controls	-	1.10 ± 0.07	1.58 ± 0.10	83.29 ± 0.81	4.67 ± 0.35	9.52 ± 0.82	10.10 ± 0.76
ALL survivors	-	1.26 ± 0.09	1.78 ± 0.09	83.04 ± 0.63	5.54 ± 0.43	8.58 ± 0.49	10.58 ± 0.63
No dyslipidemia	-	1.44 ± 0.14*	1.78 ± 0.16	83.15 ± 0.84	5.31 ± 0.63	8.39 ± 0.63	10.54 ± 0.77
Dyslipidemia	-	1.09 ± 0.09 ^a	1.79 ± 0.10	82.92 ± 0.96	5.77 ± 0.59	8.77 ± 0.78	10.62 ± 1.03

HDL2 (1.125 g/ml)

Controls	-	1.27 ± 0.14	3.33 ± 0.33	72.23 ± 0.97	13.09 ± 0.92	10.14 ± 0.85	7.31 ± 0.65
ALL survivors	-	0.89 ± 0.033**	3.85 ± 0.41	68.50 ± 1.11*	11.88 ± 0.74	14.54 ± 1.21*	5.59 ± 0.47**
No dyslipidemia	-	0.80 ± 0.04	2.64 ± 0.24	69.31 ± 1.76	10.46 ± 0.67	16.31 ± 1.88**	4.99 ± 0.63**
Dyslipidemia	-	0.97 ± 0.04 ^b	4.73 ± 0.59*, ^b	67.69 ± 1.40*	13.31 ± 1.22	12.77 ± 1.44	6.19 ± 0.67

Composition in Apos was assessed in VLDL, IDL, LDL, HDL₃ and HDL₂ of n = 26 acute lymphoblastic leukemia survivors and n = 22 gender- and age-matched controls. ALL survivors were stratified in two groups according to their dyslipidemia status as described in Materials and Methods (n = 13/group). Apo distribution was analysed using SDS-PAGE (4-20% gradient). ALL, acute lymphoblastic leukemia. Data are expressed as percentage of total Apo content ± SEM. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs. controls; ^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01 vs. ALL survivors without dyslipidemia.

Table 6. Distribution of apo A-I, A-II, C-II, C-III and apo C-III isoforms (C-III₁, C-III₂) in VLDL and HDL₂ of acute lymphoblastic leukemia survivors compared with age- and gender-matched controls using TMU gels.

Lipoprotein	Composition in apolipoproteins						Ratio
	A-I	A-II	C-II	C-III	C-III ₁	C-III ₂	C-II/CIII
<i>Percentage of total content</i>							
VLDL (1.006 g/ml)							
Controls	57.48 ± 7.36	12.89 ± 2.74	6.92 ± 1.24	22.40 ± 4.31	12.02 ± 2.30	10.42 ± 2.13	0.32 ± 0.04
ALL survivors	67.56 ± 7.47	3.66 ± 0.97*	7.80 ± 1.86	22.05 ± 4.94	13.81 ± 3.17	8.08 ± 1.88	0.35 ± 0.04
No dyslipidemia	78.95 ± 9.30	4.08 ± 1.78	5.24 ± 1.97	13.10 ± 5.84	7.54 ± 3.48	5.54 ± 2.53	0.39 ± 0.07
Dyslipidemia	56.18 ± 10.36	3.24 ± 0.93**	9.93 ± 2.84	29.52 ± 6.50	19.03 ± 4.11	10.20 ± 2.60	0.31 ± 0.04
HDL₂ (1.125 g/ml)							
Controls	78.97 ± 2.65	17.05 ± 2.34	0.67 ± 0.15	3.30 ± 0.62	1.97 ± 0.41	1.35 ± 0.30	0.20 ± 0.02
ALL survivors	76.13 ± 2.32	18.80 ± 2.12	1.08 ± 0.15	4.03 ± 0.47	2.40 ± 0.42	1.62 ± 0.18	0.32 ± 0.07
No dyslipidemia	80.02 ± 1.75	15.20 ± 1.77	1.00 ± 0.13	3.82 ± 0.35	2.02 ± 0.31	1.80 ± 0.22	0.25 ± 0.02
Dyslipidemia	72.23 ± 3.82	22.40 ± 3.39	1.15 ± 0.27	4.23 ± 0.91	2.78 ± 0.79	1.43 ± 0.28	0.38 ± 0.15

VLDL, IDL, LDL, HDL₃ and HDL₂ relative composition in Apos was characterized using polyacrylamide gels containing tetramethylurea in n=12 survivors of acute lymphoblastic leukemia and n = 6 gender- and age-matched controls. ALL survivors were stratified in two groups according to their dyslipidemia status as described in Materials and Methods (n = 6/group). ALL, acute lymphoblastic leukemia. Data are expressed as percentage of total Apo content ± SEM. *P<0.05, **P<0.01 vs. controls.

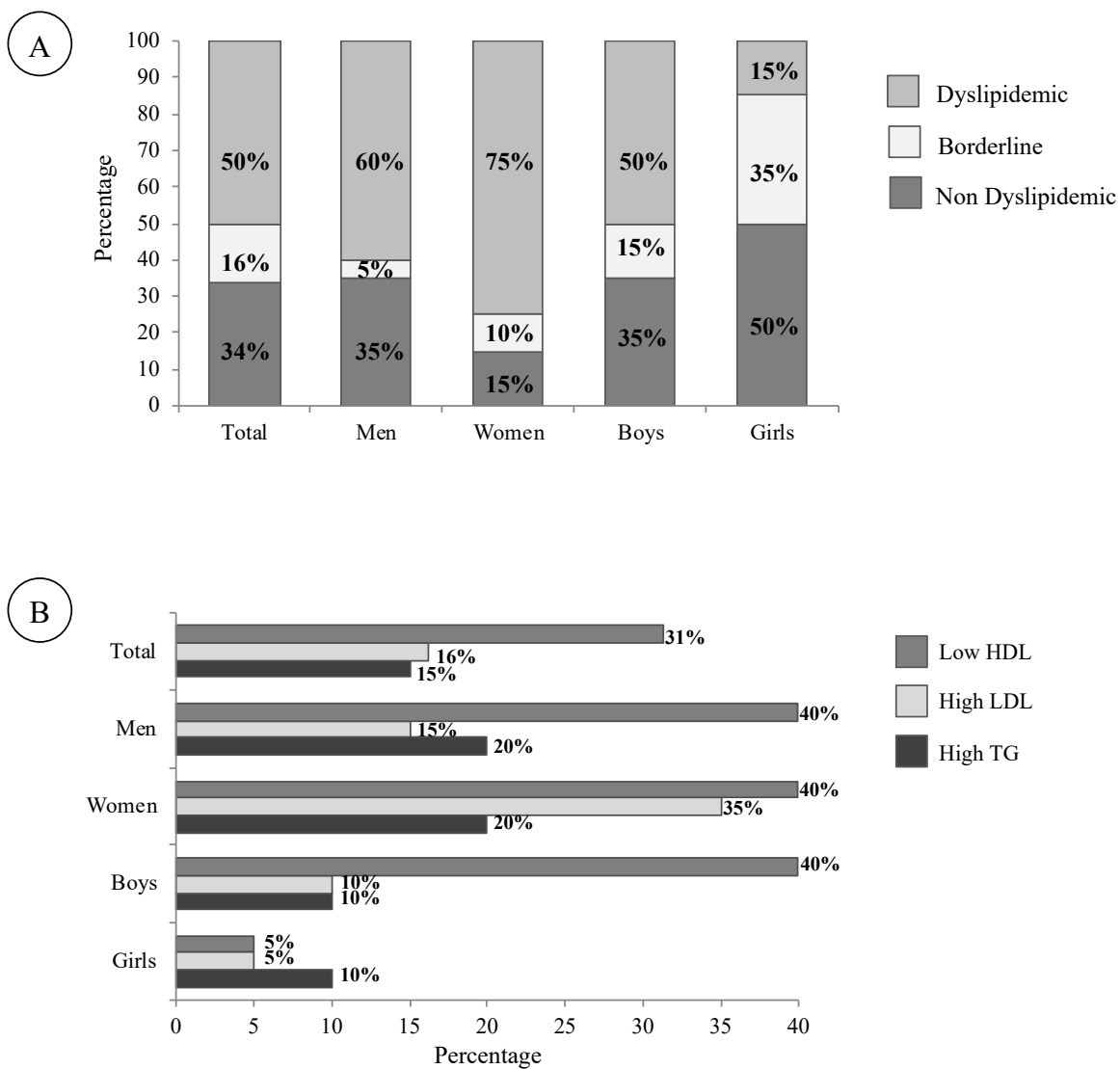


Figure 1. Prevalence of dyslipidemia in n = 80 survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. Data were analyzed in the entire cohort and stratified according to age (adults ≥ 18 years old and children < 18 years old) and gender (n = 20/group). Levels of LDL-C, triglycerides and HDL-C were used to classify subjects according to their lipid profile as described in Materials and Methods. Subjects with at least one abnormal lipid value were defined as dyslipidemic; those with at least one borderline lipid value were defined as borderline; and subjects without abnormal and/or borderline values were classified as non-dyslipidemic (A). The prevalence of high LDL-C, high triglycerides and low HDL-C was assessed in the entire group and in men, women, boys and girls (B). Data are expressed as a percentage. Prevalence of dyslipidemia in the control group is not represented due to the exclusion criteria described in Materials and Methods.

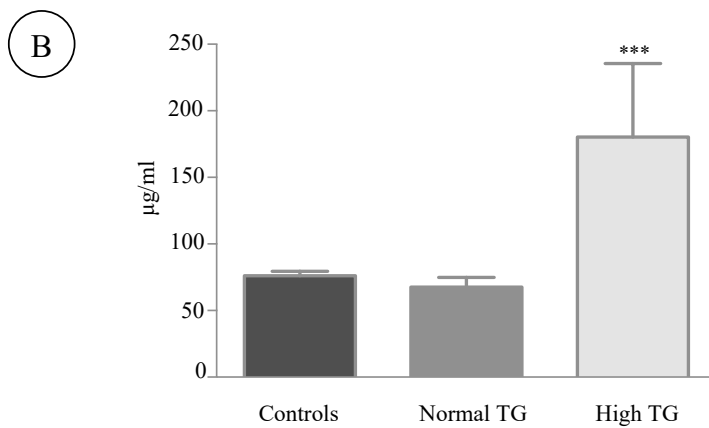
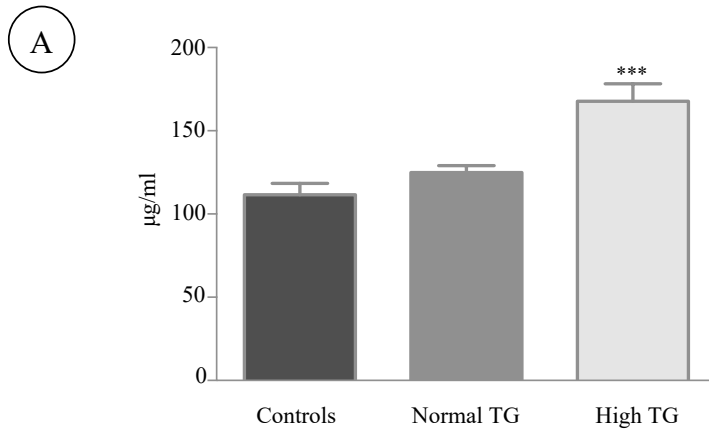


Figure 2. Plasma levels of apolipoproteins (C-II and C-III) in controls and in acute lymphoblastic leukemia survivors with and without hypertriglyceridemia. Concentrations of Apo C-II (A) and Apo C-III (B) were measured by commercial ELISA kits in n=22 healthy controls, n=67 in acute lymphoblastic leukemia survivors with normal triglycerides and n=13 in acute lymphoblastic leukemia survivors with high triglycerides. *** $P < 0.001$ vs. controls.

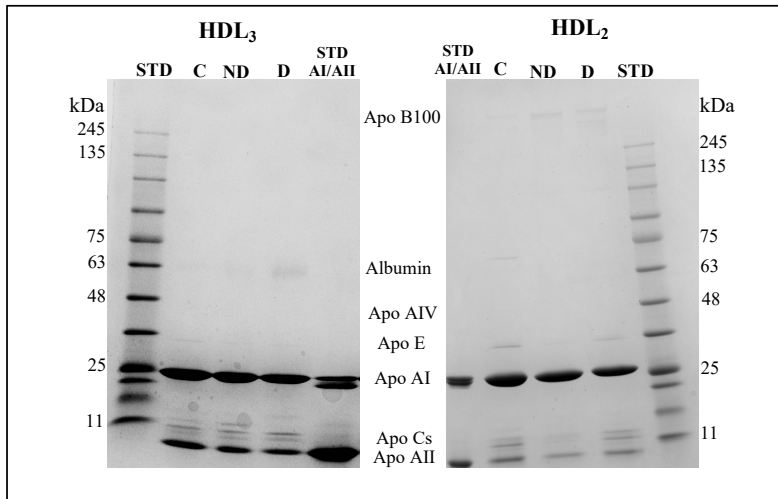
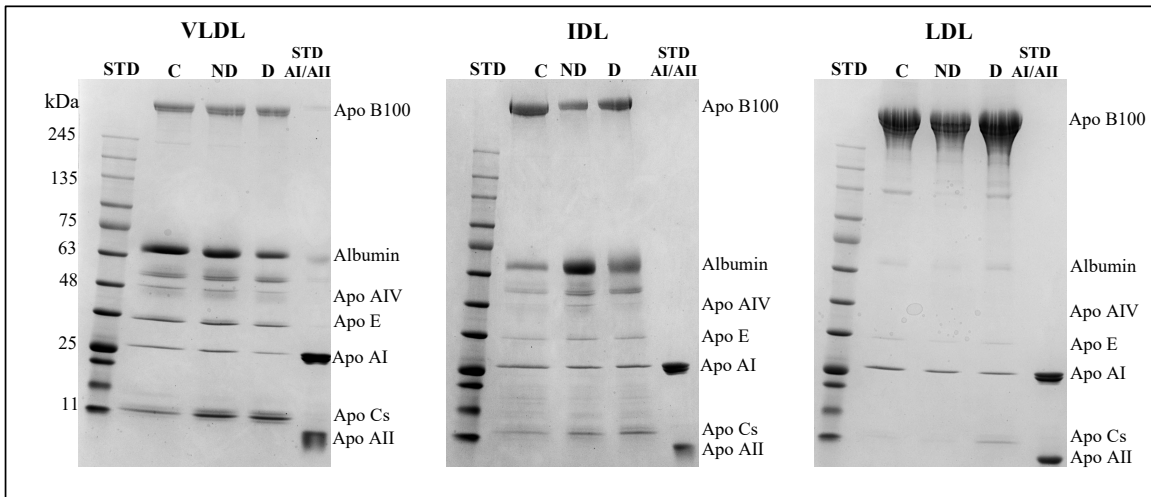
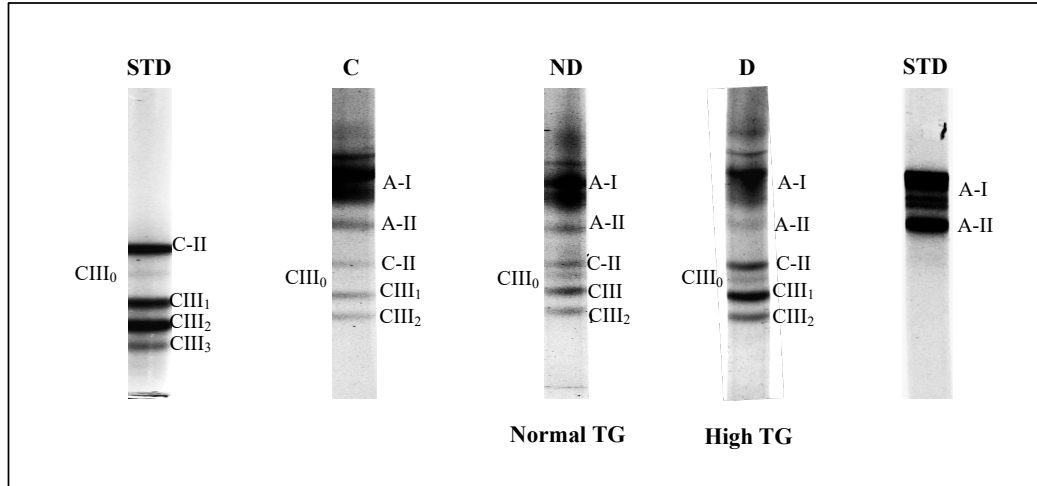


Figure 3. VLDL, LDL, IDL, HDL₃ and HDL₂ composition in apolipoproteins. Content of each lipoprotein fraction was examined in n = 22 controls and n=26 acute lymphoblastic leukemia survivors with or without dyslipidemia using gradient SDS-PAGE (4-20%). A molecular weight marker and Apo A-I and A-II standards were used to identify Apos. A representative blot is shown. STD: molecular weight marker standard; STD AI/AII: Apos A-I and A-II standard; C: controls; ND: non-dyslipidemic acute lymphoblastic leukemia survivors; D: dyslipidemic acute lymphoblastic leukemia survivors.

VLDL



HDL₂

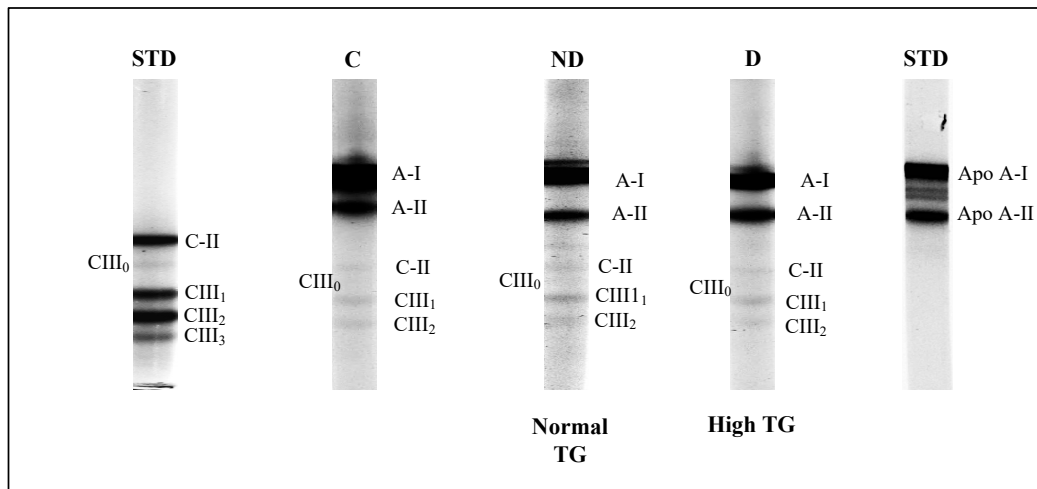


Figure 4. VLDL and HDL₂ composition in apolipoproteins (A-I, A-II, C-II, CIII₀, CIII₁, and CIII₂).

Lipoprotein composition was examined in n = 6 controls and n=12 acute lymphoblastic leukemia survivors with or without dyslipidemia using 12.5% polyacrylamide gels containing tetramethylurea. Human purified Apos C-II and C-III, purified A-I and A-II were used as standards to identify Apos. A representative blot is shown. STD: standard; C: controls; ND: non-dyslipidemic acute lymphoblastic leukemia survivors; D: dyslipidemic acute lymphoblastic leukemia survivors.

Supplemental Table S1. *APOE* rs7412 polymorphism in the cohort of acute lymphoblastic leukemia survivors and age- and gender-matched controls.

	ALL Survivors			Healthy Controls	
	<u>ε3/ε3</u> n=59	<u>ε2/ε3</u> n=15	<u>ε2/ε2</u> n=2	<u>ε3/ε3</u> n=16	<u>ε2/ε3</u> n=6
BMI (kg/m ²)	24.46 ± 0.73	25.15 ± 1.80	21.93 ± 3.27	22.64 ± 0.62	22.23 ± 0.94
TG (mmol/L)	0.96 ± 0.06	1.29 ± 0.21	1.72 ± 0.37*	0.95 ± 0.68	0.78 ± 0.08
LDL-C (mmol/L)	2.73 ± 0.07	2.31 ± 0.17*	1.74 ± 0.95	2.55 ± 0.12	2.00 ± 0.23 ^Δ
HDL-C (mmol/L)	1.26 ± 0.04	1.31 ± 0.08	1.42 ± 0.06	1.42 ± 0.07*	1.41 ± 0.10
VLDL weight ratio	1.09 ± 0.06	1.27 ± 0.12	1.26 ± 0.21	1.04 ± 0.09	0.88 ± 0.18

APOE gene was sequenced using the method described in the Materials and Methods section for n=76 ALL survivors and n=22 gender- and age-matched healthy controls. BMI, TG, LDL-C and HDL-C mean values were compared among *APOE* genotypes. Data are expressed as means ± SEM. **P* < 0.05 vs. ε3/ε3 ALL survivors; ^Δ*P* = 0.05 vs. ε3/ε3 healthy controls. ALL, acute lymphoblastic leukemia; BMI, body mass index; TG, triglycerides; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; VLDL, very-low density lipoprotein.

8.3 Article 3

Development and relative validation of a food frequency questionnaire for French-Canadian adolescent and young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia

Sophia Morel, Olivia Portolese, Yasmine Chertouk, Jade Leahy, Laurence Bertout, Caroline Laverdière, Maja Krajinovic, Daniel Sinnett, Emile Levy, Valérie Marcil.

Article publié dans la revue *Nutrition Journal* en avril 2018

Cet article répond aux objectifs spécifiques 2.1 et 2.2

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a élaboré le QFA, développé l'outil de calcul, administré le QFA aux participants, a participé à l'analyse du QFA, révisé les analyses, effectué les analyses statistiques, interprété et les résultats et rédigé le manuscrit.

Development and Relative Validation of a Food Frequency Questionnaire for French-Canadian Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia

Sophia Morel¹, Olivia Portolese¹, Yasmine Chertouk¹, Jade Leahy¹, Laurence Bertout², Caroline Laverdière², Maja Krajinovic², Daniel Sinnett², Emile Levy^{1,3} and Valérie Marcil^{1,3,*}

¹ Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Departments of Nutrition, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5; sophia.morel@umontreal.ca (S.M.); jade.leahy@umontreal.ca (J.L.); emile.levy@recherche-ste-justine.qc.ca (E.L.)

² Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Departments of Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5; laurence.bertout@recherche-ste-justine.qc.ca (L.B.); caroline.laverdiere@umontreal.ca (C.L.); maja.krajinovic@umontreal.ca (M.K.); daniel.sinnett@umontreal.ca (D.S.)

³ Functional Foods, Laval University, Quebec City, G1V 0A6, Quebec, Canada;

* Correspondence: valerie.marcil@umontreal.ca; Tel.: +1-514-345-4931 (3272)

Abstract

Background: Survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL) experience cardiometabolic and bone complications after treatments. This study aimed at developing and validating an interview-administrated food frequency questionnaire (FFQ) that will serve to estimate the impact of nutrition in the development of long-term sequela of French-Canadian cALL survivors.

Methods: The FFQ was developed to assess habitual diet, Mediterranean diet score, nutrients promoting bone health and antioxidants. It was validated using a 3-day food record (3-DFR) in 80 cALL survivors (50% male) aged between 11.4 and 40.1 years (median of 18.0 years). Reproducibility was evaluated by comparing FFQs from visit 1 and 2 in 29 cALL survivors.

Results: When compared to 3-DFR, the mean values for macro- and micronutrient intake were overestimated by our FFQ with the exception of lipid-related nutrients. Correlations between nutrient intakes derived from the FFQs and the 3-DFRs showed moderate to very good correlations (0.46-0.74). Intraclass correlation coefficients assessing FFQ reproducibility ranged from 0.62 to 0.92, indicating moderate to good reliability. Furthermore, classification into quartiles showed more than 75% of macro- and micronutrients derived from FFQs 1 and 2 were classified into the same or adjacent quartile.

Conclusions: Overall, our results support the reproducibility and accuracy of the developed FFQ to appropriately classify individuals according to their dietary intake. This validated tool will be valuable for future studies analyzing the impact of nutrition on cardiometabolic and bone complications in French-speaking populations.

Keywords: Dietary assessment, food frequency questionnaire, dietary intake, adolescent, young adults, Quebec.

Background

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) accounts for approximately one fourth of all childhood malignancies [1]. Fortunately, cure rates now exceed 80%, which allows a growing number of childhood survivors to live into adulthood [1]. However, survivors may face severe long-term sequelae years after the end of treatments [2, 3]. In particular, studies on childhood ALL (cALL) survivors have reported a high prevalence of the typical components of the metabolic syndrome (MetS), namely obesity [4], hypertension [5], glucose intolerance [6] and dyslipidemia [7]. Furthermore, cALL treatments can affect bone growth and development leading to musculoskeletal morbidities that can compromise bone health [8]. Inadequate nutrition has been associated with an increased risk of developing long-term sequelae in cALL survivors [9-11], while the inclusion of specific nutrients or dietary patterns was found protective [10, 11]. Key nutrients for bone health include proteins, calcium and vitamin D [12]. In addition to their anti-inflammatory actions [13, 14], antioxidants (polyphenols, vitamins and minerals: e.g. vitamins A, C, E and selenium) mainly found in plant foods and whole grains can improve blood pressure and lipid profile [14-16]. Food scores have been developed to evaluate the adherence to Mediterranean diet and are mainly used in nutritional epidemiologic studies [17]. This diet is characterized by high intake of fruits, vegetables, legumes, fish, whole grains, nuts, and olive oil along with moderate consumption of dairy products and wine, as well as low intake of red and processed meats and foods that contain high amounts of added sugars [18]. The cardioprotective properties of a Mediterranean dietary pattern have been widely reviewed [18-20].

Food frequency questionnaires (FFQs) and food records are tools that can be used to estimate individual food intake. Both tools have limitations and are subjected to measurement error and bias. Quantifying precise food intakes with FFQs require challenging respondents with complex and difficult cognitive tasks (e.g., recall and abstraction/estimation of averages over time) [21]. Also, because FFQs are limited by food list content, they need to be adapted to the study objectives and specific populations. On the other hand, self-reported food records might be incomplete or lack details regarding quantities or types of foods consumed. A participant may modify his diet to simplify the task or may report what is, in his perspective, an ideal diet. Poor recall rates can also be problematic. Interviewed-administrated FFQs ensure participant's

response but are time-consuming for both the participant and the interviewer. The interviewer can also assist the participant with the task of quantifying intakes. FFQs are common tools to estimate usual food intake and are used in epidemiologic studies to investigate associations between diet and diseases [22].

Currently, there is a great need for a reliable tool to assess the impact of dietary habits in cALL survivors. Therefore, the aim of this work is to develop and validate an interview-administrated FFQ in a population of French-Canadian cALL survivors from the Province of Quebec that assesses habitual diet, Mediterranean diet score, bone health-promoting nutrients, and antioxidants.

Methods

Study Design

The study design includes 3 phases (Figure 1): the first consists in the 5-step development of the FFQ; the second reflects the validation of the questionnaire in a cohort of 80 participants; and the third tests the reproducibility of the tool by comparing FFQs collected in 2 different visits.

Study Population

Participants enrolled in this study were recruited between January 2013 and December 2016 as part of the PETALE program at Sainte-Justine University Health Center in Montreal [8]. The PETALE study allowed the evaluation of long-term sequelae of cALL survivors, namely cardiotoxicity, cardiometabolic complications, neurocognitive problems, bone morbidity and quality of life issues [8]. Participants were recruited from European-descent cALL survivors living in the Province of Quebec. The PETALE study comprised of two phases. All participants were met in Phase 1 (n=247). Participants identified with extreme phenotypes at Phase 1 (those with best and worst outcomes relative to long-term sequelae) were contacted for additional studies (Phase 2, n=100). Visits of Phases 1 and 2 were, on average, one year (± 21 weeks) apart. In both phases, the FFQ was administrated to participants on the visit day by registered nutritionists (2 interviewers), and

a 3-day food record (3-DFR) was handed out to complete at home. For validation of the FFQ, we included participants who fully completed and returned their 3-DFR. If the 3-DFR was incomplete (e.g., missing day or unspecified quantity of food), the participant was excluded from the validation step. A total of 80 FFQs and the associated 3-DFRs were selected in phase 1 or phase 2 for the validation, n=40 for each FFQ interviewer (10 men, 10 boys, 10 women and 10 girls). For assessing FFQ reproducibility, 29 participants who took part in the two phases of the study (visits 1 and 2) and who were interviewed by both nutritionists were selected. The Institutional Review Board of Sainte-Justine University Health Center approved the study and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants and/or parents/guardians.

Development of the Food Frequency Questionnaire

The FFQ was derived from 3 validated and published questionnaires. The first one was developed by Goulet et al., was structured to reflect French-Canadians' dietary habits and was validated among healthy women aged between 30 and 65 years [21]. The second FFQ was developed by Pritchard et al. and targeted nutrients affecting bone health. It was validated in postmenopausal women aged 70.3 ± 4.7 years and mainly Caucasian [23]. The third FFQ was an antioxidant nutrient questionnaire published by Satia et al. in which food items were selected based on the most commonly consumed antioxidant-rich foods. The mean age of participants was 31.9 years, 51% were African American, 52% were female and all were free of chronic disease [24]. The final result consisted of an interviewer-administered FFQ, which comprised 190 items with at least 106 having sub-questions to more accurately describe the nature of the food consumed. The developed FFQ was pre-tested in 35 participants and the tool was then modified accordingly, after addressing issues relating to content and comprehension.

Administration of the Food Frequency Questionnaire

Two registered nutritionists alternately administered the FFQ to participants using measuring cups to facilitate portion size estimation. Importantly, a portion size was specified for each food item. The standard portion size was adjustable by using fractions in the frequency column. An extra column was also available to indicate any other unit of measurement. Quantities were

converted when the FFQ was analyzed. Participants were surveyed regarding the frequency each item was consumed during the past two months on a daily, weekly or monthly basis. Supplementary open- and closed-ended questions were added to support and complete participants' reported food intake by addressing usual foods that might have been forgotten, recent modifications in eating habits, weekly frequency of the main food groups, as well as use, dosage and frequency of dietary supplements.

3-Day Food Record

At each visit (Phases 1 and 2), instructions were given to participants to complete a 3-DFR at home in the following weeks. Participants were asked to report their food and beverage intake for one day over the weekend and 2 days of the week. They were encouraged to choose days that reflected their usual diet and to not restrict their food intake. Emphasis was placed on providing comprehensive information relative to the portion size. While food did not have to be weighed, participants were encouraged to use measuring cups and spoons to estimate portions. A section for dietary supplements gathered information on dosage, frequency and brand.

Nutrient Calculation Tools

Food frequency questionnaire

To evaluate nutrient intakes derived from the FFQs, a nutrient calculation tool was built in-house using Microsoft® Excel® 2011. Nutrient values were obtained from the 2010 Canadian Nutrient File (CNF) that includes about 5500 food items commonly consumed in Canada [25]. If a food item was not found in the CNF, we used the United States Department of Agriculture National Nutrient Database for Standard Reference release 25, the major source of food composition data in the United States [26]. When necessary, we contacted companies to obtain nutrient values of their product. Energy and nutrient intakes were compiled, particularly proteins, carbohydrates (CHO), lipids, saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA), cholesterol, dietary fiber, alcohol, calcium, iron, folate, and vitamins A, C, D and E.

3-day food record

The 3-DFRs were analysed with the application Nutrific® developed by the Department of Food Science and Nutrition, Université Laval (www.nutrific.fsaa.ulaval.ca). Nutrient values from this application are derived from the 2010 CNF and, when a specific food item was not available, its nutrient value was added to the database.

Mediterranean Diet Score

Using the FFQ, we calculated a Mediterranean diet score based on a validated short questionnaire developed by Martinez-Gonzalez et al. [27]. The questionnaire is composed of nine food groups and assesses the consumption of cardioprotective elements included in the Mediterranean diet. We calculated the Mediterranean diet score using the FFQ by regrouping each food item corresponding to each category (Table 1).

Statistical analysis

Relative validity

Medians and interquartile ranges were calculated for energy and nutrient intakes for the FFQ and the 3-DFR. Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both tools, as the data were not normally distributed. We used Spearman correlations to assess the relationships for energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes. The residual method proposed by Willett et al. was used to calculate the energy-adjusted variables [28]. With this method, the nutrient intakes of each individual are regressed on their total energy intakes. The residual from the regression represent the differences between each individual's actual intake and the intake predicted by their total energy intake [28]. The following classification was utilized to interpret correlation coefficients: very well correlated (coefficient 0.7 to 0.9), well correlated (coefficient 0.5 to 0.7) [29] and moderately well correlated (coefficient 0.3 to 0.5). This classification was also used to interpret the correlation coefficients in one of the FFQ that was used to develop our questionnaire [21]. Bland Altman Plots were used to assess agreement between the two tools for intakes of energy, macronutrients and micronutrients (vitamins A, C, E and D, and calcium). The limits of agreements were calculated by using the mean and the standard deviation (SD) of the differences between the two measurements (mean difference \pm 1.96 * SD)

[12, 30-32]. Through a graph representation, the differences of the two-paired measurements were plotted against the mean of the two measurements [32].

Cross-classification analyses were completed to validate agreement between the two tools in terms of proportions of participants' energy and nutrient intakes, classified into the same or contiguous quartiles (same \pm 1 quartile) or in opposite quartile (misclassified). Crude values of nutrient intakes were used for these analyses. Cohen's quadratic weighted kappa values were calculated. To interpret the kappa values, we used the arbitrary cut-off points proposed by Flight et al. and Landis and Koch [33, 34]: less than 0.20 indicated poor agreement, 0.21-0.40 fair agreement, 0.41-0.60 moderate agreement, 0.61-0.80 good agreement, and 0.81-1.00 very good agreement.

Reproducibility

Medians and interquartile ranges were calculated for energy and nutrient intakes for the FFQs at visits 1 and 2. Wilcoxon signed-rank tests were also used to compare values obtained from both visits. To measure the FFQ reproducibility, we calculated intraclass correlation coefficients between crude values obtained at visits 1 and 2 using the two-way mixed model and computed the absolute agreement type [35]. The energy-adjusted values were not used to calculate intraclass correlation coefficients due to the small sample size (n=29). Any modification in the composition of diet would greatly impact the residual values (energy-adjusted nutrient intakes) and the correlation coefficients accordingly. Data on nutrient intake were log-transformed because they were not normally distributed. To assess the quality of reliability, we used the scale suggested by Koo et al. for intraclass correlation coefficients: less than 0.5 indicated poor reliability, 0.5 to 0.75 moderate, 0.75 to 0.9 good, and greater than 0.90 excellent reliability [35].

Intakes of energy, proteins, CHO, lipids, calcium, vitamins A, C, D, E and Mediterranean diet score derived from the FFQs at visits 1 and 2 were also classified into quartiles and cross-classification analyses were completed to validate agreement between the two FFQs. Crude values not adjusted for energy intake were used. Cohen's quadratic weighted kappa values were also calculated to measure the agreement between the two FFQs.

Statistical analyses were performed with IBM SPSS Statistics Version 24, and the extension bundle Stats weighted kappa.spe for SPSS was used.

Results

Descriptive characteristics of participants are summarized in Table 2. Each registered nutritionist interviewed 40 participants. All participants were Caucasian and French-speaking.

Relative validity

The response rate obtained was 75% and 45% for the 3-DFR in Phases 1 and 2, respectively. Therefore, on a total of 100 participants who were invited to both phases, 39 completed and handed two 3-DFRs. We evaluated the time difference between the administration of the FFQ and the completion of the 3-DFR. We found that 66 of 80 participants (82.5%) filled out the 3-DFR within a month following the administration of the FFQ. 4 of 80 participants (5%) completed the food record after 1.5 months to 3.5 months and 10 of 80 (12.5%) did not inscribe the date.

The median values of daily energy and nutrient intakes derived from the FFQ and the 3-DFR are reported in Table 3. Two of 3 macronutrients derived from the FFQ showed higher values compared to the 3-DFR (proteins +12.7% and CHO +20.0%), resulting in higher reported energy intake (+12.1%). Reported intakes of dietary fiber and micronutrients (vitamins A, C, E and D, calcium, iron and folate) were also higher with the FFQ, differences ranging between +16.0% (iron) and +52.6% (vitamin C). Similar trends were observed when children and adults were analyzed separately (Supplementary Tables 1 and 2). The variability of differences between the FFQ and the 3-DFR are illustrated in the Bland Altman plots (Figure 2) for the intakes in energy, CHO, proteins, lipids, calcium and vitamins D, C, A and E.

Spearman correlations between nutrient intakes derived from the FFQs and the 3-DFRs are shown in Table 3. Crude analyses revealed very good correlations for lipids and good correlations for proteins, SFA, MUFA, PUFA, alcohol, vitamins C, D and E, and calcium. CHO, cholesterol, dietary fiber, vitamin A, iron and folate were moderately well correlated. After adjustment for energy intake, the quality of correlations remained unchanged for vitamins A C, D and E, calcium, iron and folate. A slight reduction in the coefficient for proteins and CHO adjusted for energy was

observed. Adjusting for energy decreased the coefficients for all lipids: total lipids (0.28 vs. 0.74), SFA (0.33 vs. 0.69), MUFA (0.25 vs. 0.61), PUFA (0.33 vs. 0.58) and cholesterol (0.24 vs. 0.46). No major differences in correlation coefficients were noticeable when children and adults were analysed separately (Supplementary Tables 1 and 2). However, when the analyses were performed separately for males and females, the correlation coefficients followed the same trend with the exception of the female children group (girls) in which coefficient correlations were lower. The nutrients for which we found lower coefficients in female group were energy, proteins, CHO, cholesterol, vitamin C and iron, coefficients ranging between 0.07 (cholesterol) and 0.48 (energy intake) (Supplementary Tables 3, 4, 5, 6, 7 and 8).

Bland-Altman plots show that the FFQ overestimated energy intake by an average of 251 kcal/day, CHO intake by 51 g/day and protein intake by 11 g/day (Figure 2). Micronutrients were also overestimated by the FFQ (vitamin A: 231 µg, vitamin C: 72 mg, vitamin E: 2.5 mg, vitamin D: 47 IU and calcium: 248 mg) (Figure 2). More than 93% of the points fell within the limits of agreement for energy intake, CHO, proteins, lipids, vitamin A, C, E and D, and calcium.

Over 82% of participants' energy intake, macronutrients- and lipid-related nutrients derived from FFQ and 3-DFR were classified into the same or adjacent quartile (Table 4). Weighted kappa values were above 0.41 for all nutrients indicating moderate to good agreement with the exception of iron (0.37, fair agreement).

Intraclass correlations assessing FFQ reproducibility between visits 1 and 2 are shown in Table 5. Coefficients for macronutrients ranged between 0.76 (lipids) and 0.81 (CHO), indicating good reliability, which translated into a 0.84 coefficient for energy intake demonstrating good reliability. For micronutrients, intraclass correlation coefficients ranged from 0.68 (vitamin A) to 0.88 (vitamin D) with the indication of moderate to good reliability. Coefficients were found lower for three nutrients: MUFA (0.62), PUFA (0.56) and dietary fiber (0.63), but still indicating moderate reliability. Classification into quartiles showed that more than 75% of macro- and micronutrients derived from FFQs visit 1 and visit 2 were classified into the same or adjacent quartile (Table 6). Notably, 86% of Mediterranean diet scores were classified into the same or adjacent quartile. Weighted kappa values varied from 0.52 (lipid) to 0.66 (CHO) for energy intake

and macronutrients and from 0.46 (vitamin C) to 0.66 (vitamin D) for micronutrients, indicating moderate to good agreement for both groups. Weighted kappa value coefficient for the Mediterranean score was 0.68 indicating good agreement. No statistical differences were found between the mean values of daily energy and nutrient intakes derived from the FFQs from both visits. The variability between FFQs visit 1 and 2 of the differences for energy, CHO, protein and lipids are shown in Bland Altman plots (Supplementary Figure 1).

Discussion

We have developed and relatively validated an interview-administrated FFQ specific for the cALL survivors from the Province of Quebec, Canada to assess habitual diet, Mediterranean score and nutrients promoting bone health and antioxidant defense.

We found good correlation coefficients between our FFQ and the 3-DFR for most of the nutrients. As previously stated, correlation coefficients are generally higher for interviewer-administered than for self-administered FFQs [36, 37]. The precise and comprehensive food list of our questionnaire and its adaptation to the population's dietary habits contributed to its good accuracy. Also, to limit bias based on seasonal variations of diets [38], our FFQ interrogated food consumption in the past two months.

Energy adjusted nutrient intakes were calculated for both tools to reduce the confounding impact of the total energy intake on specific nutrients. We found that, for CHO, proteins and micronutrients, correlations were slightly impacted by total energy intake, while lipids and lipid-related nutrient correlation coefficients were significantly decreased. The reduction of the correlation coefficient of the energy intake adjusted lipids reflects the variation in lipid consumption independently of total energy intake between the 3-DFR and the FFQ. Thereby, the contribution of lipids to total energy intake was lower in the FFQ compared to the 3-DFR. The correlation coefficients found between energy-adjusted nutrients derived from FFQs and 3-DFRs were similar to those reported in a literature review (range between 0.4 and 0.7) [39], with the exception of lipids and lipid-related nutrients for which coefficients were lower in our study.

Compared to 3-DFR, mean values for macro- and micronutrient intakes were overestimated by our FFQ with the exception of lipid-related nutrients. The differences were lower than 20% for all

macronutrients. These results concur with many FFQ validation studies that have reported overestimations for energy and nutrient intakes compared to food records or 24-hour recalls [30, 31, 40-48]. Still, other groups reported underestimation of energy and nutrient intakes [21, 37, 49, 50]. To our knowledge, only one other study aimed to validate a FFQ specifically for childhood cancer survivors [49]. Conversely to our findings, their FFQ revealed substantial underreporting of dietary intakes compared to repeated 24-hour diet recalls. However, this comparison is flawed by the study smaller sample size (only 16 participants aged between 5 and 22 years), the different populations (Americans versus French Canadians) and inclusion criteria as well as the use of 24-hour diet recalls as a reference tool [49].

We found larger differences between the FFQs and the 3-DFRs in micronutrients than in macronutrients, the latter being found in a wider range of food. Hence, if foods containing specific micronutrients were not consumed during the days covered by the 3-DFR, this will likely result in a poor correlation with the FFQ. Moreover, the detailed list of fruits and vegetables in the FFQ could explain the observed overestimations for vitamin A, vitamin C and dietary fiber. Of note, in the Province of Quebec, seasons have a considerable impact on the availability, variety and financial accessibility of several fruits and vegetables. Thereby, any delay in completing the 3-DFR could have impacted the reported consumption of fruits/vegetables and the above-mentioned nutrients. However, in our study, most of the 3-DFR were filled out and returned within a month following the completion of the FFQ. Consequently, seasons probably did not impact the observed differences in micronutrients.

For our analyses, we used correlations in conjunction with the Bland-Altman method. While correlations quantify the degree to which two variables are related at an individual level [51], a high correlation does not automatically imply that there is good agreement between the two methods [32]. Bland-Altman plot is a method to assess the agreement between two quantitative measurements by constructing limits of agreement [32]. The plot illustrates the differences between the tools against the mean of the two tools. The closer the mean of differences is to zero and the narrower agreement interval is, the better the agreement between the two tools [32]. We consider the agreement interval, represented by the limits of agreement for energy intake and for macronutrients, sufficiently narrow to support the use of the FFQ. These agreement

intervals were similar to those reported in an Italian study comparing a medium length FFQ (36 items) to 3-DFR [37].

It must be emphasised that one of the difficulties met by the interviewers was to obtain from the participants the diversity and quantity of oil and fat intakes in their diet. Furthermore, participants had a tendency to not report oil and fats used in homemade cooked meals in the 3-DFR. Consequently, it is difficult to determine whether our FFQ over- or underestimated lipid intakes and/or to what level they were underestimated by the participants in the 3-DFR, a limit that has been met in another FFQ validation study [21]. This might explain the equal plot distribution of differences in lipid intakes around the mean of differences (close to zero) between FFQ and 3-DFR shown in the Bland Altman plot. However, the low percentage of subjects misclassified in quartile for lipid-related nutrients (SFA, MUFA, PUFA and cholesterol) and the good agreement assessed by weighted kappa values support the use of the FFQ to rank lipid intakes inside a group.

As stated by Willet & Lenart, reproducibility refers to consistency of questionnaire measurements on more than one administration to the same person at different times, considering that conditions are never identical on repeated administration [29]. Intraclass correlation application assess consistency or reproducibility of measurements and coefficient reflects both degree of correlation and agreement between measurements [35]. While a minimum of 3 raters and a sample size of 30 have been suggested for reliability studies [35], the intraclass correlation coefficients obtained in our analyses were found moderate to good despite having two interviewers and a sample of 29 individuals. As stated by Cade et al, correlation coefficients of 0.5 to 0.7 between two administrations of an FFQ are common [36]. Our results surpassed 0.7 in most of the nutrients tested even though one year on average separated the administration of the two FFQs. It has been shown that repeating FFQ administration within 1 month leads to higher correlation coefficients than repeated administrations further apart [36]. In a Finnish study, reproducibility analysis of a 110-item FFQ tested as part as a breast cancer study led to intraclass correlation coefficients between 0.49 and 0.73 [52]. Similar results were found in a 112-item FFQ tested among Lebanese children (0.31 to 0.73) [30]. Furthermore, using quartile classification, we found that the percentage of participants misclassified was below 15% for most nutrients (with the exception of lipids and vitamins A and E) and for Mediterranean score. Further, the weighted

kappa values showed moderate to good agreement for all nutrients and Mediterranean score. These results are comparable to a Lebanese study performed in children, although they have reported higher percentage of agreement in quartile classification [30].

Limits were identified to ensure proper usage of the validated FFQ and to avoid misleading conclusions. Accordingly, our FFQ should be utilized to rank individuals as per nutrient intakes rather than to assess their absolute values. It is recognized that the 3-DFR is not a perfect tool to measure dietary intake [53], but there is no gold standard to validate FFQs [53]. One of the constraints of our study was that, to facilitate the analyses, we used two different calculation tools to evaluate nutrient intakes derived from the questionnaire and the food records. However, both tools were developed for a French-Canadian population using nutrient values derived from the 2010 Canadian Nutrient File. Another limitation was that teenagers constituted half the sample used for the FFQ validation. In general, the FFQ was administered to the adolescent with the help of the accompanying parent. When the precise information was difficult to obtain from the adolescent, parents were often able to complete the missing data for main meals. However, parents were not necessarily aware of what was eaten by their children outside the house or as snacks, which constitutes a possible source of imprecision. As stated previously, frequency and quantity of lipid intakes were difficult to capture using the FFQ, which could potentially under- or overestimate them. In addition, we observed that girls had a tendency to underestimate their intakes in the 3-DFR or/and to overestimate them in the FFQ. It has been previously shown in the literature that girls and women have a tendency to restrict their diet when using food records [54]. This limit has to be considered when analyzing data obtained in female participants.

The efforts invested to tailor the FFQ to our targeted population and the complementary nature of analyses completed to ensure the validity and reproducibility of the FFQ represent the main strengths of our study [51]. Few FFQs related to the Mediterranean diet and adapted to French-Canadian [21, 55] and European [56, 57] populations have been published in recent years. Other FFQs have targeted only the specific properties of food (e.g. antioxidant-rich foods) for North American [24, 58], European [13, 59] and Asian [60] populations. Also, while FFQs validated for populations at risk of cardiometabolic diseases were mostly developed in adult populations [24, 55, 57, 59], our FFQ was adapted to adolescents and young adults.

Conclusion

In conclusion, our results support the reproducibility and accuracy of the developed FFQ to correctly rank individuals according to their dietary intake. The validated FFQ represents a valuable tool for future studies measuring the impact of nutrition in the development of long-term cardiometabolic and bone complications in cALL survivors from the Province of Quebec. This FFQ could further be adapted and validated for other adolescent and young adult French-speaking populations at risk of developing chronic diseases.

List of abbreviations

cALL: childhood acute lymphoblastic leukemia; FFQ: food frequency questionnaire; 3-DFR: 3-day food record; ALL: Acute lymphoblastic leukemia; MetS: metabolic syndrome; CNF: Canadian Nutrient File; CHO: carbohydrates; SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The Institutional Review Board of Sainte-Justine University Health Center approved the study and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants and/or parents/guardians.

Consent for publication

Not applicable

Availability of data and material

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests

Funding

This work was supported by the Institute of Cancer Research (ICR) of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society (CCS), Cancer Research Society (CRS), Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research (OICR) and Pediatric Oncology Group of Ontario (POGO) (grant number: TCF 118694), by the J.A. DeSeve Research Chair in Nutrition, the Fonds de Recherche du Québec en Santé and by a Transition Grant from the Cole Foundation.

Authors' contributions

C.L., M.K., D.S., E.L. and V.M conceived the experiments and designed the study, S.M., L.B., C.L., and V.M. acquired the data, S.M., O.P., Y.C., J.L., E.L. and V.M. analyzed and interpreted the data. S.M., E.L. and V.M drafted the article. All authors revised the manuscript and approved the final version.

Additional file 1: Supplementary Tables Nutrition Journal.docx

Supplementary Table 1: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in adults,
Supplementary Table 2: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in adolescents,
Supplementary Table 3: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in males,
Supplementary Table 4: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in females,
Supplementary Table 5: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in boys,
Supplementary Table 6: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in men,
Supplementary Table 7: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in girls,

Supplementary Table 8: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in women, Supplementary Table 9: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient mean daily intake and correlation coefficients, Supplementary Table 10: Food frequency questionnaires at visits 1 and 2: comparison of nutrient mean daily intake and intraclass correlation coefficients.

Additional file 2: Supplementary Figure Nutrition Journal.ppt

Supplementary Figure 1: Bland-Altman plots showing agreement between the average FFQ at visit 1 and 2 for (a) carbohydrates, (b) proteins, (c) lipids, (d) energy intake, (e) vitamin D and (f) calcium (g) vitamin A, (h) vitamin C, (i) vitamin E. A mean of 0 indicates that the 2 tools are in perfect agreement. LOA, limit of agreement; IU, international unit.

Additional file 3: STROBE-nut_checklist.docx

STROBE-nut: An extension of the STROBE statement for nutritional epidemiology: Checklist STROBE-nut completed with page references of each applicable sections.

References

1. Pui C-H, Mullighan CG, Evans WE, Relling MV: **Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there?** *Blood* 2012, **120**:1165-1174.
2. Essig S, Li Q, Chen Y, Hitzler J, Leisenring W, Greenberg M, Sklar C, Hudson MM, Armstrong GT, Krull KR, et al: **Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort.** *Lancet Oncol* 2014, **15**:841-851.
3. Mody R, Li S, Dover DC, Sallan S, Leisenring W, Oeffinger KC, Yasui Y, Robison LL, Neglia JP: **Twenty five year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study.** *Blood* 2008.
4. Janiszewski PM, Oeffinger KC, Church TS, Dunn AL, Eshelman DA, Victor RG, Brooks S, Turoff AJ, Sinclair E, Murray JC, et al: **Abdominal obesity, liver fat, and muscle**

- composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007, **92**:3816-3821.**
5. Chow EJ, Pihoker C, Hunt K, Wilkinson K, Friedman DL: **Obesity and hypertension among children after treatment for acute lymphoblastic leukemia.** *Cancer* 2007, **110**:2313-2320.
 6. Neville KA, Cohn RJ, Steinbeck KS, Johnston K, Walker JL: **Hyperinsulinemia, impaired glucose tolerance, and diabetes mellitus in survivors of childhood cancer: prevalence and risk factors.** *J Clin Endocrinol Metab* 2006, **91**:4401-4407.
 7. Malhotra J, Tonorezos ES, Rozenberg M, Vega GL, Sklar CA, Chou J, Moskowitz CS, Eshelman-Kent DA, Janiszewski P, Ross R, Oeffinger KC: **Atherogenic low density lipoprotein phenotype in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia.** *J Lipid Res* 2012, **53**:2747-2754.
 8. Marcoux S, Drouin S, Laverdiere C, Alos N, Andelfinger GU, Bertout L, Curnier D, Friedrich MG, Kritikou EA, Lefebvre G, et al: **The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors.** *Pediatr Blood Cancer* 2016.
 9. Robien K, Ness KK, Klesges LM, Baker KS, Gurney JG: **Poor adherence to dietary guidelines among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia.** *Journal of pediatric hematology/oncology* 2008, **30**:815.
 10. Tonorezos ES, Robien K, Eshelman-Kent D, Moskowitz CS, Church TS, Ross R, Oeffinger KC: **Contribution of diet and physical activity to metabolic parameters among survivors of childhood leukemia.** *Cancer Causes Control* 2013, **24**:313-321.
 11. Landy DC, Lipsitz SR, Kurtz JM, Hinkle AS, Constine LS, Adams MJ, Lipshultz SE, Miller TL: **Dietary quality, caloric intake, and adiposity of childhood cancer survivors and their siblings: an analysis from the cardiac risk factors in childhood cancer survivors study.** *Nutr Cancer* 2013, **65**:547-555.
 12. Perreault MRM, Xu VYB, Hamilton SRB, Wright DRM, Foster WP, Atkinson SAP: **Validation of a Food Frequency Questionnaire for Bone Nutrients in Pregnant Women.** *Can J Diet Pract Res* 2016, **77**:133-139.

13. Tovar J, Johansson M, Björck I: **A multifunctional diet improves cardiometabolic-related biomarkers independently of weight changes: an 8-week randomized controlled intervention in healthy overweight and obese subjects.** *European journal of nutrition* 2016, **55**:2295-2306.
14. Valtueña S, Pellegrini N, Franzini L, Bianchi MA, Ardigò D, Del Rio D, Piatti P, Scazzina F, Zavaroni I, Brighenti F: **Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress.** *The American journal of clinical nutrition* 2008, **87**:1290-1297.
15. Kaliora AC, Dedoussis GV: **Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD.** *Pharmacol Res* 2007, **56**:99-109.
16. Erlund I, Koli R, Alfthan G, Marniemi J, Puukka P, Mustonen P, Mattila P, Jula A: **Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol.** *The American journal of clinical nutrition* 2008, **87**:323-331.
17. Bach A, Serra-Majem L, Carrasco JL, Roman B, Ngo J, Bertomeu I, Obrador B: **The use of indexes evaluating the adherence to the Mediterranean diet in epidemiological studies: a review.** *Public health nutrition* 2006, **9**:132.
18. Salas-Salvado J, Guasch-Ferre M, Lee CH, Estruch R, Clish CB, Ros E: **Protective Effects of the Mediterranean Diet on Type 2 Diabetes and Metabolic Syndrome.** *J Nutr* 2016.
19. Dontas AS, Zerefos NS, Panagiotakos DB, Valis DA: **Mediterranean diet and prevention of coronary heart disease in the elderly.** *Clinical interventions in aging* 2007, **2**:109.
20. Jacobs DR, Jr., Tapsell LC: **What an anticardiovascular diet should be in 2015.** *Curr Opin Lipidol* 2015, **26**:270-275.
21. Goulet J, Nadeau G, Lapointe A, Lamarche B, Lemieux S: **Validity and reproducibility of an interviewer-administered food frequency questionnaire for healthy French-Canadian men and women.** *Nutr J* 2004, **3**:13.

22. Molag ML, de Vries JH, Ocké MC, Dagnelie PC, van den Brandt PA, Jansen MC, van Staveren WA, van't Veer P: **Design characteristics of food frequency questionnaires in relation to their validity.** *American journal of epidemiology* 2007, **166**:1468-1478.
23. Pritchard JM, Seechurn T, Atkinson SA: **A food frequency questionnaire for the assessment of calcium, vitamin D and vitamin K: a pilot validation study.** *Nutrients* 2010, **2**:805-819.
24. Satia JA, Watters JL, Galanko JA: **Validation of an antioxidant nutrient questionnaire in whites and African Americans.** *J Am Diet Assoc* 2009, **109**:502-508, 508 e501-506.
25. **Health Canada: Canadian Nutrient File (2010 version)** [<https://aliments-nutrition.canada.ca/cnf-fce/index-fra.jsp>]
26. **United States Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database for Standard Reference release 25 (SR25)** [<https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md/beltsville-human-nutrition-research-center/nutrient-data-laboratory/docs/usda-national-nutrient-database-for-standard-reference/>]
27. Martinez-Gonzalez M, Fernandez-Jarne E, Serrano-Martinez M, Wright M, Gomez-Gracia E: **Development of a short dietary intake questionnaire for the quantitative estimation of adherence to a cardioprotective Mediterranean diet.** *European Journal of Clinical Nutrition* 2004, **58**:1550-1552.
28. Willett WC, Howe GR, Kushi LH: **Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies.** *Am J Clin Nutr* 1997, **65**:1220S-1228S; discussion 1229S-1231S.
29. Willet W, Lenart E: **Reproducibility and validity of food-frequency questionnaires.** *MONOGRAPHS IN EPIDEMIOLOGY AND BIOSTATISTICS* 1998, **1**:101-147.
30. Moghames P, Hammami N, Hwalla N, Yazbeck N, Shoaib H, Nasreddine L, Naja F: **Validity and reliability of a food frequency questionnaire to estimate dietary intake among Lebanese children.** *Nutrition journal* 2016, **15**:4.

31. Athanasiadou E, Kyrkou C, Fotiou M, Tsakoumaki F, Dimitropoulou A, Polychroniadou E, Menexes G, Athanasiadis AP, Biliaderis CG, Michaelidou AM: **Development and Validation of a Mediterranean Oriented Culture-Specific Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire.** *Nutrients* 2016, **8**.
32. Bland JM, Altman D: **Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement.** *The lancet* 1986, **327**:307-310.
33. Flight L, Julious SA: **The disagreeable behaviour of the kappa statistic.** *Pharm Stat* 2015, **14**:74-78.
34. Landis JR, Koch GG: **The measurement of observer agreement for categorical data.** *Biometrics* 1977, **33**:159-174.
35. Koo TK, Li MY: **A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research.** *J Chiropr Med* 2016, **15**:155-163.
36. Cade J, Burley V, Warm D, Thompson R, Margetts B: **Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation.** *Nutrition research reviews* 2004, **17**:5-22.
37. Buscemi S, Rosafio G, Vasto S, Massenti FM, Grosso G, Galvano F, Rini N, Barile AM, Maniaci V, Cosentino L: **Validation of a food frequency questionnaire for use in Italian adults living in Sicily.** *International journal of food sciences and nutrition* 2015, **66**:426-438.
38. Shahar D, Yerushalmi N, Lubin F, Froom P, Shahar A, Kristal-Boneh E: **Seasonal variations in dietary intake affect the consistency of dietary assessment.** *European journal of epidemiology* 2001, **17**:129-133.
39. Willett WC: **Future directions in the development of food-frequency questionnaires.** *The American journal of clinical nutrition* 1994, **59**:171S-174S.

40. Papazian T, Hout H, Sibai D, Helou N, Younes H, El Osta N, Khabbaz LR: **Development, reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women adherent to the Mediterranean dietary pattern.** *Clin Nutr* 2016.
41. Tayyem RF, Abu-Mweis SS, Bawadi HA, Agraib L, Bani-Hani K: **Validation of a food frequency questionnaire to assess macronutrient and micronutrient intake among Jordanians.** *J Acad Nutr Diet* 2014, **114**:1046-1052.
42. Rodriguez MM, Mendez H, Torun B, Schroeder D, Stein AD: **Validation of a semi-quantitative food-frequency questionnaire for use among adults in Guatemala.** *Public Health Nutr* 2002, **5**:691-699.
43. Mouratidou T, Ford F, Fraser RB: **Validation of a food-frequency questionnaire for use in pregnancy.** *Public health nutrition* 2006, **9**:515-522.
44. Deschamps V, De Lauzon-Guillain B, Lafay L, Borys J-M, Charles M-A, Romon M: **Reproducibility and relative validity of a food-frequency questionnaire among French adults and adolescents.** *European journal of clinical nutrition* 2009, **63**:282-291.
45. Erkkola M, Karppinen M, Javanainen J, Räsänen L, Knip M, Virtanen SM: **Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant Finnish women.** *American journal of epidemiology* 2001, **154**:466-476.
46. Henn RL, Fuchs SC, Moreira LB, Fuchs FD: **Development and validation of a food frequency questionnaire (FFQ-Porto Alegre) for adolescent, adult and elderly populations from Southern Brazil.** *Cadernos de saude publica* 2010, **26**:2068-2079.
47. Jaceldo-Siegl K, Knutsen SF, Sabaté J, Beeson WL, Chan J, Herring RP, Butler TL, Haddad E, Bennett H, Montgomery S: **Validation of nutrient intake using an FFQ and repeated 24 h recalls in black and white subjects of the Adventist Health Study-2 (AHS-2).** *Public health nutrition* 2010, **13**:812-819.
48. Wen-Hua Z, Huang Z-P, Zhang X, Li H, Willett W, Jun-Ling W, Hasegawa K, Jun-Shi C: **Reproducibility and validity of a chinese food frequency questionnaire.** *Biomedical and Environmental Sciences* 2010, **23**:1-38.

49. Zhang FF, Roberts SB, Must A, Wong WW, Gilhooly CH, Kelly MJ, Parsons SK, Saltzman E: **Assessing Dietary Intake in Childhood Cancer Survivors: Food Frequency Questionnaire Versus 24-Hour Diet Recalls.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015, **61**:499-502.
50. Rimm EB, Giovannucci EL, Stampfer MJ, Colditz GA, Litin LB, Willett WC: **Reproducibility and validity of an expanded self-administered semiquantitative food frequency questionnaire among male health professionals.** *American journal of epidemiology* 1992, **135**:1114-1126.
51. Lombard MJ, Steyn NP, Charlton KE, Senekal M: **Application and interpretation of multiple statistical tests to evaluate validity of dietary intake assessment methods.** *Nutr J* 2015, **14**:40.
52. Männistö S, Virtanen M, Mikkonen T, Pietinen P: **Reproducibility and Validity of a Food Frequency Questionnaire in a Case-Control Study on Breast Cancer.** *J Clin Epidemiol* 1996, **49**:401-409.
53. Cade J, Thompson R, Burley V, Warm D: **Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires—a review.** *Public health nutrition* 2002, **5**:567-587.
54. Shim J-S, Oh K, Kim HC: **Dietary assessment methods in epidemiologic studies.** *Epidemiology and Health* 2014:e2014009.
55. Cantin J, Lacroix S, Latour É, Lambert J, Lalongé J, Faraj M, Nigam A: **Validation of a Mediterranean food frequency questionnaire for the population of Québec.** *Canadian Journal of Cardiology* 2014, **30**:S310.
56. Schröder H, Covas M, Marrugat J, Vila J, Pena A, Alcantara M, Masia R: **Use of a three-day estimated food record, a 72-hour recall and a food-frequency questionnaire for dietary assessment in a Mediterranean Spanish population.** *Clinical Nutrition* 2001, **20**:429-437.
57. Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, Perez-Bauer M, Martínez-González MÁ, Salas-Salvadó J, Martín-Moreno JM: **Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain.** *British journal of nutrition* 2010, **103**:1808-1816.

58. Turcot V, Brunet J, Daneault C, Tardif JC, Des Rosiers C, Lettre G: **Validation of fatty acid intakes estimated by a food frequency questionnaire using erythrocyte fatty acid profiling in the Montreal Heart Institute Biobank.** *J Hum Nutr Diet* 2015, **28**:646-658.
59. Sauvageot N, Guillaume M, Albert A: **Validation of the food frequency questionnaire used to assess the association between dietary habits and cardiovascular risk factors in the NESCAV study.** *Journal of Food Science* 2013, **3**.
60. Eng JY, Moy FM: **Validation of a food frequency questionnaire to assess dietary cholesterol, total fat and different types of fat intakes among Malay adults.** *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 2011, **20**:639-645.

Table 1: Calculation of the Mediterranean diet score

	Points if yes
Olive oil (≥ 1 spoon/day)	+1
Fruits (≥ 1 serving/day)	+1
Vegetables of salad (≥ 1 serving/day)	+1
Fruits (≥ 1 serving/day) and Vegetables of salad (≥ 1 serving/day) ¹	+1
Legumes (≥ 2 servings/week)	+1
Fish (≥ 3 servings/week)	+1
Wine (≥ 1 glass/day)	+1
Meat (< 1 serving/day)	+1
[White bread (< 1 slice/day) and rice (< 1 cup/week)] or whole-grain bread (> 5 slices/week) ²	+1

¹One point is added when ≥ 1 serving/day of both fruits and vegetables is consumed. ²One point is added when either consumption of both white bread and rice is low or when consumption of whole-grain bread is high. Adapted from Martinez-Gonzalez et al. 2004. Development of a short dietary intake questionnaire for the quantitative estimation of adherence to a cardioprotective Mediterranean diet. *European Journal of Clinical Nutrition* **58**: 1550-1552.

Table 2: Descriptive characteristic of participants

	Total N=80	Adults N=40	Children N=40
Gender, N (%)			
Male	80 (50.0)	40 (50.0)	40 (50.0)
Age at visit, years			
Mean (SD)	21.9 (7.2)	27.8 (5.6)	16.0 (1.5)
Median (range)	18.0 (11.4-40.1)	26.7 (18.2-40.1)	16.2 (11.4-17.9)

Subjects were stratified according to age (adults: ≥ 18 years old and children: < 18 years old).

Table 3: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients

	Median (IQR) daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ²	Difference % (IQR) ¹	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	2093 (1860 – 2518)	2439 (2020 – 2802)***	12.1 (-1.1 – 24.9)	0.72**	
Protein (g)	87.2 (78.4 – 106)	102 (82.9–122)***	12.7 (-3.2 – 32.0)	0.59**	0.47**
CHO (g)	248 (214 – 307)	295 (254 – 379)***	20.0 (1.75 – 43.0)	0.50**	0.39**
Lipids (g)	82.8 (68.3 – 103)	84.1 (74.8 – 103)	2.5 (-12.9 – 16.5)	0.74**	0.28*
SFA (g)	28.9 (21.8 – 37.3)	28.3 (23.7 – 32.7)	-4.7 (-17.9 – 18.7)	0.69**	0.33**
MUFA (g)	29.2 (23.1 – 35.6)	29.8 (25.8 – 36.8)	2,6 (-14.2 – 25.9)	0.61**	0.25*
PUFA (g)	15.0 (10.7 – 19.5)	15.8 (12.8 – 19.3)	3.2 (-10.8 – 26.1)	0.58**	0.33**
Cholesterol (mg)	266 (195 – 351)	256 (197 – 332)	-9.1 (-31.1 – 32.0)	0.46**	0.24*
Dietary fiber (g)	17.3 (13.6 – 21.0)	23.8 (18.1 – 29.8)***	31.1 (0.4 – 60.0)	0.50**	0.58**
Alcohol (g)	0.0 (0.0 – 4.6)	1.1 (0.0 – 9.5)*	-	0.59**	0.47**
Vitamin A (µg)	720 (564 – 988)	950 (747 – 1171)***	34.3 (-8.5 – 80.4)	0.47**	0.41**
Vitamin C (mg)	122 (74.9 – 183.2)	187 (139 – 257)***	52.6 (14.5 – 122)	0.55**	0.50**
Vitamin E (mg)	6.2 (4.6 – 8.4)	8.9 (7.35 – 10.6)***	50.6 (16.4 – 73.5)	0.54**	0.47**
Vitamin D (IU)	176 (114 – 255)	226 (157 – 296)**	24.3 (-16.0 – 83.1)	0.58**	0.50**
Calcium (mg)	1080 (690 – 1407)	1307 (1002 – 1654)***	23.0 (2.5 – 49.6)	0.70**	0.52**
Iron (mg)	12.5 (11.0 – 16.3)	16.0 (13.2 – 19.0)***	16.0 (3.7 – 45.6)	0.49**	0.42**
Folate (mcg)	347 (296 – 437)	492 (388 – 620)***	39.6 (14.4 – 72.4)	0.46**	0.41**

Values are median (IQR), N = 80. ¹(Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ² Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001. IQR: inter-quartile range, 3-DFR: 3-day food record, FFQ: food frequency questionnaire, CHO: carbohydrates, SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids. Note: Data presented as means ± SD are available in Supplementary Table 9.

Table 4: Food frequency questionnaires and 3-day food records: cross-classification analysis of energy and nutrient intakes

	% Classified into same quartile¹	% Classified into same \pm 1 quartile¹	% Misclassified¹	Weighted² Kappa
Energy	47.5	40.0	12.5	0.64
Protein	45.0	37.5	17.5	0.52
CHO	45.0	32.5	22.5	0.46
Lipids	51.3	40.0	8.7	0.70
SFA	50.0	36.3	13.7	0.63
MUFA	35.0	51.3	13.7	0.55
PUFA	48.7	35.0	16.3	0.58
Cholesterol	30.0	51.3	18.7	0.42
Dietary fiber	46.3	30.0	23.7	0.43
Alcohol	57.5	28.7	13.8	0.67
Vitamin A	41.3	33.7	25.0	0.44
Vitamin C	38.7	43.8	17.5	0.47
Vitamin E	41.3	40.0	18.7	0.47
Vitamin D	40.0	41.3	18.7	0.51
Calcium	53.7	33.8	12.5	0.64
Iron	40.0	36.3	23.7	0.37
Folate	37.5	43.7	18.8	0.45

Values are expressed in percentage, N=80. ¹Cross-classification analyses were completed to validate agreement between FFQ and 3-DFR in terms of proportions of participants classified into the same or same \pm 1 quartile or misclassified. ²Weighted kappa was used to measure the agreement between FFQ and 3-DFR. Analyses were completed on crude values not adjusted for energy intake. 3-DFR: 3-day food record, FFQ: food frequency questionnaire, CHO: carbohydrates, SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids.

Table 5: Food frequency questionnaires at visits 1 and 2: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and intraclass correlation coefficients

	Median (IQR) daily intake			Correlations ³
	FFQ V1	FFQ V2 ²	Difference % (IQR) ¹	
Energy (kcal)	2533 (2036 – 2892)	2416 (1941 – 3062)	4.9 (-16.6 – 18.7)	0.84***
Protein (g)	106 (92.3 – 127)	100 (88.4 – 140)	4.8 (-15.9 – 12.8)	0.79***
CHO (g)	308 (254 – 380)	296 (226 – 368)	4.9 (-10.9 – 24.7)	0.81***
Lipids (g)	91 (67.2 – 103)	85.7 (68.7 – 114)	-7.0 (-15.4 – 13.0)	0.76***
SFA (g)	28.0 (19.0 – 31.6)	26.8 (22.8 – 37.0)	-4.3 (-21.9 – 15.3)	0.81***
MUFA (g)	30.3 (24.3 – 39.0)	30.9 (24.4 – 43.5)	-6.8 (-17.9 – 18.2)	0.62**
PUFA (g)	16.5 (12.2–20.1)	18.1 (13.9–21.9)	-12.4 (-29.2 – 1.2)	0.56*
Cholesterol (mg)	265 (201–334)	319 (210–423)	-7.4 (-24.2 – 6.7)	0.83***
Dietary fiber (g)	23.8 (15.9–29.9)	24.2 (16.2–31.4)	-4.4 (-22.6 – 16.4)	0.63**
Alcohol (g)	2.8 (1.1–12.4)	3.3 (1.5–12.7)	-6.2 (-29.0 – 4.5)	0.92***
Vitamin A (µg)	904 (737–1158)	974 (775–1357)	-8.5 (-19.3 – 15.0)	0.68**
Vitamin C (mg)	191 (131–254)	178 (121–214)	-6.0 (-16.1 – 19.9)	0.83***
Vitamin E (mg)	8.8 (6.7–12.9)	8.8 (6.9–12.7)	4.0 (-21.2 – 20.6)	0.86***
Vitamin D (IU)	224 (168–260)	237 (191–281)	-0.6 (-13.4 – 18.6)	0.88***
Calcium (mg)	1220 (1045–1627)	1240 (1106–1552)	-3.6 (-15.2 – 12.5)	0.87***
Iron (mg)	15.6 (13.7–19.1)	15.3 (12.8 – 19.1)	-0.9 (-14.0 – 19.6)	0.76***
Folate (mcg)	452 (398–684)	507 (387–664)	0.0 (-22.4 – 12.0)	0.76***

Values are median (IQR), N = 29. ¹(Daily intake as per FFQ V1 – Daily intake as per FFQ V2)/(Daily intake as per FFQ V2) x 100. ²Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ V1 and FFQ V2. No statistical differences were found. ³Intraclass correlations between FFQ V1 and FFQ V2 based on log transformed values. Analyses were completed on crude values not adjusted for energy intake. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001. V1, visit 1; V2, visit 2. IQR: inter-quartile range FFQ: food frequency questionnaire, CHO: carbohydrates, SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids. Note: Data presented as means ± SD are available in Supplementary Table 10.

Table 6: Food frequency questionnaires visit 1 and 2: cross-classification analysis of energy intake, nutrient intake and Mediterranean diet score

	% Classified into same quartile ¹	% Classified into same \pm 1 quartile ¹	% Misclassified ¹	Weighted Kappa ²
Energy	44.8	41.4	13.8	0.60
Protein	37.9	48.3	13.8	0.57
CHO	48.3	41.4	10.3	0.66
Lipids	44.8	34.5	20.7	0.52
Vitamin A	48.3	27.6	24.1	0.49
Vitamin C	44.8	41.4	13.8	0.46
Vitamin E	51.7	31.0	17.3	0.52
Vitamin D	51.7	37.9	10.4	0.66
Calcium	51.7	34.5	13.8	0.63
Mediterranean diet score	58.6	27.6	13.8	0.68

Values are expressed in percentage, N=29. ¹Cross-classification analyses were completed to validate agreement between the two FFQs in terms of proportions of participants classified into the same or same \pm 1 quartile or misclassified. ²Weighted kappa was used to measure the agreement between the two FFQs. Analyses were completed on crude values not adjusted for energy intake. CHO: carbohydrates.

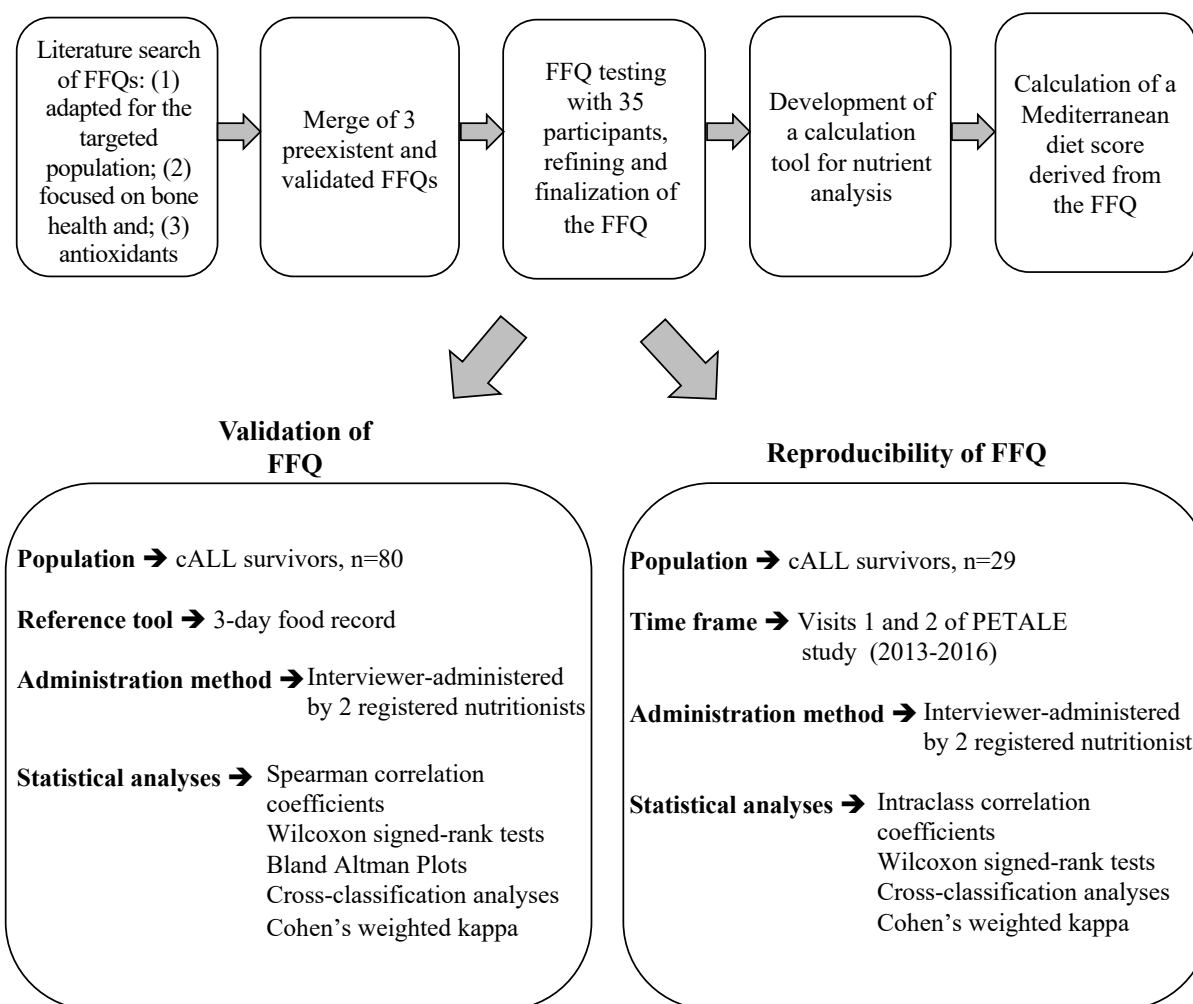


Figure 1. Study design for the development, validation and reproducibility of the FFQ for adolescent and young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia living in the Province of Quebec. FFQ: food-frequency questionnaire; cALL: childhood acute lymphoblastic leukemia.

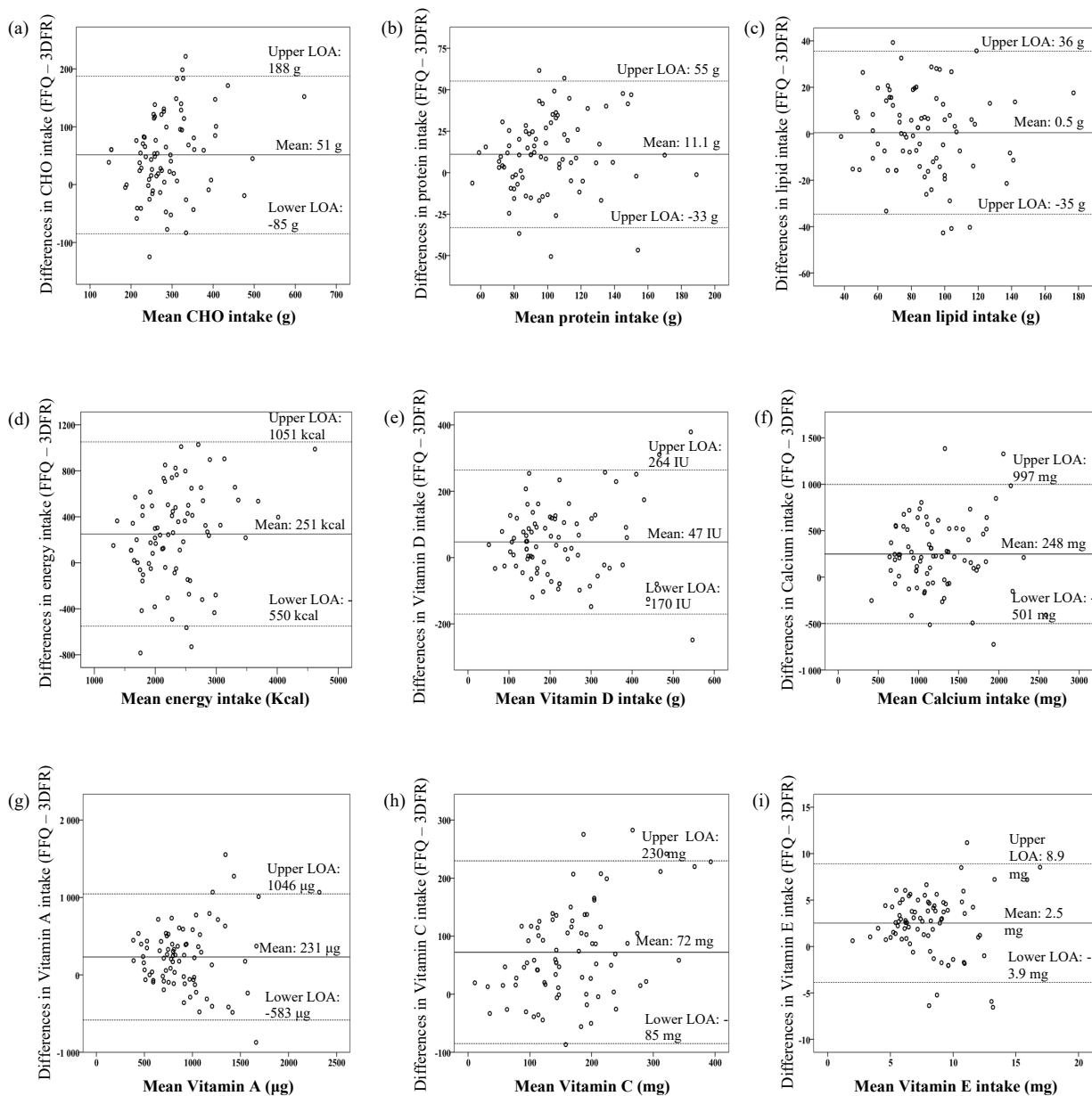


Figure 2. Bland-Altman plot showing agreement between the average FFQ and the average 3-DFR for (a) carbohydrates, (b) proteins, (c) lipids, (d) energy intake, (e) vitamin D and (f) calcium (g) vitamin A, (h) vitamin C, (i) vitamin E. A mean of 0 indicates that the 2 methods are in perfect agreement. LOA, limit of agreement; IU, international unit.

Supplementary Table 1: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in adults

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	2334 (1846 – 2685)	2532 (2076 – 2940)***	11.8 (-1.0 – 23.3)	0.76**	
Protein (g)	96.1 (82.1 – 119)	109 (83.4 – 131)**	7.1 (-3.7 – 30.9)	0.66**	0.46**
CHO (g)	257 (214 – 318)	318 (253 – 385)***	22.6 (-1.2 – 49.2)	0.59**	0.30
Lipids (g)	87.0 (67.6 – 107)	86.2 (75.5 – 106)	1.1 (-13.3 – 18.4)	0.73**	0.18
SFA (g)	29.0 (19.6 – 39.6)	29.0 (23.7 – 36.5)	-3.3 (-20.0 – 21.4)	0.76**	0.35*
MUFA (g)	30.7 (24.4 – 40.2)	31.1 (26.7 – 38.6)	1.6 (-14.2 – 25.4)	0.59**	0.24
PUFA (g)	17.6 (11.8 – 20.3)	15.9 (13.2 – 18.9)	-0.2 (-11.9 – 24.3)	0.48**	0.14
Cholesterol (mg)	308 (219 – 402)	271 (196 – 373)	-10.9 (-34.1 – 29.2)	0.49**	0.29
Dietary fiber (g)	19.1 (15.7 – 24.0)	25.3 (19.9 – 31.0)***	27.0 (-0.8 – 54.3)	0.43**	0.54**
Alcohol (g)	3.3 (0.0 – 8.8)	8.2 (1.4 – 12.8)*	-18.8 (-52.2 – 172)	0.39*	0.49**
Vitamin A (µg)	738 (592 – 1029)	979 (822 – 1232)**	40.4 (-7.0 – 76.3)	0.44**	0.33*
Vitamin C (mg)	122 76.9 – 155)	191 (143 – 273)***	53.6 (11.1 – 134)	0.47**	0.39*
Vitamin E (mg)	6.5 (4.8 – 9.0)	9.8 (7.9 – 10.7)***	57.5 (20.9 – 82.7)	0.55**	0.53**
Vitamin D (IU)	169 (114 – 244)	223 (149 – 313)**	38.7 (-18.6 – 81.1)	0.63**	0.49**
Calcium (mg)	1062 (648 – 1425)	1311 (994 – 1734) ***	30.2 (3.6 – 55.0)	0.71**	0.45**
Iron (mg)	13.7 (11.6 – 18.2)	16.8 (13.3 – 21.9)**	13.4 (2.0 – 42.2)	0.52**	0.28
Folate (mcg)	404 (307 – 469)	530 (430 – 687)***	45.0 (17.9 – 69.4)	0.44**	0.41**

Values are medians (IQR). N = 40 adults. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001

Supplementary Table 2: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in adolescents

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	1971 (1860 – 2280)	2213 (1997 – 2693)**	12.3 (-1.1 – 27.3)	0.62**	
Protein (g)	85.6 (73.1 – 100)	98.7 (81.9 – 119)**	18.8 (0.6 – 35.2)	0.45**	0.53**
CHO	244 (217 – 277)	285 (255 – 349)***	18.9 (4.8 – 34.7)	0.41**	0.38*
Lipids (g)	82.2 (68.3 – 98.1)	83.3 (73.2 – 93.1)	3.4 (-12.4 – 14.7)	0.73**	0.39*
SFA (g)	29.1 (23.4 – 37.1)	27.7 (24.0 – 30.6)	-7.7 (-17.9 – 9.3)	0.61**	0.31
MUFA (g)	27.4 (22.3 – 33.1)	29.1 (25.1 – 34.1)	6.6 (-13.3 – 27.4)	0.58**	0.30
PUFA (g)	13.7 (10.4 – 17.2)	15.6 (12.7 – 19.7)	17.3 (-9.1 – 29.5)	0.67**	0.54**
Cholesterol (mg)	238 (179 – 331)	246 (197 – 298)	-3.1 (-24.0 – 32.9)	0.40*	0.16
Dietary fiber	15.3 (12.8 – 18.2)	23.1 (16.6 – 28.4)***	35.1 (9.9 – 67.8)	0.52**	0.63**
Alcohol (g)	0.0 (0.0 – 0.0)	0.0 (0.0 – 0.0)*	-32.2 (-94.7 – 898)	0.30	0.20
Vitamin A (µg)	705 (548 – 949)	920 (703 – 1166)**	18.2 (-8.7 – 80.4)	0.50**	0.52**
Vitamin C	122 (68.3 – 196)	183 (133 – 244)***	47.2 (16.2 – 117)	0.60**	0.61**
Vitamin E (mg)	5.9 (4.5 – 8.1)	8.4 (7.1 – 10.3)***	44.2 (15.2 – 68.3)	0.48**	0.43**
Vitamin D (IU)	178 (113 – 276)	226 (162 – 283)*	19.0 (-12.3 – 83.9)	0.52**	0.49**
Calcium (mg)	1080 (728 – 1398)	1303 (1037 – 1473)***	21.5 (0.7 – 46.2)	0.66**	0.59**
Iron (mg)	11.8 (10.4 – 14.5)	16.0 (13.2 – 18.1)***	19.2 (4.3 – 54.2)	0.38*	0.54**
Folate (mcg)	324 (280 – 407)	480 (374 – 577)***	35.3 (13.7 – 78.4)	0.44**	0.40*

Values are medians (IQR). N = 40 adolescents. ² Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ¹ (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.000

Supplementary Table 3: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in males

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	2384 (2081 – 2917)	2772 (2386 – 3148)	14.0 (3.0 – 24.9)	0.64**	
Protein (g)	103 (86.6 – 123)	121 (97.1 – 134)	11.4 (-4.1 – 37.1)	0.62**	0.61**
CHO	267 (234 – 349)	378 (279 – 413)	23.0 (4.2 – 46.6)	0.51**	0.32*
Lipids (g)	99.5 (81.7 – 119)	91.9 (83.1 – 114)	3.4 (-10.9 – 12.4)	0.64**	0.16
SFA (g)	35.6 (27.9 – 45.2)	30.6 (26.3 – 40.7)	-4.7 (-22.3 – 18.5)	0.55**	0.21
MUFA (g)	33.7 (28.4 – 42.0)	35.2 (29.3 – 41.4)	5.3 (-8.4 – 21.6)	0.64**	0.41**
PUFA (g)	17.0 (13.3 – 21.1)	18.4 (15.3 – 20.8)	5.1 (-5.9 – 25.9)	0.59**	0.39*
Cholesterol (mg)	340 (232 – 432)	298 (237 – 380)	-13.5 (-31.1 – 29.2)	0.54**	0.38*
Dietary fiber	16.9 (13.8 – 21.5)	24.5 (20.5 – 31.0)	45.3 (3.5 – 68.1)	0.49**	0.47**
Alcohol (g)	0.0 (0.0 – 6.6)	2.3 (0.0 – 10.5)	0.2 (-56.9 – 383)	0.64**	0.53**
Vitamin A (µg)	741 (551 – 1001)	993 (812 – 1408)	44.3 (1.0 – 96.5)	0.56**	0.35*
Vitamin C	124 (71.0 – 205)	210 (134 – 279)	62.0 (20.8 – 112)	0.78**	0.62**
Vitamin E (mg)	6.9 (4.8 – 9.4)	10.0 (8.0 – 11.8)	55.3 (27.1 – 73.5)	0.55**	0.46**
Vitamin D (IU)	217 (149 – 325)	263 (196 – 343)	35.0 (-16.0 – 88.3)	0.58**	0.51**
Calcium (mg)	1256 (931 – 1573)	1457 (1133 – 1874)	20.3 (5.5 – 56.2)	0.76**	0.59**
Iron (mg)	13.8 (11.7 – 17.9)	18.1 (14.7 – 22.2)	18.2 (5.7 – 44.3)	0.55**	0.43**
Folate (mcg)	390 (306 – 479)	560 (455 – 711)	43.5 (23.9 – 65.8)	0.47**	0.29

Values are medians (IQR). N = 40 male. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001

Supplementary Table 4: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in females

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	1885 (1655 – 2119)	2043 (1771 – 2440)	11.6 (-3.6 – 24.8)	0.48**	
Protein (g)	82.1 (70.3 – 88.6)	90.6 (75.5 – 106)	12.7 (-0.2 – 27.9)	0.37*	0.31
CHO	237 (199 – 265)	268 (240 – 316)	16.8 (-0.5 – 39.3)	0.32*	0.44**
Lipids (g)	73.4 (57.7 – 86.6)	75.9 (59.3 – 86.2)	-2.0 (-16.8 – 23.1)	0.61**	0.40*
SFA (g)	23.5 (18.0 – 31.2)	24.6 (18.3 – 29.6)	-4.6 (-17.3 – 18.7)	0.62**	0.45**
MUFA (g)	24.6 (20.9 – 29.9)	27.0 (21.7 – 30.1)	-1.7 (-16.8 – 31.4)	0.28	0.04
PUFA (g)	12.7 (10.1 – 17.9)	14.0 (11.4 – 16.0)	1.2 (-14.7 – 29.2)	0.47**	0.21
Cholesterol (mg)	228 (177 – 286)	208 (182 – 278)	-3.6 (-30.6 – 35.9)	0.07	0.10
Dietary fiber	17.3 (13.6 – 20.7)	23.5 (17.0 – 27.5)	22.7 (-0.8 – 50.9)	0.53**	0.61**
Alcohol (g)	0.0 (0.0 – 1.4)	0.5 (0.0 – 5.9)	-18.8 (-85.7 – 48.2)	0.49**	0.40*
Vitamin A (µg)	710 (586 – 960)	889 (705 – 1007)	12.7 (-11.8 – 62.9)	0.41**	0.41**
Vitamin C	119 (83.5 – 152)	171 (145 – 239)	49.7 (3.7 – 130)	0.20	0.23
Vitamin E (mg)	5.8 (4.4 – 7.4)	8.4 (6.8 – 10.1)	41.2 (14.5 – 73.9)	0.46**	0.61**
Vitamin D (IU)	138 (99.2 – 221)	176 (142 – 241)	19.2 (-14.2 – 77.7)	0.47**	0.49**
Calcium (mg)	933 (625 – 1155)	1085 (880 – 1339)	30.7 (-3.5 – 45.0)	0.54**	0.41**
Iron (mg)	11.8 (10.2 -15.1)	13.6 (13.0 – 17.2)	13.9 (-2.8 – 45.6)	0.27	0.32*
Folate (mcg)	326 (270 – 420)	459 (374 – 537)	32.3 (11.5 – 76.2)	0.36*	0.46**

Values are medians (IQR). N = 40 female. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.000

Supplementary Table 5: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in boys

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	2280 (1939 – 2783)	2693 (2342 – 2957)	12.3 (1.4 – 27.2)	0.41	
Protein (g)	92.5 (86.0 – 109)	117 (97.1 – 124)	19.2 (-2.3 – 39.1)	0.39	0.81**
CHO	268 (224 – 336)	349 (283 – 399)	21.8 (7.9 – 39.2)	0.51*	0.38
Lipids (g)	92.2 (82.7 -111)	91.4 (84.1 – 109)	3.4 (-10.9 – 9.7)	0.48*	0.24
SFA (g)	37.1 (28.8 – 43.1)	30.4 (27.2 – 37.4)	-5.1 (-17.4 – 11.2)	0.37	0.02
MUFA (g)	31.0 (28.3 – 37.0)	32.9 (29.8 – 39.3)	6.6 (-5.6 – 20.0)	0.37	0.56*
PUFA (g)	15.6 (13.1 -20.7)	18.6 (15.1 – 20.6)	11.3 (-6.4 – 26.5)	0.57**	0.62**
Cholesterol (mg)	309 (222 – 398)	296 (247 – 336)	-13.5 (-20.6 – 32.0)	0.49*	0.44
Dietary fiber	15.7 (13.2 – 19.4)	23.1 (16.5 – 30.3)	46.8 (7.0 – 67.8)	0.50*	0.45*
Alcohol (g)	0.0 (0.0 – 0.01)	0.1 (0.0 – 2.44)	-64.4 (-100 – 1747)	0.24	0.0
Vitamin A (µg)	717 (551 – 909)	1005 (783 – 1205)	39.5 (1.0 – 86.6)	0.59**	0.49*
Vitamin C	123.1 (88.8 – 198)	211 (100 – 251)	47.2 (20.2 – 100)	0.81**	0.68**
Vitamin E (mg)	6.2 (4.7 – 8.5)	9.4 (7.3 – 11.6)	52.3 (25.0 – 67.2)	0.48*	0.41
Vitamin D (IU)	241 (167 – 326)	259 (226 – 372)	35.0 (-8.8 – 74.7)	0.54*	0.57**
Calcium (mg)	1223 (802 – 1599)	1409 (1145 – 1874)	22.5 (4.0 – 57.2)	0.73**	0.61**
Iron (mg)	12.9 (10.8 – 15.5)	17.2 (14.1 – 20.3)	20.6 (5.7 -50.4)	0.64**	0.62**
Folate (mcg)	357 (293 – 432)	541 (401 – 631)	35.3 (23.5 – 60.5)	0.48*	0.35

Values are medians (IQR). N = 20 boys. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001

Supplementary Table 6: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in men

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	2435 (2251 – 3034)	2853 (2433 – 3610)	15.8 (3.7 – 23.0)	0.80**	
Protein (g)	114 (91.6 – 127)	122 (95.1 – 162)	3.9 (-4.1 – 33.7)	0.74**	0.54*
CHO	266 (235 – 356)	385 (273 – 433)	24.6 (-0.1 – 53.6)	0.56*	0.25
Lipids (g)	104 (78.8 – 128)	97.4 (77.2 – 130)	4.2 (-11.1 – 17.5)	0.71**	0.05
SFA (g)	34.1 (27.5 – 48.3)	32.1 (25.0 – 43.2)	-4.6 (-26.4 – 18.5)	0.73**	0.25
MUFA (g)	40.2 (29.0 – 44.4)	36.9 (26.8 – 45.8)	4.0 (-15.9 – 21.7)	0.69**	0.35
PUFA (g)	17.8 (13.6 – 22.8)	18.0 (15.3 – 22.7)	3.2 (-5.8 – 24.6)	0.58**	0.21
Cholesterol (mg)	345 (264 – 471)	349 (226 – 473)	-12.0 (-34.1 – 28.3)	0.62**	0.27
Dietary fiber	18.4 (15.4 – 25.3)	25.7 (21.9 – 31.9)	40.5 (3.5 – 68.8)	0.49*	0.47*
Alcohol (g)	5.0 (0.0 – 11.4)	10.0 (2.3 – 12.4)	22.5 (-49.2 – 203)	0.39	0.50*
Vitamin A (µg)	768 (524 – 1167)	993 (865 – 1753)	53 (7.1 – 111)	0.51*	0.14
Vitamin C	123.6 (70.6 – 224.2)	206 (141 – 294)	80.4 (29.8 – 179)	0.73**	0.57**
Vitamin E (mg)	7.4 (4.8 – 10.7)	10.1 (9.3 – 12.9)	58.1 (27.1 – 95.7)	0.62**	0.49*
Vitamin D (IU)	192 (144 – 293)	262.9 (174 – 340)	38.7 (-20.3 – 89.2)	0.59**	0.34
Calcium (mg)	1286 (939 – 1573)	1532 (1111 – 1910)	18.4 (6.9 – 48.6)	0.76**	0.61**
Iron (mg)	13.8 (12.3 – 20.8)	18.7 (14.9 – 22.9)	14.0 (3.2 – 37.9)	0.42	0.23
Folate (mcg)	409 (318 -524)	600 (470 – 743)	49.7 (24.6 – 72.5)	0.42	0.24

Values are medians (IQR). N = 20 men. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.000

Supplementary Table 7: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in girls

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	1875 (1647 – 2060)	1997 (1771 – 2190)	12.1 (-3.0 – 27.5)	0.12	
Protein (g)	75.1 (68.1 – 85.3)	84.2 (73.3 – 99.8)	16.8 (0.6 – 27.9)	0.07	0.18
CHO	239 (206 – 254)	265 (244 – 292)	14.1 (1.5 – 33.5)	-0.15	0.32
Lipids (g)	68.3 (57.7 – 78.0)	74.4 (52.0 – 81.2)	3.6 (-17.3 -23.1)	0.57**	0.55*
SFA (g)	23.5 (19.7 – 29.1)	24.0 (15.1 – 29.0)	-11.9 (-18.5 – 9.3)	0.47*	0.49*
MUFA (g)	22.3 (18.1 – 25.5)	25.2 (20.0 – 28.0)	4.9 (-22.2 – 31.4)	0.12	0.04
PUFA (g)	11.3 (9.3 – 14.8)	13.3 (11.1 – 15.9)	20.4 (-9.7 – 32.9)	0.67**	0.44
Cholesterol (mg)	197 (176 – 248)	203 (183 – 236)	0.8 (-30.6 – 40.9)	-0.22	-0.20
Dietary fiber	14.5 (12.4 – 17.7)	22.1 (16.6 – 24.3)	27.8 (9.9 – 68.0)	0.55*	0.67**
Alcohol (g)	0.0 (0.0 – 0.0)	0.0 (0.0 – 0.0)	0.0 (-89.4 – 50.0)	0.45*	0.41
Vitamin A (µg)	705 (520 – 1044)	856 (641 – 1007)	3.5 (-12.4 – 72.2)	0.44	0.54*
Vitamin C	119.6 (67.1 – 192.8)	170 (149 – 234)	46.7 (2.2 – 159)	0.37	0.42
Vitamin E (mg)	5.3 (4.2 – 7.7)	8.0 (6.9 – 8.8)	37.1 (14.5 – 72.9)	0.31	0.48*
Vitamin D (IU)	138 (99.0 – 225)	166 (152 – 224)	13.1 (-19.5 – 83.9)	0.11	0.32
Calcium (mg)	961 (626 – 1139)	1063 (887 – 1317)	20.9 (-3.7 – 39.8)	0.49*	0.49*
Iron (mg)	11.6 (10.2 – 12.8)	13.4 (13.0 – 16.3)	16.5 (-4.4 – 57.0)	-0.12	0.29
Folate (mcg)	321 (257 – 381)	450 (371 – 485)	32.0 (11.5 – 85.6)	0.21	0.42

Values are medians (IQR). N = 20 girls. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001

Supplementary Table 8: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient median (inter-quartile range) daily intake and correlation coefficients in women

	Median daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	1928 (1659 – 2358)	2250 (1761 -2542)	10.0 (-3.6 – 23.3)	0.61**	
Protein (g)	85.2 (77.8 – 105)	98.1 (78.2 – 112)	9.0 (-0.2 – 27.6)	0.48*	0.32
CHO	225 (191 – 294)	283 (210.7 – 322)	20.7 (-1.5 – 46.1)	0.56**	0.30
Lipids (g)	80.3 (58.1 – 92.6)	79.7 (66.8 -87.7)	-5.6 (-14.4 – 21.7)	0.52*	0.22
SFA (g)	23.5 (16.4 – 31.5)	25.8 (20.5 – 30.2)	5.1 (-11.9 – 27.6)	0.76**	0.48*
MUFA (g)	29.6 (23.4 – 31.3)	27.9 (26.0 – 31.6)	-5.3 (-11.3 – 30.3)	0.12	0.10
PUFA (g)	15.0 (11.1 – 19.1)	14.7 (11.4 – 16.1)	-6.7 (-34.3 – 16.4)	0.22	0.06
Cholesterol (mg)	258 (189 – 332)	238 (175 – 286)	-9.6 (-31.3 – 35.2)	0.19	0.38
Dietary fiber	19.5 (16.7 – 22.6)	24.4 (18.2 – 28.7)	18.8 (-2.3 – 47.4)	0.47*	0.51*
Alcohol (g)	0.6 (0.0 – 5.9)	5.9 (0.5 – 15.3)	-20.2 (-82.0 – 46.4)	0.27	0.46*
Vitamin A (µg)	732 (624 – 809)	930 (822 – 1021)	34.7 (-7.5 – 60.1)	0.36	0.20
Vitamin C	119 (107 – 145)	176 (144 – 243)	52.6 (3.7 – 100)	0.08	-0.09
Vitamin E (mg)	6.1 (4.7 – 7.4)	8.6 (6.8 – 10.5)	53.4 (10.8 – 74.8)	0.44	0.72**
Vitamin D (IU)	139 (99.2 – 215)	183 (136 – 268)	36.9 (-12.7 – 73.2)	0.70**	0.58**
Calcium (mg)	933 (587 – 1156)	1164 (870 – 1483)	37.5 (-1.7 – 58.9)	0.53*	0.34
Iron (mg)	13.1 (10.6 – 16.9)	14.6 (12.9 – 17.9)	10.6 (-2.4 – 42.7)	0.47*	0.27
Folate (mcg)	388 (287 – 447)	479 (385 – 577)	32.3 (9.8 – 67.2)	0.46*	0.48*

Values are medians (IQR). N = 20 women. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001

Supplementary Table 9: Food frequency questionnaires and 3-day food records: Comparison of nutrient mean daily intake and correlation coefficients

	Mean daily intake			Correlations ³	
	3-DFR	FFQ ¹	Difference (%) ²	Unadjusted	Energy-adjusted ⁴
Energy (kcal)	2221 ± 564	2472 ± 667***	12.6 ± 18.8	0.72**	
Protein (g)	95.3 ± 26.8	106 ± 29.0***	14.2 ± 25.0	0.59**	0.47**
CHO (g)	264 ± 76.1	315 ± 92.5***	22.6 ± 28.7	0.50**	0.39**
Lipids (g)	86.8 ± 27.2	87.3 ± 25.8	3.7 ± 23.3	0.74**	0.28*
SFA (g)	30.6 ± 11.7	29.2 ± 10.3	0.4 ± 29.4	0.69**	0.33**
MUFA (g)	30.2 ± 10.1	31.1 ± 9.6	7.4 ± 29.8	0.61**	0.25*
PUFA (g)	15.9 ± 6.2	16.2 ± 5.0	10.6 ± 36.5	0.58**	0.33**
Cholesterol (mg)	293 ± 127	280 ± 117	4.7 ± 43.3	0.46**	0.24*
Dietary fiber (g)	18.2 ± 6.3	24.1 ± 8.2***	38.0 ± 45.7	0.50**	0.58**
Alcohol (g)	3.9 ± 10.0	5.6 ± 8.8*	NA	0.59**	0.47**
Vitamin A (µg)	803 ± 381	1034 ± 428***	49.0 ± 74.5%	0.47**	0.41**
Vitamin C (mg)	132 ± 68.2	204 ± 99.6***	98.9 ± 205%	0.55**	0.50**
Vitamin E (mg)	6.9 ± 3.1	9.4 ± 3.2***	53.7 ± 58.4%	0.54**	0.47**
Vitamin D (IU)	199 ± 118	246 ± 127**	60.9 ± 154%	0.58**	0.50**
Calcium (mg)	1108 ± 480	1357 ± 491***	33.1 ± 48.1%	0.70**	0.52**
Iron (mg)	14.2 ± 5.0	17.0 ± 5.3***	25.9 ± 37.4%	0.49**	0.42**
Folate (mcg)	373 ± 11	528 ± 16***	48.2 ± 47.6%	0.46**	0.41**

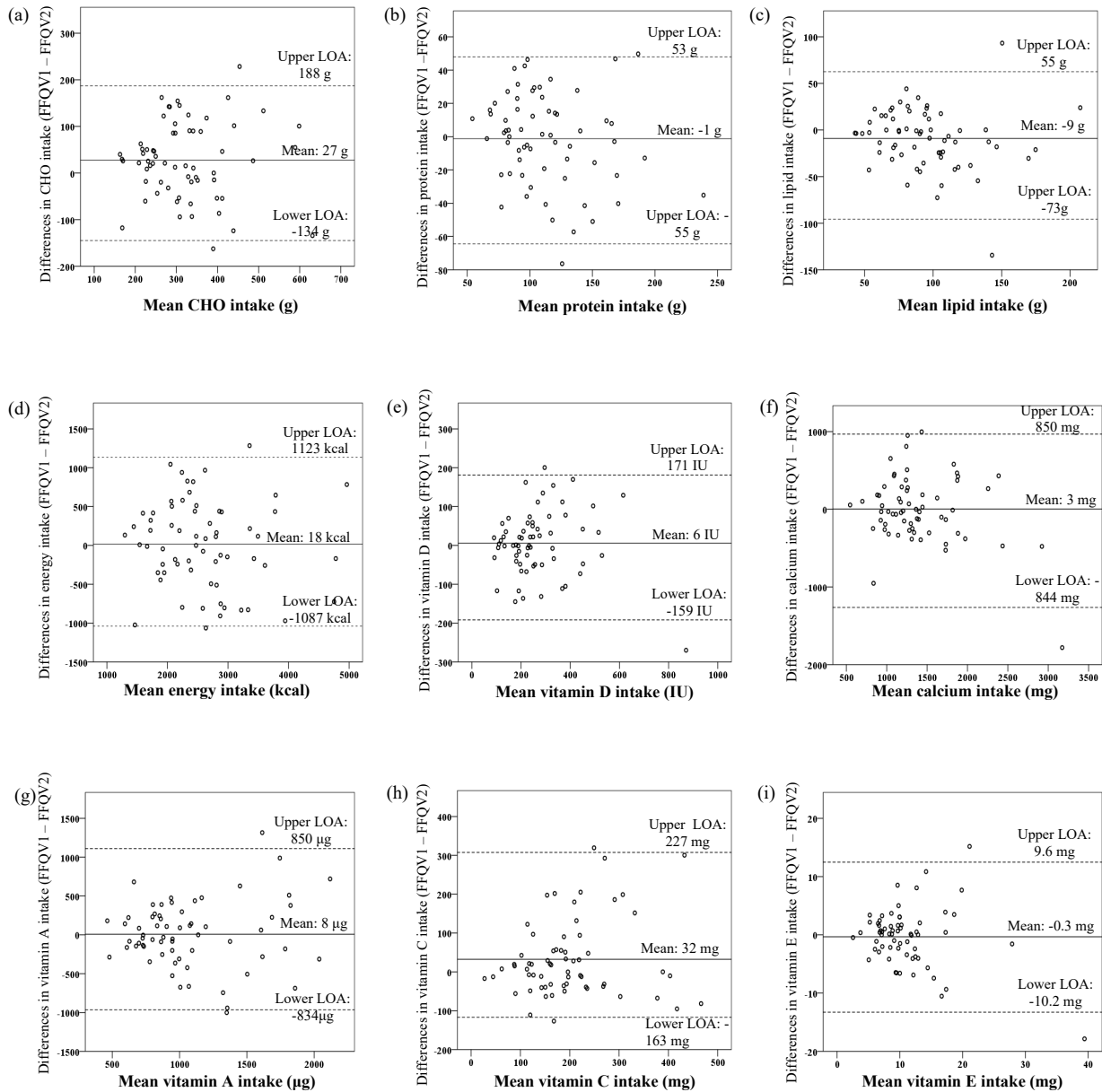
Values are means ± SD, N = 80. ¹ Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ and 3-DFR. ² (Daily intake as per FFQ – Daily intake as per 3-DFR)/(Daily intake as per 3-DFR) x 100. ³ Spearman correlations were used to assess the relationship of energy, nutrient intakes and energy-adjusted nutrient intakes between 3-DFR and FFQ. ⁴ The residual method was used to calculate the energy-adjusted variables. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001. 3-DFR: 3-day food record, FFQ: food frequency questionnaire, CHO: carbohydrates, SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids. Note: Data presented as medians and inter-quartile ranges are available in Table 3.

Supplementary Table 10: Food frequency questionnaire visits 1 and 2: Comparison of nutrient mean daily intake and intraclass correlation coefficients

	Mean daily intake			Correlations ³
	FFQ V1	FFQ V2 ²	Difference (%) ¹	
Energy (kcal)	2548 ± 697	2556 ± 828	3.3 ± 22.0	0.84***
Protein (g)	110 ± 28.1	114 ± 33.8	1.0 ± 22.4	0.79***
CHO (g)	325 ± 95.4	312 ± 113	9.3 ± 27.2	0.81***
Lipids (g)	87.4 ± 27.6	93.1 ± 33.1	-1.1 ± 29.4	0.76***
SFA (g)	27.7 ± 9.5	30.1 ± 12.0	-3.0 ± 27.1	0.81***
MUFA (g)	32.0 ± 10.7	34.7 ± 12.3	-1.8 ± 31.8	0.62**
PUFA (g)	17.1 ± 6.3	19.6 ± 9.1	-2.0 ± 48.8	0.56*
Cholesterol (mg)	285 ± 115	314 ± 117	-5.2 ± 29.3	0.83***
Dietary fiber (g)	23.2 ± 8.8	24.6 ± 10.2	6.4 ± 58.4	0.63**
Alcohol (g)	7.6 ± 8.7	7.5 ± 9.1	21.9 ± 101.4	0.92***
Vitamin A (µg)	1011 ± 402	1124 ± 453	-3.6 ± 33.1	0.68**
Vitamin C (mg)	210 ± 104	193 ± 106	21.2 ± 76.9	0.83***
Vitamin E (mg)	11.2 ± 6.7	11.5 ± 8.7	8.7 ± 46.0	0.86***
Vitamin D (IU)	257 ± 133	264 ± 113	-2.1 ± 22.9	0.88***
Calcium (mg)	1337 ± 440	1359 ± 427	1.8 ± 24.6	0.87***
Iron (mg)	16.4 ± 4.7	17.1 ± 6.4	2.2 ± 27.7	0.76***
Folate (mcg)	514 ± 153	534 ± 180	1.2 ± 28.5	0.76***

Values are means ± SD, N = 29. ¹(Daily intake as per FFQ V1 – Daily intake as per FFQ V2)/(Daily intake as per FFQ V2) x 100. ²Wilcoxon signed-rank tests were used to compare values obtained from both FFQ V1 and FFQ V2. No statistical differences were found. ³Intraclass correlations between FFQ V1 and FFQ V2 based on log transformed values. Analyses were completed on crude values not adjusted for energy intake. *P ≤ 0.05; **P ≤ 0.01; ***P ≤ 0.0001. V1, visit 1; V2, visit 2. FFQ: food frequency questionnaire, CHO: carbohydrates, SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids. Note: Data presented as medians and inter-quartile ranges are available in Table 5.

Supplementary Figure 1



Supplementary Figure 1: Bland-Altman plots showing agreement between the average FFQ at visit 1 and 2 for (a) carbohydrates, (b) proteins, (c) lipids, (d) energy intake, (e) vitamin D and (f) calcium (g) vitamin A, (h) vitamin C, (i) vitamin E. A mean of 0 indicates that the 2 tools are in perfect agreement. LOA, limit of agreement; IU, international unit.

8.4 Article 4

Dietary intakes are associated with HDL-cholesterol in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia

Sophia Morel, Devendra Amre, Emma Teasdale, Maxime Caru, Caroline Laverdière, Maja Krajinovic, Daniel Sinnett, Daniel Curnier, Emile Levy, Valérie Marcil

Ce manuscrit a été publié dans la revue *Nutrients* en décembre 2019

Cet article répond à l'objectif spécifique 2.3

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a participé à la collecte de données, contribué aux analyses statistiques, interprété les résultats et a rédigé 85 % le manuscrit.

Dietary Intakes Are Associated with HDL-Cholesterol in Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia

Sophia Morel ^{1,2}, Devendra Amre ³, Emma Teasdale ¹, Maxime Caru ⁴, Caroline Laverdière ³, Maja Krajinovic ³, Daniel Sinnett ³, Daniel Curnier ⁴, Emile Levy ^{1,2} and Valérie Marcil ^{1,2,*}

¹ Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Departments of Nutrition, Université de Montréal, Montreal, QC H3T 1C5, Canada; sophia.morel@umontreal.ca (S.M.); emma.teasdale@umontreal.ca (E.T.); emile.levy@recherche-ste-justine.qc.ca (E.L.)

² Institute of Nutrition and Functional Foods, Laval University, Quebec City, QC G1V 0A6, Canada

³ Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Departments of Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, QC H3T 1C5, Canada; devendra.amre@umontreal.ca (D.A.); caroline.laverdiere@umontreal.ca (C.L.); maja.krajinovic@umontreal.ca (M.K.); daniel.sinnett@umontreal.ca (D.S.)

⁴ Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Departments of Kinesiology, Université de Montréal, Montreal, QC H3T 1C5, Canada; maxime.caru@umontreal.ca (M.C.); daniel.curnier@umontreal.ca (D.C.)

* Correspondence: valerie.marcil@umontreal.ca; Tel.: +1-514-345-4931 (ext. 3272)

Received: 21 October 2019; Accepted: 4 December 2019; Published: date

Abstract: Survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL) are at high risk of developing dyslipidemia, including low HDL-cholesterol (HDL-C). This study aimed to examine the associations between food/nutrient intake and the levels of HDL-C in a cohort of children and young adult survivors of cALL. Eligible participants ($n = 241$) were survivors of cALL (49.4% boys; median age: 21.7 years old) recruited as part of the PETALE study. Nutritional data were collected using a validated food frequency questionnaire. Fasting blood was used to determine participants' lipid profile. Multivariable logistic regression models were fitted to evaluate the associations between intakes of macro- and micronutrients and food groups and plasma lipids. We found that 41.3% of cALL survivors had at least one abnormal lipid value. Specifically, 12.2% had high triglycerides, 17.4% high LDL-cholesterol, and 23.1% low HDL-C. Low HDL-C was inversely associated with high intake (third vs. first tertile) of several nutrients: proteins (OR: 0.27, 95% CI: 0.08–0.92), zinc (OR: 0.26, 95% CI: 0.08–0.84), copper (OR: 0.34, 95% CI: 0.12–0.99), selenium (OR: 0.17, 95% CI: 0.05–0.59), niacin (OR: 0.25, 95% CI: 0.08–0.84), riboflavin (OR: 0.31, 95% CI: 0.12–0.76) and vitamin B12 (OR: 0.35, 95% CI: 0.13–0.90). High meat consumption was also inversely associated (OR: 0.28, 95% CI: 0.09–0.83) with low HDL-C while fast food was positively associated (OR: 2.41, 95% CI: 1.03–5.63) with low HDL-C. The role of nutrition in the development of dyslipidemia after cancer treatment needs further investigation.

Keywords: childhood leukemia survivor; HDL-cholesterol; nutrition; adolescent; young adults

1. Introduction

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) accounts for approximately one fourth of all childhood malignancies [1]. Cure rates now exceed 90%, which allows a growing number of childhood survivors to reach adulthood [1]. However, survivors may face severe long-term sequelae years after the end of treatments [2,3]. In particular, studies on childhood ALL (cALL) survivors have reported a high prevalence of the typical components of the metabolic syndrome, namely obesity [4], hypertension [5], glucose intolerance [6] and dyslipidemia [7]. It is important to note that cALL survivors are at higher risk of developing low levels of HDL-C [8-10]. Alterations in HDL particle composition in lipids and proteins were also found in this population [11,12], suggesting defects in functionality. HDL particles are known for their ability to promote reverse cholesterol transport, but their functions are more extensive in view of their anti-atherosclerotic properties such as antioxidant [13,14], anti-apoptotic [15], anti-inflammatory [16], anti-hypertensive [17] and anti-thrombotic [18] roles.

In the general population, a typical Western dietary pattern, characterized by a higher consumption of fried foods and sweetened beverages, was associated with the incidence of the metabolic syndrome components and of atherosclerosis [19-21]. Conversely, plant-based diets and whole grains can be protective against insulin resistance, dyslipidemia and hypertension [22-26]. Similarly, several key micronutrients (polyphenols, vitamins and minerals: e.g., vitamins A, C, E and selenium) exhibited anti-inflammatory and antioxidative properties [22,27]. Moreover, like the general population, cALL survivors do not respect dietary guidelines [28,29]. Thus, one can understand the relationship between inadequate nutrition and the increased risk of developing long-term sequelae by cALL survivors [28,30,31], whereas the inclusion of specific nutrients or dietary patterns was found to be protective [30,31]. In cALL survivors, greater adherence to a Mediterranean diet was associated with lower visceral adiposity, subcutaneous adiposity, waist circumference, and BMI [30]. Likewise, lower dietary quality, measured with the Healthy Eating Index-2005, was associated with higher body fat in survivors of childhood cancer [31]. Adherence to a Mediterranean diet improves HDL efflux capacity, antioxidative status and vasoprotective capacity in the general population [32]. In addition, associations were found between intake of folate and magnesium and HDL-C, HDL2, HDL3 and apolipoprotein (Apo)-AI [33]. However, the

influence of dietary intakes on HDL-C levels in cALL survivors remains unknown. The major aim of this study was to study the associations between macro/micronutrient intake and the presence of low HDL-C in the PETALE cohort comprising of children and young adult survivors of cALL in the Province of Quebec, Canada.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

Participants were recruited between January 2013 and December 2016 as part of the PETALE study at Sainte-Justine University Health Center in Montreal (SJUHC) [34]. The PETALE study was established for investigating long-term sequelae in cALL survivors, namely cardiotoxicity, cardiometabolic complications, neurocognitive problems, bone morbidity and quality of life outcomes [34]. Participants ($n = 246$) were of European-descent living in the Province of Quebec and were treated for ALL at SJUHC according to Dana-Farber Cancer Institution-ALL protocols 87-01 to 2005-01. Participants were classified according to the types (precursor B-cell and precursor T-cell) and subtypes of ALL. The latter were grouped into 4 categories: 1. Hyperdiploidy, 2. Pre-B or pre-T with recurrent genetic abnormalities, 3. Hypodiploidy, 4. Not otherwise specified (NOS).

The Institutional Review Board of SJHUC approved the study and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants and/or parents/guardians.

2.2. Anthropometric Assessment

At visit, participants underwent anthropometric evaluations. Weight and height were measured with calibrated scale and height gauge. Waist circumference was measured in the horizontal plane of the superior border of the iliac crest as recommended by the National Cholesterol Education Program Third Adult Treatment Panel (NCEP ATP III) [35]. Waist-to-height ratio (WHtR, waist circumference (cm)/height (cm)) and body mass index (BMI, weight (kg)/height (m)²) were calculated.

2.3. Biochemical Assessment

Overnight fasting blood samples were collected in tubes containing 1 g/L EDTA and were kept on ice until centrifugation. Plasma was separated within 45 min of collection and stored at -80°C until analysis. Fasting insulin (pmol/L), glucose (mmol/L), total cholesterol (TC, mmol/L), triglycerides (mmol/L) and HDL-C (mmol/L) were measured as described previously [34]. Low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C, mmol/L) was calculated using the Friedewald formula [36]. For adults, values of HDL-C <1.03 mmol/L in men and <1.3 mmol/L in women were categorized as low [37]. In children, HDL-C values were classified as optimal, borderline or abnormal according to the Guidelines from the National Heart, Lung, and Blood Institute for gender and age group [38]. The homeostasis model assessment insulin resistance (HOMA-IR) was calculated using the formula: $(\text{insulin (mIU/L)} \times \text{glucose (mmol/L)})/22.5$. Reference values for age and gender are described in Table S1.

2.4. Assessment of Dietary Intake

Dietary intake was collected using a validated food frequency questionnaire (FFQ) comprising 190 items [39]. Two registered nutritionists alternately administered the FFQ to participants using measuring cups to facilitate portion size estimation. Participants were surveyed on the frequency of each item consumed during the past two months. Additional open- and closed-ended questions were asked in order to complete participants' reported food intake, including intake of dietary supplements. A validated in-house-built nutrient calculation tool was used to evaluate nutrient intakes derived from the FFQ [39]. Energy, macronutrients and micronutrients daily intakes were calculated for all the participants. Furthermore, items from the FFQ were classified into food groups: meat, fish and seafood, dairy, fat, vegetables, legumes, fruits and fast food (Table S2). Food groups were also classified into subgroups: white meat, red meat, processed meat, unsweetened dairy products, sweetened dairy products, nuts and seeds, refined grains with added sugar, refined grains with no added sugar and whole grains. We calculated daily intake of selected nutrients per 1000 kcal of energy (nutrient density): proteins, selenium, copper, zinc, phosphorus, riboflavin and niacin. Mean intake of nutrients was also calculated per kg of body weight.

2.5. Assessment of Physical Activity

Daily moderate to vigorous physical activities were measured with the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire [40,41] and the Tecumseh Self-Administered Occupational Physical Activity Questionnaire [42]. An experienced exercise physiologist conducted the interviews. The exercise physiologist first read the 20 sports included in the questionnaire and then guided the participants to recall any other sports or leisure physical activities they might have practiced in the last three months. Clarifications on frequency, duration and intensity of the activities were asked. A metabolic equivalent value (MET) from the Compendiums of Physical Activity for Adults and for Youth [43] was used to quantify the intensity of each activity. All activities with a MET value ≥ 3 were considered of moderate-to-vigorous intensity [43]. Total of daily minutes of moderate-to-vigorous leisure physical activities was then calculated.

2.6. Assessment of Estimated Energy Requirement, Energy Balance and Recommended Dietary Allowance

The definition of estimated energy requirement (EER) is the average dietary energy intake that is predicted to maintain energy balance in healthy, normal weight individuals of a defined age, gender, weight, height and level of physical activity consistent with good health [44]. The equation to calculate the EER differs between children/adolescents and adults. In addition to the total energy expenditure, the equation considers the needed energy for growth in children and adolescents (Table S3). The EER definition includes a physical activity coefficient that varies for gender and age and is categorized as sedentary, low active, active and very active (Table S3). Energy balance was calculated as the difference between participant's total daily energy intake and the EER. Recommended dietary allowance (RDA) of nutrients was determined for each participant according to their age group and gender using the recommendations (g/day) published by Health Canada [44]. Mean daily intake of nutrients was expressed as percentage of RDA.

2.7. Statistical Analysis

Wilcoxon signed-rank tests were used to compare energy and nutrient intake between cALL survivors with normal and low HDL-C. After an univariate analysis, multivariable logistic regression models were fitted to evaluate the associations between intakes of macro- and micronutrients and having low HDL-C. Tertiles or medians of the macro-micronutrients were examined for

association with low HDL-C after accounting for potential confounding from: BMI, age at diagnosis, sex, total energy intake and total of daily minutes of moderate-to-vigorous leisure physical activities. To enhance model fit, the square of the age variable was also included. Separate models were fit to examine associations between individual macro-micronutrients. For food groups, a single model that included all food groups (after accounting for potential confounders) was fit. Model adequacy in terms of its specification and goodness-of-fit was examined using standard methods. Chi-square tests were used to evaluate the relationships between ALL types/subtypes and HDL-C outcome. A *p* value inferior to 0.05 was considered statistically significant. Analyses were carried out using the STATA 10.1 version.

3. Results

3.1. Descriptive Statistics

Demographic and clinical characteristics of participants are summarized in Table 1. Five participants were excluded because of incomplete nutritional data. A total of 241 participants were included in the analyses (49.4% men) comprising of 156 adults (≥ 18 years old) and 85 children (< 18 years old). Median age at diagnosis was 4.7 years and median time since diagnosis was 15.4 years. Precursor B-cell and NOS were the most common type and subtype of ALL, respectively. Types and subtypes of ALL were found to have no influence on HDL-C outcome (data not shown). We found that 41.1% of participants had dyslipidemia defined by at least one abnormal lipid value. Specifically, 12.0% had high triglycerides, 17.4% high LDL-cholesterol and 22.8% had low HDL-C. However, the group median for HDL-C was 1.30 mmol/L (range: 1.27 to 1.34 mmol/L) that is classified as normal (Table 1). WHtR has been suggested as a better predictor than waist circumference for the metabolic syndrome and dyslipidemia [45,46]. A WHtR superior to 0.5 was associated with higher cardiovascular risk for adults and children of both genders [46]. Here, we found that 53.4% of the participants had WHtR > 0.5 , and that the prevalence was higher in adults than children (61.3% vs. 39.3%, respectively). A high BMI (adults: > 30 kg/m²; children: ≥ 97 th percentile) was found in 13.7% of the participants (16.7% in adults). Moreover, the median time of moderate-to-vigorous activity was 20.6 min per day and was higher in children than in adults (28.9 vs. 15.7 min/day) (Table 1).

Participants' daily intake of energy, macro- and micronutrient is presented in Table 2. Between the upper (tertile 3) and the lower tertile (tertile 1), the median of macronutrient intake was higher by 72% (carbohydrates) to 101% (dietary fibers). A higher range of intakes was observed for micronutrients, the differences between the third and first tertiles reaching 180% (vitamin C and D).

Then we expressed participants' intake of specific nutrients as percentage of RDA (proteins, selenium, copper, zinc, phosphorus, riboflavin and niacin) (Figure 1). For riboflavin, selenium and proteins, the intakes of all the participants were above 100% of the RDA. Yet, few participants did not meet 100% of the RDA for: niacin ($n = 7$), zinc ($n = 7$), copper ($n = 3$) and phosphorus ($n = 11$). Overall, it appears that most of the participants had intakes superior to the RDA for the nutrients listed.

3.2. Association between Macro- and Micronutrient Intake and Low HDL-C

The multivariable logistic regression analysis showed that higher intakes in several nutrients (third vs. first tertile) were inversely associated with low HDL-C presentation (Tables 3–5). These were: proteins (odd ratio (OR): 0.29, 95% CI: 0.08–1.00, $p = 0.05$), zinc (OR: 0.26, 95% CI: 0.08–0.84, $p < 0.05$), copper (OR: 0.27, 95% CI: 0.09–0.81, $p < 0.05$), selenium (OR: 0.16, 95% CI: 0.05–0.59, $p < 0.01$), niacin (OR: 0.26, 95% CI: 0.08–0.88, $p < 0.05$), and riboflavin (OR: 0.25, 95% CI: 0.07–0.86, $p < 0.05$). Of note, participants' level of physical activity, gender and the age at the interview were not associated with the low HDL-C outcome, whereas higher BMI and high daily energy intake were associated with low-HDL-C in all models (data not shown, but available on request) (Tables 3–5).

Next, we analyzed the associations between intakes of mean daily portions of food groups (meat, fish, dairy, fats, vegetables, legumes, fruits and fast food) and low HDL-C (Table 6). A higher intake of foods classified in the meat group (tertile 3 vs. tertile 1) was inversely associated with having low HDL-C (OR: 0.28, 95% CI: 0.09–0.83, $p = 0.022$). On the contrary, a higher intake of fast food (tertile 2 vs. tertile 1) was associated with higher risk of having low HDL-C (OR: 2.41, 95% CI: 1.03–5.63, $p = 0.043$). No associations between the food subgroups (white meat, red meat, processed meat, nuts and seeds, unsweetened dairy products, sweetened dairy products, refined

grains with no added sugar, refined grains with added sugar and whole grains) and low HDL-C were observed (data not shown).

3.3. Relationship between Mean Density Intake/Daily Intake and HDL-C Status

We compared mean density intake (g/1000 kcal) between cALL survivors with and without low HDL-C for macronutrients and micronutrients for which associations were established using logistic regressions. There were no statistically significant differences in energy and macronutrient intake per 1000 kcal between the two groups (Figure 2).

Nonetheless, mean density intake of selenium, copper, zinc and niacin were lower in participants with low HDL-C than those with normal values (Figure 3). No difference was found for riboflavin and phosphorus (Figure 3).

Mean daily intake of proteins (g/kg body weight) was lower (1.63 ± 0.61) in cALL survivors with low HDL-C compared to survivors with normal HDL-C levels (1.8 ± 0.55) (Figure 4). However, there was no statistically significant difference between the two groups for energy and other macronutrients (g/kg body weight) (Figure 4).

Mean daily intakes of five micronutrients were lower in participants with low HDL-C: selenium (2.39 ± 0.87 vs. 2.07 ± 0.86 mg/kg body weight), copper (0.032 ± 0.012 vs. 0.028 ± 0.017 mg/kg body weight), zinc (0.27 ± 0.09 vs. 0.23 ± 0.09 mg/kg body weight), riboflavin (0.05 ± 0.02 vs. 0.04 ± 0.01 mg/kg body weight) and niacin (0.45 ± 0.16 vs. 0.40 ± 0.17 mg/kg body weight) (Figure 5).

4. Discussion

The main findings of this study are the identification of an inverse association between high dietary intake of specific macro- and micronutrients and HDL-C levels in cALL survivors: proteins, selenium, zinc, copper, riboflavin and niacin. We also found that higher consumption of meat (including red and white meat), as a food group, was associated with having normal HDL-C, while fast food was associated with low HDL-C.

To date, few studies have evaluated the relationship between diet and cardiometabolic outcomes in pediatric cancer survivors, and none has specifically examined the associations with HDL-C. Poor adherence to dietary guidelines among adult survivors of cALL has been reflected by excess consumption of sugar, fat and insufficient intakes of whole grains, vegetables and fruits

[28,29]. Inadequate eating habits were also observed in our study. For example, average daily serving of fast food was >0.5 portion, serving of whole grains was <1 portion, and daily intake of fruits and vegetables were 2.1 and 3.1 portions respectively. In the general population, intake of specific nutrients such as proteins, folate and magnesium has been associated with higher blood levels of HDL-C [33,47]. Alcohol intake and myristic acid (14:0) were also associated to higher HDL-C levels, while dietary carbohydrates and iron were related to lower HDL-C [33]. A crossover clinical trial showed that a diet rich in complex carbohydrates, in replacement of fat (mainly monounsaturated fat), did not impact HDL-C concentrations [48]. However, it did increase the catabolic rate of several proteins on HDL particles such as apolipoprotein (Apo)-A1, Apo-A2 and Apo-E [48]. Moreover, a meta-analysis examining the effects of low-carbohydrate diets on body weight and cardiovascular risk showed that participants on a low-carbohydrate diet, compared with those on a low-fat diet, had a greater increase of HDL-C and of weight loss [49]. However, we did not find an association between carbohydrate or lipid intake, as protein was the only macronutrient associated with HDL-C.

In our study, a high BMI was associated with a low HDL-C. Adipose tissue is considered as an endocrine organ that releases pro-inflammatory adipokines, including plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), TNF- α , interleukin-6 (IL-6), resistin, leptin and adiponectin [50]. The secretion of these mediators alters body weight homeostasis and contributes to the development of insulin resistance, diabetes and dyslipidemia [51]. The relationship between abdominal obesity and low HDL-C has been demonstrated in several studies [52-55]. Furthermore, in our study, moderate-to-vigorous physical activity was not associated with HDL-C in the logistic regression models. This finding is contrary to many reports showing that physical activity positively impacts lipid profile [56,57] and particularly HDL-C [57-60]. However, data from the England and Scottish Health Survey (cohort of 37,059 adults) showed no statistically significant association between physical inactivity and having low HDL-C [61].

We found that higher protein intake was inversely associated with low HDL-C. However, protein intake was superior to the RDA for both participants with low and normal HDL-C. The RDA of 0.8 g protein/kg body weight represents the minimum protein consumption required to avoid a deficiency that could lead to the progressive loss of muscle mass in healthy adults [62,63].

Previous studies reported comparable findings in the general population. In a study using data from the NHANES 2001–2010 ($n = 23,876$ adults ≥ 19 years old), usual protein intake varied across deciles from 0.69 ± 0.004 to 1.51 ± 0.009 g/kg body weight and a diet higher in protein was associated with higher HDL-C levels [47]. The mechanisms by which protein intake could elevate HDL-C concentrations are still unknown, but it has been proposed that their properties, other than energy content, could be responsible for their beneficial effect [47].

In our study, only two food groups were found to be associated with the HDL-C outcome: fast food and meat. Similarly, in a prospective study that took place over a period of 20 years in young adults ($n = 5115$; 45.2 ± 3.6 years old), participants in the highest quartile of fast food intake, compared to the lowest quartile, were on average 5.7 kg heavier (95%CI: 2.1–9.2; $p = 0.002$), had a higher waist circumference of 5.3 cm (95%CI: 2.8–7.9; $p < 0.001$) and had lower HDL-C by 0.14 mmol/L (95%CI: –8.3–2.6; $p < 0.001$) [64]. Meat provides high-quality proteins, essential amino acids and micronutrients such as iron, vitamins A and B12, zinc, selenium and folic acid. However, lines of evidence suggested that diets high in red (beef, pork, lamb and veal) and processed meat (smoked, cured or preserved) are associated with the development of cardiovascular diseases [65,66], but this remains controversial [67-70]. The impact of weekly consumption of 200 and 500 g of unprocessed, lean red meat in a Mediterranean diet pattern was assessed in a two 5-week randomized, crossover, controlled trial. [71]. At the end of the intervention, there was no difference in the decrease of HDL-C between the two diets [71]. The results of a meta-analysis, including randomized controlled trials, showed that the consumption of ≥ 0.5 servings of red meat/day do not influence HDL-C [72]. In our study, participants consumed on average 0.44 serving of red meat per day (33 g/per day or 231 g/per week). The meat food group included red, white and processed meat. Stratifying the analysis into the three meat sub-groups did not reveal any significant association or trend, most likely because of the lack of power. Additional studies are needed in populations of cALL survivors to confirm and understand the association between meat and HDL-C.

A network meta-analysis ranked 10 major food groups (refined grains, whole grains, fruits and vegetables, nuts, legumes, eggs, dairy, red meat, fish, and sugar-sweetened beverages) according to their effects on cardiometabolic outcomes including HDL-C [73]. Fish was ranked first

at increasing HDL-C before nuts, eggs, red meat, refined grains and whole grains that were also found effective [73]. Legumes were ranked last after sugar-sweetened beverages. While these results are in line with our findings for the meat food group, we did not observe associations between the consumption of fish, nuts, whole grains and refined grains and HDL-C. The small sample size might explain the lack of associations. Similarly, in our study, the legume food group composed of plant proteins (legumes and tofu) was not associated with HDL-C in the logistic regression model. This could be partially explained by the fact that the average daily consumption of legumes was very low (group median of 0.03 portion/day).

Selenium, zinc, copper, riboflavin and niacin are minerals and vitamins found mostly in foods rich in proteins. Cereal products, legumes, nuts, meat, fish, dairy and eggs are the main sources for these micronutrients. For four of these five nutrients, the mean density intake (g/1000 kcal) was significantly lower in cALL survivors with low HDL-C. However, intakes were greater than or very close to 100% of the RDA for all the participants. Similarly, the American national survey NHANES (2007–2010) reported a low prevalence of intake inadequacy for all B vitamins and for several minerals including copper, phosphorus, selenium and zinc [74].

Some of the main functions of these micronutrients are related to metabolism, gene transcription and oxidative balance [75]. Selenium, a trace metal, is known for its antioxidant capacity that is attributed to its integration in selenoproteins such as glutathione peroxidase [76]. Here, we found a positive relationship between selenium intake and HDL-C. To our knowledge, this has not been investigated elsewhere. However, the impact of selenium blood levels or supplementation on HDL-C is conflicting: a study reported a positive association [77] whereas others did not find any relationship [78-80].

Zinc is a structural component of proteins and participates in several cellular functions including cell proliferation and differentiation, RNA and DNA synthesis, stabilization of cell membranes, redox regulation and apoptosis [81]. A meta-analysis has highlighted that zinc supplementation in humans reduces HDL-C levels by 0.05 mmol/L (95% CI: -0.74–4.98) compared to placebo, but without reaching statistical significance ($p = 0.15$) [82]. However, in metabolically non-healthy participants, zinc supplementation increased HDL-C (0.16 mmol/L, 95%CI: 2.38–9.92,

$p < 0.05$) [82]. Therefore, it appears that the positive relationship between zinc intake and HDL-C observed in our study is comparable to previous findings in the metabolically unhealthy.

Copper is essential for various enzymes that catalyze redox reactions, including superoxide dismutase [83]. Copper supplementation (5 mg/day) for 45 days in 73 hypercholesterolemic patients (26–46 years old) decreased total cholesterol, LDL-C and triglycerides and slightly increased HDL-C [84]. However, in a study including healthy men with adequate copper status, copper supplementation did not affect lipid profiles [85]. Since survivors of childhood cancer are at risk for metabolic alterations [4-7], the impact of copper intake on HDL-C might be of greater amplitude than for healthy populations.

Riboflavin, or vitamin B2, is essential for haematological, neurological, cardiovascular, and endocrine system functioning because of its role in mitochondrial and energy metabolism [86]. A study using data from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2015–2016 ($n = 6062$; ≥ 19 years old) had findings in line with ours: poor riboflavin intake (< 1.5 mg/day) in men was associated with low HDL-C (OR: 1.362, 95% CI: 1.017–1.824, $p = 0.038$) [86]. However, in our cohort, riboflavin intakes of all participants were superior to the RDA.

Niacin is a collective term for nicotinic acid and its derivatives, such as nicotinamide. Nicotinic acid is a soluble vitamin that belongs to the B vitamin group [87]. Pharmacological doses of nicotinic acid impact lipid profile by increasing HDL-C and reducing triglycerides, LDL-C and lipoprotein (a) [88]. Moreover, a lower dietary intake of the vitamins niacin, riboflavin, thiamine, B6 and vitamin C has been associated with an increased severity of coronary disease [89]. However, the relationship between niacin dietary intake and HDL-C has not been assessed elsewhere, to our knowledge.

A strength of our study is that it is the first to examine the influence of dietary intakes on HDL-C levels in cALL survivors, a population at increased risk of dyslipidemia. The use of a validated FFQ tailored for our targeted population is another strength. One limitation is having solely examined the associations between nutrient intake and HDL-C levels without investigating the impact on HDL composition and functionality. HDL-C measurements are important to assess cardiovascular risk [90], but it appears that lipoprotein composition rather than concentration better predicts cardiovascular events [91,92]. Next, FFQs are tools commonly used to estimate

usual food intake in epidemiological studies in order to examine associations between diet and diseases [93]. It is possible that dietary intakes were over- or underestimated even with the use of a validated FFQ. In addition, although we included relevant covariates in our multivariable logistic regression analysis to avoid confounding effects, variables that were not tested (e.g., smoking and alcohol) could have had an effect. Moreover, given the cross-sectional measurements, causality between nutrient intakes and HDL-C levels cannot be proven. In addition, because of the limited sample size, we were not able to further stratify the analyses to investigate associations with food sub-groups and hence better explain our findings. Finally, data were not compared to a control population without history of cancer. Thus, the study outcomes are purely descriptive and need to be validated in other cohorts.

5. Conclusions

Our study supports a potential beneficial effect of dietary proteins, meat, selenium, zinc, copper, riboflavin, and niacin and a deleterious effect of fast food on HDL-C in cALL survivors. This preliminary groundwork provides fundamentals that contribute to our understanding of the role of nutrition in the development of dyslipidemia in this population. Based on these results, we propose that a diet rich in high-quality lean proteins and in key micronutrients could contribute to protect cALL survivors against having low HDL-C. This study emphasizes the role of nutrition in the development of dyslipidemia after cancer treatment. Nutritional strategies could be a valuable approach to preventing long-term cardiometabolic complications in cALL survivors.

Supplementary Materials: The following are available online at www.mdpi.com/xxx/s1, Table S1: Cut-off values for cardiometabolic outcomes, Table S2: Classification of food groups, Table S3: Calculation of Estimated Energy Requirement.

Author Contributions: Conceptualization, C.L., D.C., M.K., D.S., E.L. and V.M.; methodology, V.M., D.A., E.L. and S.M.; formal analysis, D.A., S.M. and E.T.; investigation, S.M., V.M. and M.C.; writing—original draft preparation, S.M., M.C., E.T. and V.M.; writing—review and editing, V.M., E.L., D.S., M.K., C.L., D.C., M.C. and E.T.; supervision, E.L. and V.M.; project administration, D.S., C.L., E.L. and V.M.; funding acquisition, D.S., M.K., C.L. and E.L.

Funding: This research was funded by the Institute of Cancer Research (ICR) of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society (CCS), Cancer Research Society (CRS), Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research (OICR) and Pediatric Oncology Group of Ontario (POGO), grant number: TCF 118694, by the J.A. DeSève Research Chair in Nutrition, the Fonds de Recherche du Québec en Santé and by a Transition Grant from the Cole Foundation.

Acknowledgments: We wish to thank the cALL survivors that generously gave of their time to be part of the PETALE study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Pui, C.-H.; Mullighan, C.G.; Evans, W.E.; Relling, M.V. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* **2012**, *120*, 1165-1174.
2. Essig, S.; Li, Q.; Chen, Y.; Hitzler, J.; Leisenring, W.; Greenberg, M.; Sklar, C.; Hudson, M.M.; Armstrong, G.T.; Krull, K.R., *et al.* Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* **2014**, *15*, 841-851. 10.1016/S1470-2045(14)70265-7
3. Mody, R.; Li, S.; Dover, D.C.; Sallan, S.; Leisenring, W.; Oeffinger, K.C.; Yasui, Y.; Robison, L.L.; Neglia, J.P. Twenty five year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* **2008**.
4. Janiszewski, P.M.; Oeffinger, K.C.; Church, T.S.; Dunn, A.L.; Eshelman, D.A.; Victor, R.G.; Brooks, S.; Turoff, A.J.; Sinclair, E.; Murray, J.C., *et al.* Abdominal obesity, liver fat, and muscle composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* **2007**, *92*, 3816-3821. 10.1210/jc.2006-2178
5. Chow, E.J.; Pihoker, C.; Hunt, K.; Wilkinson, K.; Friedman, D.L. Obesity and hypertension among children after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **2007**, *110*, 2313-2320. 10.1002/cncr.23050

6. Neville, K.A.; Cohn, R.J.; Steinbeck, K.S.; Johnston, K.; Walker, J.L. Hyperinsulinemia, impaired glucose tolerance, and diabetes mellitus in survivors of childhood cancer: prevalence and risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* **2006**, *91*, 4401-4407. 10.1210/jc.2006-0128
7. Malhotra, J.; Tonorezos, E.S.; Rozenberg, M.; Vega, G.L.; Sklar, C.A.; Chou, J.; Moskowitz, C.S.; Eshelman-Kent, D.A.; Janiszewski, P.; Ross, R., *et al.* Atherogenic low density lipoprotein phenotype in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Lipid Res* **2012**, *53*, 2747-2754. 10.1194/jlr.P029785
8. Link, K.; Moell, C.; Garwicz, S.; Cavallin-Stahl, E.; Bjork, J.; Thilen, U.; Ahren, B.; Erfurth, E.M. Growth hormone deficiency predicts cardiovascular risk in young adults treated for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**, *89*, 5003-5012. 10.1210/jc.2004-0126
9. Oeffinger, K.C.; Adams-Huet, B.; Victor, R.G.; Church, T.S.; Snell, P.G.; Dunn, A.L.; Eshelman-Kent, D.A.; Ross, R.; Janiszewski, P.M.; Turoff, A.J., *et al.* Insulin resistance and risk factors for cardiovascular disease in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* **2009**, *27*, 3698-3704. 10.1200/JCO.2008.19.7251
10. Nottage, K.A.; Ness, K.K.; Li, C.; Srivastava, D.; Robison, L.L.; Hudson, M.M. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br J Haematol* **2014**, *165*, 364-374. 10.1111/bjh.12754
11. Morel, S.; Leahy, J.; Fournier, M.; Lamarche, B.; Garofalo, C.; Grimard, G.; Poulain, F.; Delvin, E.; Laverdiere, C.; Krajcinovic, M., *et al.* Lipid and lipoprotein abnormalities in acute lymphoblastic leukemia survivors. *J Lipid Res* **2017**, *58*, 982-993. 10.1194/jlr.M072207
12. Fournier, M.; Bonneil, E.; Garofalo, C.; Grimard, G.; Laverdiere, C.; Krajcinovic, M.; Drouin, S.; Sinnett, D.; Marcil, V.; Levy, E. Altered proteome of high-density lipoproteins from paediatric acute lymphoblastic leukemia survivors. *Sci Rep* **2019**, *9*, 4268. 10.1038/s41598-019-40906-x

13. Kontush, A.; Chapman, M.J. Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. *Curr Opin Lipidol* **2010**, *21*, 312-318. 10.1097/MOL.0b013e32833bc1
14. Soran, H.; Schofield, J.D.; Durrington, P.N. Antioxidant properties of HDL. *Front Pharmacol* **2015**, *6*, 222. 10.3389/fphar.2015.00222
15. Ruiz, M.; Okada, H.; Dahlback, B. HDL-associated ApoM is anti-apoptotic by delivering sphingosine 1-phosphate to S1P1 & S1P3 receptors on vascular endothelium. *Lipids Health Dis* **2017**, *16*, 36. 10.1186/s12944-017-0429-2
16. Ebtehaj, S.; Gruppen, E.G.; Parvizi, M.; Tietge, U.J.F.; Dullaart, R.P.F. The anti-inflammatory function of HDL is impaired in type 2 diabetes: role of hyperglycemia, paraoxonase-1 and low grade inflammation. *Cardiovasc Diabetol* **2017**, *16*, 132. 10.1186/s12933-017-0613-8
17. Adams, V.; Besler, C.; Fischer, T.; Riwanto, M.; Noack, F.; Hollriegel, R.; Oberbach, A.; Jehmlich, N.; Volker, U.; Winzer, E.B., *et al.* Exercise training in patients with chronic heart failure promotes restoration of high-density lipoprotein functional properties. *Circ Res* **2013**, *113*, 1345-1355. 10.1161/CIRCRESAHA.113.301684
18. van der Stoep, M.; Korporaal, S.J.; Van Eck, M. High-density lipoprotein as a modulator of platelet and coagulation responses. *Cardiovasc Res* **2014**, *103*, 362-371. 10.1093/cvr/cvu137
19. Yoo, S.; Nicklas, T.; Baranowski, T.; Zakeri, I.F.; Yang, S.J.; Srinivasan, S.R.; Berenson, G.S. Comparison of dietary intakes associated with metabolic syndrome risk factors in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr* **2004**, *80*, 841-848. 10.1093/ajcn/80.4.841
20. Wirfalt, E.; Hedblad, B.; Gullberg, B.; Mattisson, I.; Andren, C.; Rosander, U.; Janzon, L.; Berglund, G. Food patterns and components of the metabolic syndrome in men and women: a cross-sectional study within the Malmo Diet and Cancer cohort. *Am J Epidemiol* **2001**, *154*, 1150-1159. 10.1093/aje/154.12.1150

21. Lutsey, P.L.; Steffen, L.M.; Stevens, J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation* **2008**, *117*, 754-761. 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.716159
22. Tovar, J.; Johansson, M.; Bjorck, I. A multifunctional diet improves cardiometabolic-related biomarkers independently of weight changes: an 8-week randomized controlled intervention in healthy overweight and obese subjects. *Eur J Nutr* **2016**, *55*, 2295-2306. 10.1007/s00394-015-1039-2
23. Erlund, I.; Koli, R.; Alfthan, G.; Marniemi, J.; Puukka, P.; Mustonen, P.; Mattila, P.; Jula, A. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* **2008**, *87*, 323-331.
24. Bradbury, K.E.; Crowe, F.L.; Appleby, P.N.; Schmidt, J.A.; Travis, R.C.; Key, T.J. Serum concentrations of cholesterol, apolipoprotein A-I and apolipoprotein B in a total of 1694 meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans. *Eur J Clin Nutr* **2014**, *68*, 178-183. 10.1038/ejcn.2013.248
25. Satija, A.; Bhupathiraju, S.N.; Rimm, E.B.; Spiegelman, D.; Chiuve, S.E.; Borgi, L.; Willett, W.C.; Manson, J.E.; Sun, Q.; Hu, F.B. Plant-Based Dietary Patterns and Incidence of Type 2 Diabetes in US Men and Women: Results from Three Prospective Cohort Studies. *PLoS Med* **2016**, *13*, e1002039. 10.1371/journal.pmed.1002039
26. Steffen, L.M.; Kroenke, C.H.; Yu, X.; Pereira, M.A.; Slattery, M.L.; Van Horn, L.; Gross, M.D.; Jacobs, D.R., Jr. Associations of plant food, dairy product, and meat intakes with 15-y incidence of elevated blood pressure in young black and white adults: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Am J Clin Nutr* **2005**, *82*, 1169-1177; quiz 1363-1164. 10.1093/ajcn/82.6.1169
27. Kaliora, A.C.; Dedoussis, G.V. Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. *Pharmacol Res* **2007**, *56*, 99-109. 10.1016/j.phrs.2007.04.018

28. Robien, K.; Ness, K.K.; Klesges, L.M.; Baker, K.S.; Gurney, J.G. Poor adherence to dietary guidelines among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* **2008**, *30*, 815-822. 10.1097/MPH.0b013e31817e4ad9
29. Tylavsky, F.A.; Smith, K.; Surprise, H.; Garland, S.; Yan, X.; McCammon, E.; Hudson, M.M.; Pui, C.H.; Kaste, S.C. Nutritional intake of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: evidence for bone health interventional opportunities. *Pediatr Blood Cancer* **2010**, *55*, 1362-1369. 10.1002/pbc.22737
30. Tonorezos, E.S.; Robien, K.; Eshelman-Kent, D.; Moskowitz, C.S.; Church, T.S.; Ross, R.; Oeffinger, K.C. Contribution of diet and physical activity to metabolic parameters among survivors of childhood leukemia. *Cancer Causes Control* **2013**, *24*, 313-321. 10.1007/s10552-012-0116-6
31. Landy, D.C.; Lipsitz, S.R.; Kurtz, J.M.; Hinkle, A.S.; Constine, L.S.; Adams, M.J.; Lipshultz, S.E.; Miller, T.L. Dietary quality, caloric intake, and adiposity of childhood cancer survivors and their siblings: an analysis from the cardiac risk factors in childhood cancer survivors study. *Nutr Cancer* **2013**, *65*, 547-555. 10.1080/01635581.2013.770042
32. Hernaez, A.; Castaner, O.; Fito, M. Response to Letter Regarding Article, "Mediterranean Diet Improves High-Density Lipoprotein Function in High-Cardiovascular-Risk Individuals: A Randomized Controlled Trial". *Circulation* **2017**, *136*, 342-343. 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029013
33. Kim, D.S.; Burt, A.A.; Ranchalis, J.E.; Jarvik, L.E.; Eintracht, J.F.; Furlong, C.E.; Jarvik, G.P. Effects of dietary components on high-density lipoprotein measures in a cohort of 1,566 participants. *Nutr Metab (Lond)* **2014**, *11*, 44. 10.1186/1743-7075-11-44
34. Marcoux, S.; Drouin, S.; Laverdiere, C.; Alos, N.; Andelfinger, G.U.; Bertout, L.; Curnier, D.; Friedrich, M.G.; Kritikou, E.A.; Lefebvre, G., *et al.* The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2017**, *64*. 10.1002/pbc.26361

35. Health, N.I.o. Clinical guidelines for the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults-the evidence report. *Obes Res* **1998**, *6*, 51S-209S.
36. Friedewald, W.; Levy, R.; Fredickson, D. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* **1976**, *18*, 499-502.
37. Genest, J.; McPherson, R.; Frohlich, J.; Anderson, T.; Campbell, N.; Carpentier, A.; Couture, P.; Dufour, R.; Fodor, G.; Francis, G.A., *et al.* 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult - 2009 recommendations. *Can J Cardiol* **2009**, *25*, 567-579.
38. Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular, H.; Risk Reduction in, C.; Adolescents; National Heart, L.; Blood, I. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics* **2011**, *128 Suppl 5*, S213-256. 10.1542/peds.2009-2107C
39. Morel, S.; Portolese, O.; Chertouk, Y.; Leahy, J.; Bertout, L.; Laverdiere, C.; Krajinovic, M.; Sinnett, D.; Levy, E.; Marcil, V. Development and relative validation of a food frequency questionnaire for French-Canadian adolescent and young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Nutr J* **2018**, *17*, 45. 10.1186/s12937-018-0355-9
40. Taylor, H.L.; Jacobs Jr, D.R.; Schucker, B.; Knudsen, J.; Leon, A.S.; Debacker, G. A questionnaire for the assessment of leisure time physical activities. *J. Chronic Dis.* **1978**, *31*, 741-755.
41. Kriska, A.M.; Caspersen, C.J. Introduction to a collection of physical activity questionnaires. *Medicine& Science in Sports & Exercise* **1997**, *29*, 5-9.
42. Montoye, H.J. Estimation of habitual physical activity by questionnaire and interview. *The American journal of clinical nutrition* **1971**, *24*, 1113-1118.
43. Ridley, K.; Ainsworth, B.E.; Olds, T.S. Development of a compendium of energy expenditures for youth. *Int J Behav Nutr Phys Act* **2008**, *5*, 45. 10.1186/1479-5868-5-45

44. Government of Canada, H.C. Dietary Reference Intakes Tables. Available on line: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy-eating/dietary-reference-intakes/tables.html> (accessed on September 9, 2019),
45. Khoury, M.; Manhiot, C.; McCrindle, B.W. Role of the waist/height ratio in the cardiometabolic risk assessment of children classified by body mass index. *J Am Coll Cardiol* **2013**, *62*, 742-751. 10.1016/j.jacc.2013.01.026
46. Ashwell, M.; Gunn, P.; Gibson, S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* **2012**, *13*, 275-286. 10.1111/j.1467-789X.2011.00952.x
47. Pasiakos, S.M.; Lieberman, H.R.; Fulgoni III, V.L. Higher-protein diets are associated with higher HDL cholesterol and lower BMI and waist circumference in US adults. *The Journal of nutrition* **2015**, *145*, 605-614.
48. Andraski, A.B.; Singh, S.A.; Lee, L.H.; Higashi, H.; Smith, N.; Zhang, B.; Aikawa, M.; Sacks, F.M. Effects of Replacing Dietary Monounsaturated Fat With Carbohydrate on HDL (High-Density Lipoprotein) Protein Metabolism and Proteome Composition in Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2019**, ATVBAHA119312889. 10.1161/ATVBAHA.119.312889
49. Mansoor, N.; Vinknes, K.J.; Veierod, M.B.; Retterstol, K. Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* **2016**, *115*, 466-479. 10.1017/S0007114515004699
50. Kang, Y.E.; Kim, J.M.; Joung, K.H.; Lee, J.H.; You, B.R.; Choi, M.J.; Ryu, M.J.; Ko, Y.B.; Lee, M.A.; Lee, J., *et al.* The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. *PLoS One* **2016**, *11*, e0154003. 10.1371/journal.pone.0154003
51. Farb, M.G.; Gokce, N. Visceral adiposopathy: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig* **2015**, *21*, 125-136. 10.1515/hmbci-2014-0047
52. Tangvarasittichai, S.; Pongthaisong, S.; Meemark, S.; Tangvarasittichai, O. Abdominal Obesity Associated with Elevated Serum Butyrylcholinesterase Activity, Insulin Resistance

- and Reduced High Density Lipoprotein-Cholesterol Levels. *Indian J Clin Biochem* **2015**, *30*, 275-280. 10.1007/s12291-014-0443-3
53. Taylor, A.E.; Ebrahim, S.; Ben-Shlomo, Y.; Martin, R.M.; Whincup, P.H.; Yarnell, J.W.; Wannamethee, S.G.; Lawlor, D.A. Comparison of the associations of body mass index and measures of central adiposity and fat mass with coronary heart disease, diabetes, and all-cause mortality: a study using data from 4 UK cohorts. *Am J Clin Nutr* **2010**, *91*, 547-556. 10.3945/ajcn.2009.28757
54. Roever, L.S.; Resende, E.S.; Diniz, A.L.; Penha-Silva, N.; Veloso, F.C.; Casella-Filho, A.; Dourado, P.M.; Chagas, A.C. Abdominal Obesity and Association With Atherosclerosis Risk Factors: The Uberlandia Heart Study. *Medicine (Baltimore)* **2016**, *95*, e1357. 10.1097/MD.0000000000001357
55. Tresaco, B.; Moreno, L.A.; Ruiz, J.R.; Ortega, F.B.; Bueno, G.; Gonzalez-Gross, M.; Warnberg, J.; Gutierrez, A.; Garcia-Fuentes, M.; Marcos, A., *et al.* Truncal and abdominal fat as determinants of high triglycerides and low HDL-cholesterol in adolescents. *Obesity (Silver Spring)* **2009**, *17*, 1086-1091. 10.1038/oby.2008.626
56. Wang, Y.; Xu, D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids Health Dis* **2017**, *16*, 132. 10.1186/s12944-017-0515-5
57. Kodama, S.; Tanaka, S.; Saito, K.; Shu, M.; Sone, Y.; Onitake, F.; Suzuki, E.; Shimano, H.; Yamamoto, S.; Kondo, K., *et al.* Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Arch Intern Med* **2007**, *167*, 999-1008. 10.1001/archinte.167.10.999
58. Aadahl, M.; Kjaer, M.; Jorgensen, T. Associations between overall physical activity level and cardiovascular risk factors in an adult population. *Eur J Epidemiol* **2007**, *22*, 369-378. 10.1007/s10654-006-9100-3
59. Doddamani, S.; Nikam, S.; Nikam, P.; Patil, V. HDL, Apolipoprotein AI and Lecithin cholesterol acyl transferase activity in athletes. *Biomedical Research* **2014**, *25*, 339-342.

60. Olchawa, B.; Kingwell, B.A.; Hoang, A.; Schneider, L.; Miyazaki, O.; Nestel, P.; Sviridov, D. Physical fitness and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **2004**, *24*, 1087-1091.
61. O'Donovan, G.; Stensel, D.; Hamer, M.; Stamatakis, E. The association between leisure-time physical activity, low HDL-cholesterol and mortality in a pooled analysis of nine population-based cohorts. *European journal of epidemiology* **2017**, *32*, 559-566.
62. Organization, W.H.; University, U.N. *Protein and amino acid requirements in human nutrition*. World Health Organization: 2007; Vol. 935.
63. Food; Nutrition Board, I. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). National Academy Press Washington (DC): 2005.
64. Duffey, K.J.; Gordon-Larsen, P.; Steffen, L.M.; Jacobs, D.R., Jr.; Popkin, B.M. Regular consumption from fast food establishments relative to other restaurants is differentially associated with metabolic outcomes in young adults. *J Nutr* **2009**, *139*, 2113-2118. 10.3945/jn.109.109520
65. Rohrmann, S.; Overvad, K.; Bueno-de-Mesquita, H.B.; Jakobsen, M.U.; Egeberg, R.; Tjønneland, A.; Nailler, L.; Boutron-Ruault, M.C.; Clavel-Chapelon, F.; Krogh, V., *et al.* Meat consumption and mortality--results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *BMC Med* **2013**, *11*, 63. 10.1186/1741-7015-11-63
66. Chen, G.C.; Lv, D.B.; Pang, Z.; Liu, Q.F. Red and processed meat consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr* **2013**, *67*, 91-95. 10.1038/ejcn.2012.180
67. Johnston, B.C.; Zeraatkar, D.; Han, M.A.; Vernooij, R.W.M.; Valli, C.; El Dib, R.; Marshall, C.; Stover, P.J.; Fairweather-Taitt, S.; Wojcik, G., *et al.* Unprocessed Red Meat and Processed Meat Consumption: Dietary Guideline Recommendations From the Nutritional Recommendations (NutriRECS) Consortium. *Ann Intern Med* **2019**. 10.7326/M19-1621

68. Zeraatkar, D.; Johnston, B.C.; Bartoszko, J.; Cheung, K.; Bala, M.M.; Valli, C.; Rabassa, M.; Sit, D.; Milio, K.; Sadeghirad, B., *et al.* Effect of Lower Versus Higher Red Meat Intake on Cardiometabolic and Cancer Outcomes: A Systematic Review of Randomized Trials. *Ann Intern Med* **2019**. 10.7326/M19-0622
69. Vernooij, R.W.M.; Zeraatkar, D.; Han, M.A.; El Dib, R.; Zworth, M.; Milio, K.; Sit, D.; Lee, Y.; Gomaa, H.; Valli, C., *et al.* Patterns of Red and Processed Meat Consumption and Risk for Cardiometabolic and Cancer Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis of Cohort Studies. *Ann Intern Med* **2019**. 10.7326/M19-1583
70. Dyer, O. No need to cut red meat, say new guidelines. *BMJ* **2019**, 367, l5809. 10.1136/bmj.l5809
71. O'Connor, L.E.; Paddon-Jones, D.; Wright, A.J.; Campbell, W.W. A Mediterranean-style eating pattern with lean, unprocessed red meat has cardiometabolic benefits for adults who are overweight or obese in a randomized, crossover, controlled feeding trial. *Am J Clin Nutr* **2018**, 108, 33-40. 10.1093/ajcn/nqy075
72. O'Connor, L.E.; Kim, J.E.; Campbell, W.W. Total red meat intake of ≥ 0.5 servings/d does not negatively influence cardiovascular disease risk factors: a systemically searched meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* **2017**, 105, 57-69. 10.3945/ajcn.116.142521
73. Schwingshackl, L.; Hoffmann, G.; Iqbal, K.; Schwedhelm, C.; Boeing, H. Food groups and intermediate disease markers: a systematic review and network meta-analysis of randomized trials. *Am J Clin Nutr* **2018**, 108, 576-586. 10.1093/ajcn/nqy151
74. Wallace, T.C.; McBurney, M.; Fulgoni, V.L., 3rd. Multivitamin/mineral supplement contribution to micronutrient intakes in the United States, 2007-2010. *J Am Coll Nutr* **2014**, 33, 94-102. 10.1080/07315724.2013.846806
75. Shenkin, A. Micronutrients in health and disease. *Postgrad Med J* **2006**, 82, 559-567. 10.1136/pgmj.2006.047670

76. Papp, L.V.; Lu, J.; Holmgren, A.; Khanna, K.K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants & redox signaling* **2007**, *9*, 775-806.
77. Bleys, J.; Navas-Acien, A.; Stranges, S.; Menke, A.; Miller, E.R., 3rd; Guallar, E. Serum selenium and serum lipids in US adults. *Am J Clin Nutr* **2008**, *88*, 416-423. 10.1093/ajcn/88.2.416
78. Stranges, S.; Laclaustra, M.; Ji, C.; Cappuccio, F.P.; Navas-Acien, A.; Ordovas, J.M.; Rayman, M.; Guallar, E. Higher selenium status is associated with adverse blood lipid profile in British adults. *J Nutr* **2010**, *140*, 81-87. 10.3945/jn.109.111252
79. Rayman, M.P.; Stranges, S.; Griffin, B.A.; Pastor-Barriuso, R.; Guallar, E. Effect of supplementation with high-selenium yeast on plasma lipids: a randomized trial. *Annals of internal medicine* **2011**, *154*, 656-665.
80. Hasani, M.; Djalalinia, S.; Sharifi, F.; Varmaghani, M.; Zarei, M.; Abdar, M.E.; Asayesh, H.; Noroozi, M.; Kasaeian, A.; Gorabi, A.M. Effect of Selenium Supplementation on Lipid Profile: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hormone and Metabolic Research* **2018**, *50*, 715-727.
81. Maywald, M.; Wessels, I.; Rink, L. Zinc signals and immunity. *International journal of molecular sciences* **2017**, *18*, 2222.
82. Ranasinghe, P.; Wathurapatha, W.; Ishara, M.; Jayawardana, R.; Galappaththy, P.; Katulanda, P.; Constantine, G. Effects of Zinc supplementation on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition & metabolism* **2015**, *12*, 26.
83. Bo, S.; Durazzo, M.; Gambino, R.; Berutti, C.; Milanesio, N.; Caropreso, A.; Gentile, L.; Cassader, M.; Cavallo-Perin, P.; Pagano, G. Associations of dietary and serum copper with inflammation, oxidative stress, and metabolic variables in adults. *J Nutr* **2008**, *138*, 305-310. 10.1093/jn/138.2.305
84. Alarcon-Corredor, O.M.; Guerrero, Y.; Ramirez de Fernandez, M.; D'Jesus, I.; Burguera, M.; Burguera, J.L.; Di Bernardo, M.L.; Garcia, M.Y.; Alarcon, A.O. [Effect of copper

- supplementation on lipid profile of Venezuelan hyperlipemic patients]. *Arch Latinoam Nutr* **2004**, *54*, 413-418.
85. Rojas-Sobarzo, L.; Olivares, M.; Brito, A.; Suazo, M.; Araya, M.; Pizarro, F. Copper supplementation at 8 mg neither affects circulating lipids nor liver function in apparently healthy Chilean men. *Biol Trace Elem Res* **2013**, *156*, 1-4. 10.1007/s12011-013-9823-4
 86. Shin, W.Y.; Kim, J.H. Low riboflavin intake is associated with cardiometabolic risks in Korean women. *Asia Pac J Clin Nutr* **2019**, *28*, 285-299. 10.6133/apjcn.201906_28(2).0011
 87. Minto, C.; Vecchio, M.G.; Lamprecht, M.; Gregori, D. Definition of a tolerable upper intake level of niacin: a systematic review and meta-analysis of the dose-dependent effects of nicotinamide and nicotinic acid supplementation. *Nutrition reviews* **2017**, *75*, 471-490.
 88. Guyton, J.R. Niacin in cardiovascular prevention: mechanisms, efficacy, and safety. *Current opinion in lipidology* **2007**, *18*, 415-420.
 89. Mahalle, N.; Garg, M.; Naik, S.; Kulkarni, M. Association of dietary factors with severity of coronary artery disease. *Clinical nutrition ESPEN* **2016**, *15*, 75-79.
 90. Hassan, M.; Philip, P. CANHEART: Is HDL cholesterol a cardiovascular specific risk factor? *Glob Cardiol Sci Pract* **2016**, *2016*, e201634. 10.21542/gcsp.2016.34
 91. Parish, S.; Peto, R.; Palmer, A.; Clarke, R.; Lewington, S.; Offer, A.; Whitlock, G.; Clark, S.; Youngman, L.; Sleight, P., *et al.* The joint effects of apolipoprotein B, apolipoprotein A1, LDL cholesterol, and HDL cholesterol on risk: 3510 cases of acute myocardial infarction and 9805 controls. *Eur Heart J* **2009**, *30*, 2137-2146. 10.1093/eurheartj/ehp221
 92. Walldius, G.; Jungner, I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med* **2004**, *255*, 188-205.
 93. Molag, M.L.; de Vries, J.H.; Ocké, M.C.; Dagnelie, P.C.; van den Brandt, P.A.; Jansen, M.C.; van Staveren, W.A.; van't Veer, P. Design characteristics of food frequency questionnaires in relation to their validity. *American journal of epidemiology* **2007**, *166*, 1468-1478.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of participants.

	Total n = 241	Adults n = 156	Children n = 85
	Median (range or interquartile range ¹)		
Age at visit, years (range)	21.3 (8.5–40.9)	24.6 (18.0–40.9)	16.2 (8.5–17.9)
Age at cancer diagnosis, years (range)	4.7 (0.9–18.0)	6.5 (0.9–18.0)	3.5 (1.3–10.9)
Time since end of treatment, years (range)	12.9 (3.3–26.1)	16.11 (3.9–26.1)	9.60 (3.3–13.4)
Gender (male, %)	49.4	57.3	49.4
ALL types ²			
Pre-B ALL (n, %)	208 (88.5)	128 (84.8)	80 (95.2)
Pre-T ALL (n, %)	27 (11.5)	23 (15.2)	4 (4.8)
ALL subtypes ³			
Hyperdiploidy (n, %)	33 (21.6)	18 (19.8)	15 (24.2)
Pre-B or Pre-T with recurrent genetic abnormalities (n, %)	52 (34.0)	28 (30.8)	24 (38.7)
Hypodiploidy (n, %)	4 (2.6)	3 (3.3)	1 (1.6)
Others (NOS) (n, %)	64 (41.8)	42 (46.1)	22 (35.5)
Metabolic data			
Physical activity ⁴ (min/day)	20.6 (7.6–39.5)	15.7 (3.95–36.6)	28.9 (14.1–46.5)
Estimated energy requirement (kcal)	2328 (2011–2721)	2373 (2039–2707)	2224 (1964–2834)
Energy balance (kcal)	142 (–213–649)	133 (–224–644)	148 (–172–679)
BMI (kg/m ²)	23.5 (20.9–26.1)	24.3 (21.7–27.4)	21.8 (19.2–24.1)
Waist-to-height ratio	0.50 (0.46–0.55)	0.51 (0.48–0.58)	0.49 (0.45–0.52)
Glucose (mmol/L)	5.0 (4.8–5.3)	5.0 (4.8–5.4)	5.0 (4.8–5.3)
Insulin (pmol/L)	53.3 (37.6–75.8)	50.1 (35.2–68.6)	58.1 (42.9–81.1)
HOMA-IR	1.7 (1.2–2.5)	1.7 (1.1–2.3)	1.9 (1.3–2.7)
Total cholesterol (mmol/L)	4.37 (3.87–5.01)	4.59 (4.10–5.15)	4.18 (3.61–4.63)
Triglyceride (mmol/L)	0.91 (0.66–1.25)	0.97 (0.72–1.38)	0.82 (0.62–1.07)
LDL-C (mmol/L)	2.57 (2.13–3.16)	2.73 (2.22–3.32)	2.36 (2.04–2.82)
HDL-C (mmol/L)	1.30 (1.12–1.49)	1.31 (1.13–1.52)	1.29 (1.09–1.45)

¹ Interquartile range: 25th and 75th percentiles. ² ALL types were not available for six participants. ³ ALL subtypes were not available for 88 participants out of 241. ⁴ Daily minutes of moderate-to-vigorous leisure physical activities. ALL, acute lymphoblastic leukemia; NOS, not otherwise specified; BMI, body mass index; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol.

Table 2. Participants' intake of energy, macro- and micronutrients.

	Total	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3
	Median (interquartile range ¹)			
Energy intake (kcal)	2512 (2143–3077)	1897	2511	3398
Macronutrients				
Proteins (g)	109 (87.3–131)	80.4	108.9	144.0
Carbohydrates (g)	318 (267–391)	247.8	317.9	426.4
Dietary fibers (g)	23.8 (19.0–29.6)	16.6	24.0	33.4
Lipids (g)	90.2 (71.6–114.8)	63.0	90.2	123.1
Omega-6 (g)	4.4 (3.1–6.5)	2.6	4.4	7.9
Omega-3 (g)	0.8 (0.6–1.4)	0.5	0.8	1.8
Ratio ω -6/ ω -3	5.3 (4.0–6.9)	3.6	5.4	7.5
Micronutrients				
Calcium (mg)	1349 (1047–1782)	931	1349	1993
Iron (mg)	16.3 (13.6–21.5)	12.7	16.3	23.5
Magnesium (mg)	405 (342–497)	311	406	547
Phosphorus (mg)	1810 (1452–2192)	1351	1810	2445
Potassium (mg)	3975 (3337–4763)	3028	3975	5202
Sodium (mg)	3428 (2673–4522)	2372	3428	4996
Zinc (mg)	15.6 (12.4–19.5)	11.6	15.6	21.2
Copper (mg)	1.9 (1.5–2.3)	1.4	1.8	2.4
Manganese (mg)	4.1 (3.2–5.2)	2.8	4.1	5.8
Selenium (mcg)	139 (112–176)	102	139	192
Retinol (mcg)	469 (330–681)	286	469	744
Folic acid (mcg)	628 (505–781)	445	627	871
Niacin (mg)	26.5 (21.0–33.6)	19.0	26.2	35.9
Riboflavin (mg)	2.8 (2.3–3.5)	2.1	2.8	3.8
Thiamine (mg)	2.2 (1.8–2.8)	1.5	2.2	3.0
Vitamin B6 (mg)	2.4 (1.9–2.9)	1.7	2.3	3.1
Vitamin B12 (mcg)	5.7 (4.3–7.7)	3.8	5.7	8.6
Choline (mg)	283 (224–355)	201	283	389
Vitamin C (mg)	210 (136–275)	114	210	319
Vitamin D (mcg)	5.6 (4.1–8.4)	3.5	5.6	9.80
Vitamin K (mcg)	122 (87.4–170)	74.1	122	204
Food groups				
Meat	1.8 (1.3–2.6)	1.0	1.8	3.0
Fish and seafood	0.3 (0.1–0.5)	0.03	0.3	0.7
Dairy	3.2 (2.1–4.7)	1.6	3.2	5.0
Fat	1.5 (1.0–2.4)	0.7	1.5	3.1

Vegetables	3.1 (2.0–4.5)	1.5	3.1	5.1
Legumes	0.03 (0.0–0.1)	0.0	0.03	0.2
Fruits	1.9 (1.2–3.1)	0.9	1.9	3.6

¹ Interquartile range: 25th and 75th percentiles. ω, omega; g, grams; mg, milligrams; mcg, micrograms.

Table 3. Association between macronutrient intake and low HDL-C in cALL survivors.

Macronutrients	Odds Ratio	95% CI	p Value
Proteins			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.300	0.12–0.74	0.009
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.289	0.08–1.00	0.05
Carbohydrates			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.705	0.29–1.70	0.436
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.612	0.17–2.19	0.450
Fats			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.723	0.30–1.74	0.468
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.876	0.26–2.91	0.829
Fibers			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.914	0.41–2.02	0.824
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.603	0.23–1.59	0.308
Omega-3			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.347	0.59–3.05	0.475
Tertile 3 vs. Tertile 1	1.002	0.40–2.53	0.995
Omega-6			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.897	0.39–2.10	0.800
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.652	0.26–1.61	0.354
Ratio omega-3: omega-6			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.087	0.48–2.44	0.840
Tertile 3 vs. Tertile 1	1.385	0.62–3.09	0.426

HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; cALL: childhood acute lymphoblastic leukemia; CI, confidence interval. Multivariable logistic regression model adjusted for BMI (kg/m²), age at diagnosis (years), age at diagnosis squared (years), sex (female), total energy intake (kcal) and moderate-to-vigorous physical activity (minutes per day).

Table 4. Association between mineral intake and low HDL-C in cALL survivors.

Minerals	Odds Ratio	95% CI	p Value
Calcium			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.774	0.33–1.80	0.553
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.830	0.31–2.22	0.711
Magnesium			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.624	0.27–1.42	0.262
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.350	0.11–1.12	0.078
Phosphorus			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.362	0.15–0.88	0.024
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.333	0.10–1.13	0.077
Potassium			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.754	0.32–1.79	0.523
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.692	0.22–2.18	0.528
Sodium			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.382	0.15–0.97	0.044
Tertile 3 vs. Tertile 1	1.134	0.35–3.65	0.832
Iron			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.478	0.21–1.11	0.086
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.395	0.12–1.27	0.118
Zinc			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.311	0.13–0.76	0.010
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.257	0.08–0.84	0.025
Copper			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.32	0.13–0.76	0.009
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.27	0.09–0.81	0.020
Manganese			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.616	0.27–1.39	0.243
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.639	0.25–1.60	0.340
Selenium			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.377	0.16–0.89	0.026
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.175	0.05–0.62	0.007

HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; cALL: childhood acute lymphoblastic leukemia; OR, odds ratio; CI, confidence interval. Multivariable logistic regression model adjusted for BMI (kg/m²), age at diagnosis (years), age at diagnosis squared (years), sex (female), total energy intake (kcal) and moderate-to-vigorous physical activity (minutes per day).

Table 5. Association between vitamin intake and low HDL-C in cALL survivors.

Vitamins	Odds Ratio	95% CI	p Value
Retinol			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.639	0.28–1.47	0.291
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.609	0.24–1.56	0.301
Alpha-carotene			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.444	0.66–3.16	0.356
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.880	0.39–2.00	0.760
Beta-carotene			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.523	0.67–3.44	0.312
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.887	0.37–2.15	0.790
Thiamin			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.634	0.27–1.51	0.302
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.741	0.26–2.11	0.575
Riboflavin			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.300	0.12–0.74	0.009
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.248	0.07–0.86	0.028
Niacin			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.268	0.11–0.65	0.004
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.263	0.08–0.88	0.030
Vitamin B6			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.871	0.38–2.01	0.747
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.395	0.12–1.27	0.119
Choline			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.480	0.20–1.16	0.104
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.518	0.18–1.50	0.225
Folic acid			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.624	0.26–1.47	0.281
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.571	0.20–1.66	0.304
Vitamin B12			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.713	0.31–1.63	0.424
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.580	0.22–1.55	0.276
Vitamine C			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.850	0.37–1.93	0.698
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.864	0.36–2.07	0.744
Vitamin D			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.713	0.32–1.60	0.414
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.633	0.26–1.53	0.309
Vitamin K			

Tertile 2 vs. Tertile 1	1.181	0.51–2.71	0.695
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.988	0.41–2.40	0.978

HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; cALL: childhood acute lymphoblastic leukemia; OR, odds ratio; CI, confidence interval. Multivariable logistic regression model adjusted for BMI (kg/m²), age at diagnosis (years), age at diagnosis squared (years), sex (female), total energy intake (kcal) and moderate-to-vigorous physical activity (minutes per day).

Table 6. Association between intake of food groups and low HDL-C in cALL survivors.

Food Groups	Odd Ratio	95% CI	p Value
Meat			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.572	0.23–1.40	0.222
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.277	0.09–0.83	0.022
Fish and seafood			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.166	0.49–2.80	0.731
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.630	0.24–1.63	0.339
Dairy			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.886	0.36–2.18	0.792
Tertile 3 vs. Tertile 1	1.155	0.43–3.09	0.775
Fat			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.179	0.48–2.92	0.722
Tertile 3 vs. Tertile 1	1.581	0.57–4.39	0.379
Vegetables			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.165	0.44–3.07	0.757
Tertile 3 vs. Tertile 1	1.282	0.46–3.54	0.632
Legumes			
Tertile 2 vs. Tertile 1	1.016	0.41–2.51	0.971
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.902	0.39–2.08	0.809
Fruits			
Tertile 2 vs. Tertile 1	0.261	0.10–0.70	0.008
Tertile 3 vs. Tertile 1	0.920	0.38–2.24	0.854
Fast food			
Tertile 2 vs. Tertile 1	2.405	1.03–5.63	0.043
Tertile 3 vs. Tertile 1	2.260	0.85–6.03	0.104

HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; cALL: childhood acute lymphoblastic leukemia; OR, odds ratio; CI, confidence interval. Multivariable logistic regression model adjusted for BMI (kg/m²), age at diagnosis (years), age at diagnosis squared (years), sex (female), total energy intake (kcal) and moderate-to-vigorous physical activity (minutes per day). Food groups were fitted into a single model except for fast food that was analyzed separately.

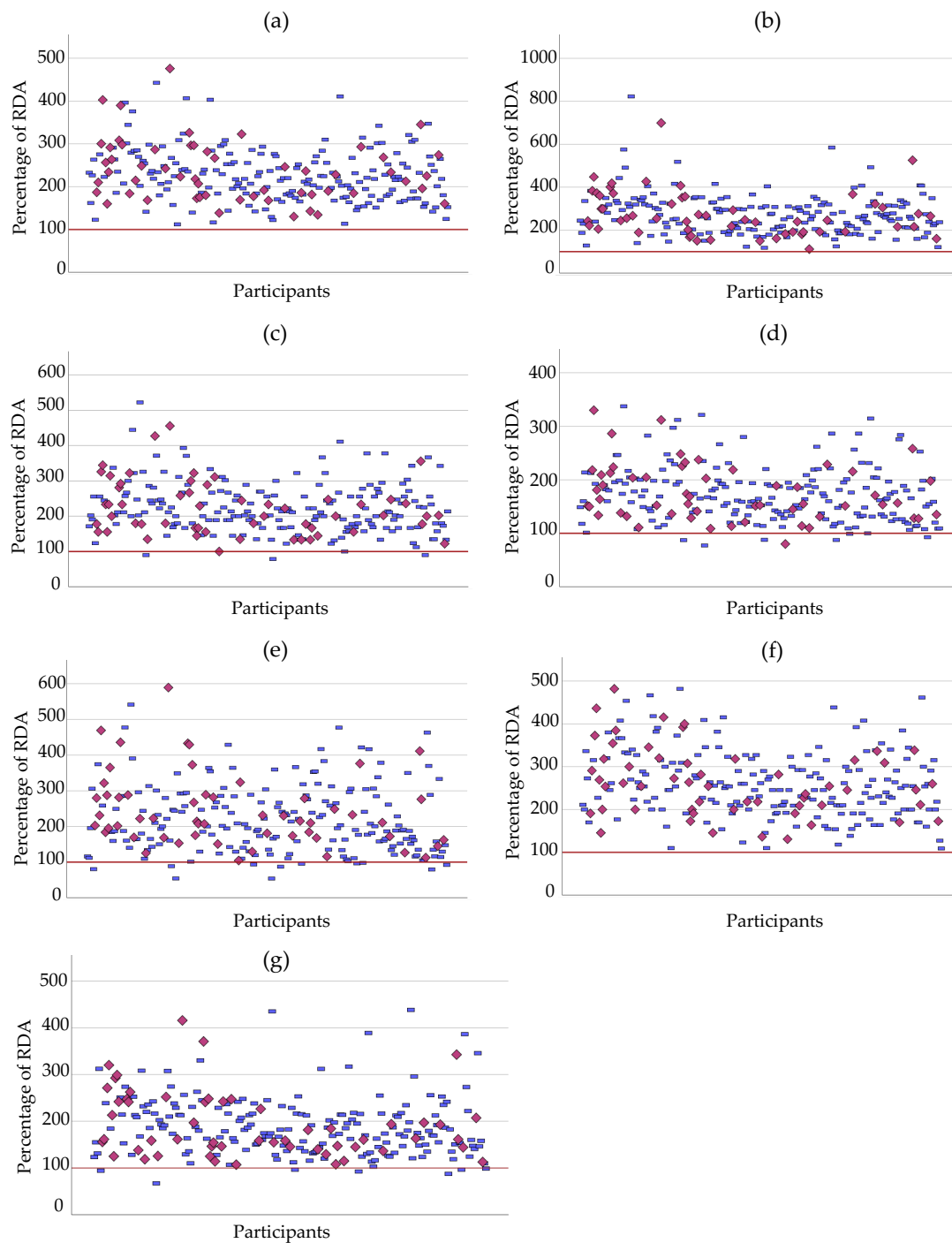


Figure 1. Intakes in proteins, minerals and vitamins of cALL survivors expressed as percentage of RDA (y axis) for each participant (x axis). (a) Proteins; (b) Selenium; (c) Copper; (d) Zinc; (e) Phosphorus; (f) Riboflavin; (g) Niacin. HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol; RDA, recommended dietary allowance. Blue rectangle = Normal HDL; red diamond = Low HDL-C.

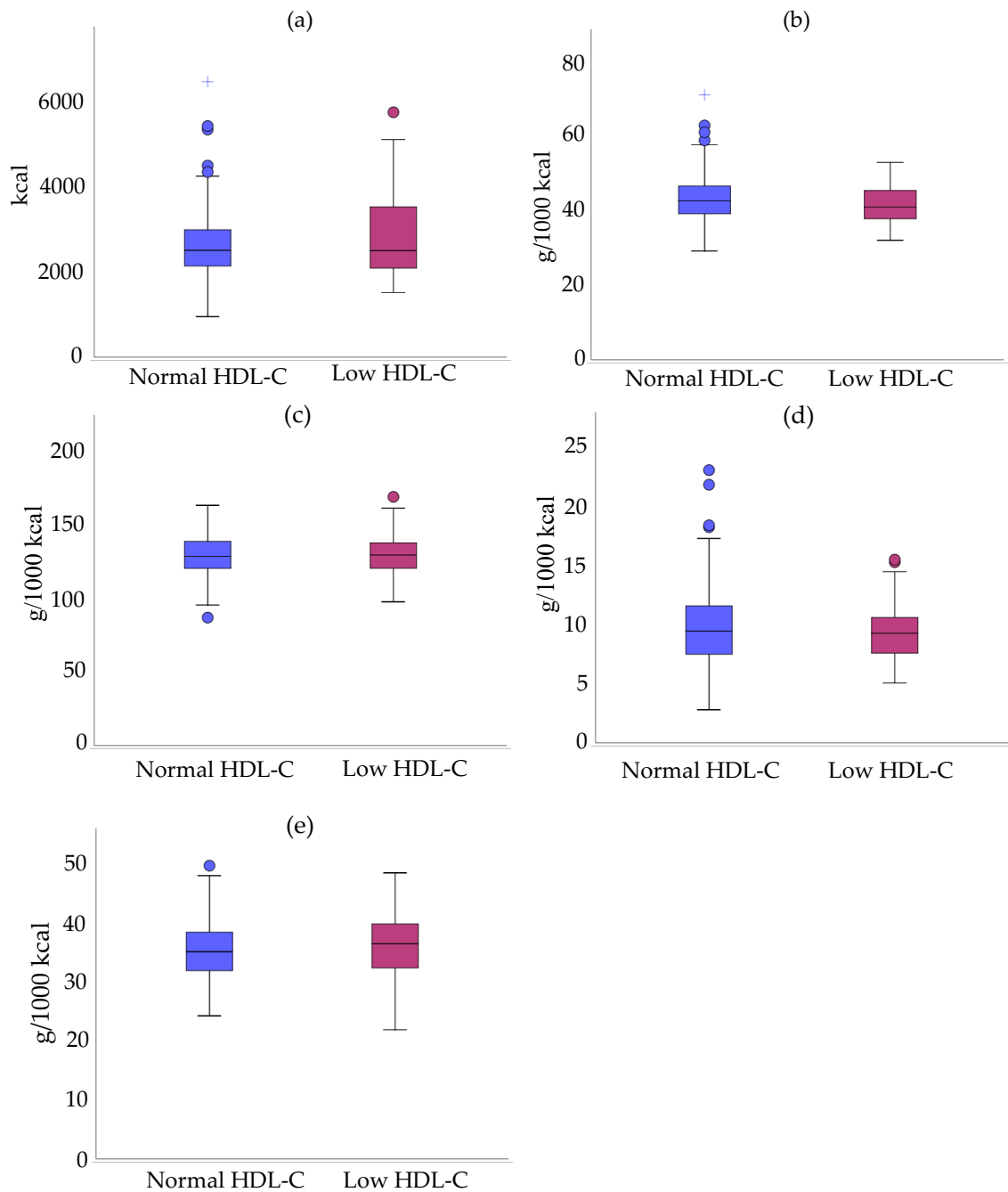


Figure 2. Intakes in energy and macronutrients per 1000 kcal of cALL survivors with low and normal HDL-C. **(a)** Energy intake; **(b)** Proteins; **(c)** Carbohydrates; **(d)** Dietary fibers; **(e)** Lipids. Data are presented as median \pm interquartile range.

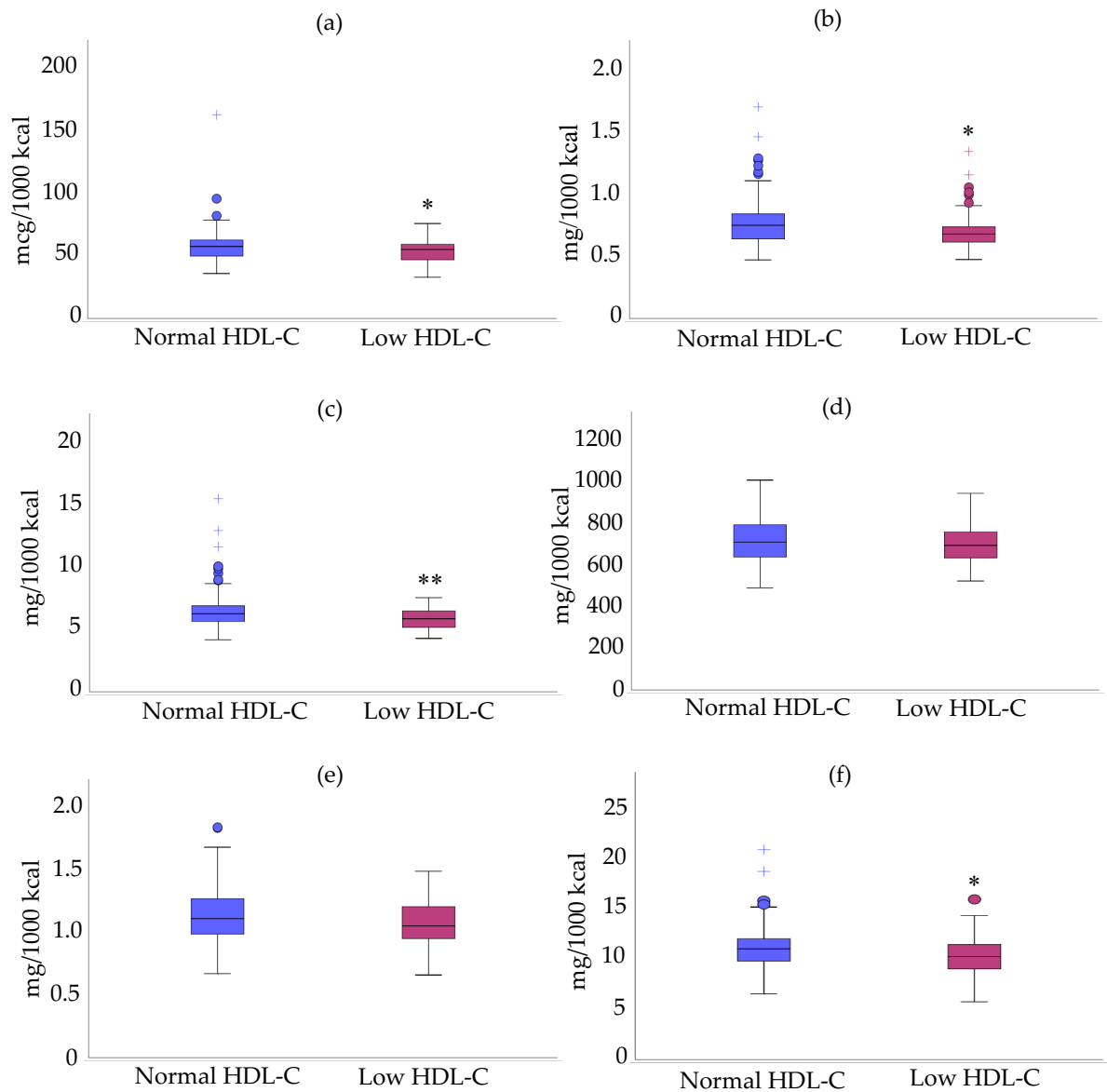


Figure 3. Intakes in micronutrients per 1000 kcal of cALL survivors with low and normal HDL-C. **(a)** Selenium; **(b)** Copper; **(c)** Zinc; **(d)** Phosphorus; **(e)** Riboflavin; **(f)** Niacin. * $p < 0.05$ versus ALL survivors with normal HDL-C. Data are presented as median \pm interquartile range. ** $p < 0.01$ versus ALL survivors with normal HDL-C.

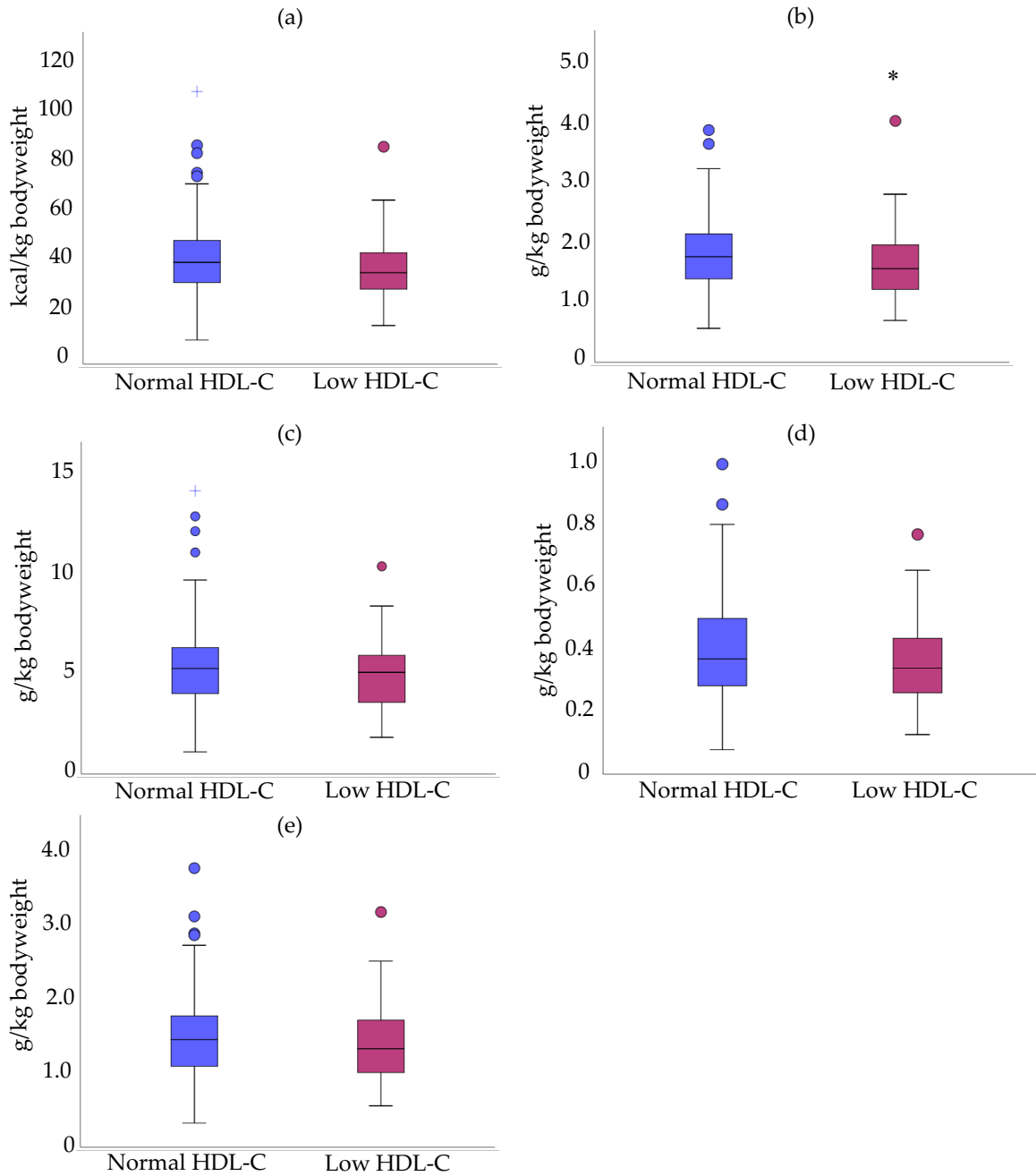


Figure 4. Intakes in energy (kcal/kg bodyweight) and macronutrients (g/kg bodyweight) of cALL survivors with low and normal HDL-C. **(a)** Energy intake; **(b)** Proteins; **(c)** Carbohydrates; **(d)** Dietary fibers; **(e)** Lipids. Data are presented as median \pm interquartile range. * $p < 0.05$ versus ALL survivors with normal HDL-C.

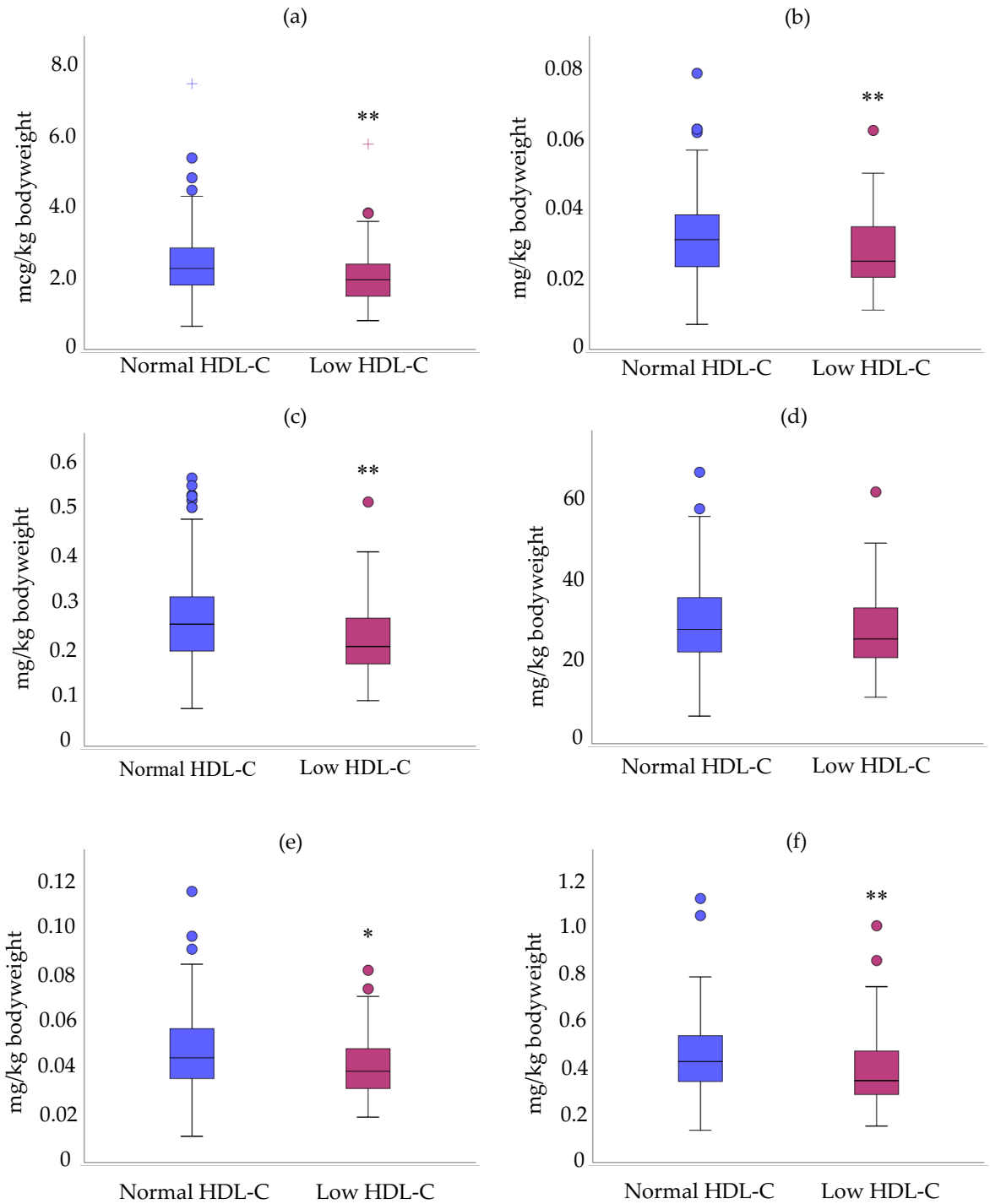


Figure 5. Intakes in micronutrients (mg/kg bodyweight) of cALL survivors with low and normal HDL-C. **(a)** Selenium; **(b)** Copper; **(c)** Zinc; **(d)** Phosphorus; **(e)** Riboflavin; **(f)** Niacin. * $p < 0.05$ versus ALL survivors with normal HDL-C. Data are presented as median \pm interquartile range. ** $p < 0.01$ versus ALL survivors with normal HDL-C.

Table S1. Cut-off values for cardiometabolic outcomes

Risk factor	Adults	Children
BMI		
Overweight	>25 and <30 kg/m ²	>85 th and <97 th percentile
Obesity	≥30 kg/m ²	≥97 th percentile
Fasting glucose		
At risk	≥5.6 and <6.1 mmol/L	≥5.6 and <6.1 mmol/L
Prediabetes	≥6.1 mmol/L	≥6.1 mmol/L
Triglycerides		
Borderline	≥1.3 and <1.7 mmol/L	≥1.00 and <1.47 mmol/L
High	≥1.7 mmol/L	≥1.47 mmol/L
LDL-cholesterol		
Borderline	≥2.6 and <3.4 mmol/L	≥2.85 and <3.36 mmol/L
High	≥3.4 mmol/L	≥3.36 mmol/L
HDL-cholesterol		
Low	<1.03 (men) and <1.3 mmol/L (women)	<1.03 mmol/L

BMI, body mass index; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein.

Table S2. Classification of food groups

Food groups	Food items
Meat	Chicken (grilled, fried, nuggets, casserole, hamburger), Turkey, Beef (grilled, braised, stew, hamburger, veal, pork (grilled, chops), horse meat, lamb, goat, bison, sausage, wiener, cold cut, giblets and meat pâté.
Fish and seafood	White fish, salmon (fresh, canned, smoked), trout, tuna (fresh, canned), fish cake, sardine, mackerel (canned), pollock, lobster, shrimp (fresh, canned), clams, scallops, squid, oysters, mussels, snails.
Dairy	Milk (skim, 1%, 2%, 3.25%), chocolate milk, cheddar, hard cheese, soft cheese, cream cheese, cottage, ricotta, blue cheese, processed cheese, yogurt (plain, Greek, fruits, drinkable)
Fat	Butter, margarine, oil (olive, canola, coco, soya), mayonnaise, cream, lard, bacon.
Vegetables	Asparagus, avocado, broccoli, carrots, celery, mushrooms, cabbage, Brussels sprout, cauliflower, cucumber, zucchini, squash, germinated soybeans, spinach, lettuce, arugula, canned or frozen mixed vegetables, corn, turnip,

	onion, leeks, sweet potato, pepper (sweet, hot), green peas, radish and tomato.
Legumes	Baked beans, soybean, lentils, red beans, white bean, chickpea and lima beans.
Fruits	Apricot, pineapple, banana, cherry, lemon, lime, kiwi, strawberries, blueberries, blackberries, raspberries, mango, watermelon, melon, cantaloupe, nectarine, clementine, orange, grapefruit, papaya, peach, pear, apple, prunes, dates, grapes, raisin and canned fruit salad.
Fast food	Pizza, hamburger (beef, grilled chicken, fried chicken), gyro sandwich, poutine, hot dog, corndog, club sandwich, hot chicken, chicken wings and fries

Table S3. Calculation of Estimated Energy Requirement

	<i>Estimate Energy Requirement (EER)</i>
Age and gender groups	Equations
Girl 9-18 years	$135.3 - (30.8 * \text{age [y]} + \text{PA} * [(10.0 * \text{weight [kg]} + (934 * \text{height [m]})])$
Boys 9-18 years	$88.5 - (61.9 * \text{age [y]} + \text{PA} * (26.7 * \text{weight [kg]} + (934 * \text{height [m]})) + 25$
Women \geq 18 years	$354 - (6.91 * \text{age [y]} + \text{PA} * [(9.36 * \text{weight [kg]} + (726 * \text{height [m]})])$
Men \geq 18 years	$662 - (9.53 * \text{age [y]} + \text{PA} * [(15.91 * \text{weight [kg]} + (539.6 * \text{height [m]})])$

	<i>Physical activity coefficients for EER equations</i>			
	Sedentary	Low active	Active	Very active
	Typical daily living activities (e.g., household tasks, walking to the bus)	Typical daily living activities plus 30-60 minutes of daily moderate activity (e.g., walking at 5-7 km/h)	Typical daily living activities plus at least 60 minutes of daily moderate activity	Typical daily living activities plus at least 60 minutes of daily moderate activity plus an additional 60 minutes of vigorous activity or 120 minutes of moderate activity
Boys 3-18 years	1.00	1.13	1.26	1.42
Girls 3-18 years	1.00	1.16	1.31	1.56
Men 19y+	1.00	1.11	1.25	1.48
Women 19y+	1.00	1.12	1.27	1.45

8.5 Article 5

Vitamin D nutritional status and bone turnover markers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivor: A PETALE study (2018)

Edgard Delvin, Nathalie Alos, Frank Rauch, Valérie Marcil, Sophia Morel, Michel Boisvert, Marc-André Lecours, Caroline Laverdière, Daniel Sinnett, Maja Krajinovic, Josée Dubois, Simon Drouin, Geneviève Lefebvre, Mariia Samoilenko, Carine Nyalendo, Étienne Cavalier, Emile Levy.

Article publié dans la revue *Clinical Nutrition* en février 2018.

Cet article répond à l'objectif spécifique 2.4

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a participé à la collecte de données, aux analyses, à l'interprétation des résultats et a révisé le manuscrit.

Vitamin D nutritional status and bone turnover markers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors: A PETALE study

Delvin E^{1,2}, Alos N^{1,3}, Rauch F^{4,5}, Marcil V^{1,6}, Morel S¹, Boisvert M¹, Lecours M-A¹, Laverdière C^{1,3}, Sinnett D^{1,3}, Krajinovic M^{1,3}, Dubois J^{1,7}, Drouin S¹, Lefebvre G⁸, Samoilenko M⁸, Nyalendo C⁹, Cavalier E¹⁰, Levy E^{1,6}.

¹Sainte-Justine UHC Research Centre, ²Department of Biochemistry, ³Department of Pediatrics, Université de Montréal; ⁴Shriners Hospital for Children, ⁵McGill University Health Centre Research Institute; ⁶Department of Nutrition, Université de Montréal, ⁷Department of Radiology, Université de Montréal, ⁸Department of Mathematics, Université du Québec à Montréal, ⁹Department of Clinical Biochemistry, Sainte-Justine UHC, Université de Montréal, Montréal, Canada; ¹⁰Department of Clinical Chemistry, Université de Liège, CHU Sart-Tilman, Liège, Belgium.

Keywords: Acute lymphoblastic leukemia, Vitamin D, 25-hydroxyvitamin D₃, bone resorption, bone formation, CTX, P1NP.

Corresponding author: E. Delvin, Sainte-Justine UHC Research Centre, 3175 Côte-Sainte-Catherine, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5. Tel: (514) 345-4931, Ext 6268.

What is known?

Childhood ALL (cALL) surviving patients are at risk of developing secondary bone pathologies
cALL surviving patients are at risk of suffering from vitamin D insufficiency or deficiency

What does this paper add?

Information about cALL survivors' vitamin D and calcium nutritional status

Knowledge on cALL survivors' vitamin D profile

Insight into cALL survivors' bone health status

Uncovering the correlation between the vitamin D nutritional status and bone turnover markers

Abstract

Background: The remarkable progress in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL), has led to a survival rate approaching 90%. This success story is unfortunately linked to increased risk of impaired skeletal mass accumulation during childhood and adolescence, predisposing the patients to osteoporosis and pathological fractures at adulthood. **Objective:** This study aims at characterizing the vitamin D status and bone health biomarkers in a well-characterized cohort of cALL survivors.

Results: Food frequency questionnaires revealed that (i) the total vitamin D intake varies greatly (44-2132 IU/d), (ii) only 16.8% of the participants consume vitamin D supplements, and (iii) 74% of survivors' intakes are below the Recommended Daily Intakes (400 IU/d). For the 42 participants taking vitamin D supplements, the median (2.5 – 97.5thiles) intake is 600 IU/d (21.2-1972 IU/d).

Sixteen participants are vitamin D deficient (<30 nM) and 66 insufficient (≥ 30 - <50 nM). Serum 24,25(OH)₂D₃ concentrations are directly related to those of 25OHD₃, and those of 3-epi-25OHD₃ below the Lower Limit of Quantification in most samples. The participants' serum concentrations of cross-linked C-telopeptide of type-I collagen and intact amino-terminal pro-peptide of type-I collagen decrease steadily with age, leveling at adulthood, and are at all times higher in males.

Conclusion: The present study shows that the prevalence of vitamin D insufficiency or deficiency is not greater in cALL survivors compared to the general Canadian population despite their low vitamin D food and supplement intakes. Furthermore, there seem to be no overt imbalance in the gender- and age-adjusted serum bone turnover marker concentrations.

1. Introduction

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common childhood malignancy. As its name indicate, it involves a blocking in the hematopoietic stem cell differentiation process (1). The remarkable progress in the treatment of childhood ALL (cALL), based on risk stratification and improved clinical support, has led during the last two decades to a survival rate reaching 90% (2, 3). This success story is unfortunately however linked to risks of secondary chronic diseases including obesity and cardiometabolic complications (4-6). The treatment protocol, as well as survivors' lifestyle and genetic predisposition have all been invoked as potential causes of these metabolic impairments (4). On another front, skeletal changes such as metaphyseal bands, periosteal reaction, osteolysis, sclerosis and osteoporosis resulting in vertebral compression, observed at the time of diagnosis have been attributed to the disease process per se (7-12). In addition the intense treatment protocols including methotrexate and glucocorticoids are considered aggravating factors in the abnormal accumulation of skeletal mass during childhood and adolescence, predisposing these patients to osteoporosis and pathological fractures in early adulthood (13-16). Osteonecrosis, with the potential of affecting joint functionality is also a long-term post-treatment complication in cALL survivors (17). These debilitating conditions have in common the failure of attaining an optimal bone mass during adolescence (18, 19).

Vitamin D₃, through its hormonal metabolite 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) (20), is a key factor influencing bone mass accretion. Its largely-described central role resides in modulating gene expression in bone cell differentiation needed for balanced bone mineralization (21, 22). More specifically, 1,25(OH)₂D₃ has been shown to inhibit the rate of human primary osteoblast proliferation and to enhance the expression of the vitamin D-responsive osteocalcin (BGLAP), bone sialoprotein-1 (SPP1) and intracellular adhesion molecule 1 (ICAM1) genes (22, 23). Although the kidney appears as the dominant site for the conversion of 25OHD₃ to 1,25(OH)₂D₃ via the mitochondrial 25OHD₃ 1 α -hydroxylase (CYP27B1) (24), mounting evidence indicate that this important enzyme is widely distributed peripherally. It is present, together with the vitamin D nuclear receptor (VDR), in osteoblasts, osteocytes, chondrocytes and osteoclasts (22, 25, 26). The required machinery present in those bone cells allows complementary paracrine and autocrine activities of 1,25(OH)₂D₃ (20, 22, 25). These observations bear an important clinical

significance as they provide an explanation for the higher need in circulating 25OHD₃ to prevent fractures than for the normalization of intestinal calcium absorption and maintenance of normal blood calcium homeostasis. Indeed, clinical studies have shown that marked secondary hyperparathyroidism occurs only when serum 25OHD₃ concentrations fall below the 20 nmol/L threshold (27-29).

There is a perception that cALL survivors are at increased risk for vitamin D deficiency, explained in part by sun exposure avoidance during hospitalization and lengthy convalescence, and by nutritional issues. Decreased vitamin D bioavailability due to chemotherapy-induced gut mucositis (30), and increased catabolism due to glucocorticoid immunosuppressive treatment represent aggravating factors (31). Simmons et al. (32) reported that 53% of cALL survivors suffered from vitamin D insufficiency, defined as serum 25OHD concentrations between 37.5 and 50 nmol/L, and 12% of vitamin D deficiency (<37.5 nmol/L). A year later, Modan-Moses et al. (33) using the same thresholds confirmed these data by showing that 25% of pediatric patients with different forms of cancers suffered from vitamin D deficiency and 23% from insufficiency.

The present study primarily aims at assessing the vitamin D status of cALL survivors, using the 2016 expert consensus recommendations on the classification of vitamin D nutritional status (34) taking into account potential modifiers such as body composition and year period for sampling. The secondary objective is to assess the impact of the vitamin D status on the bone resorption and formation biomarkers via serum cross-linked C-telopeptide of type I collagen (CTX) and intact amino-terminal pro-peptide of type I collagen (iP1NP) respectively. This bears importance for improving prevention strategies in at-risk populations.

2. Material and methods

2.1. Patients

The study group, part of the PETALE cohort, consists of 251 French-Canadian cALL survivors of European origin (35, 36). They were diagnosed and treated at the SJUHC (Montreal, Canada) between January 1989 and July 2005 (37, 38). They were younger than 19 years at diagnosis, and treated with the Dana Farber Cancer Institute protocols (39). The median treatment time (2.5-97.5thile) was 2.1 (1.4 – 2.4) and the period post-treatment was 13.0 (4.4 - 23.8) years. The SJUHC

Institutional Review Board of Sainte-Justine Hospital approved the study and the investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants and/or parents/guardians.

2.2. Anthropometric measurements

For children and adolescents, overweight was defined as a body mass index (BMI) (kg/m^2) ranging between the 85th percentile and the 95th age- and sex-specific percentile of the Centers for Disease Control and Prevention 2000 growth charts, and obesity was defined as BMI >95th percentile (40, 41). For adult participants, those with a BMI >25 and $\leq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ were considered overweight, and those with a BMI >30 as obese. For adults, waist circumference was classified as normal (<94 cm in men and <80 cm in women), borderline (≥ 94 cm and <102 cm in men and ≥ 80 cm and <88 cm in women) (42) or high (≥ 102 cm in men and ≥ 88 cm in women) (43). For children, waist circumference below the 90th percentile was defined as normal, $\geq 90^{\text{th}}$ and <95th percentile as borderline and $\geq 95^{\text{th}}$ percentile as high (44, 45).

2.3. Nutritional assessment

A registered nutritionist administered a food-frequency questionnaire that was developed and validated specifically for a French speaking population of children adolescent and young adults. Patients were also asked to report supplements to evaluate total calcium, phosphorus and vitamin D intakes. Evaluation of nutrient intakes was performed using the Canadian Nutrient File Database.

2.4. Biochemical assays

Total calcium (Ca_t), inorganic phosphate (P_i) and alkaline phosphatase (Alk Phos) were measured on an Architect cSystems (Abbott Diagnostics, Mississauga, ON, Canada). Their respective intra-assay coefficients of variation were: (1.01% at 1.60 mmol/L and 0.60% at 3.42 mmol/L), (0.70% at 0.74 mmol/L and 0.61% at 2.38 mmol/L), (1.79% at 32 IU/L and 0.40% at 337 IU/L); their inter-assay coefficients of variations were: (1.3% at 1.47 mmol/L and 1.0% at 3.31 mmol/L), (3.17% at 0.63 mmol/L and 1.72% at 2.33 mmol/L), (5.0% at 31 U/L and 2.0% at 321 U/L). Intact Parathyroid hormone (iPTH) was measured on an Immulite 2000 (Siemens Canada Ltd., Oakville, ON). The

inter-assay variations were 9.8% at 3.2 pM, 6.2% at 30.5 pM and 5.7% at 105 pM. iP1NP and CTX were measured by two-site chemiluminometric immunoassays on the IDS-iSYS automated analyzer (Immunodiagnostic Systems, Tyne & Wear, UK) at the Montreal Shriners Hospital for Children. For P1NP, the intra-assay imprecision was 4.6%, 4.0% and 4.8% at respective iP1NP concentrations of 30.6, 105.2 and 187.6 $\mu\text{g/L}$. The between batch imprecision was 8.1, 7.6 and 6.0% at 31.8, 109.4 and 1195.1 $\mu\text{g/L}$ respectively; for CTX the intra-assay imprecision was 2.8, 1.7 and 2.3% at 0.171, 1.046 and 1.718 $\mu\text{g/L}$ and inter-assay imprecision was 5.5, 3.3 and 3.5 at 0.173, 1.065 and 1.736 $\mu\text{g/L}$. The inter- and intra-assay precisions were evaluated in accordance with the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guideline EP-5A2 (46). Professor Étienne Cavalier generously provided the reference values for serum P1NP and CTX obtained from Belgian children, adolescents and adults, measured on the IDS-iSYS automated analytical platform. From these reference values, we calculated the age- and sex-adjusted Z-Scores were calculated. From these reference values, we calculated age- and gender-adjusted Z-scores for the 2 biomarkers and derived a “bone turnover index” by subtracting CTX Z-scores from P1NP Z-scores. Under those conditions positive values favor bone formation and negative values resorption.

2.5. Vitamin D profiling

Vitamin D metabolite profiling was performed with an in-house stable isotope-dilution quadrupole time-of-flight mass spectrometry method (MS-QTOF) (Waters UPLC-MS system (Xevo G2 quadrupole time-of-flight, Waters Corp., Mississauga, Ont.). The method based on that of Kaufmann et al. (47) is described in the companion paper (48). The intra- and inter-assay coefficients of variation were respectively 4.2 and 7.0% at 70 nM 25OHD₃, 5.1 and 10% at 15 nM 24,25(OH)₂D₃ and 4.5, 8.9% at 20 nM 3-epi-25OHD₃ and 7.0, 10.2% for 25OHD₂. The lower limits of quantification (LLoQ) for 25OHD₃, 24,25(OH)₂D₃, 3-epi-25OHD₃ and 25OHD₂ were respectively 2.5, 2.0, 2.0 and 2.5 nM. The following classification of vitamin D status based on serum 25OHD concentrations necessary for preventing rickets, and on the consensus report of experts, is as follows: sufficiency: > 50 nM; insufficiency: ≥ 30 -<50 nM; and deficiency: <30 nM (34).

Statistics

Descriptive statistics were used to report PETALE cALL survivors' characteristics. The associations

between serum 25OHD₃ and continuous variables (vitamin D intake, percent body fat, serum iPTH) were tested by univariate regression analysis. The Kruskal-Wallis followed by the two-stage linear step-up procedure of Benjamini, Krieger, Yekutieli for controlling false discovery rate were used to verify the year-period variations in serum 25OHD₃ concentrations. Results are expressed as mean ± standard deviation (SD) when normally distributed, or median and 2.5 and 97.5 percentiles when not. Chi-squared tests were performed for categorical classification (BMI, waist circumference). A P ≤0.05 is considered significant. Statistical analyses were performed with GraphPad Prism 7.0a (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA). Data are expressed as mean standard deviation for normally distributed variables and as median and inter-quartile range (IQR) for those that are not.

3. Results

Demographic, anthropometric and classical biochemical characteristics according to gender of the participants are shown in Table 1. The age at entry into the study, the number of years of treatment and the period after the end of treatment do not differ between male and female participants. The median BMI (IQR) is similar for both sexes and there is no difference in the distribution according to lean, overweight and obese classification ($P = NS$).

The food frequency questionnaires revealed that total vitamin D intake varies greatly and is higher in males than females [7.0 (5.0 – 10.3) vs 5.6 (4.0 – 9.4) μg/d, $P=0.0103$]. We also find that only 16.8% of the participants (both males and females) consumed vitamin D supplements, and that 74% of them are below the RDI (10 μg/d) (49). For those who take supplements ($n = 42$), the median (IQR) intake is 15.0 μg/d (IQR: 8.9 – 26.3). Similarly to vitamin D, males have higher daily calcium intakes than females [1627 (1156 – 2060) vs 1235 (947 – 1526) mg/d, $P<0.001$], with only 14 total participants (5.6%) being below the RDI (800 mg/d). Phosphate intakes follow those of calcium.

Serum total calcium and inorganic phosphate are all within normal values although male participants exhibit marginally but statistically significant higher serum calcium concentrations than females (2.44 ± 0.08 vs 2.38 ± 0.08 , $P<0.001$). Serum total alkaline phosphatase activities are all within age- and sex-adjusted normal values but are statistically higher in males than

females ($P < 0.001$). The circulating iPTH median (IQR) concentrations are within normal ranges and do not differ between male and female participants.

Despite higher vitamin D intakes in males, their serum 25OHD₃ concentrations [median (IQR)] are lower [57 (42 - 72) nM] than in females [64 (46 - 80) nM, ($P = 0.0403$)], with 9 male and 6 female participants being deficient (< 30 nM). The serum 24,25(OH)₂D₃ concentration ranges from 2 to 29 nM (median: 5.5) and is directly related to the 25OHD₃ concentrations. 3-epi-25OHD₃ concentrations are below the LLoQ in most samples. For those in whom it is quantifiable ($n = 55$), the median (IQR) is 3.1 (2.5 - 3.8) nM.

The year quarter during which sampling is performed is also a known determinant of serum 25OHD₃ concentrations (Figure 1). As expected, median concentrations observed for the 3rd & 4th quarters (July-September & October-December) are statistically higher than those for the 1st and 2nd (January-March & April-June), reflecting the vitamin D reserve obtained during the higher solar irradiation period. Table 2 shows that obesity, defined by high BMI, is a negative predictor for serum 25OHD₃ concentrations [(β : -11.1035 (C.I.: -20.2925 to -1.9145, $P = 0.0181$)], but that percent body fat and waist circumference are not. Figure 2 depicts the inverse function between serum 25OHD₃ and iPTH concentrations.

Table 3 compares the concentrations of the bone resorption (CTX) and formation (P1NP) biomarkers for participants in this study to a reference group consisting of healthy European volunteers. As can be appreciated, the concentrations of both bone turnover biomarkers decrease steadily with age, leveling at adulthood, and are at all times higher in males than in females. The number of cALL survivors and of referent individuals in each age categories being limited, we are unable to state whether participants' values are within the range of the reference group or not.

Table 4 shows the adjusted univariate effect of gender, age, vitamin D status, BMI, waist circumference and body fat on serum P1NP and CTX concentrations. As the data are not normally distributed, the values are log-transformed. As can be appreciated gender, age, percent body fat and vitamin D status are, in decreasing importance, determinants of the concentrations of both bone turnover biomarkers. Interestingly, waist circumference positively predicts P1NP

concentration only when comparing obese and normal subjects. Finally BMI is not a predictor for the bone turnover markers.

Figure 3 depicts the relationship between the age of participants and the bone turnover index described in the Methods section. It can be appreciated that the index shifts from a formation-leading to a resorption-leading environment.

4. Discussion

This study provides comprehensive data on the vitamin D nutritional status and bone condition for a well-characterized cohort of cALL survivors.

4.1. Nutritional status

Nutritional assessment reveals that whereas three quarters of the patients have total vitamin D intake below the RDI (400 IU/d), a large proportion have a calcium intake above the RDI (49). The relatively low vitamin D intake is somewhat unexpected, as our a priori hypothesis was that these patients would be more inclined to protect themselves, having experienced cALL-related as well as iatrogenic bone diseases. Our nutrition data resemble those of other studies conducted in the Canadian population. A study conducted 10 years ago in 209 Aboriginal and 146 non-Aboriginal women concludes that 61% of urban-dwelling white women aged between 25 and 50 years (n=87) have adequate intakes (AI) of vitamin D, defined as 200 IU/d (50). Would we set the AI at the same level, we would observe a similar percentage for our cohort. In a population-based case control study, having breast cancer risk as primary outcome, Anderson et al. (51) reported that 57% of the participants had vitamin D intakes below the RDI, a value somewhat lower than ours. On the other hand we observe a similar prevalence of inadequate vitamin D intake (below 10ug/d) in our cohort to that reported by Zhou et al. (52) for women and men 25 years and older. Furthermore in contrast to the vitamin D intake, we observe a low percentage of participants with serum 25OHD₃ concentrations below the Institute of Medicine threshold (40 nmol/L). Therefore, contrary to our initial working hypothesis the prevalence of vitamin D insufficiency or deficiency is not greater in the PETALE patients than in the general Canadian population (53, 54), with 26.4% and 6.4% of the participants being respectively vitamin D-insufficient (25OHD₃ ≥30 - <50 nM) and –deficient (25OHD₃ <30 nM). As already mentioned we based the classification of the vitamin D

nutritional status on needs required for an adequate bone health. However some reports have proposed a serum 25OHD₃ cut-point of 75 nM for optimal health (55, 56). Should this value be used in this study, close to 75% of the participants would then be classified as insufficient, this percentage being similar to the general Canadian population (54). Although our results appear to differ from those reported for a similar size study conducted in young cancer patients in which 24.6% were vitamin D-deficient, the different threshold for defining vitamin D deficiency (<37.5 nM) explains in part this difference (33). The inverse relationship between circulating iPTH concentration and serum 25OHD₃ has been reported by others (27, 28, 57, 58), and will not be further discussed.

The marginally but statistically significant lower serum 25OHD₃ in males despite higher vitamin D intake is puzzling. The year period can be excluded, as there is no difference in the proportion of samples taken in different year quarter between males and females. We show that BMI is a predictor for serum 25OHD₃ concentrations (Table 2). However BMI being not different between males and females as shown in Table 1, it does not account for the difference in serum 25OHD₃ concentrations. A self-reported vitamin D intake at a time close to blood sampling that is not representative of the cumulative vitamin D intake of an extended time could also explain the contradiction. Finally the apparent variance could be due to chance, and be within the limits of uncertainty of the food frequency questionnaires and 25OHD₃ assay methods.

We show, as others did (59-61), that adiposity expressed as BMI is an explanatory variable for serum 25OHD₃ concentrations. This particularly holds when comparing the obese group to the lean group. Although we observe a trend for an inverse relationship between serum 25OHD₃ and percent body fat or waist circumference, it did not reach significance. This is apparently contrary to the observations of Hannemann et al. (62) who reported, in large epidemiological study with more than 7000 men and women, that waist circumference and percent body fat are, in age- and sex-adjusted linear regression models, inversely related to serum 25OHD₃ concentrations. The small sample size of our cohort associated with wide confidence intervals could explain the differing results.

4.2. Bone turnover markers

As expected, age and sex are the two main explanatory variables for serum concentrations of bone turnover biomarkers. This is particularly striking for children and adolescents, although the dependence on sex is observed even for adults. The values observed are within the range of those provided by Professor Cavalier and those published by others on different analytical platforms and with population of different genetic background (63-66). In our cohort we observe a modest yet significant negative relationship between serum 25OHD₃ concentrations and the 2 bone turnover markers, which however do not reach statistical significance (Table 4). Such data are scarce, in particular in populations at risk such as the subjects of this study. Our results differ from those of Madar et al. (67) who showed, in a 16-week supplementation controlled randomized clinical trial conducted with 251 healthy participants aged between 18-50, that increasing serum 25OHD from 75 to 125 nmol/L did not affect the serum bone markers concentrations. It may be that the time frame of this study was not sufficiently long to allow bone metabolic changes that could be translated into modifications of serum bone turnover marker concentrations. Furthermore, contrary to our cohort, all participants had serum 25OHD₃ values exceeding the 75 nmol/L threshold. Ginty et al. (68), in a group of adolescents aged between 11.4 and 16.4 years, also reported that serum 25OHD was not a major determinant of serum P1NP and CTX concentrations. The authors concluded that the pubertal status primarily influenced the bone turnover markers and thus obscured the effect of vitamin D status. However, Thiering et al. (69) in a population based study involving 2798 ten-year old children, observed a clear seasonal variation in serum bone turnover markers concentrations and a negative association between serum 25OHD and serum CTX. With respect to adiposity, although we observe no relationship between BMI and the 2 bone turnover markers, we note that waist circumference, a visceral adiposity surrogate marker, is a strong positive predictor for both bone biomarkers. Surprisingly, the opposite is noticed for percent body fat. Our observations are at variance with those of Tonks et al. (70) who reported, in an observational study involving 61 overweight/obese individuals, increased visceral adiposity associated with lower fasting serum osteocalcin (a bone formation marker) and CTX.

The “bone turnover index” we developed gives additional information on the trajectory of bone metabolism. As such data have, to our knowledge, not previously been published, we are unable

to state whether the participants of this study are or are not within trends for a general population of the same age group. It does provide however an interpretation tool that could be used in future studies.

5. Conclusion

The present study shows that the prevalence of vitamin D insufficiency or deficiency is not greater in cALL survivors compared to what is reported for the general Canadian population despite low vitamin D food and supplement intakes. Furthermore, there seem to be no overt imbalance in the gender- and age-adjusted serum bone turnover marker concentrations.

Authors' contribution

Emile Levy, Caroline Laverdière, Nathalie Alos, Daniel Sinnett, Maja Krajinovik, Simon Drouin and Valérie Marcil conceptualized and initiated the study; Nathalie Alos and Caroline Laverdière recruited the cALL survivors and provided the clinical evaluations; Valérie Marcil and Sofia Morel collected all the nutritional data and contributed to their analyses; Michel Boisvert and Marc-André Lecours performed the analysis of vitamin D metabolites; Frank Rauch supervised the serum bone turnover biomarker analyses and provided clinical interpretation; Josée Dubois contributed by supervising and analyzing the DXA scans for clinical purposes; Maria Samoilenko and Geneviève Lefbevre performed the Statistical analyses; Carine Nyalendo supervised the biochemical analyses and provided the reference values; Etienne Cavalier provided the reference values for the bone turnover biomarkers; Edgard Delvin and Emile supervised the analysis of the vitamin D metabolites, whereas Edgard Delvin analyzed the data and wrote the article. All authors revised and accepted the final version of the manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare “Conflicts of interest: none”

Acknowledgements

We wish to thank the cALL survivors that generously gave of their time to be part of the PETALE study. This work was supported by the Institute of Cancer Research (ICR) of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society

(CCS), Cancer Research Society (CRS), Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research (OICR), Pediatric Oncology Group of Ontario (POGO) (grant number: TCF 118694) and the J.A.DeSève Research Chair in Nutrition.

References

1. Riedt T, Ebinger M, Salih HR, Tomiuk J, Handgretinger R, Kanz L, et al. Aberrant expression of the homeobox gene CDX2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2009;113(17):4049-51.
2. Santana Viana SRdL, L.M.M.; do Nascimento, J.B.; Ferreira Cardoso, C.A.; Dantas Rosário, A.C.; de Queiroz Mendonça, C.; de Menezes-Neto OAC, R. Secular trends and predictors of mortality in acute lymphoblastic leukemia for children of low socioeconomic level in Northeast Brazil. *Leukemia Research*. 2015;39(10):1060-5.
3. Hunger SP, Lu X, Devidas M, Camitta BM, Gaynon PS, Winick NJ, et al. Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia between 1990 and 2005: a report from the children's oncology group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(14):1663-9.
4. Zhang FF, Parsons SK. Obesity in Childhood Cancer Survivors: Call for Early Weight Management. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2015;6(5):611-9.
5. Chow EJ, Simmons JH, Roth CL, Baker KS, Hoffmeister PA, Sanders JE, et al. Increased cardiometabolic traits in pediatric survivors of acute lymphoblastic leukemia treated with total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(12):1674-81.
6. Barnea D, Raghunathan N, Friedman DN, Tonorezos ES. Obesity and Metabolic Disease After Childhood Cancer. *Oncology (Williston Park)*. 2015;29(11):849-55.
7. Arikoski P, Komulainen J, Riikonen P, Jurvelin JS, Voutilainen R, Kroger H. Reduced bone density at completion of chemotherapy for a malignancy. *Archives of disease in childhood*. 1999;80(2):143-8.
8. Salim H, Ariawati K, Suryawan WB, Arimbawa M. Osteoporosis resulting from acute lymphoblastic leukemia in a 7-year-old boy: a case report. *Journal of medical case reports*. 2014;8:168.

9. Rogalsky RJ, Black GB, Reed MH. Orthopaedic manifestations of leukemia in children. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1986;68(4):494-501.
10. Halton JM, Atkinson SA, Fraher L, Webber CE, Cockshott WP, Tam C, et al. Mineral homeostasis and bone mass at diagnosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *The Journal of pediatrics*. 1995;126(4):557-64.
11. Boot AM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hählen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SMPF. Bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukaemia. *European Journal of Cancer*. 1999;35(12):1693-7.
12. Halton J, Gaboury I, Grant R, Alos N, Cummings EA, Matzinger M, et al. Advanced vertebral fracture among newly diagnosed children with acute lymphoblastic leukemia: results of the Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) research program. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2009;24(7):1326-34.
13. Alikasifoglu A, Yetgin S, Cetin M, Tuncer M, Gumruk F, Gurgey A, et al. Bone mineral density and serum bone turnover markers in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: comparison of megadose methylprednisolone and conventional-dose prednisolone treatments. *American journal of hematology*. 2005;80(2):113-8.
14. Gunes AM, Can E, Saglam H, Ilcol YO, Baytan B. Assessment of bone mineral density and risk factors in children completing treatment for acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2010;32(3):e102-7.
15. Gurney JG, Kaste SC, Liu W, Srivastava DK, Chemaitilly W, Ness KK, et al. Bone mineral density among long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the St. Jude Lifetime Cohort Study. *Pediatric blood & cancer*. 2014;61(7):1270-6.
16. Pagano-Therrien J, Santacroce SJ. Bone mineral density decrements and children diagnosed with cancer. *Journal of pediatric oncology nursing : official journal of the Association of Pediatric Oncology Nurses*. 2005;22(6):328-38.

17. Kaste SC, Karimova EJ, Neel MD. Osteonecrosis in children after therapy for malignancy. *AJR Am J Roentgenol*. 2011;196(5):1011-8.
18. Prentice A, Schoenmakers I, Laskey MA, de Bono S, Ginty F, Goldberg GR. Nutrition and bone growth and development. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2006;65(4):348-60.
19. Berger C, Goltzman D, Langsetmo L, Joseph L, Jackson S, Kreiger N, et al. Peak bone mass from longitudinal data: implications for the prevalence, pathophysiology, and diagnosis of osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25(9):1948-57.
20. Anderson PH, Atkins GJ, Turner AG, Kogawa M, Findlay DM, Morris HA. Vitamin D metabolism within bone cells: Effects on bone structure and strength. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011;347(1–2):42-7.
21. Gunton JE, Girgis CM, Baldock PA, Lips P. Bone muscle interactions and vitamin D. *Bone*. 2015;80:89-94.
22. Anderson PH, Lam NN, Turner AG, Davey RA, Kogawa M, Atkins GJ, et al. The pleiotropic effects of vitamin D in bone. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2013;136:190-4.
23. Atkins GJ, Kostakis P, Pan B, Farrugia A, Gronthos S, Evdokiou A, et al. RANKL expression is related to the differentiation state of human osteoblasts. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2003;18(6):1088-98.
24. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2011;25(4):531-41.
25. Atkins GJ, Anderson PH, Findlay DM, Welldon KJ, Vincent C, Zannettino ACW, et al. Metabolism of vitamin D₃ in human osteoblasts: Evidence for autocrine and paracrine activities of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Bone*. 2007;40(6):1517-28.

26. Kogawa M, Anderson PH, Findlay DM, Morris HA, Atkins GJ. The metabolism of 25-(OH)vitamin D₃ by osteoclasts and their precursors regulates the differentiation of osteoclasts. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2010;121(1-2):277-80.
27. Need AG, Horowitz M, Morris HA, Nordin BC. Vitamin D status: effects on parathyroid hormone and 1, 25-dihydroxyvitamin D in postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*. 2000;71(6):1577-81.
28. Haarburger D, Hoffman M, Erasmus RT, Pillay TS. Relationship between vitamin D, calcium and parathyroid hormone in Cape Town. *Journal of clinical pathology*. 2009;62(6):567-9.
29. Fillee C, Keller T, Mourad M, Brinkmann T, Ketelslegers JM. Impact of vitamin D-related serum PTH reference values on the diagnosis of mild primary hyperparathyroidism, using bivariate calcium/PTH reference regions. *Clinical endocrinology*. 2012;76(6):785-9.
30. Gedikoglu G, Altinoz MA. Differentiation-inducing liposoluble vitamin deficiency may explain frequent secondary solid tumors after hematopoietic stem cell transplantation: minireview. *Neoplasma*. 2008;55(1):1-9.
31. Stein EM, Shane E. Chapter 68 - Vitamin D and Organ Transplantation A2 - Adams, David Feldman J. Wesley Pike John S. *Vitamin D (Third Edition)*. San Diego: Academic Press; 2011. p. 1291-8.
32. Simmons JH, Chow EJ, Koehler E, Esbenshade A, Smith LA, Sanders J, et al. Significant 25-hydroxyvitamin D deficiency in child and adolescent survivors of acute lymphoblastic leukemia: treatment with chemotherapy compared with allogeneic stem cell transplant. *Pediatric blood & cancer*. 2011;56(7):1114-9.
33. Modan-Moses D, Pinhas-Hamiel O, Munitz-Shenkar D, Temam V, Kanety H, Toren A. Vitamin D status in pediatric patients with a history of malignancy. *Pediatr Res*. 2012;72(6):620-4.
34. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2016;101(2):394-415.

35. Krajinovic M, Labuda D, Richer C, Karimi S, Sinnett D. Susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 genetic polymorphisms. *Blood*. 1999;93(5):1496-501.
36. Sinnett D, Krajinovic M, Labuda D. Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2000;38(5-6):447-62.
37. Krajinovic M, Elbared J, Drouin S, Bertout L, Rezgui A, Ansari M, et al. Polymorphisms of ABCC5 and NOS3 genes influence doxorubicin cardiotoxicity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J*. 2016;16:530-35.
38. Marcoux S, Drouin S, Laverdiere C, Alos N, Andelfinger GU, Bertout L, et al. The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatric blood & cancer*. 2016.
39. Vrooman LM, Neuberg DS, Stevenson KE, Asselin BL, Athale UH, Clavell L, et al. The low incidence of secondary acute myelogenous leukaemia in children and adolescents treated with dexrazoxane for acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium. *Eur J Cancer*. 2011;47(9):1373-9.
40. Lambert M, Delvin EE, Levy E, O'Loughlin J, Paradis G, Barnett T, et al. Prevalence of cardiometabolic risk factors by weight status in a population-based sample of Quebec children and adolescents. *The Canadian journal of cardiology*. 2008;24(7):575-83.
41. Statement. PP. The use of growth charts for assessing and monitoring growth in Canadian infants and children. *Canadian journal of dietetic practice and research : a publication of Dietitians of Canada = Revue canadienne de la pratique et de la recherche en dietetique : une publication des Dietetistes du Canada*. 2004;65(1):22-32.
42. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet (London, England)*. 2005;366(9491):1059-62.
43. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-421.

44. Katzmarzyk PT. Waist circumference percentiles for Canadian youth 11-18y of age. *European journal of clinical nutrition*. 2004;58(7):1011-5.
45. World Health Organization. Waist circumference and waist-hip ratio: Report of a WHO Expert Consultation. 2008.http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_report_waistcircumference_and_waisthip_ratio/en/
46. Tholen DWK, A.; Kenndy, J.W.; Krouwer, J.S.; Meier, K. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods, Approved Guidelines. CLSI. 2004;2nd Edition(24):1-39.
47. Kaufmann M, Gallagher JC, Peacock M, Schlingmann KP, Konrad M, DeLuca HF, et al. Clinical utility of simultaneous quantitation of 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D by LC-MS/MS involving derivatization with DMEQ-TAD. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(7):2567-74.
48. Boisvert MT, Y.; Lecours, M-A.; Kaufmann. M.; Jones, G.; Levy, E.; Delvin, E. Title: Supporting data for the measurement of serum vitamin D metabolites in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. . *Data in Brief*. 2017.
49. Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington, DC: The National Academies Press; 2011. Report No.: 978-0-309-16394-1.
50. Weiler HA, Leslie WD, Krahn J, Steiman PW, Metge CJ. Canadian Aboriginal women have a higher prevalence of vitamin D deficiency than non-Aboriginal women despite similar dietary vitamin D intakes. *The Journal of nutrition*. 2007;137(2):461-5.
51. Anderson LN, Cotterchio M, Vieth R, Knight JA. Vitamin D and calcium intakes and breast cancer risk in pre- and postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*. 2010;91(6):1699-707.
52. Zhou W, Langsetmo L, Berger C, Poliquin S, Kreiger N, Barr SI, et al. Longitudinal changes in calcium and vitamin D intakes and relationship to bone mineral density in a prospective

population-based study: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos). *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 2013;13(4):470-9.

53. Mark S, Gray-Donald K, Delvin EE, O'Loughlin J, Paradis G, Levy E, et al. Low vitamin D status in a representative sample of youth from Quebec, Canada. *Clinical chemistry*. 2008;54(8):1283-9.

54. Langlois K, Greene-Finestone L, Little J, Hidiroglou N, Whiting S. Vitamin D status of Canadians as measured in the 2007 to 2009 Canadian Health Measures Survey. *Health reports*. 2010;21(1):47-55.

55. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(7):1911-30.

56. Glendenning P, Inderjeeth CA. Screening for vitamin D deficiency: defining vitamin D deficiency, target thresholds of treatment and estimating the benefits of treatment. *Pathology*. 2012;44(2):160-5.

57. Crews BO, Moore J, Dietzen DJ. Circulating intact parathyroid hormone is suppressed at 25-hydroxyvitamin D concentrations >25 nmol/L in children. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;27(7-8):657-60.

58. Souberbielle JC, Massart C, Brailly-Tabard S, Cormier C, Cavalier E, Delanaye P, et al. Serum PTH reference values established by an automated third-generation assay in vitamin D-replete subjects with normal renal function: consequences of diagnosing primary hyperparathyroidism and the classification of dialysis patients. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(3):315-23.

59. Ding C, Parameswaran V, Blizzard L, Burgess J, Jones G. Not a simple fat-soluble vitamin: Changes in serum 25-(OH)D levels are predicted by adiposity and adipocytokines in older adults. *Journal of internal medicine*. 2010;268(5):501-10.

60. Jorde R, Sneve M, Emaus N, Figenschau Y, Grimnes G. Cross-sectional and longitudinal relation between serum 25-hydroxyvitamin D and body mass index: the Tromso study. *European journal of nutrition*. 2010;49(7):401-7.

61. Mai XM, Chen Y, Camargo CA, Jr., Langhammer A. Cross-sectional and prospective cohort study of serum 25-hydroxyvitamin D level and obesity in adults: the HUNT study. *American journal of epidemiology*. 2012;175(10):1029-36.
62. Hannemann A, Thuesen BH, Friedrich N, Volzke H, Steveling A, Ittermann T, et al. Adiposity measures and vitamin D concentrations in Northeast Germany and Denmark. *Nutrition & metabolism*. 2015;12:24.
63. Michelsen J, Wallaschofski H, Friedrich N, Spielhagen C, Rettig R, Ittermann T, et al. Reference intervals for serum concentrations of three bone turnover markers for men and women. *Bone*. 2013;57(2):399-404.
64. Bayer M. Reference values of osteocalcin and procollagen type I N-propeptide plasma levels in a healthy Central European population aged 0-18 years. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2014;25(2):729-36.
65. Hannemann A, Wallaschofski H. Reference intervals for serum concentrations of three bone turnover markers for men and women. *Bone*. 2016;93:216.
66. Callegari ET, Gorelik A, Garland SM, Chiang CY, Wark JD. Bone turnover marker reference intervals in young females. *Ann Clin Biochem*. 2016.
67. Madar AA, Knutsen KV, Stene LC, Brekke M, Lagerløv P, Meyer HE, et al. Effect of vitamin D3-supplementation on bone markers (serum P1NP and CTX): A randomized, double blinded, placebo controlled trial among healthy immigrants living in Norway. *Bone Reports*. 2015;2:82-8.
68. Ginty F, Cavadini C, Michaud PA, Burckhardt P, Baumgartner M, Mishra GD, et al. Effects of usual nutrient intake and vitamin D status on markers of bone turnover in Swiss adolescents. *European journal of clinical nutrition*. 2004;58(9):1257-65.
69. Thiering E, Bruske I, Kratzsch J, Hofbauer LC, Berdel D, von Berg A, et al. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D and bone turnover markers in a population based sample of German children. *Scientific reports*. 2015;5:18138.

70. Tonks KT, White CP, Center JR, Samocha-Bonet D, Greenfield JR. Bone Turnover Is Suppressed in Insulin Resistance, Independent of Adiposity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2017;102(4):1112-21.

Table 1 Characteristics of participants

Characteristics	Males (n = 124)	Females (n = 127)	<i>p</i> ^c
Age at entry (Years)	22.4 (17.1 – 26.4)	21.9 (16.8 – 26.1)	
Distribution [%]			
<20	41.9	40.9	
≥20 - <30	47.6	46.5	NS
≥30 - 41	10.5	12.6	
^a Years of treatment	2.1 (2.0 – 2.2)	2.1 (2.1 – 2.2)	NS
^a Years after treatment	13.1 (9.8 – 17.1)	13 (9.3 – 18.9)	NS
^a BMI [kg/m ²]	23.0 (21.0 – 26.2)	23.7 (20.8 – 26.5)	NS
BMI category [%]			
Lean	72.6	69.3	
Overweight	14.5	14.2	NS
Obese	12.9	16.5	
^{ad} Total Vitamin D intake [IU/d]	280 (200 – 412)	224 (160 – 376)	=0.0103
^a Calcium intake [mg/d]	1627 (1156 – 2060)	1235 (947 – 1526)	<0.001
^a Phosphate intake [mg/d]	2105 (1689 – 2555)	1619 (1330 – 1962)	<0.001
^b Serum Calcium [mM]	2.44 ± 0.08	2.38 ± 0.08	<0.001
^b Serum Inorganic Phosphate [mM]	1.25 ± 0.28	1.24 ± 0.19	NS
^a Serum Alkaline Phosphatase [IU/L]	80 (66 – 111)	66 (50 – 87)	<0.001
^a Serum iPTH [pM]	3.2 (2.2 – 4.1)	3.1 (2.1 – 4.0)	NS
^a Serum 25OHD ₃ [nM]	57 (42 – 72)	64 (46 – 80)	=0.0403

The current laboratory-derived reference values are: serum calcium (1- 19 years: 2.29-2.63 mM; >19 years: 2.10-2.55 mM); inorganic phosphate (Males 13-16 years: 1.14-1.99; Females 13-16 years: 1.02-1.79; Males & Females 16-19 years: 0.95-1.62; Males and Females >19 years: 0.74-1.52 mM); serum total alkaline phosphatase (Males 13-15 years: 127-517 IU/L; Females 13-15 years: 62-280 IU/L; Males 15-17 years: 89-365 IU/L; Females 15-17 years: 54-128 IU/L; Males 17-19 years: 59-164 IU/L; Females 17-19 years: 48-95; Males and Females >19 years: 40-150 IU/L). The serum iPTH reference values are those suggested by the manufacturer (1.3-6.8 pM).

^aMedian (IQR)

^bMean (SD)

^cP values from t-tests for continuous variables and chi² tests for categorical variables.

^dTo convert IU/d vitamin D intake to µg/d divide by 40.

Table 2: Association between 25OHD₃ and vitamin D intake, body fat, BMI and waist circumference.

	Regression coefficient estimation	95% CI		p-value
Vitamin D intake	0.5384	0.2039	0.8750	0.0017
Body fat %	-0.1018	-0.3779	0.1743	0.4682
BMI				
Overweight vs normal	-1.1989	-8.7191	6.3213	0.7538
Obesity vs normal	-11.1035	-20.2925	-1.9145	0.0181
Waist circumference				
Overweight vs normal	-2.0432	-11.2519	7.1654	0.6625
Obesity vs normal	-4.1462	-11.2243	2.9320	0.2497

The associations between serum 25OHD₃ and continuous variables (vitamin D intake and percent body fat) were tested by univariate regression analysis. Chi-squared tests were performed for categorical classification (BMI and Waist circumference). A P ≤ 0.05 is considered significant.

Table 3 Patient serum bone resorption and formation biomarkers concentrations.

Males	n	Patients	Control values	Patients	Control values
Age group (y)		CTX µg/L	CTX µg/L	P1NP µg/L	P1NP µg/L
8 - <10	1	2.33	0.78 – 2.55	639	402 - 968
10 - <12	1	3.75	0.77 – 2.58	1119	300 - 1190
12 - <14	3	2.17 – 3.59	0.61 – 2.60	926 - 1156	146 - 1192
14 - <16	10	1.37 – 4.15	0.53 – 3.05	259 - 1849	139 – 1030
16 - <18	26	0.75 – 4.34	0.29 – 1.83	92 - 619	61 - 608
18 - <20	11	0.53 – 1.86	0.20 – 1.56	60 - 474	27 - 364
>20	71	0.03 – 1.46	0.02 – 0.80	26 - 228	11 - 79
Females	n	Patients	Control values	Patients	Control values
Age group (y)		CTX µg/L	CTX µg/L	P1NP µg/L	P1NP µg/L
8 - <10	0	-	0.32 – 2.52	-	181 - 1337
10 - <12	2	0.25 – 0.81	0.44 – 2.14	421 - 851	382 – 1312
12 - <14	3	0.39 – 1.20	0.17 – 1.72	230 - 1081	74 - 713
14 - <16	19	0.13 – 2.31	0.53 – 2.51	68 - 991	50 - 342

16 - <18	19	0.10 – 2.10	0.32 – 1.53	28 - 264	16 - 162
18 - <20	9	0.19 – 0.57	0.12 – 1.50	45 - 145	19 - 147
>20	75	0.07 - 2.16	0.03 – 0.66	2 - 120	7 - 57

Patient values are compared to reference values. When the number of patients allows, values are expressed as the 2.5-97.5th percentiles. Otherwise they are the range. The reference values were obtained from groups of volunteer European pediatric-age male and female (n = 23 - 25), premenopausal women (n = 124) and middle-age men (n = 138). The 2 biomarkers were measured on the same platform as that used in the present study.

Table 4: Multiple linear regression analyses for predictors of bone turnover biomarkers

	P1NP*				CTX*			
	Regression coefficient	95% CI		p-value	Regression coefficient	95% CI		p-value
Sex (Male vs Female)	0.3748	0.1291	0.6205	0.0029	0.4125	0.1907	0.6343	0.0003
Age	-0.0984	-0.1121	-0.0848	<.0001	-0.0701	-0.0824	-0.0577	<.0001
25OHD ₃	-0.0040	-0.0073	-0.0007	0.0177	-0.0039	-0.0069	-0.0009	0.0103
BMI								
Overweight vs normal	0.0473	-0.2083	0.3028	0.7159	0.0922	-0.1385	0.3229	0.4318
Obesity vs normal	-0.1075	-0.4669	0.2519	0.5561	-0.0929	-0.4173	0.2315	0.5732
Waist circumference								
Overweight vs normal	0.0721	-0.2008	0.3450	0.6031	-0.2083	-0.4546	0.0381	0.0971
Obesity vs normal	0.5143	0.2132	0.8154	0.0009	0.1589	-0.1129	0.4306	0.2505
Percentage body fat	-0.0264	-0.0412	-0.0116	0.0005	-0.0191	-0.0325	-0.0057	0.0053

*As the concentrations of the intact amino-terminal pro-peptide of type I collagen (iP1NP) and CTX were not normally distributed, the data were log transformed prior to analysis.

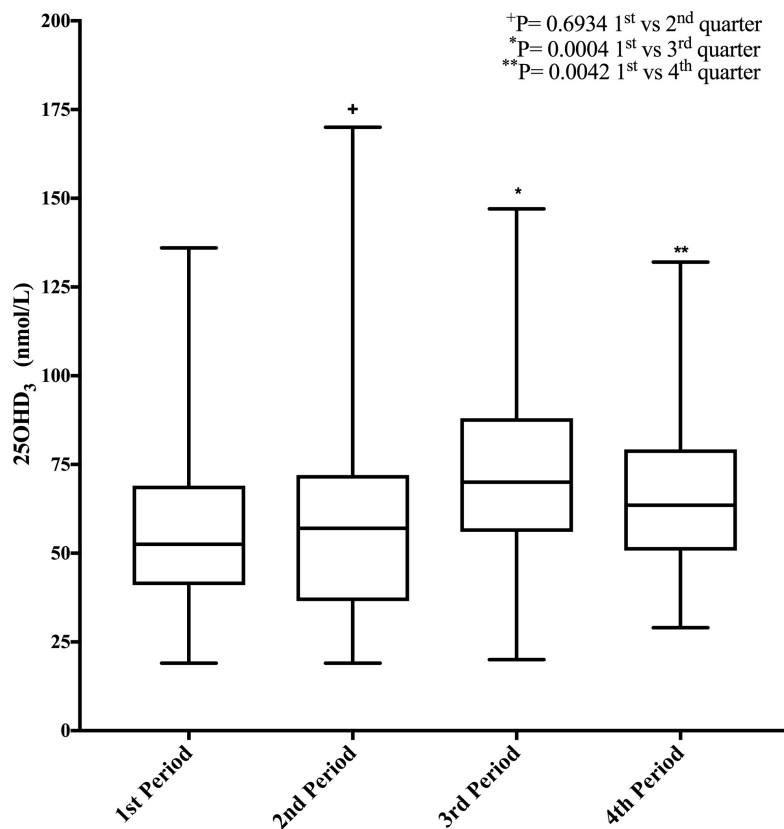


Figure 1: Serum 25OHD₃ concentrations by year quarters

25OHD₃: 25-hydroxyvitamin D₃. The one-way ANOVA Kruskal-Wallis rank test, followed by the two-stage linear step-up procedure of Benjamini, Krieger, Yekutieli for controlling false discovery rate was used. The 1st period served as reference. The box and whisker plots show the medians, interquartile ranges and minimum and maximum concentrations. The 1st period covers: January – March (n = 68), the 2nd : April – June (n = 81), the 3rd: July – September (n= 37), the 4th: October – December (n = 62).

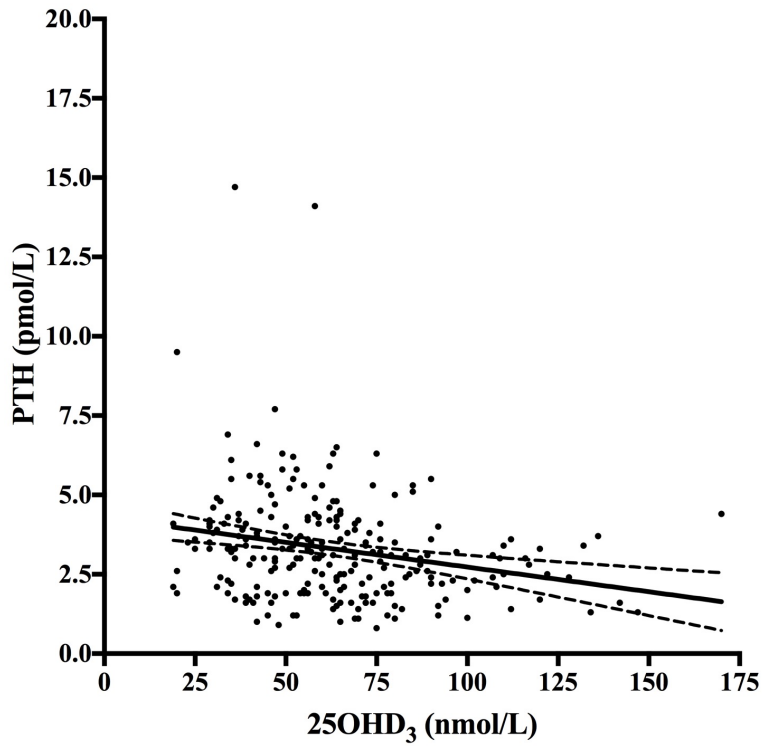


Figure 2: relationship between serum 25OHD₃ and iPTH concentrations.

iPTH: intact Parathyroid hormone; 25OHD₃: 25-hydroxyvitamin D₃. A simple linear regression was used. The dotted lines represent the 95% confidence intervals (C.I.). For this analysis 244 paired samples were available. Equation: $Y = -0.01555 * X (-0.0238 \text{ to } -0.0073) + 4.284$. Values in parentheses are the 95% C.I. for the regression; $P = 0.0003$

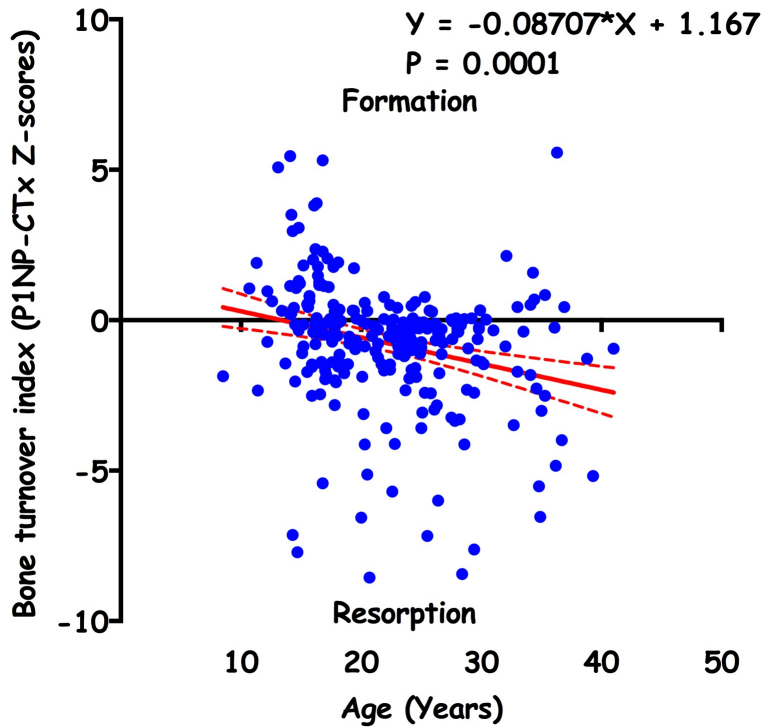


Figure 3: Bone turnover index as a function of age of the cALL survivors.

P1NP: pro-peptide of type I collagen; CTX: cross-linked C-telopeptide of type I collagen; a simple linear regression was applied. The equation for the regression is: $Y = -0.08707 (-0.1285 \text{ to } -0.04564) X + 1.167$, r^2 is 0.06665. The values in parentheses are the slope 95% Confidence intervals (C.I.) for the regression; $P < 0.0001$. For this analysis 242 paired samples were available.

8.6 Article 6

Associations between quality of diet and cardiometabolic outcomes among survivors of childhood leukaemia

Sophie Bérard, Sophia Morel, Emma Teasdale, Caroline Laverdière, Daniel Sinnett, Emile Levy, Valérie Marcil

Article publié dans la revue *Nutrients* en juillet 2020

Cet article répond aux objectifs spécifiques 2.5 et 2.6

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a participé à la collecte de données, aux analyses statistiques, à l'interprétation des résultats et à la rédaction et la révision du manuscrit.

Diet Quality Is Associated with Cardiometabolic Outcomes in Survivors of Childhood Leukemia

Sophie Bérard ^{1,3}, Sophia Morel ^{1,3}, Emma Teasdale ¹, Nitin Shivappa ^{4,5}, James R Hebert ^{4,5},
Caroline Laverdière ², Daniel Sinnett ², Emile Levy ^{1,3} and Valérie Marcil ^{1,3,*}

¹ Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Department of Nutrition, Université de Montréal, Montreal, QC H3T 1C5, Canada; sophie.berard@umontreal.ca (S.B.); sophia.morel@umontreal.ca (S.M.); emma.teasdale@umontreal.ca (E.T.); emile.levy@recherche-ste-justine.qc.ca (E.L.)

² Research Centre, Sainte-Justine University Health Center, Department of Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, QC H3T 1C5, Canada; caroline.laverdiere@umontreal.ca (C.L.); daniel.sinnett@umontreal.ca (D.S.)

³ Institute of Nutrition and Functional Foods, Laval University, Quebec City, QC G1V 0A6, Canada

⁴ Cancer Prevention and Control Program, University of South Carolina, Columbia, SC 29208, USA; shivappa@mailbox.sc.edu (N.S.); jhebert@mailbox.sc.edu (J.R.H.)

⁵ Department of Epidemiology and Biostatistics, Arnold School of Public Health, University of South Carolina, Columbia, SC 29208-4005, USA

* Correspondence: valerie.marcil@umontreal.ca; Tel.: +1-514-345-4931 (ext. 3272)

Received: 23 June 2020; Accepted: 15 July 2020; Published: 18 July 2020

Abstract: There is little information about how diet influences the health of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL) survivors. This study explores the associations between diet quality indices, cardiometabolic health indicators and inflammatory biomarkers among cALL survivors. Participants were part of the PETALE study ($n = 241$, median age: 21.7 years). Adherence to 6 dietary scores and caloric intake from ultra-processed foods were calculated. Multivariate logistic regressions, Student t -tests and Mann-Whitney tests were performed. We found that 88% of adults and 46% of children adhered poorly to the Mediterranean diet, 36.9% had poor adherence to the World Health Organisation (WHO) recommendations and 76.3% had a diet to be improved according to the HEI-2015 score. On average, ultra-processed foods accounted for 51% of total energy intake. Low HDL-C was associated with a more inflammatory diet (E-DIITM score) and higher intake of ultra-processed foods. A greater E-DII score was associated with elevated insulin resistance (HOMA-IR), and consumption of ultra-processed foods was correlated with high triglycerides. Circulating levels of TNF- α , adiponectin and IL-6 were influenced by diet quality indices, while CRP and leptin were not. In conclusion, survivors of cALL have poor adherence to dietary recommendations, adversely affecting their cardiometabolic health.

1. **Keywords:** survivors; pediatrics; oncology; acute lymphoblastic leukemia; dietary scores; cardiometabolic complications; nutrition

1. Introduction

Pediatric cancers are the leading causes of disease-related mortality in Canadian children [1,2] and acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common of these cancers [3]. An average of 880 Canadian children under the age of 15 are diagnosed with cancer each year and the incidence of pediatric cancers has remained relatively stable since 1992 [2]. Leukemia accounts for 32% of all pediatric cancers [2]. In recent years, therapeutics advances have achieved a survival rate for childhood ALL (cALL) that exceeds 90% [4]. Therefore, the population of survivors is growing in Canada and other parts of the world [2,5,6]. Unfortunately, cALL survivors are at

greater risk of developing long-term chronic health complications [7]. For example, they are seven times more likely than their siblings to develop cardiac complications such as heart failure and myocardial infarction [8]. The PETALE study (*Prévenir les effets tardifs des traitements de la leucémie lymphoblastique chez l'enfant*), carried out in Sainte-Justine University Health Center (SJUHC) in Montreal, PQ, Canada showed that more than 60% of children and young adult survivors of cALL exhibited at least one cardiometabolic risk factor, including dyslipidemia, pre-hypertension or hypertension, obesity and insulin resistance [9]. Compared to participants of the same age in the general population, they were at higher risk of developing the metabolic syndrome [9]. Studies in other populations of cALL survivors displayed similar findings [10,11].

Several mechanisms have been proposed to explain the cardiometabolic side effects on cALL survivors [11]. Side effects of radiotherapy [12,13] and chemotherapy [14,15], gut microbiota modifications [16–18], poor eating habits [19,20] and physical inactivity [21,22] have all been pinpointed in this group. In the general population, it has been established that a healthy diet influences cardiometabolic risk [23,24] while poor adherence to dietary recommendations is negatively associated with cardiometabolic health outcomes [25,26]. To assess such associations, different validated food quality indices have been used [25,27–29]. In particular, food quality indices or nutritional scores are tools that provide an overall rating, on a numeric scale, indicating adherence level to nutrition recommendations or overall quality of diet [30,31].

Given the major health issues that face cALL survivors, it would be prudent for them to adopt healthy eating habits. However, some studies have reported their poor adherence to dietary guidelines [32–34]. Apparently, survivors do not eat enough fruits and vegetables [33,35,36], dairy products [35,36], whole grains [36,37], calcium and vitamin D [37] and they consume too much sodium, meat and processed foods [33]. Nonetheless, there is little information about how their eating habits may influence their cardiometabolic status.

Here, we studied diet quality of 241 cALL survivors of the PETALE cohort using nutritional scores including five using *a priori* dietary patterns (MEDAS, KIDMED, HDI-2018, HEI-2015, E-DII) and two *a posteriori* patterns (FRAP score and contribution of ultra-processed foods to total energy intake based on the NOVA classification). We also studied the associations between diet

quality indices and participants' cardiometabolic outcomes, as well as metabolic and inflammatory profile.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

Participants were recruited between January 2013 and December 2016 as part of the PETALE study at SJUHC in Montreal. A detailed presentation of the PETALE study and cohort is provided in Marcoux et al. [38]. The PETALE study was designed to characterize early-onset late adverse effects namely cardiometabolic complications, cardiotoxicity, neurocognitive problems, bone morbidity and quality of life in children, adolescents and young adults who had survived cALL [38]. Participants ($n = 246$) were of European-descent living in the Province of Quebec and were treated for ALL at SJUHC according to Dana-Farber Cancer Institution-ALL protocols 87-01 to 2005-01. Event-free patients who had not suffered from refractory ALL, relapsed or received hematopoietic stem cell transplant 5 years or more after diagnosis were eligible. Information on participants' treatment protocols is provided in Levy et al. [9]. The Institutional Review Board of SJHUC approved the study (approval number 2013-479) and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants and/or parents/guardians.

2.2. Anthropometric, Clinical and Biochemical Assessment

Anthropometric, clinical and biochemical assessments were achieved, as previously described [9]. Waist-to-height ratio [WHtR, waist circumference (WC) (cm)/height (cm)] and body mass index [BMI, weight (kg)/height (m)²] were calculated [38]. Hypertension and pre-hypertension were determined according to current recommendations in adults and children [9]. Fasting insulin (pmol/L), glucose (mmol/L), total cholesterol (TC, mmol/L), triglycerides (mmol/L), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C, mmol/L), high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C, mmol/L), apolipoproteins A-1 (Apo A-1, mg/mL) and B-100 (Apo B-100, g/L) and low-grade and visceral inflammation [C-reactive protein (CRP, µg/mL), tumor necrosis factor (TNF, pg/mL)- α , interleukin (IL, pg/mL)-6, adiponectin (ng/mL) and leptin (ng/mL)] were measured on fasting blood, as described previously [9,38]. The homeostasis model assessment of insulin resistance

(HOMA-IR) was calculated [39]. Cardiometabolic complications were defined and categorized [9]—obesity (yes or no), pre-hypertension/hypertension (yes or no), insulin resistance (yes or no) and dyslipidemia (yes or no). Participants with ≥ 2 cardiometabolic complications were identified. Cut-off values and definitions used to determine cardiometabolic outcomes in children (<18 years old) and adults are described in Supplementary Table S1 and were assessed as reported in former investigations [40–42].

2.3. Data Collection and Analysis for Dietary Intake

Participants' dietary intake was recorded using a validated food frequency questionnaire consisting of 190 items. Data collection method, nutrient calculation and further classification in food groups and subgroups have been previously described [43]. For 191 participants, 3-day food records also were available and were analyzed with the Nutrific[®] software developed by the Department of Food Science and Nutrition, Université Laval). Nutrient values from the Nutrific application were extracted from the 2010 Canadian Nutrient File.

2.4. Assessment of Diet Quality

Data collected with the food frequency questionnaires were used to calculate the dietary scores—Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS), Mediterranean Diet Quality Index for children and adolescents (KIDMED), Healthy Diet Indicator (HDI-2018), Healthy Eating Index (HEI-2015), Energy-adjusted Dietary Inflammatory Index (E-DII[™]) and Ferric reducing ability of plasma (FRAP). 3-day foods records were used for the NOVA Classification.

2.4.1. Mediterranean Diet Adherence

For adults, adherence to the Mediterranean diet (MD) was determined by the 14-point MEDAS score. This score consists of 12 questions on food frequency and 2 questions on MD dietary habits—consumption of olive oil for cooking and >60 mL/day, vegetables (>4 portions/day), fruits (3/day), red meat (<1 portion/day), butter, margarine or cream (≤ 15 mL/day), sugary drinks (<355 mL/day), wine (≥ 3 glasses/week), legumes (≥ 3 portions/week), fish or seafood (≥ 3 portions/week), baked goods (<2/weeks), nuts (≥ 3 portions/week), preferring chicken/turkey instead of red meat and consuming boiled vegetables, pasta, rice or other dishes

with a sauce of tomato, garlic or onions sautéed in olive oil. The questions are scored as either 0 or 1, reaching a maximum score of 14. Adherence is categorized as follows— ≥ 10 , strong adherence; 6–9, moderate adherence; ≤ 5 , low adherence [44]. For children, MD adherence was assessed using an updated version of the KIDMED Index [45,46]. This index is based on 16 yes or no questions, with a total score ranging from –4 to 12. Scoring of +1 is attributed in accordance to the MD, while questions that do not reflect this type of diet are scored –1. Diet is classified in three levels— ≥ 8 , optimal MD; 4–7, improvement needed; ≤ 3 , very low diet quality [45].

2.4.2. Healthy Diet Indicator

The HDI is based on the 2003 World Health Organization (WHO) guidelines for prevention of chronic diseases [47]. The HDI-2018 was further developed according to the updated version of the WHO Fact Sheet 2018 [48]. It includes 9 components— ≥ 400 g of fruits and vegetables per day, $< 30\%$ of fat from total energy, $< 10\%$ of saturated fat from total energy, 6–11% of polyunsaturated fatty acids from total energy, $< 10\%$ of free sugars from total energy, ≥ 25 g of dietary fiber per day, ≥ 3500 mg of potassium per day, < 2 g of sodium and $< 1\%$ of trans fat from total energy. A value of +1 is assigned when intake is within the recommended range, otherwise the score is 0. The sum of the 9 components generates a score from 0 to 9. The level of adherence is determined as follows— ≥ 7 , strong adherence ; 4–6, modest adherence ; and ≤ 3 , low adherence [49].

2.4.3. Healthy Eating Index

The HEI-2015 assesses adherence to the Dietary Guidelines for Americans [50,51]. This score takes into account 14 dietary components expressed in 1000 kcal (total fruits, whole fruits, total vegetables, greens and beans, whole grains, dairy, total protein foods, seafood and plant proteins, refined grains, added sugars, fatty acids, sodium and saturated fats). Briefly, each healthy food component accounts for 5 or 10 points and unhealthy components for 0 point (i.e., refined grains ≥ 4.3 oz eq/1000 kcal; added sugar $\geq 26\%$ of total energy; sodium ≥ 2 g/1000 kcal; saturated fatty acids— $\geq 16\%$ of total energy). The sum of the components leads to a score ranging from 0 to 100

[51,52]. A HEI-2015 score >80 indicates a good quality diet, a score ranging from 51–80 indicates a diet that needs improvement and a score <51 reflects poor quality diet [53].

2.4.4. Energy-Adjusted-Dietary Inflammatory Index

The Dietary Inflammatory Index (DII[®]) was developed to assess the inflammatory potential of the diet. The development and validation of the DII has been published [54,55]. Briefly, it reflects the relationship between 45 food parameters and six inflammatory biomarkers reported by 1943 research articles published through 2010. Food and nutrient consumption was first adjusted for total energy per 1000 calories. To avoid the arbitrary use of raw intake amounts, the energy-adjusted dietary intake was standardized to an energy-adjusted worldwide representative diet database from eleven populations around the world, which was then multiplied by the literature-derived inflammatory effect score for each DII component and summed across all components to obtain the overall energy-adjusted score (E-DIITM). E-DII values can range from –8.87 (very anti-inflammatory diet) to +7.98 (very pro-inflammatory diet) [54]. For our study, we had access to 31 food parameters—alcohol, vitamin B₁₂, vitamin B₆, β-carotene, caffeine, carbohydrates, cholesterol, energy, total fat, fiber, folic acid, iron, magnesium, monounsaturated fats, niacin, *n*-3 fatty acid, *n*-6 fatty acid, onion, protein, polyunsaturated fats, riboflavin, saturated fats, selenium, thiamin, trans fat, vitamin A, vitamin C, vitamin D, vitamin E, zinc, green/black tea.

2.4.5. Ferric Reducing Ability of Plasma Score

The dietary antioxidant capacity was determined using the Antioxidant Food Table that measures the antioxidant content of over 3100 types of foods and beverages using a Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) assay [56]. The FRAP assay determines the antioxidant capacity of individual food items to reduce ferric iron (Fe³⁺) to ferrous iron (Fe²⁺) [57] and has been widely used in nutritional science [58]. For each participant, a FRAP score was calculated, taking the FRAP value of every type of food derived from the Antioxidant Food Table (mmol/100 g) and multiplying it by the consumption frequency. These values were summed across all dietary sources of antioxidants, representing the total dietary antioxidant capacity.

2.4.6. NOVA Classification

The NOVA classification (a name not an acronym) was used to assess the contribution of ultra-processed foods to the total dietary energy intake. This classification, developed by Monteiro and collaborators [59,60], categorizes foods and beverages according to their level of processing in four groups—Group 1, unprocessed or minimally processed foods (i.e., fresh fruits and vegetables, whole grains, legumes, eggs); Group 2, culinary ingredients (i.e., sugar, salt, oils) ; Group 3, processed foods (i.e., canned fruits, vegetables and legumes, dried, smoked, salted or sweetened meat, fish and nuts) ; Group 4, ultra-processed foods (i.e., soft drinks, sweet and salty snacks, commercial breads, cereals, flavored yogurts). For our study, foods and beverages were categorized by 3 registered dietitians. Caloric intake from ultra-processed foods (Group 4) was calculated as a percentage of the total daily energy intake.

2.5. Statistical Analysis

Distribution of variables was evaluated using the Kolmogorov-Smirnov test. Nutritional scores were classified into tertiles according to adherence levels. Crude and adjusted multivariate logistic regression models tested the associations between dietary scores and metabolic outcomes by calculating odds ratio and 95% confidence intervals. Potentially confounding variables including gender and survival time were incorporated in the analysis for all the scores. Energy intake was included as a confounding variable for the scores for which energy is not taken into account when calculated (MEDAS, KIDMED, HDI, FRAP, NOVA classification). For inflammatory biomarkers, differences in mean values between groups were tested using the Student t-test or Mann-Whitney test. p values < 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25, Armonk, NY: IBM Corp.).

3. Results

3.1. Descriptive Statistics

Table 1 provides a summary of participants' characteristics. One participant was excluded because he did not meet the inclusion criteria for PETALE and five participants were excluded due

to missing nutritional data. A total of 241 participants were included in the study, comprised of 156 adults (≥ 18 years old) and 85 children (< 18 years old). The proportion of males was 49.4%. The median age at visit was 21.3 years and median time since the end of treatment was 12.9 years. Overall, about 1/3rd (32.4%) of participants were obese, 41.1% had dyslipidemia, 16.6% had insulin resistance and 12% had pre-hypertension or hypertension and 29% had ≥ 2 cardiometabolic complications (cut-off values defined in Supplementary Table 1).

The descriptive statistics for dietary scores are summarized in Table 2 and their distributions are presented in Figure 1. According to the mean MEDAS and KIDMED scores, 88% of adults and 46% of children adhered poorly to the MD, whereas 12% of adults and 51% of children had moderate adherence. No adult and only 4% of children strongly adhered to the MD. Adherence to the WHO recommendations, qualified using the HDI-2018 score, showed that 89 participants (36.9%) had poor adherence, 136 (56.4%) modest adherence and 16 (6.6%) strong adherence. The HEI-2015 score revealed that 52 participants (21.6%) had poor quality diet, 184 (76.3%) had a diet to be improved and 5 (2.1%) had a diet of good quality. The E-DII scores ranged from -4.80 (most anti-inflammatory score) to $+3.23$ (most pro-inflammatory score). The FRAP score was between 1.96 mmol/day (lower total antioxidant capacity) and 48.8 mmol/day (higher total antioxidant capacity). On average, ultra-processed foods accounted for more than half of participants' total energy intake, with a maximum of 93.4%.

3.2. Association between Dietary Scores and Anthropometric and Metabolic Parameters

Our results show that a more inflammatory diet, estimated with the E-DII score, was positively associated with high HOMA-IR (tertile 2 vs. 1: OR: 2.667, $p = 0.03$) and low HDL-C (tertiles 2 and 3 vs. 1: OR: 2.359, $p = 0.02$) (Table 3). High consumption of ultra-processed foods was positively correlated with having low HDL-C (tertile 3 vs. 1: OR: 3.885, $p = 0.004$) and high TG (tertile 2 and 3 vs. 1: OR: 4.021, $p = 0.03$) (Table 4). In adults, there were tendencies for a protective association between a higher MEDAS score and high WC (tertile 2 vs. 1: OR: 0.374, $p = 0.059$) and low HDL-C (tertile 2 vs. 1: OR: 0.401, $p = 0.063$); however, these results did not reach statistical significance (Supplementary Table S2). In children, a better adherence to the KIDMED was inversely associated with high SBP (tertiles 2 and 3 vs. 1: OR: 0.193, $p = 0.05$) (Supplementary

Table S3). Finally, there was no association between adherence to the HDI-2018, HEI-2015 and FRAP scores and anthropometric and metabolic parameters (Supplementary Tables S4–S6).

Assessing the associations between diet and cardiometabolic complications revealed that a more pro-inflammatory diet was associated with an increased risk of having two or more risk factors (tertile 2 vs. 1: OR: 2.506, $p = 0.01$ and tertiles 2 and 3 vs. 1: OR: 2.076, $p = 0.03$) (Table 5). Similar results were observed when risk factors were analyzed individually: a more pro-inflammatory diet was positively associated with insulin resistance and hypertension and a higher consumption of ultra-processed foods was associated with dyslipidemia, but results were not statistically significant (Supplementary Tables S7–S10).

3.3. Association between Dietary Scores and Inflammatory Biomarkers

Participants who had a better adherence to the HEI-2015 score had lower level of TNF- α (tertile 3: 1.99 pg/mL vs. tertile 1: 2.28 pg/mL, $p = 0.01$), while levels were higher in those having a more inflammatory diet (tertile 3: 2.89 pg/mL vs. tertile 1: 2.10 pg/mL, $p = 0.07$), without reaching statistical significance (Supplementary Table S11). Next, the group was stratified according to participants' obesity status (Figure 2). In non-obese participants, TNF- α levels were lower in those with higher HEI-2015 and KIDMED scores (tertile 3: 1.98 pg/mL vs. tertile 1: 2.23 pg/mL, $p = 0.049$ and tertile 2: 1.83 pg/mL vs. tertile 1: 2.52 pg/mL, $p = 0.049$, respectively). An inverse trend was observed with a greater proportion of ultra-processed foods (tertile 3: 2.36 pg/mL vs. tertile 1: 1.97 pg/mL, $p = 0.06$) (Figure 2). There was no effect of the scores in obese participants only.

Adults with a better adherence to the MD had higher levels of adiponectin (tertile 3: 19.41 ng/mL vs. tertile 1: 14.10 ng/mL, $p = 0.004$) (Supplementary Table S12). Similar differences according to the MEDAS score were found in both non-obese and obese adults but were not observed in children with the KIDMED score (Figure 2). In obese participants, adiponectin levels were lower with a pro-inflammatory diet (tertile 3: 11.44 ng/mL vs. tertile 1: 16.77 ng/mL, $p = 0.044$) and were higher with a better adherence to HDI-2018 scores (tertile 3: 15.76 ng/mL vs. tertile 1: 11.22 ng/mL, $p = 0.044$) (Figure 2).

Differences in IL-6 levels were observed only when obese and non-obese participants were analyzed separately (Supplementary Tables S13–S15). IL-6 levels were higher among obese and

non-obese participants who consumed more ultra-processed foods (tertile 3: 0.83 pg/mL vs. tertile 2: 0.65 pg/mL, $p = 0.04$ and tertile 3: 0.77 pg/mL vs. tertile 2: 0.34 pg/mL, $p = 0.004$, respectively) (Supplementary Tables S14 and S15). Also, non-obese participants who had a better adherence to the HDI-2018 score had lower IL-6 levels (tertile 3: 0.35 pg/mL vs. tertile 1: 0.55 pg/mL, $p = 0.02$) (Supplementary Table S15). No statistical differences were found in the levels of CRP and leptin according to dietary scores (data not shown).

4. Discussion

We found that survivors of cALL of the PETALE cohort adhered poorly to the MD, had a modest adherence to the WHO recommendations and, according to the HEI-2015 score, the quality of their diet had to be improved. On average, more than half of participants' daily energy intake was provided by ultra-processed foods. We also found that adherence to dietary scores was associated with several cardiometabolic outcomes, namely HDL-C, triglycerides, HOMA-IR, blood pressure and accumulating cardiometabolic risk factors. Diet quality also influenced circulating TNF- α and adiponectin levels.

It is well documented that, in the general population, the adherence to dietary guidelines and the quality of diet are sub-optimal [61]. It appears that survivors of childhood cancer are no exception. Several studies have demonstrated that cALL survivors adhere poorly to dietary recommendations [32–34]. By using 7 validated dietary scores, our study complements these observations. The use of dietary scores assesses, through a holistic approach, both quality and variety of diet. In our population, a large proportion of total caloric intake was provided by ultra-processed foods and adherence to the MD and the WHO recommendations was generally poor. Our results are consistent with data observed in previous studies, showing that survivors consume a high intake of free sugars, processed and refined foods, sodium and few fruits and vegetables [32,33]. Given that childhood cancer survivors are at high risk of metabolic and cardiovascular diseases [9,14] and of secondary cancer [62], adherence to healthy dietary patterns should be promoted in this population.

In our study, a better adherence to the MEDAS score was inversely associated with the risk of having low HDL-C, whereas positive associations were found with a more pro-inflammatory diet (E-DII score) and higher intake of ultra-processed foods. Previously, our group has highlighted

the influence of nutrient and food group intakes on the risk of having low HDL-C in the PETALE cohort [39]. In Brazilian adults without cancer, a Traditional dietary pattern, characterized by a high consumption of rice and legumes and a low consumption of red meat, fat and sugar was associated with higher HDL-C [27]. An inverse association was found between the E-DII score and HDL-C levels in an American adult population [63]. HDL particles play a protective role in cardiovascular health by their involvement in reverse cholesterol transport [64] and their anti-inflammatory [65], antioxidant [66] and anti-thrombotic properties [67]. Several dietary components can improve HDL function. For example, the polyphenols contained in olive oil can increase reverse cholesterol transport and particle size, promote better stability by reducing triglycerides content and improve redox status [68]. Also, high doses of eicosapentaenoic acid increase reverse cholesterol transport and improve HDL anti-inflammatory and antioxidant functions [69]. Based on our results and considering that cALL survivors are more likely to present with low HDL-C [70,71], the improvement of diet quality should become an important aspect of long-term care management.

We found that a greater contribution of ultra-processed foods to total energy intake was associated with having high triglycerides. While data on the relationship between consumption of ultra-processed foods and cardiometabolic outcomes are growing [72], their impact on triglyceride levels remains uncertain [73]. Nonetheless, circulating levels of triglycerides are an independent risk factor for cardiovascular disease [74]. Also, low HDL-C levels were associated with high levels of triglycerides in previous studies [75,76]. Compared with the general population, survivors are eight times more likely to die from cardiovascular-related disease [77], which argues for a reduction of ultra-processed food consumption.

Participants consuming a more pro-inflammatory diet, measured with the E-DII score, were at higher risk of having a high HOMA-IR, an indicator of insulin resistance. Diet is an important contributor in the development of type 2 diabetes and insulin resistance [78] and other inflammation-related diseases [79]. Dietary components can exert pro-inflammatory or anti-inflammatory effects, which may influence the risk of inflammatory diseases, among other atherosclerosis [79]. Previous studies have shown that the DII score is associated with increased inflammatory biomarkers [80], incidence of cardiovascular disease [81], some cancers [82,83] and

adiposity measures [84]. In a cross-sectional study of 2975 Iranian adults, the association between the DII score and the risk of glucose intolerance disorders could not be demonstrated, although trends were found between a higher DII and fasting blood glucose and HOMA-IR [85]. Likewise, a Western diet typically rich in pro-inflammatory foods, has been associated with altered glucose metabolism, insulin resistance and cardiovascular diseases [86,87]. More studies are needed to clearly assess if and how a “pro-inflammatory diet” can contribute to the development of insulin resistance and type 2 diabetes, especially in populations of childhood cancer survivors who have been exposed to high levels of inflammation and oxidative stress during their treatments.

In our cohort, a better adherence to the KIDMED and HDI-2018 scores was negatively associated with the risk of having pre-hypertension/hypertension and a more inflammatory diet was associated with an increased risk. Similarly, in a cohort of Brazilian adults, there was an inverse association between a diet rich in fruits, vegetables, legumes, whole grains and fish and high systolic blood pressure [27]. However, no relation between blood pressure and the adherence to the MD was found in adolescents [88]. We previously demonstrated that participants of the PETALE cohort were at increased risk of pre-hypertension and hypertension compared to the general population (relative risk of 2.59) [9]. While the underlying mechanisms remain misunderstood, the exposure of the cardiovascular system at an early age to the toxic effects of chemotherapeutic agents and to radiotherapy could cause endothelial damage [89]. Clearly, finding nutritional avenues to alleviate this side effect in the long term would benefit this population.

Although we found trends for associations between several dietary scores and indicators of adiposity (body mass index (BMI) and waist circumference), statistical significance was never achieved, perhaps owing to our limited sample size. In the literature, such associations are inconsistent. In a 6-year longitudinal study, better adherence to a MD was associated with lower waist circumference [90] but another study in adult women found no association [91]. In children, good adherence to the KIDMED score resulted in a 30% decreased odds of being overweight or obese [88]. In a cohort of 2967 adults, consumption of ultra-processed foods was associated with an increased risk of overweight and obesity [92]. However, in children, there was no association between the HEI-2015 score and BMI [93]. The causes of obesity are complex and multifactorial.

Not only can the quantitative and qualitative aspects of diet have an impact, but other factors such as physical activity [94], sleeping habits [95] and genetics [96], contribute to maintaining body weight via the regulation of metabolic and endocrine processes. Although it appears intuitive, the contribution of diet quality in the maintenance of body weight and adiposity after childhood cancer remains to be confirmed.

Abdominal obesity is recognized as a risk factor for cardiovascular disease and type 2 diabetes [97]. It is characterized by increased adipose tissue surrounding the intra-abdominal organs. As a hormonally active tissue, visceral adipose tissue releases different bioactive molecules and hormones, such as adiponectin, leptin, TNF- α and IL-6. In our cohort of cALL survivors, we found associations between dietary scores and the inflammatory biomarkers TNF- α , IL-6 and adiponectin, while none was found for leptin and CRP. TNF- α is associated with low-grade inflammation, possibly leading to insulin resistance and diabetes [98] and contributes to the pathogenesis of atherosclerosis [99]. In non-obese participants of our cohort, greater adherence to the HEI-2015 and KIDMED scores was associated with lower TNF- α levels. Conversely, there was a positive trend observed with eating a more inflammatory diet or ultra-processed foods. In parallel, no statistically significant difference was found in obese participants, although a similar trend was found for HEI-2015 adherence. In the literature, a higher E-DII score has been associated with greater TNF- α levels in adolescents [80]. In adults with type 2 diabetes or at least 3 risk factors (hypertension, dyslipidemia or a family history coronary heart disease), a nutritional intervention based on the MD led to lower plasma concentrations of TNF receptors [100]. We also found higher IL-6 levels in relation to ultra-processed foods in both obese and non-obese participants and lower IL-6 with higher HDI-2018 score in non-obese. IL-6 has been identified as a marker for metabolic disorders and cardiovascular disease, although its exact in vivo pathophysiological significance remains unknown [101]. Some literature also supports a link between circulating IL-6 and diet. In women, consumption of trans fatty acids was positively associated with IL-6 levels but only in participants with higher BMI [102]. In populations at high cardiometabolic risk, an MD supplemented with olive oil or nuts reduced IL-6 levels [103]. Additionally, adiponectin produced by the adipose tissue, is responsible for the modulation of several metabolic processes such as glucose hemostasis and fatty acid oxidation, in addition to

having anti-inflammatory properties [104,105]. Circulating levels of adiponectin have been inversely associated with the metabolic syndrome [106,107]. In our cohort, participants with a better adherence to the MD had higher adiponectin levels and this was observed in both obese and non-obese adults. Additional differences were found only in obese participants, namely with the HDI-2018 and E-DII scores. Similarly, a literature review of 10 studies on dietary patterns and adiponectin levels concluded that adherents to healthy dietary patterns have higher levels of circulating adiponectin [108]. The reasons explaining why, in our study, different results were observed in obese and non-obese participants are unclear. One can speculate that, with greater adiposity, the contribution of diet to one's inflammatory state could be more or less important, depending on the pathway. Nonetheless, the small sample size of the sub-group might have precluded reaching statistical significance.

In our study, no associations between diet quality and the biomarkers leptin and CRP were found. Leptin is an important modulator of food intake and energy balance. Circulating leptin is strongly associated with BMI and the degree of adiposity [109]. Leptin levels were found higher in female cALL survivors compared to controls, which was not observed in male survivors [110]. However, leptin levels were not associated with dietary habits in another cohort [111]. CRP is a biomarker of the inflammatory status and a predictor of cardiovascular events [112]. CRP was associated with trans fatty acids in obese women [102] and was reduced following an MD intervention [103]. While the literature on diet quality and biomarkers of inflammation is divergent, further studies are needed to elucidate the role of diet on inflammatory processes in survivors of cALL.

The PETALE cohort is mostly comprised of AYA cALL survivors, a population that is understudied and that faces particular challenges in terms of compliance with treatment [113,114] and ability to follow dietary recommendations. In particular, low consumption of fruits and vegetables [32,115], fiber [34] and high intakes of high-fat foods [115] have been reported in AYA cancer survivors. Besides, high intakes of refined grains [61,116], empty calories [116] fruit juice and food high in sugar and fat [61] were noted in children and adolescents from the general population. Therefore, it is of high interest to study dietary and lifestyle habits in the very specific population of AYA cancer survivors.

A strength of our study is the use of numerous dietary scores to evaluate the quality of diet and its association with cardiometabolic health in survivors of cALL. The use of a validated food frequency questionnaire tailored for our population and the thorough biochemical and clinical characterization of the PETALE cohort are other strengths. One important study limitation is the sample size, which reduce the likelihood of obtaining more statistically significant associations. Also, it is known that questionnaires are associated with social approval and desirability biases [117,118] and that self-assessment of diet makes measurement error inevitable. While the MD can be assessed by several scores and *a posteriori* analyses, only the MEDAS and KIDMED scores were used in our study. Moreover, given the exploratory nature of the study, *p* values were not adjusted for multiple testing. It is possible that other confounding variables were not measured or accounted for in the analysis. Validation of our findings in other cohorts of cALL survivors is necessary. The lack of a non-cancer control group is another study limitation that prevents comparison with the general population. Finally, our study findings identified associations and do not explain how the different components of diet can modulate cardiometabolic health outcomes.

5. Conclusions

Our study showed that adolescent and young adult survivors of cALL do not have good adherence to dietary guidelines. Our results support a beneficial role for a high-quality diet on survivors' cardiometabolic health, reflected by adherence to the MD, the WHO recommendations, the American Dietary Guidelines, as well as by a limited consumption of pro-inflammatory and ultra-processed foods. A better understanding of how diet and dietary components can affect the health of cALL survivors will allow the development of tailored recommendations and nutritional strategies for this high-risk population.

Supplementary Materials: The following are available online at www.mdpi.com/xxx/s1, Table S1: Cut-off values and definitions of cardiometabolic outcomes, Table S2: Associations between adherence to the MEDAS score and anthropometric and metabolic parameters, Table S3: Associations between adherence to the KIDMED score and anthropometric and metabolic parameters, Table S4: Associations between adherence to the HDI-2018 score and anthropometric and metabolic parameters, Table S5: Associations between adherence to the HEI-

2015 score and anthropometric and metabolic parameters, Table S6: Associations between adherence to the FRAP score and anthropometric and metabolic parameters, Table S7; Association between adherence to nutritional scores and insulin resistance; Table S8: Association between adherence to nutritional scores and dyslipidemia, Table S9: Association between adherence to nutritional scores and obesity. Table S10: Association between adherence to nutritional scores and hypertension, Table S11: Association between adherence to nutritional scores and TNF- α levels in all participants, Table S12: Association between adherence to nutritional scores and adiponectin levels in all participants, Table S13: Association between adherence to nutritional scores and IL-6 levels in all participants, Table S14: Association between adherence to nutritional scores and IL-6 levels in obese participants, Table S15: Association between adherence to nutritional scores and IL-6 levels in non-obese participants.

Author Contributions: conceptualization, C.L., D.S., E.L. and V.M.; methodology, V.M., E.L., S.M., N.S., J.R.H. and S.B.; formal analysis, S.B., S.M., N.S., J.R.H. and E.T.; investigation, S.M., V.M. and S.B.; writing—original draft preparation, S.B., S.M., E.T and V.M.; writing—review and editing, V.M., E.L., D.S., C.L., N.S., J.R.H. and E.T.; supervision, V.M.; project administration, D.S., C.L., E.L. and V.M.; funding acquisition, D.S., C.L., E.L and V.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Institute of Cancer Research (ICR) of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society (CCS), Cancer Research Society (CRS), Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research (OICR) and Pediatric Oncology Group of Ontario (POGO), grant number: TCF 118694, by the J.A. DeSève Research Chair in Nutrition, the Fonds de Recherche du Québec en Santé and by a Transition Grant from the Cole Foundation.

Acknowledgments: We wish to thank the cALL survivors that generously gave of their time to be part of the PETALE study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Disclosure: James R. Hébert owns controlling interest in Connecting Health Innovations LLC (CHI), a company that has licensed the right to his invention of the dietary inflammatory index (DII®)

from the University of South Carolina in order to develop computer and smart phone applications for patient counseling and dietary intervention in clinical settings. Nitin Shivappa is an employee of CHI.

References

1. Canadian Vital Death Statistics Database (CVSD) linked to Discharge Abstract Database (DAD) and National Ambulatory Care Reporting System (NACRS). Available online: <https://www.statcan.gc.ca/eng/rdc/cvds-nacrs> (accessed on 4 September 2020).
2. Government of Canada. Cancer in Children in Canada (0–14 years). Available online: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/chronic-diseases/cancer/cancer-children-canada-0-14-years.html> (accessed on 3 March 2020).
3. Ness, K.K.; Armenian, S.H.; Kadan-Lottick, N.; Gurney, J.G. Adverse effects of treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia: General overview and implications for long-term cardiac health. *Expert Rev. Hematol.* **2011**, *4*, 185–197, doi:10.1586/ehm.11.8.
4. Pui, C.H.; Evans, W.E. A 50-year journey to cure childhood acute lymphoblastic leukemia. *Semin. Hematol.* **2013**, *50*, 185–196, doi:10.1053/j.seminhematol.2013.06.007.
5. Mazzucco, W.; Cusimano, R.; Mazzola, S.; Rudisi, G.; Zarccone, M.; Marotta, C.; Graziano, G.; D'Angelo, P.; Vitale, F. Childhood and Adolescence Cancers in the Palermo Province (Southern Italy): Ten Years (2003–2012) of Epidemiological Surveillance. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *15*, 1344, doi:10.3390/ijerph15071344.
6. Phillips, S.M.; Padgett, L.S.; Leisenring, W.M.; Stratton, K.K.; Bishop, K.; Krull, K.R.; Alfano, C.M.; Gibson, T.M.; de Moor, J.S.; Hartigan, D.B.; et al. Survivors of childhood cancer in the United States: Prevalence and burden of morbidity. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2015**, *24*, 653–663, doi:10.1158/1055-9965.EPI-14-1418.
7. Oeffinger, K.C.; Mertens, A.C.; Sklar, C.A.; Kawashima, T.; Hudson, M.M.; Meadows, A.T. Chronic Health Conditions in Adult Survivors of Childhood Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 1572–1582.
8. Mody, R.; Li, S.; Dover, D.C.; Sallan, S.; Leisenring, W.; Oeffinger, K.C.; Yasui, Y.; Robison, L.L.; Neglia, J.P. Twenty-five-year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic

leukemia: A report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* **2008**, *111*, 5515–5523, doi:10.1182/blood-2007-10-117150.

9. Levy, E.; Samoilenko, M.; Morel, S.; England, J.; Amre, D.; Bertout, L.; Drouin, S.; Laverdiere, C.; Krajcinovic, M.; Sinnett, D.; et al. Cardiometabolic Risk Factors in Childhood, Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia—A Petale Cohort. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 17684, doi:10.1038/s41598-017-17716-0.
10. Janiszewski, P.M.; Oeffinger, K.C.; Church, T.S.; Dunn, A.L.; Eshelman, D.A.; Victor, R.G.; Brooks, S.; Turoff, A.J.; Sinclair, E.; Murray, J.C.; et al. Abdominal obesity, liver fat, and muscle composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2007**, *92*, 3816–3821, doi:10.1210/jc.2006-2178.
11. Chueh, H.W.; Yoo, J.H. Metabolic syndrome induced by anticancer treatment in childhood cancer survivors. *Ann. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **2017**, *22*, 82–89, doi:10.6065/apem.2017.22.2.82.
12. Meacham, L.R.; Sklar, C.A.; Li, S.; Liu, Q.; Gimpel, N.; Yasui, Y.; Whitton, J.A.; Stovall, M.; Robison, L.L.; Oeffinger, K.C. Diabetes mellitus in long-term survivors of childhood cancer. Increased risk associated with radiation therapy: A report for the childhood cancer survivor study. *Arch Intern. Med.* **2009**, *169*, 1381–1388, doi:10.1001/archinternmed.2009.209.
13. Meacham, L.R.; Chow, E.J.; Ness, K.K.; Kamdar, K.Y.; Chen, Y.; Yasui, Y.; Oeffinger, K.C.; Sklar, C.A.; Robison, L.L.; Mertens, A.C. Cardiovascular risk factors in adult survivors of pediatric cancer—A report from the childhood cancer survivor study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2010**, *19*, 170–181, doi:10.1158/1055-9965.EPI-09-0555.
14. Rosen, G.P.; Nguyen, H.T.; Shaibi, G.Q. Metabolic syndrome in pediatric cancer survivors: A mechanistic review. *Pediatr. Blood Cancer* **2013**, *60*, 1922–1928, doi:10.1002/pbc.24703.
15. Westerink, N.L.; Nuver, J.; Lefrandt, J.D.; Vrieling, A.H.; Gietema, J.A.; Walenkamp, A.M. Cancer treatment induced metabolic syndrome: Improving outcome with lifestyle. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2016**, *108*, 128–136, doi:10.1016/j.critrevonc.2016.10.011.
16. Toucheffeu, Y.; Montassier, E.; Nieman, K.; Gastinne, T.; Potel, G.; Bruley des Varannes, S.; Le Vacon, F.; de La Cochetiere, M.F. Systematic review: The role of the gut microbiota in chemotherapy- or radiation-induced gastrointestinal mucositis—Current evidence and

- potential clinical applications. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2014**, *40*, 409–421, doi:10.1111/apt.12878.
17. van Vliet, M.J.; Tissing, W.J.; Dun, C.A.; Meessen, N.E.; Kamps, W.A.; de Bont, E.S.; Harmsen, H.J. Chemotherapy treatment in pediatric patients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *49*, 262–270, doi:10.1086/599346.
 18. Zwieler, J.; Lassl, C.; Hippe, B.; Pointner, A.; Switzeny, O.J.; Remely, M.; Kitzweger, E.; Ruckser, R.; Haslberger, A.G. Changes in human fecal microbiota due to chemotherapy analyzed by TaqMan-PCR, 454 sequencing and PCR-DGGE fingerprinting. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e28654, doi:10.1371/journal.pone.0028654.
 19. Mozaffarian, D.; Benjamin, E.J.; Go, A.S.; Arnett, D.K.; Blaha, M.J.; Cushman, M.; Ferranti, S.D.; Després, J.P. Heart Disease and Stroke Statistics—2015 Update. A Report From the American Heart Association. *Circulation* **2015**, *131*, e29–e32.
 20. Atkins, J.L.; Whincup, P.H.; Morris, R.W.; Lennon, L.T.; Papacosta, O.; Wannamethee, S.G. High diet quality is associated with a lower risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in older men. *J. Nutr.* **2014**, *144*, 673–680, doi:10.3945/jn.113.186486.
 21. Mora, S.; Lee, I.-M.; Buring, J.E.; Ridker, P.M. Association of Physical Activity and Body Mass Index with Novel and Traditional Cardiovascular Biomarkers in Women. *JAMA* **2006**, *295*, 1412–1419.
 22. Kodama, S.; Saito, K.; Tanaka, S.; Maki, M.; Yachi, Y.; Asumi, M.; Sugawara, A.; Totsuka, K.; Shimano, H.; Ohashi, Y.; et al. Cardiorespiratory Fitness as a Quantitative Predictor of All-Cause Mortality and Cardiovascular Events in Healthy Men and Women. *JAMA* **2009**, *301*, 2024–2035.
 23. Estruch, R.; Ros, E.; Salas-Salvado, J.; Covas, M.I.; Corella, D.; Aros, F.; Gomez-Gracia, E.; Ruiz-Gutierrez, V.; Fiol, M.; Lapetra, J.; et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *368*, 1279–1290, doi:10.1056/NEJMoa1200303.
 24. Mente, A.; de Koning, L.; Shannon, H.S.; Anand, S.S. A Systematic Review of the Evidence Supporting a Causal Link Between Dietary Factors and Coronary Heart Disease. *Arch. Intern. Med.* **2009**, *169*, 659–669.

25. Cunha, C.M.; Costa, P.R.F.; de Oliveira, L.P.M.; Queiroz, V.A.O.; Pitangueira, J.C.D.; Oliveira, A.M. Dietary patterns and cardiometabolic risk factors among adolescents: Systematic review and meta-analysis. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 859–879, doi:10.1017/S0007114518000533.
26. Shang, X.; Li, Y.; Xu, H.; Zhang, Q.; Liu, A.; Ma, G. The Clustering of Low Diet Quality, Low Physical Fitness, and Unhealthy Sleep Pattern and Its Association with Changes in Cardiometabolic Risk Factors in Children. *Nutrients* **2020**, *12*, 591, doi:10.3390/nu12020591.
27. Castro, M.A.; Baltar, V.T.; Marchioni, D.M.; Fisberg, R.M. Examining associations between dietary patterns and metabolic CVD risk factors: A novel use of structural equation modelling. *Br. J. Nutr.* **2016**, *115*, 1586–1597, doi:10.1017/S0007114516000556.
28. Papadaki, A.; Johnson, L.; Toumpakari, Z.; England, C.; Rai, M.; Toms, S.; Penfold, C.; Zazpe, I.; Martinez-Gonzalez, M.A.; Feder, G. Validation of the English Version of the 14-Item Mediterranean Diet Adherence Screener of the PREDIMED Study, in People at High Cardiovascular Risk in the UK. *Nutrients* **2018**, *10*, 138, doi:10.3390/nu10020138.
29. Schroder, H.; Fito, M.; Estruch, R.; Martinez-Gonzalez, M.A.; Corella, D.; Salas-Salvado, J.; Lamuela-Raventos, R.; Ros, E.; Salaverria, I.; Fiol, M.; et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J. Nutr.* **2011**, *141*, 1140–1145, doi:10.3945/jn.110.135566.
30. Marshall, S.; Burrows, T.; Collins, C.E. Systematic review of diet quality indices and their associations with health-related outcomes in children and adolescents. *J. Hum. Nutr. Diet* **2014**, *27*, 577–598, doi:10.1111/jhn.12208.
31. Lazarou, C.; Newby, P.K. Use of dietary indexes among children in developed countries. *Adv. Nutr.* **2011**, *2*, 295–303, doi:10.3945/an.110.000166.
32. Belle, F.; Wengenroth, L.; Weiss, A.; Sommer, G.; Beck Popovic, M.; Ansari, M.; Bochud, M.; Kuehni, C.; Swiss Paediatric Oncology Group. Low adherence to dietary recommendations in adult childhood cancer survivors. *Clin. Nutr.* **2017**, *36*, 1266–1274, doi:10.1016/j.clnu.2016.08.012.
33. Robien, K.; Ness, K.K.; Klesges, L.M.; Baker, K.S.; Gurney, J.G. Poor adherence to dietary guidelines among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **2008**, *30*, 815–822, doi:10.1097/MPH.0b013e31817e4ad9.

34. Berdan, C.A.; Tangney, C.C.; Scala, C.; Stolley, M. Childhood cancer survivors and adherence to the American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity. *J. Cancer Surviv.* **2014**, *8*, 671–679, doi:10.1007/s11764-014-0376-0.
35. Zhang, F.F.; Saltzman, E.; Kelly, M.J.; Liu, S.; Must, A.; Parsons, S.K.; Roberts, S.B. Comparison of childhood cancer survivors' nutritional intake with US dietary guidelines. *Pediatr. Blood Cancer* **2015**, *62*, 1461–1467, doi:10.1002/pbc.25521.
36. Landy, D.C.; Lipsitz, S.R.; Kurtz, J.M.; Hinkle, A.S.; Constine, L.S.; Adams, M.J.; Lipshultz, S.E.; Miller, T.L. Dietary quality, caloric intake, and adiposity of childhood cancer survivors and their siblings: An analysis from the cardiac risk factors in childhood cancer survivors study. *Nutr. Cancer* **2013**, *65*, 547–555, doi:10.1080/01635581.2013.770042.
37. Tylavsky, F.A.; Smith, K.; Surprise, H.; Garland, S.; Yan, X.; McCammon, E.; Hudson, M.M.; Pui, C.H.; Kaste, S.C. Nutritional intake of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: Evidence for bone health interventional opportunities. *Pediatr. Blood Cancer* **2010**, *55*, 1362–1369, doi:10.1002/pbc.22737.
38. Marcoux, S.; Drouin, S.; Laverdiere, C.; Alos, N.; Andelfinger, G.U.; Bertout, L.; Curnier, D.; Friedrich, M.G.; Kritikou, E.A.; Lefebvre, G.; et al. The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatr. Blood Cancer* **2017**, *64*, e26361, doi:10.1002/pbc.26361.
39. Morel, S.; Amre, D.; Teasdale, E.; Caru, M.; Laverdiere, C.; Krajinovic, M.; Sinnett, D.; Curnier, D.; Levy, E.; Marcil, V. Dietary Intakes Are Associated with HDL-Cholesterol in Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Nutrients* **2019**, *11*, 2977, doi:10.3390/nu11122977.
40. Genest, J.; McPherson, R.; Frohlich, J.; Anderson, T.; Campbell, N.; Carpentier, A.; Couture, P.; Dufour, R.; Fodor, G.; Francis, G.A.; et al. 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult—2009 recommendations. *Can. J. Cardiol.* **2009**, *25*, 567–579.
41. Grundy, S.M.; Brewer, H.B., Jr.; Cleeman, J.I.; Smith, S.C., Jr.; Lenfant, C.; American Heart, A.; National Heart, L.; Blood, I. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart,

- Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* **2004**, *109*, 433–438, doi:10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6.
42. De Jesus, J.M. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: Summary report. *Pediatrics* **2011**, *128*, S213–S256, doi:10.1542/peds.2009-2107C.
 43. Morel, S.; Portolese, O.; Chertouk, Y.; Leahy, J.; Bertout, L.; Laverdiere, C.; Krajinovic, M.; Sinnott, D.; Levy, E.; Marcil, V. Development and relative validation of a food frequency questionnaire for French-Canadian adolescent and young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Nutr. J.* **2018**, *17*, 45, doi:10.1186/s12937-018-0355-9.
 44. Martinez-Gonzalez, M.A.; Garcia-Arellano, A.; Toledo, E.; Salas-Salvado, J.; Buil-Cosiales, P.; Corella, D.; Covas, M.I.; Schroder, H.; Aros, F.; Gomez-Gracia, E.; et al. A 14-item Mediterranean diet assessment tool and obesity indexes among high-risk subjects: The PREDIMED trial. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e43134, doi:10.1371/journal.pone.0043134.
 45. Serra-Majem, L.; Ribas, L.; Ngo, J.; Ortega, R.M.; Garcia, A.; Perez-Rodrigo, C.; Aranceta, J. Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public Health Nutr.* **2004**, *7*, 931–935, doi:10.1079/phn2004556.
 46. Altavilla, C.; Caballero-Perez, P. An update of the KIDMED questionnaire, a Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public Health Nutr.* **2019**, *22*, 2543–2547, doi:10.1017/S1368980019001058.
 47. Amine, E.K.; Baba, N.H.; Belhadj, M.; Deurenberg-Yap, M.; Djazayeri, A. *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases*; World Health Organization, Geneva, Switzerland: 2003.
 48. World Health Organization. Healthy Diet. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet> (accessed on 4 March 2020).
 49. Kanauchi, M.; Kanauchi, K. The World Health Organization's Healthy Diet Indicator and its associated factors: A cross-sectional study in central Kinki, Japan. *Prev. Med. Rep.* **2018**, *12*, 198–202, doi:10.1016/j.pmedr.2018.09.011.
 50. *2015–2020 Dietary Guidelines for Americans*, 8th eds.; U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Department of Agriculture: Washington, D.C., USA: 2015.

51. Krebs-Smith, S.M.; Pannucci, T.E.; Subar, A.F.; Kirkpatrick, S.I.; Lerman, J.L.; Tooze, J.A.; Wilson, M.M.; Reedy, J. Update of the Healthy Eating Index: HEI-2015. *J. Acad. Nutr. Diet* **2018**, *118*, 1591–1602, doi:10.1016/j.jand.2018.05.021.
52. Kirkpatrick, S.I.; Reedy, J.; Krebs-Smith, S.M.; Pannucci, T.E.; Subar, A.F.; Wilson, M.M.; Lerman, J.L.; Tooze, J.A. Applications of the Healthy Eating Index for Surveillance, Epidemiology, and Intervention Research: Considerations and Caveats. *J. Acad. Nutr. Diet* **2018**, *118*, 1603–1621, doi:10.1016/j.jand.2018.05.020.
53. Basiotis, P.P.; Carlson, A.; Gerrior, S.A.; Juan, W.Y.; Lino, M. *The Healthy Eating Index: 1999–2000*; U.S. Department of Agriculture, Center for Nutrition Policy and Promotion, Washington, D.C., USA: 2002.
54. Shivappa, N.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Hebert, J.R. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr.* **2014**, *17*, 1689–1696, doi:10.1017/S1368980013002115.
55. Shivappa, N.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Ma, Y.; Ockene, I.S.; Tabung, F.; Hebert, J.R. A population-based dietary inflammatory index predicts levels of C-reactive protein in the Seasonal Variation of Blood Cholesterol Study (SEASONS). *Public Health Nutr.* **2014**, *17*, 1825–1833, doi:10.1017/S1368980013002565.
56. Carlsen, M.H.; Halvorsen, B.L.; Holte, K.; Bohn, S.K.; Dragland, S.; Sampson, L.; Willey, C.; Senoo, H.; Umezono, Y.; Sanada, C.; et al. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr. J.* **2010**, *9*, 3, doi:10.1186/1475-2891-9-3.
57. Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* **1999**, *239*, 70–76.
58. Benzie, I.F.; Choi, S.W. Antioxidants in food: Content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. *Adv. Food Nutr. Res.* **2014**, *71*, 1–53, doi:10.1016/B978-0-12-800270-4.00001-8.
59. Monteiro, C.; Cannon, G.; Levy, R.B.; Claro, R.; Moubarac, J.-C.; Martins, A.P.; Louzada, M.L.; Baraldi, L.; Canella, D. The Food System. Ultra-processing. The big issue for nutrition, disease, health, well-being. *World Nutr.* **2012**, *3*, 12: 527-569.

60. Moubarac, J.C.; Parra, D.C.; Cannon, G.; Monteiro, C.A. Food Classification Systems Based on Food Processing: Significance and Implications for Policies and Actions: A Systematic Literature Review and Assessment. *Curr. Obes. Rep.* **2014**, *3*, 256–272, doi:10.1007/s13679-014-0092-0.
61. Jessri, M.; Nishi, S.K.; L'Abbe, M.R. Assessing the nutritional quality of diets of Canadian children and adolescents using the 2014 Health Canada Surveillance Tool Tier System. *BMC Public Health* **2016**, *16*, 381, doi:10.1186/s12889-016-3038-5.
62. Turcotte, L.M.; Whitton, J.A.; Friedman, D.L.; Hammond, S.; Armstrong, G.T.; Leisenring, W.; Robison, L.L.; Neglia, J.P. Risk of Subsequent Neoplasms During the Fifth and Sixth Decades of Life in the Childhood Cancer Survivor Study Cohort. *J. Clin. Oncol.* **2015**, *33*, 3568–3575, doi:10.1200/JCO.2015.60.9487.
63. Mazidi, M.; Shivappa, N.; Wirth, M.D.; Hebert, J.R.; Mikhailidis, D.P.; Kengne, A.P.; Banach, M. Dietary inflammatory index and cardiometabolic risk in US adults. *Atherosclerosis* **2018**, *276*, 23–27, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.02.020.
64. Marques, L.R.; Diniz, T.A.; Antunes, B.M.; Rossi, F.E.; Caperuto, E.C.; Lira, F.S.; Goncalves, D.C. Reverse Cholesterol Transport: Molecular Mechanisms and the Non-medical Approach to Enhance HDL Cholesterol. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, 526, doi:10.3389/fphys.2018.00526.
65. Rye, K.A.; Barter, P.J. Cardioprotective functions of HDLs. *J. Lipid. Res.* **2014**, *55*, 168–179, doi:10.1194/jlr.R039297.
66. Soran, H.; Schofield, J.D.; Durrington, P.N. Antioxidant properties of HDL. *Front. Pharmacol.* **2015**, *6*, 222, doi:10.3389/fphar.2015.00222.
67. Camont, L.; Lhomme, M.; Rached, F.; Le Goff, W.; Negre-Salvayre, A.; Salvayre, R.; Calzada, C.; Lagarde, M.; Chapman, M.J.; Kontush, A. Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids: Relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, antithrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities. *Arter. Thromb Vasc. Biol.* **2013**, *33*, 2715–2723, doi:10.1161/ATVBAHA.113.301468.
68. Hernaez, A.; Fernandez-Castillejo, S.; Farras, M.; Catalan, U.; Subirana, I.; Montes, R.; Sola, R.; Munoz-Aguayo, D.; Gelabert-Gorgues, A.; Diaz-Gil, O.; et al. Olive oil polyphenols enhance

- high-density lipoprotein function in humans: A randomized controlled trial. *Arter. Thromb Vasc. Biol.* **2014**, *34*, 2115–2119, doi:10.1161/ATVBAHA.114.303374.
69. Tanaka, N.; Ishida, T.; Nagao, M.; Mori, T.; Monguchi, T.; Sasaki, M.; Mori, K.; Kondo, K.; Nakajima, H.; Honjo, T.; et al. Administration of high dose eicosapentaenoic acid enhances anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein in Japanese patients with dyslipidemia. *Atherosclerosis* **2014**, *237*, 577–583, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.011.
70. Nottage, K.A.; Ness, K.K.; Li, C.; Srivastava, D.; Robison, L.L.; Hudson, M.M. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia—From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br. J. Haematol.* **2014**, *165*, 364–374, doi:10.1111/bjh.12754.
71. Link, K.; Moell, C.; Garwicz, S.; Cavallin-Stahl, E.; Bjork, J.; Thilen, U.; Ahren, B.; Erfurth, E.M. Growth hormone deficiency predicts cardiovascular risk in young adults treated for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2004**, *89*, 5003–5012, doi:10.1210/jc.2004-0126.
72. Poti, J.M.; Braga, B.; Qin, B. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health-Processing or Nutrient Content? *Curr. Obes. Rep.* **2017**, *6*, 420–431, doi:10.1007/s13679-017-0285-4.
73. Lavigne-Robichaud, M.; Moubarac, J.C.; Lantagne-Lopez, S.; Johnson-Down, L.; Batal, M.; Laouan Sidi, E.A.; Lucas, M. Diet quality indices in relation to metabolic syndrome in an Indigenous Cree (Eeyouch) population in northern Quebec, Canada. *Public Health Nutr.* **2018**, *21*, 172–180, doi:10.1017/S136898001700115X.
74. Kim, E.H.; Lee, J.B.; Kim, S.H.; Jo, M.-W.; Hwang, J.Y.; Bae, S.J.; Jung, C.H.; Lee, W.J.; Park, J.-Y.; Park, G.-M.; et al. Serum Triglyceride Levels and Cardiovascular Disease Events in Koreans. *Cardiology* **2015**, *131*, 228–235.
75. Chapman, M.J.; Ginsberg, H.N.; Amarenco, P.; Andreotti, F.; Boren, J.; Catapano, A.L.; Descamps, O.S.; Fisher, E.; Kovanen, P.T.; Kuivenhoven, J.A.; et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular

- disease: Evidence and guidance for management. *Eur. Heart J.* **2011**, *32*, 1345–1361, doi:10.1093/eurheartj/ehr112.
76. Langsted, A.; Jensen, A.M.R.; Varbo, A.; Nordestgaard, B.G. Low High-Density Lipoprotein Cholesterol to Monitor Long-Term Average Increased Triglycerides. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2020**, *105*, doi:10.1210/clinem/dgz265.
77. Armstrong, G.T.; Liu, Q.; Yasui, Y.; Neglia, J.P.; Leisenring, W.; Robison, L.L.; Mertens, A.C. Late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: A summary from the Childhood Cancer Survivor Study. *J. Clin. Oncol.* **2009**, *27*, 2328–2338, doi:10.1200/JCO.2008.21.1425.
78. Sami, W.; Ansari, T.; Butt, N.S.; Hamid, M.R.A. Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: A review. *Int. J. Health Sci.* **2017**, *11*, 65–71.
79. Pahwa, R.; Goyal, A.; Bansal, P.; Jialal, I. *Chronic Inflammation*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2020; pp. 1–22.
80. Shivappa, N.; Hebert, J.R.; Marcos, A.; Diaz, L.E.; Gomez, S.; Nova, E.; Michels, N.; Arouca, A.; Gonzalez-Gil, E.; Frederic, G.; et al. Association between dietary inflammatory index and inflammatory markers in the HELENA study. *Mol. Nutr. Food Res.* **2017**, *61*, 1600707, doi:10.1002/mnfr.201600707.
81. Shivappa, N.; Godos, J.; Hebert, J.R.; Wirth, M.D.; Piuri, G.; Speciani, A.F.; Grosso, G. Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Risk and Mortality-A Meta-Analysis. *Nutrients* **2018**, *10*, 200, doi:10.3390/nu10020200.
82. Fowler, M.E.; Akinyemiju, T.F. Meta-analysis of the association between dietary inflammatory index (DII) and cancer outcomes. *Int. J. Cancer* **2017**, *141*, 2215–2227, doi:10.1002/ijc.30922.
83. Shivappa, N.; Miao, Q.; Walker, M.; Hebert, J.R.; Aronson, K.J. Association Between a Dietary Inflammatory Index and Prostate Cancer Risk in Ontario, Canada. *Nutr. Cancer* **2017**, *69*, 825–832, doi:10.1080/01635581.2017.1339095.
84. Mtintsilana, A.; Micklesfield, L.K.; Chorell, E.; Olsson, T.; Shivappa, N.; Hebert, J.R.; Kengne, A.P.; Goedecke, J.H. Adiposity Mediates the Association between the Dietary Inflammatory Index and Markers of Type 2 Diabetes Risk in Middle-Aged Black South African Women. *Nutrients* **2019**, *11*, 1246, doi:10.3390/nu11061246.

85. Moslehi, N.; Ehsani, B.; Mirmiran, P.; Shivappa, N.; Tohidi, M.; Hebert, J.R.; Azizi, F. Inflammatory Properties of Diet and Glucose-Insulin Homeostasis in a Cohort of Iranian Adults. *Nutrients* **2016**, *8*, 735, doi:10.3390/nu8110735.
86. Vlassara, H. Advanced glycation in health and disease: Role of the modern environment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2005**, *1043*, 452–460, doi:10.1196/annals.1333.051.
87. Vlassara, H.; Striker, G. Glycotoxins in the Diet Promote Diabetes and Diabetic Complications. *Diabet. Complicat.* **2007**, *7*, 235–241.
88. Mistretta, A.; Marventano, S.; Antoci, M.; Cagnetti, A.; Giogianni, G.; Nolfo, F.; Rametta, S.; Pecora, G.; Marranzano, M. Mediterranean diet adherence and body composition among Southern Italian adolescents. *Obes. Res. Clin. Pract.* **2017**, *11*, 215–226, doi:10.1016/j.orcp.2016.05.007.
89. Lipshultz, S.E.; Adams, M.J.; Colan, S.D.; Constine, L.S.; Herman, E.H.; Hsu, D.T.; Hudson, M.M.; Kremer, L.C.; Landy, D.C.; Miller, T.L.; et al. Long-term cardiovascular toxicity in children, adolescents, and young adults who receive cancer therapy: Pathophysiology, course, monitoring, management, prevention, and research directions: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* **2013**, *128*, 1927–1995, doi:10.1161/CIR.0b013e3182a88099.
90. Tortosa, A.; Bes-Rastrollo, M.; Sanchez-Villegas, A.; Basterra-Gortari, F.J.; Nunez-Cordoba, J.M.; Martinez-Gonzalez, M.A. Mediterranean diet inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: The SUN prospective cohort. *Diabetes Care* **2007**, *30*, 2957–2959, doi:10.2337/dc07-1231.
91. Li, Y.; Roswall, N.; Strom, P.; Sandin, S.; Adami, H.O.; Weiderpass, E. Mediterranean and Nordic diet scores and long-term changes in body weight and waist circumference: Results from a large cohort study. *Br. J. Nutr.* **2015**, *114*, 2093–2102, doi:10.1017/S0007114515003840.
92. Mendonca, R.D.; Lopes, A.C.; Pimenta, A.M.; Gea, A.; Martinez-Gonzalez, M.A.; Bes-Rastrollo, M. Ultra-Processed Food Consumption and the Incidence of Hypertension in a Mediterranean Cohort: The Seguimiento Universidad de Navarra Project. *Am. J. Hypertens* **2017**, *30*, 358–366, doi:10.1093/ajh/hpw137.

93. Thomson, J.L.; Landry, A.S.; Tussing-Humphreys, L.M.; Goodman, M.H. Diet quality of children in the United States by body mass index and sociodemographic characteristics. *Obes. Sci. Pract.* **2020**, *6*, 84–98, doi:10.1002/osp4.388.
94. Jakicic, J.M. The Effect of Physical Activity on Body Weight. *Obes. J.* **2009**, *17*, S34–S38.
95. Beccuti, G.; Pannain, S. Sleep and obesity. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2011**, *14*, 402–412, doi:10.1097/MCO.0b013e3283479109.
96. Rampersaud, E.; Mitchell, B.D.; Pollin, T.I.; Fu, M.; Shen, H.; O’Connell, J.R.; Ducharme, J.L.; Hines, S.; Sack, P.; Naglieri, R.; et al. Physical activity and the association of common FTO gene variants with body mass index and obesity. *Arch. Intern. Med.* **2008**, *168*, 1791–1797, doi:10.1001/archinte.168.16.1791.
97. Pouliot, M.C.; Després, J.P.; Lemieux, S.; Moorjani, S.; Bouchard, C.; Tremblay, A.; Nadeau, A.; Lupien, P.J. Waist Circumference and Abdominal Sagittal Diameter: Best Simple Anthropometric Indexes of Abdominal Visceral Adipose Tissue Accumulation and Related Cardiovascular Risk in Men and Women. *Am. J. Cardiol.* **1994**, *73*, 460–468.
98. Akash, M.S.H.; Rehman, K.; Liaqat, A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 105–110, doi:10.1002/jcb.26174.
99. Cicha, I.; Urschel, K. TNF- α in the cardiovascular system: From physiology to therapy. *Int. J. Interferon Cytokine Mediat. Res.* **2015**, *7*, 9–25, doi:10.2147/ijicmr.S64894.
100. Urpi-Sarda, M.; Casas, R.; Chiva-Blanch, G.; Romero-Mamani, E.S.; Valderas-Martinez, P.; Salas-Salvado, J.; Covas, M.I.; Toledo, E.; Andres-Lacueva, C.; Llorach, R.; et al. The Mediterranean diet pattern and its main components are associated with lower plasma concentrations of tumor necrosis factor receptor 60 in patients at high risk for cardiovascular disease. *J. Nutr.* **2012**, *142*, 1019–1025, doi:10.3945/jn.111.148726.
101. Qu, D.; Liu, J.; Lau, C.W.; Huang, Y. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. *Br. J. Pharmacol.* **2014**, *171*, 3595–3603, doi:10.1111/bph.12713.
102. Mozaffarian, D.; Pischon, T.; Hankinson, S.E.; Rifai, N.; Joshipura, K.; Willett, W.C.; Rimm, E.B. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79*, 606–612.

103. Estruch, R. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: The experience of the PREDIMED study. *Proc. Nutr. Soc.* **2010**, *69*, 333–340, doi:10.1017/S0029665110001539.
104. Sahin-Efe, A.; Katsikeris, F.; Mantzoros, C.S. Advances in adipokines. *Metabolism* **2012**, *61*, 1659–1665, doi:10.1016/j.metabol.2012.09.001.
105. Katsiki, N.; Mantzoros, C.; Mikhailidis, D.P. Adiponectin, lipids and atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* **2017**, *28*, 347–354, doi:10.1097/MOL.0000000000000431.
106. Sparrenberger, K.; Sbaraini, M.; Cureau, F.V.; Telo, G.H.; Bahia, L.; Schaan, B.D. Higher adiponectin concentrations are associated with reduced metabolic syndrome risk independently of weight status in Brazilian adolescents. *Diabetol. Metab. Syndr.* **2019**, *11*, 40, doi:10.1186/s13098-019-0435-9.
107. Shafiee, G.; Ahadi, Z.; Qorbani, M.; Kelishadi, R.; Ziauddin, H.; Larijani, B.; Heshmat, R. Association of adiponectin and metabolic syndrome in adolescents: The caspian-III study. *J. Diabetes Metab. Disord.* **2015**, *14*, 89, doi:10.1186/s40200-015-0220-8.
108. Izadi, V.; Azadbakht, L. Specific dietary patterns and concentrations of adiponectin. *J. Res. Med. Sci.* **2015**, *20*, 178–184.
109. Berger, S.; Polotsky, V.Y. Leptin and Leptin Resistance in the Pathogenesis of Obstructive Sleep Apnea: A Possible Link to Oxidative Stress and Cardiovascular Complications. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, *2018*, 5137947, doi:10.1155/2018/5137947.
110. Kohler, J.A.; Moon, R.J.; Wright, S.; Willows, E.; Davies, J.H. Increased adiposity and altered adipocyte function in female survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia treated without cranial radiation. *Horm. Res. Paediatr.* **2011**, *75*, 433–440, doi:10.1159/000324412.
111. Ganji, V.; Kafai, M.R.; McCarthy, E. Serum leptin concentrations are not related to dietary patterns but are related to sex, age, body mass index, serum triacylglycerol, serum insulin, and plasma glucose in the US population. *Nutr. Metab. (Lond.)* **2009**, *6*, 3, doi:10.1186/1743-7075-6-3.
112. Ridker, P.M.; Cook, N. Clinical usefulness of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham Risk Scores. *Circulation* **2004**, *109*, 1955–1959, doi:10.1161/01.CIR.0000125690.80303.A8.

113. Vandermorris, A.; Sampson, L.; Korenblum, C. Promoting adherence in adolescents and young adults with cancer to optimize outcomes: A developmentally oriented narrative review. *Pediatr. Blood Cancer* **2020**, *67*, e28128, doi:10.1002/pbc.28128.
114. Kleinke, A.M.; Classen, C.F. Adolescents and young adults with cancer: Aspects of adherence—A questionnaire study. *Adolesc. Health Med. Ther.* **2018**, *9*, 77–85, doi:10.2147/AHMT.S159623.
115. Demark-Wahnefried, W.; Werner, C.; Clipp, E.C.; Guill, A.B.; Bonner, M.; Jones, L.W.; Rosoff, P.M. Survivors of childhood cancer and their guardians. *Cancer* **2005**, *103*, 2171–2180, doi:10.1002/cncr.21009.
116. Banfield, E.C.; Liu, Y.; Davis, J.S.; Chang, S.; Frazier-Wood, A.C. Poor Adherence to US Dietary Guidelines for Children and Adolescents in the National Health and Nutrition Examination Survey Population. *J. Acad. Nutr. Diet* **2016**, *116*, 21–27, doi:10.1016/j.jand.2015.08.010.
117. Hebert, J.R.; Clemow, L.; Pbert, L.; Ockene, I.S.; Ockene, J.K. Social Desirability Bias in Dietary Self-Report May Compromise the Validity of Dietary Intake Measures. *Int. J. Epidemiol.* **1995**, *24*, 389–398.
- Hebert, J.R.; Ma, Y.; Clemow, L.; Ockene, I.S.; Saperia, G.; Stanek, E.J.; Merriam, P.A.; Ockene, J.K. Gender Differences in Social Desirability and Social Approval Bias in Dietary Self-Report. *Am. J. Epidemiol.* **1997**, *146*, 1046–1055.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of participants.

	Total N = 241	Adults N = 156	Children N = 85
Median (range or interquartile range ¹)			
Age at visit, years (range)	21.3 (8.5–40.9)	24.6 (18.0–40.9)	16.2 (8.5–17.9)
Age at cancer diagnosis, years (range)	4.7 (0.9–18.0)	6.5 (0.9–18.0)	3.5 (1.3–10.9)
Time since end of treatment, years (range)	12.9 (3.3–26.1)	16.11 (3.9–26.1)	9.6 (3.3–13.4)
Gender (males, %)	49.4	49.4	49.4
CRT exposure (n, %)	142 (58.9%)	108 (69.2%)	34 (40.0%)
BMI (kg/m ²)	23.5 (20.9–26.1)	24.3 (21.7–27.4)	21.8 (19.2–24.1)
WHtR	0.50 (0.46–0.55)	0.51 (0.48–0.58)	0.49 (0.45–0.52)
WC (cm)	85.7 (76.0–93.0)	89.0 (79.5–97.0)	79.9 (72.0–84.0)
Glucose (mmol/L)	5.0 (4.8–5.3)	5.0 (4.8–5.4)	5.0 (4.8–5.3)
Insulin (pmol/L)	53.3 (37.6–75.8)	50.1 (35.2–68.6)	58.1 (42.9–81.1)
HOMA-IR	1.7 (1.2–2.5)	1.7 (1.1–2.3)	1.9 (1.3–2.7)
TC (mmol/L)	4.37 (3.87–5.01)	4.59 (4.10–5.15)	4.18 (3.61–4.63)
TG (mmol/L)	0.91 (0.66–1.25)	0.97 (0.72–1.38)	0.82 (0.62–1.07)
LDL-C (mmol/L)	2.57 (2.13–3.16)	2.73 (2.22–3.32)	2.36 (2.04–2.82)
HDL-C (mmol/L)	1.30 (1.12–1.49)	1.31 (1.13–1.52)	1.29 (1.09–1.45)
SBP (mmHg)	115 (108–124)	117 (110–125)	112 (104–119)
DBP (mmHg)	65 (59–70)	67 (63–72)	62 (57–65)
	<i>n</i> = 78	<i>n</i> = 38	<i>n</i> = 40
Apo A1 (mg/mL)	2.32 (1.94–2.65)	2.46 (1.98–2.72)	2.18 (1.90–2.52)
Apo B100 (g/L)	0.82 (0.71–0.94)	0.85 (0.72–0.97)	0.79 (0.68–0.92)

¹ Interquartile range: 25th and 75th percentiles, unless otherwise specified. CRT, cranial radiation therapy; BMI, body mass index; WHtR, waist-to-height ratio; WC, waist circumference; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; TC, total cholesterol; TG, triglyceride; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure.

Table 2. Descriptive statistics of the dietary scores.

Score (Range)	N	Mean	Median	SD	Min	Max
MEDAS (0–14)	156	4.26	4.00	1.87	1.00	10.00
KIDMED (–4–12)	85	3.45	4.00	2.36	–2.00	9.00
HDI-2018 (0–9)	241	4.06	4.00	1.56	0.00	9.00
HEI-2015 (0–100)	241	59.78	60.00	10.58	35.00	85.00
E-DII (–8.87–7.98)	241	–0.92	–1.06	1.61	–4.80	+3.23
FRAP (≥0 mmol/d)	241	11.89	9.78	7.64	1.96	48.79
% UPF (0–100%) ¹	191	51.33	50.69	16.11	6.93	93.36

¹ Percentage of caloric intake from ultra-processed foods (Group 4) based on the NOVA classification. MEDAS, Mediterranean Diet Adherence Screener; KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index for children and adolescents; HDI-2018, Healthy Diet Indicator; HEI-2015, Healthy Eating Index; E-DII, Energy-adjusted dietary Inflammatory Index; FRAP, Ferric reducing ability of plasma; UPF, Ultra-processed foods; SD, standard deviation; Min, minimum; Max, maximum.

Table 3. Associations between adherence to E-DII score and anthropometric and metabolic parameters.

Parameters	E-DII Score						
	Tertile 1	Tertile 2		Tertile 3			
	–2.67	–1.05		0.97			
	(–4.80–1.75) ¹	(–1.71–0.35) ¹		(–0.34–3.23) ¹			
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ²		OR (95%CI) ²		OR (95%CI) ²	
		Tertile	<i>p</i>	Tertile	<i>p</i>	Tertiles	<i>p</i>
		2 vs. 1		3 vs. 1		2 and 3 vs. 1	
High BMI	-	1.297	0.59	1.260	0.6	1.280	0.5
		(0.50–3.34)		(0.47–3.41)	5	(0.55–3.01)	7
High WC	-	1.089	0.81	1.574	0.2	1.283	0.4
		(0.54–2.18)		(0.76–3.26)	2	(0.69–2.37)	3
High BP	-	3.029	0.049	1.135	0.8	1.928	0.2
		(1.01–9.11)		(0.35–3.71)	3	(0.68–5.44)	1
High HOMA-IR	-	2.667	0.03	1.349	0.5	2.047	0.0
		(1.11–6.43)		(0.50–3.68)	6	(0.89–4.70)	9
Low HDL-C	-	2.318	0.04	2.414	0.0	2.359	0.0
		(1.04–5.16)		(1.04–5.58)	4	(1.13–4.92)	2
High LDL-C	-	1.200	0.68	1.183	0.7	1.192	0.6
		(0.50–2.89)		(0.48–2.93)	2	(0.54–2.62)	6
High TG	-	0.937	0.90	1.658	0.3	1.240	0.6
		(0.34–2.59)		(0.62–4.41)	1	(0.52–2.94)	3

¹ Mean score (range); ² Model adjusted for gender and survival time. Cut-off values are described in Supplementary Table S1. OR, odds ratio; CI, confidence interval; BMI, body mass index; WC,

waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Table 4. Associations between ultra-processed foods and anthropometric and metabolic parameters.

% Ultra-Processed Foods According to the NOVA Classification							
Parameters	Tertile 1	Tertile 2		Tertile 3			
	34.2%	50.0%	69.3%				
	(6.9–43.0%) ¹	(43.7–56.5%) ¹	(56.6–93.4%) ¹				
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ²	<i>p</i>	OR (95%CI) ²	<i>p</i>	OR (95%CI) ²	<i>p</i>
		Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2 and 3 vs. 1	
High BMI	-	0.360 (0.10–1.24)	0.11	0.929 (0.34–2.58)	0.89	0.619 (0.25–1.54)	0.30
High WC	-	0.622 (0.28–1.37)	0.24	0.968 (0.44–2.13)	0.94	0.772 (0.39–1.51)	0.45
High BP	-	0.781 (0.24–2.57)	0.68	1.078 (0.36–3.33)	0.89	0.934 (0.35–2.53)	0.89
High HOMA-IR	-	0.341 (0.11–1.03)	0.06	0.763 (0.30–1.97)	0.58	0.533 (0.23–1.23)	0.14
Low HDL-C	-	1.410 (0.55–3.64)	0.48	3.885 (1.54–9.80)	0.004	2.323 (1.02–5.28)	0.04
High LDL-C	-	0.407 (0.15–1.13)	0.09	0.728 (0.29–1.84)	0.50	0.556 (0.25–1.26)	0.16
High TG	-	2.998 (0.74–12.1)	0.12	5.434 (1.38–21.4)	0.02	4.021 (1.12–14.5)	0.03

¹ Mean score (range); ² Model adjusted for gender, survival time and energy intake. Cut-off values are described in Supplementary Table S1. OR, odds ratio; CI, confidence interval; BMI, body mass index; WC, waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Table 5. Association between adherence to nutritional scores and having ≥ 2 cardiometabolic complications.

Presence of 2 or More Cardiometabolic Complications							
Scores	OR (95%CI) Tertile 1	OR (95%CI) Tertile 2 vs. 1	<i>p</i>	OR (95%CI) Tertile 3 vs. 1	<i>p</i>	OR (95%CI) Tertiles 2 and 3 vs. 1	<i>p</i>
MEDAS ²	-	0.800 (0.33–1.97)	0.63	1.380 (0.54–3.50)	0.30	1.279 (0.58–2.80)	0.54
KIDMED ²	-	0.424 (0.12–1.57)	0.20	0.735 (0.23–2.40)	0.61	0.728 (0.25–2.13)	0.56

HDI-2018 ²	-	1.079 (0.52–2.23)	0.84	1.191 (0.58–2.43)	0.63	0.728 (0.25–2.13)	0.56
HEI-2015 ³	-	1.053 (0.52–2.12)	0.88	0.750 (0.36–1.55)	0.44	0.911 (0.49–1.68)	0.77
E-DII ³	-	2.506 (1.22–5.15)	0.01	1.613 (0.74–3.50)	0.23	2.076 (1.07–4.07)	0.03
FRAP ²	-	1.509 (0.73–3.13)	0.27	1.245 (0.57–2.73)	0.58	1.391 (0.71–2.71)	0.33
% UPF ^{2,4}	-	0.647 (0.29–1.47)	0.30	1.128 (0.51–2.49)	0.77	0.856 (0.43–1.70)	0.66

Presence of at least two of these four factors: obesity, pre-hypertension/hypertension, insulin resistance and dyslipidemia; ² Model adjusted for gender, survival time and energy intake; ³ Model adjusted for gender and survival time; ⁴ %UPF, percentage of contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification. OR, odds ratio; CI, confidence interval.

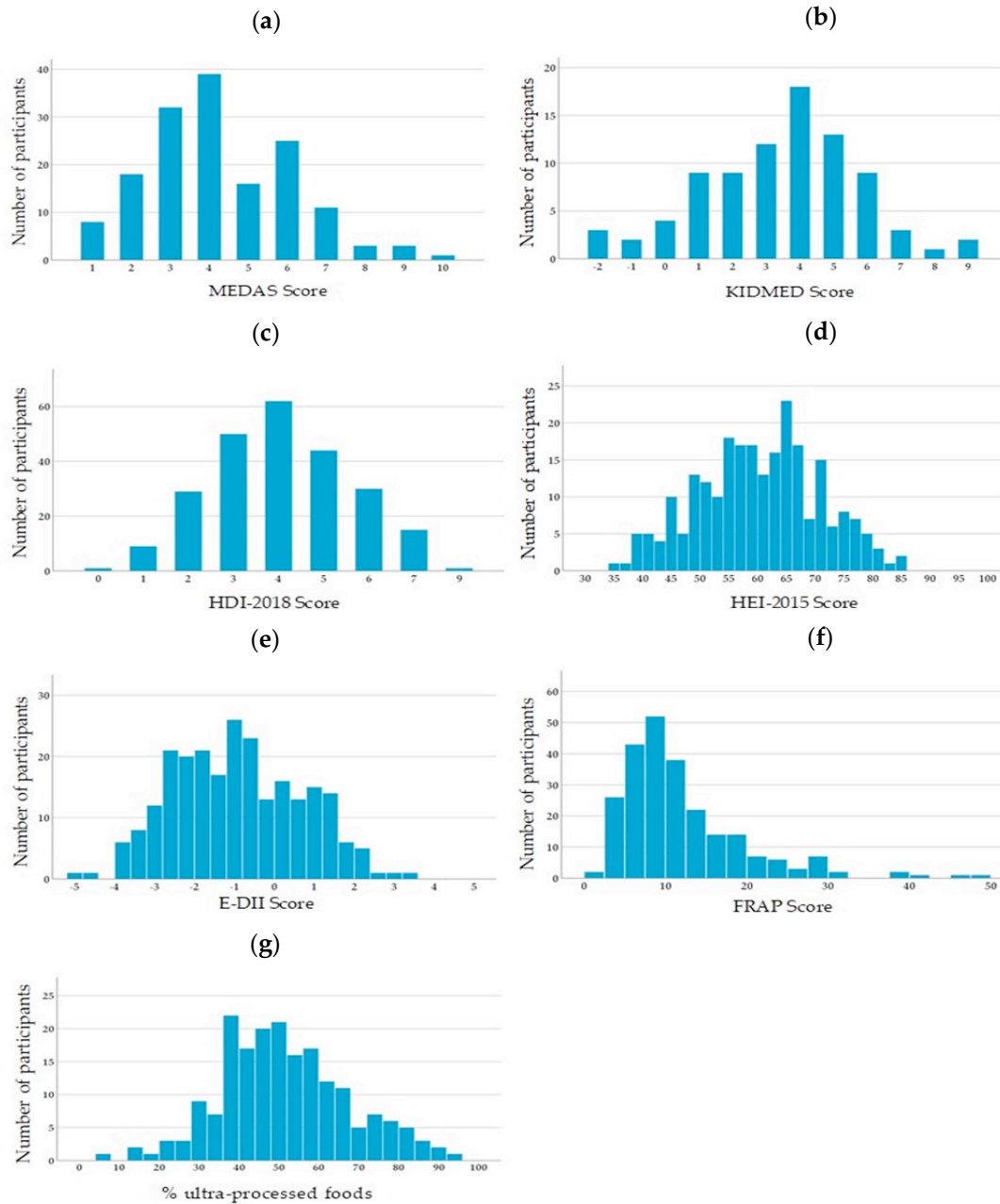


Figure 1. Distribution of the dietary scores among participants. **(a)** MEDAS (Mediterranean Diet Adherence Screener) score; **(b)** KIDMED (Mediterranean Diet Quality Index for children and adolescents) score; **(c)** HDI (Healthy Diet Indicator)-2018 score; **(d)** HEI (Healthy Eating Index)-2015 score; **(e)** E-DII (Energy-adjusted dietary Inflammatory Index) score; **(f)** FRAP (Ferric reducing ability of plasma) score; **(g)** contribution of ultra-processed foods according to the NOVA classification.

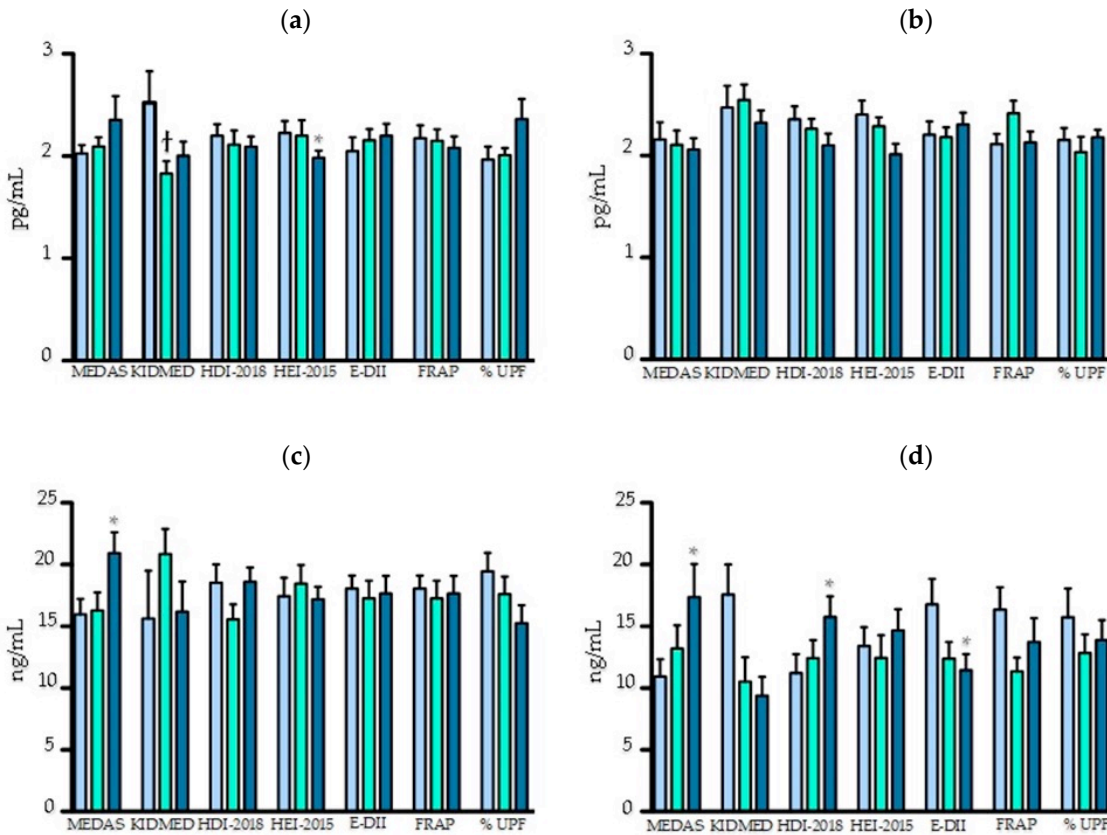


Figure 2. Inflammatory biomarker levels (y axis) according to nutritional scores (x axis). **(a)** TNF-α (pg/mL) in non-obese; **(b)** TNF-α in obese; **(c)** adiponectin (ng/mL) in non-obese; **(d)** adiponectin level in obese; * $p < 0.05$ tertile 3 vs. 1; † $p < 0.05$ tertile 2 vs. 1. MEDAS, Mediterranean Diet Adherence Screener; KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index for children and adolescents; HDI-2018, Healthy Diet Indicator; HEI-2015, Healthy Eating Index; E-DII, Energy-adjusted dietary Inflammatory Index; FRAP, Ferric reducing ability of plasma; Ultra-processed foods.

Supplementary Table 1. Cut-off values and definitions of cardiometabolic outcomes

Risk factor	Adults ≥ 18 years old	Children < 18 years old
Obesity		
Presenting at least one of two:		
High BMI	≥30 kg/m ²	≥97 th percentile
High WC	≥102 cm (men) and ≥88 cm (women)	≥95 th percentile
Insulin resistance		
Presenting at least one of three:		
High blood fasting glucose	≥6.1 mmol/L (109.8 mg/dL)	≥6.1 mmol/L (109.8 mg/dL)
High glycated hemoglobin	≥6% and <6.5%	≥6% and <6.5%
High HOMA-IR	≥2.86	≥95 th percentile of a French-Canadian population
Or taking medication		
Hypertension		
Presenting at least one of three:		
Pre-hypertension	≥130/85 and <140/90 mmHg	≥90 th and <95 th percentile for age and height
Hypertension	≥140/90 mmHg	≥95 th percentile for age and height
Or		
Taking medication		
Dyslipidemia		
Presenting at least one of three:		
High TG or	≥1.7 mmol/L (150.6 mg/dL)	≥1.47 mmol/L (130.2 mg/dL)
High LDL-C or	≥3.4 mmol/L (131.5 mg/dL)	≥3.36 mmol/L (129.3 mg/dL)
Low HDL-C or	<1.03 (39.8 mg/dL) (men) and	<1.03 mmol/L (39.8 mg/dL)
Or	<1.3 mmol/L (50.3 mg/dL) (women)	
Taking medication		

BMI body mass index; HDL-C high-density lipoprotein-cholesterol; HOMA-IR homeostasis model assessment; LDL-C low-density lipoprotein-cholesterol; WC waist circumference, TG triglycerides.

Supplementary Table 2. Associations between adherence to the MEDAS score and anthropometric & metabolic parameters

Parameters	MEDAS Score						
	Tertile 1 2.3 (1–3) ¹	Tertile 2 4.0 (3–5) ¹	Tertile 3 6.4 (5–10) ¹				
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ² Tertile 2 vs. 1	P	OR (95%CI) ² Tertile 3 vs. 1	P	OR (95%CI) ² Tertiles 2&3 vs. 1	P
High BMI	-	1.114 (0.38–3.20)	0.84	0.990 (0.32–3.11)	0.99	1.004 (0.39–2.57)	0.99
High WC	-	0.374 (0.14–1.04)	0.06	0.671 (0.25–4.12)	0.44	0.470 (0.19–1.14)	0.09
High SBP	-	1.714 (0.55–5.38)	0.36	1.021 (0.25–4.12)	0.98	1.483 (0.52–4.26)	0.46
High HOMA-IR	-	1.621 (0.59–4.48)	0.35	0.760 (0.23–2.47)	0.65	0.741 (0.30–1.84)	0.50
Low HDL-C	-	0.401 (0.15–1.05)	0.06	0.636 (0.24–1.67)	0.36	0.500 (0.22–1.14)	0.10
High LDL-C	-	1.025 (0.41–2.60)	0.96	0.744 (0.26–2.10)	0.58	1.006 (0.44–2.30)	0.99
High TG	-	1.708 (0.55–5.30)	0.35	0.820 (0.22–3.13)	0.77	1.586 (0.54–4.52)	0.40

¹Mean score (range); ²Adjusted for gender, survival time and energy. Cut-off values are described in Supplementary Table 1. BMI, body mass index; WC, waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Supplementary Table 3. Associations between adherence to the KIDMED score and anthropometric & metabolic parameters

Parameters	KIDMED Score						
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3				
	0.8 (-2-3) ¹	3.6 (3-4) ¹	5.9 (4-9) ¹				
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P
		Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2&3 vs. 1	
High BMI	-	1.147 (0.15-8.68)	0.90	1.010 (0.12-8.42)	0.89	1.056 (0.17-6.52)	0.95
High WC	-	0.429 (0.12-1.50)	0.18	0.638 (0.20-2.00)	0.44	0.646 (0.23-1.82)	0.41
High BP	-	0.117 (0.01-1.28)	0.08	0.275 (0.04-1.72)	0.17	0.193 (0.04-1.00)	0.050
High HOMA-IR	-	0.675 (0.14-3.37)	0.63	0.629 (0.12-3.28)	0.58	0.615 (0.15-2.51)	0.50
Low HDL-C	-	0.507 (0.09-2.89)	0.45	1.398 (0.31-6.35)	0.67	0.883 (0.22-3.53)	0.86
High LDL-C	-	0.379 (0.05-2.93)	0.35	0.571 (0.08-4.02)	0.57	0.448 (0.08-2.41)	0.35
High TG	-	0.628 (0.09-4.28)	0.64	0.701 (0.13-3.89)	0.68	1.150 (0.23-5.82)	0.87

¹Mean score (range); ²Adjusted for gender, survival time and energy. Cut-off values are described in Supplementary Table 1. BMI, body mass index; WC, waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Supplementary Table 4. Associations between adherence to the HDI-2018 score and anthropometric & metabolic parameters

Parameters	HDI-2018 Score						
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3				
	2.4 (0-3) ¹	4.0 (3-5) ¹	5.8 (5-9) ¹				
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P
		Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2&3 vs. 1	
High BMI	-	1.259 (0.49-3.25)	0.63	0.811 (0.30-2.21)	0.63	0.949 (0.41-2.20)	0.90
High WC	-	0.983 (0.48-2.02)	0.96	1.161 (0.57-2.35)	0.68	1.002 (0.54-1.85)	1.00
High BP	-	0.945 (0.37-2.42)	0.91	0.425 (0.14-1.31)	0.14	0.589 (0.25-1.37)	0.22
High HOMA-IR	-	0.894 (0.35-2.26)	0.81	1.302 (0.55-3.11)	0.55	1.109 (0.51-2.41)	0.79
Low HDL-C	-	1.567 (0.73-3.38)	0.25	0.832 (0.37-1.89)	0.66	1.244 (0.63-2.47)	0.53
High LDL-C	-	1.087 (0.46-2.60)	0.85	0.726 (0.29-1.81)	0.49	0.749 (0.35-1.61)	0.46
High TG	-	1.198 (0.47-3.03)	0.70	0.607 (0.21-1.73)	0.35	0.890 (0.39-2.05)	0.78

¹Mean score (range); ²Adjusted for gender, survival time and energy. Cut-off values are described in Supplementary Table 1. BMI, body mass index; WC, waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Supplementary Table 5. Associations between adherence to the HEI-2015 score and anthropometric & metabolic parameters

Parameters	HEI-2015 Score						
	Tertile 1	Tertile 2		Tertile 3			
	47.9 (35–55) ¹	60.0 (55–65) ¹	71.3 (65–85) ¹				
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P
		Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2&3 vs. 1	
High BMI	-	1.225 (0.46–3.24)	0.68	1.162 (0.44–3.10)	0.76	1.295 (0.55–3.06)	0.56
High WC	-	0.859 (0.43–1.74)	0.67	0.770 (0.38–1.57)	0.47	0.774 (0.41–1.42)	0.41
High BP	-	0.500 (0.18–1.42)	0.19	0.821 (0.32–2.10)	0.68	0.696 (0.31–1.57)	0.38
High HOMA-IR	-	1.660 (0.69–3.98)	0.26	0.947 (0.37–2.44)	0.91	1.207 (0.55–2.64)	0.64
Low HDL-C	-	1.170 (0.56–2.45)	0.68	0.689 (0.31–1.53)	0.36	0.911 (0.47–1.76)	0.78
High LDL-C	-	0.729 (0.31–1.72)	0.47	0.705 (0.29–1.69)	0.43	0.675 (0.32–1.41)	0.30
High TG	-	0.705 (0.28–1.79)	0.46	0.459 (0.17–1.23)	0.14	0.644 (0.28–1.46)	0.29

¹Mean score (range); ²Adjusted for gender and survival time. Cut-off values are described in Supplementary Table 1. BMI, body mass index; WC, waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Supplementary Table 6. Associations between adherence to the FRAP score and anthropometric & metabolic parameters

Parameters	FRAP Score						
	Tertile 1	Tertile 2		Tertile 3			
	5.7 (1.96–7.87) ¹	9.8 (7.9–12.4) ¹	20.1 (12.5–48.8) ¹				
	OR (95%CI)	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P	OR (95%CI) ²	P
		Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2&3 vs. 1	
High BMI	-	1.372 (0.52–3.59)	0.51	0.556 (0.19–1.67)	0.52	0.946 (0.39–2.33)	0.90
High WC	-	1.259 (0.62–2.56)	0.53	0.994 (0.46–2.17)	0.99	1.144 (0.60–2.19)	0.69
High BP	-	0.723 (0.27–1.96)	0.52	0.518 (0.17–1.55)	0.24	0.625 (0.26–1.53)	0.31
High HOMA-IR	-	0.897 (0.38–2.13)	0.81	0.540 (0.20–1.45)	0.22	0.733 (0.33–1.64)	0.45
Low HDL-C	-	0.749 (0.34–1.64)	0.47	0.603 (0.26–1.41)	0.24	0.682 (0.34–1.39)	0.29

High LDL-C	-	1.615 (0.62–4.17)	0.32	1.247 (0.47–3.33)	0.66	1.429 (0.60–3.40)	0.42
High TG	-	2.460 (0.86–7.00)	0.09	1.870 (0.59–5.95)	0.29	2.217 (0.82–5.99)	0.12

¹Mean score (range); ²Adjusted for gender, survival time and energy. Cut-off values are described in Supplementary Table 1. BMI, body mass index; WC, waist circumference; BP, blood pressure; HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol; TG, triglycerides.

Supplementary Table 7. Association between adherence to nutritional scores and insulin resistance

Scores	Insulin resistance						
	OR (95%CI) Tertile 1	OR (95%CI) Tertile 2 vs. 1	P	OR (95%CI) Tertile 3 vs. 1	P	OR (95%CI) Tertiles 2 & 3 vs. 1	P
MEDAS ²	-	1.641 (0.59–4.55)	0.34	1.040 (0.34–3.21)	0.95	0.845 (0.35–2.07)	0.71
KIDMED ²	-	0.675 (0.14–3.37)	0.63	0.629 (0.12–3.28)	0.58	0.615 (0.15–2.51)	0.50
HDI-2018 ²	-	0.903 (0.36–2.28)	0.83	1.512 (0.64–3.56)	0.34	1.212 (0.56–2.61)	0.62
HEI-2015 ³	-	1.746 (0.73–4.16)	0.21	1.017 (0.40–2.58)	0.97	1.284 (0.59–2.79)	0.53
E-DII ³	-	2.144 (0.93–4.95)	0.07	1.095 (0.42–2.87)	0.85	1.650 (0.75–3.62))	0.21
FRAP ²	-	0.917 (0.39–2.17)	0.84	0.695 (0.27–1.80)	0.45	0.817 (0.37–1.81)	0.62
% UPF ^{2,4}	-	0.508 (0.19–1.39)	0.19	0.800 (0.31–2.06)	0.64	0.642 (0.28–1.46)	0.29

Insulin resistance was defined as having at least one of: blood fasting glucose ≥ 6.1 mmol/L (109.8 mg/dL), glycated hemoglobin $\geq 6\%$ and $< 6.5\%$ and homeostasis model assessment-insulin resistance ≥ 2.86 in adults and $\geq 95^{\text{th}}$ percentile in children; ²Adjusted for gender, survival time and energy intake; ³Adjusted for gender and survival time; ⁴%UPF, percentage of contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 8. Association between adherence to nutritional scores and dyslipidemia

Scores	Dyslipidemia						
	OR (95%CI) Tertile 1	OR (95%CI) Tertile 2 vs. 1	P	OR (95%CI) Tertile 3 vs. 1	P	OR (95%CI) Tertiles 2 & 3 vs. 1	P
MEDAS ²	-	0.584 (0.26–1.31)	0.19	0.603 (0.25–1.44)	0.26	0.653 (0.32–1.33)	0.24
KIDMED ²	-	0.652 (0.18–2.37)	0.52	1.076 (0.33–3.55)	0.90	1.107 (0.37–3.31)	0.86
HDI-2018 ²	-	1.356 (0.69–2.65)	0.37	0.804 (0.41–1.59)	0.53	1.077 (0.62–1.89)	0.80
HEI-2015 ³	-	0.973 (0.50–1.88)	0.93	0.728 (0.37–1.42)	0.35	0.817 (0.46–1.44)	0.49
E-DII ³	-	1.445 (0.75–2.80)	0.28	1.572 (0.79–3.13)	0.20	1.502 (0.83–2.71)	0.18
FRAP ²	-	1.406 (0.71–2.78)	0.33	1.406 (0.68–2.90)	0.36	1.406 (0.76–2.61)	0.28
% UPF ^{2,4}	-	1.089 (0.52–2.30)	0.82	1.983 (0.93–4.21)	0.08	1.456 (0.76–2.79)	0.26

Dyslipidemia was defined as having at least one of: triglycerides ≥ 1.7 mmol/L (150.6 mg/dL) in adults and ≥ 1.47 mmol/L (130.2 mg/dL) in children, LDL-C ≥ 3.4 mmol/L (131.5 mg/dL) in adults and ≥ 3.36 mmol/L (129.9 mg/dL) in children, HDL-C < 1.03 in men (39.8 mg/dL), and < 1.3 mmol/L (50.3 mg/dL) in women and < 1.03 mmol/L (39.8 mg/dL) in children; ²Adjusted for gender, survival time and energy intake; ³Adjusted for gender and survival time. ⁴%UPF: percentage of contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 9. Association between adherence to nutritional scores and obesity

Scores	Obesity						
	OR (95%CI)	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P
	Tertile 1	Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2 & 3 vs. 1	
MEDAS ²	-	0.599 (0.23–1.53)	0.29	0.799 (0.30–2.10)	0.65	0.571 (0.25–1.31)	0.19
KIDMED ²	-	0.429 (0.12–1.49)	0.19	0.638 (0.20–2.00)	0.44	0.646 (0.23–1.82)	0.41
HDI-2018 ²	-	1.039 (0.51–2.10)	0.92	1.093 (0.54–2.20)	0.80	1.240 (0.70–2.21)	0.46
HEI-2015 ³	-	0.884 (0.44–1.77)	0.73	0.798 (0.40–1.61)	0.53	0.801 (0.44–1.46)	0.47
E-DII ³	-	1.137 (0.57–2.27)	0.72	1.686 (0.82–3.46)	0.16	1.356 (0.74–2.50)	0.33
FRAP ²	-	1.212 (0.60–2.44)	0.59	0.904 (0.42–1.95)	0.80	1.075 (0.57–2.04)	0.83
% UPF ^{2,4}	-	0.578 (0.26–1.27)	0.17	1.002 (0.46–2.17)	1.00	0.759 (0.39–1.47)	0.41

Obesity was defined as having at least one of: BMI $\geq 30\text{kg/m}^2$ in adults and $\geq 97^{\text{th}}$ percentile in children, waist circumference $\geq 102\text{cm}$ in men, $\geq 88\text{cm}$ in women and $\geq 95^{\text{th}}$ percentile in children; ²Adjusted for gender, survival time and energy intake; ³Adjusted for gender and survival time; ⁴%UPF: percentage of contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 10. Association between adherence to nutritional scores and hypertension

Scores	Hypertension						
	OR (95%CI)	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P
	Tertile 1	Tertile 2 vs. 1		Tertile 3 vs. 1		Tertiles 2 & 3 vs. 1	
MEDAS ²	-	1.714 (0.55–5.38)	0.36	1.021 (0.25–4.12)	0.98	1.483 (0.52–4.26)	0.46
KIDMED ²	-	0.117 (0.01–1.28)	0.08	0.275 (0.04–1.72)	0.17	0.193 (0.04–1.00)	0.050
HDI-2018 ²	-	0.945 (0.37–2.42)	0.91	0.425 (0.14–1.31)	0.14	0.447 (0.20–1.00)	0.051
HEI-2015 ³	-	0.500 (0.18–1.42)	0.19	0.821 (0.32–2.10)	0.68	0.696 (0.31–1.57)	0.38
E-DII ³	-	3.029 (1.00–9.11)	0.049	1.135 (0.35–3.71)	0.83	1.928 (0.68–5.44)	0.21
FRAP ²	-	0.723 (0.27–1.96)	0.52	0.518 (0.17–1.55)	0.24	0.609 (0.27–1.39)	0.24
% UPF ^{2,4}	-	0.781 (0.24–2.57)	0.68	1.078 (0.36–3.24)	0.89	0.934 (0.35–2.53)	0.89

Pre-hypertension and hypertension were defined, respectively, as: blood pressure $\geq 130/85$ and $< 140/90$ mmHg in adults and $\geq 90^{\text{th}}$ and $< 95^{\text{th}}$ percentile for age and height in children and $\geq 140/90$ mmHg or taking medication in adults and $\geq 95^{\text{th}}$ percentile for age and height or taking medication in children; ²Adjusted for gender, survival and energy intake; ³Adjusted for gender and survival time; ⁴%UPF: % contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 11. Association between adherence to nutritional scores and TNF- α levels in all participants

Scores	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Mean \pm SD	P	P	P
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	Tertile 3 vs.1	Tertile 3 vs. 2	Tertile 2 vs. 1

Scores	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	P	P	P
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	Tertile 3 vs. 1	Tertile 3 vs. 2	Tertile 2 vs. 1
MEDAS	0.70 ± 1.30	0.51 ± 0.58	0.56 ± 0.43	0.994	0.201	0.170
KIDMED	0.49 ± 0.57	0.44 ± 0.51	0.61 ± 0.94	0.820	0.568	0.398
HDI-2018	0.56 ± 0.59	0.72 ± 1.18	0.41 ± 0.33	0.059	0.117	0.865
HEI-2015	0.56 ± 0.59	0.66 ± 1.08	0.47 ± 0.59	0.164	0.184	0.997
E-DII	0.54 ± 0.64	0.57 ± 1.05	0.58 ± 0.65	0.795	0.765	0.994
FRAP	0.63 ± 1.18	0.53 ± 0.42	0.53 ± 0.57	0.148	0.714	0.117
% UPF ¹	0.51 ± 0.46	0.42 ± 0.33	0.79 ± 1.34	0.814	0.187	0.378
MEDAS	2.07 ± 0.57	3.12 ± 7.38	2.25 ± 1.12	0.82	0.77	0.46
KIDMED	2.50 ± 1.07	2.04 ± 0.60	2.11 ± 0.55	0.22	0.65	0.12
HDI-2018	2.24 ± 0.78	2.16 ± 0.90	2.76 ± 5.97	0.24	0.98	0.27
HEI-2015	2.28 ± 0.80	2.89 ± 5.99	1.99 ± 0.53	0.01	0.06	0.53
E-DII	2.10 ± 0.89	2.16 ± 0.70	2.89 ± 5.93	0.07	0.38	0.32
FRAP	2.16 ± 0.86	2.25 ± 0.76	2.75 ± 5.94	0.76	0.17	0.36
% UPF ¹	2.04 ± 0.72	2.86 ± 6.71	2.30 ± 1.08	0.11	0.15	0.77

¹%UPC, percentage of contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 12. Association between adherence to nutritional scores and adiponectin levels in all participants

Scores	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	P	P	P
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	Tertile 3 vs. 1	Tertile 3 vs. 2	Tertile 2 vs. 1
MEDAS	14.10 ± 6.86	15.81 ± 7.55	19.41 ± 8.65	0.004	0.004	0.32
KIDMED	16.66 ± 8.98	18.17 ± 8.81	13.47 ± 6.89	0.27	0.06	0.54
HDI-2018	16.40 ± 9.16	14.45 ± 6.88	17.58 ± 7.73	0.31	0.02	0.46
HEI-2015	15.92 ± 8.45	16.44 ± 8.94	16.37 ± 6.84	0.51	0.62	0.93
E-DII	17.61 ± 7.33	15.57 ± 8.58	15.59 ± 8.05	0.13	0.77	0.06
FRAP	17.45 ± 7.95	15.13 ± 8.12	16.32 ± 7.98	0.36	0.26	0.05
% UPC ¹	18.11 ± 9.08	16.61 ± 7.28	14.74 ± 7.32	0.09	0.30	0.55

¹%UPC, % contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 13. Association between adherence to nutritional scores and IL-6 levels in all participants

¹%UPC, % contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Scores	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	P	P	P
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	Tertile 3 vs. 1	Tertile 3 vs. 2	Tertile 2 vs. 1
MEDAS	1.13 ± 2.07	0.58 ± 0.55	0.52 ± 0.36	0.26	0.92	0.30
KIDMED	0.42 ± 0.27	0.56 ± 0.53	0.41 ± 0.26	0.97	0.83	0.97
HDI-2018	0.58 ± 0.50	0.83 ± 1.71	0.51 ± 0.35	0.64	0.85	0.76
HEI-2015	0.49 ± 0.37	0.96 ± 1.68	0.44 ± 0.29	0.85	0.10	0.21
E-DII	0.60 ± 0.39	0.85 ± 1.75	0.49 ± 0.41	0.32	0.85	0.37
FRAP	0.88 ± 1.85	0.58 ± 0.32	0.50 ± 0.38	0.88	0.27	0.23
% UPF ¹	0.56 ± 0.37	0.65 ± 0.42	0.83 ± 1.93	0.08	0.04	0.49

Supplementary Table 14. Association between adherence to nutritional scores and IL-6 levels in obese participants

Scores	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	P	P	P
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	Tertile 3 vs. 1	Tertile 3 vs. 2	Tertile 2 vs. 1
MEDAS	0.47 ± 0.42	0.49 ± 0.60	0.58 ± 0.47	0.37	0.13	0.35
KIDMED	0.51 ± 0.71	0.39 ± 0.50	0.72 ± 1.15	0.67	0.74	0.35
HDI-2018	0.55 ± 0.63	0.66 ± 0.82	0.35 ± 0.31	0.02	0.05	0.92
HEI-2015	0.60 ± 0.67	0.50 ± 0.52	0.48 ± 0.70	0.10	0.52	0.31
E-DII	0.52 ± 0.73	0.43 ± 0.33	0.63 ± 0.75	0.29	0.64	0.60
FRAP	0.53 ± 0.75	0.50 ± 0.47	0.55 ± 0.64	0.12	0.53	0.40
% UPF ¹	0.47 ± 0.51	0.34 ± 0.26	0.77 ± 0.93	0.10	0.004	0.28

¹%UPC, % contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

Supplementary Table 15. Association between adherence to nutritional scores and IL-6 levels in non-obese participants

Scores	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	P	P	P
	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	Tertile 3 vs. 1	Tertile 3 vs. 2	Tertile 2 vs. 1
MEDAS	1.13 ± 2.07	0.58 ± 0.55	0.52 ± 0.36	0.26	0.92	0.30
KIDMED	0.42 ± 0.27	0.56 ± 0.53	0.41 ± 0.26	0.97	0.83	0.97
HDI-2018	0.58 ± 0.50	0.83 ± 1.71	0.51 ± 0.35	0.64	0.85	0.76
HEI-2015	0.49 ± 0.37	0.96 ± 1.68	0.44 ± 0.29	0.85	0.10	0.21
E-DII	0.60 ± 0.39	0.85 ± 1.75	0.49 ± 0.41	0.32	0.85	0.37
FRAP	0.88 ± 1.85	0.58 ± 0.32	0.50 ± 0.38	0.88	0.27	0.23
% UPF ¹	0.56 ± 0.37	0.65 ± 0.42	0.83 ± 1.93	0.08	0.04	0.49

¹%UPC, % contribution of ultra-processed foods to total dietary energy intake using NOVA classification.

8.7 Article 7

Intestinal dysbiosis and development of cardiometabolic disorders in childhood cancer survivors:
a critical review

Sophia Morel, Edgard Delvin, Valérie Marcil, Emile Levy.

Article publié dans la revue *Antioxidants & Redox Signaling* en avril 2020.

Cet article répond à l'objectif spécifique 3.1

Contribution de l'étudiant

L'étudiante a effectué la revue de littérature et a rédigé le manuscrit.

Forum Review Article

**INTESTINAL DYSBIOSIS AND DEVELOPMENT OF CARDIOMETABOLIC DISORDERS IN
CHILDHOOD CANCER SURVIVORS: A CRITICAL REVIEW**

Sophia Morel^{1,2}, Edgard Delvin¹, Valérie Marcil^{1,2} and Emile Levy^{1,2,3*}

¹Research Centre, Sainte-Justine University Hospital Health Center, Departments of ²Nutrition and
³Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5

Running title: Cardiometabolic disorders in cancer survivors

Keywords: Cancer survivors, metabolic syndrome, gut microbiota, dysbiosis, oxidative stress,
inflammation

Word count: 8435words
Reference numbers: 200
Illustrations: 4 greyscale, 4 tables

Address for correspondence:

*Dr. Emile Levy
GI-Nutrition Unit
CHU Sainte-Justine
3175 Côte Ste-Catherine
Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5
Tel.:(514) 345-7783
E-mail: emile.levy@recherche-ste-justine.qc.ca

ABSTRACT

Significance: Survivors of pediatric cancers have a high risk of developing side effects after the end of their treatments. Many potential factors have been associated with the onset of cardiometabolic disorders (CMD), including cancer disease itself, chemotherapy, hormonal treatment, radiotherapy and genetics. However, the precise etiology and underlying mechanisms of these long-term complications are poorly understood. **Recent Advances:** Greater awareness is currently paid to the role of microbiota in the emergence of cancers and modulation of cancer therapies in both children and adults. Alterations in the composition and diversity of intestinal microbiota can clearly influence tumor development and progression as well as immune responses and clinical output. As dysbiosis is closely linked to the development of host metabolic diseases, including obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease, it may increase the risks of CMD in cancer populations. **Critical Issues:** Only limited studies targeting the profile of intestinal dysbiosis prior and post cancer treatment have been conducted. Furthermore, the exact contribution of intestinal dysbiosis to the development of CMD in cancer survivors is poorly appreciated. This review intends to clarify the influence of gut microbiota on CMD in childhood cancer survivors, elucidate the potential mechanisms, and evaluate the latest research on the interplay between diet/food supplement, microbiota and cancer-related CMD. **Future Directions:** The implication of intestinal dysbiosis in late metabolic complications of childhood cancer survivors should be clarified. Intervention strategies could be developed in order to reduce the risk of survivors to CMD.

Introduction

The magnitude of survival rates of cancer has steadily improved worldwide (74,107,116,168). It is predicted to substantially increase by 2030 due to health care advances and early detection (116). To give but one example, there are currently ~14.5 million cancer survivors in the USA, and this number is estimated to reach 19 million by 2024 (51). This achievement often comes at too great a price given the development of long-term morbidities driven by cancer family history, genetic predisposition, disease severity and the side-risks of treatment (29,56,119,163) (**Figure 1**). Without any doubt, new issues have come to the forefront in cancer survivorship, and management of chronic diseases ranks among the top concerns. In particular, the long-term health outcomes among cancer survivors include significant cardiometabolic disorders (CMD) such as obesity, metabolic syndrome (MetS) and type 2 diabetes (T2D) (134,185). Not only are the mechanisms poorly understood, but also the role of the gut microbiota, which is causally related to the pathogenesis and progression of CMD, has intriguingly been little investigated. Therefore, this review provides a general update on the intersections of cancer survivorship and CMD, critically discuss potential mechanisms, analyze the implication of intestinal microbiota, and highlight the ways diets and functional nutrients may beneficially alter the clinical picture. Importantly, this review mainly focuses on pediatric cancer survivors as their cure rate is increasing, and most of them enter adulthood, develop chronic health conditions, and are sensitive to preventive non-pharmacological interventions.

CMD in childhood cancer survivors: potential mechanisms

With the optimization of treatment and supportive care, an increasing number of pediatric cancer survivors reach adulthood (29). The cure rate for childhood cancers averages 82% ranging from 70% for neuroblastoma to over 90% for acute lymphoblastic leukemia (ALL) (25). Leukemia accounts for 32% of all pediatric cancers and is the most common cancer in children, ALL being the prevalent type of childhood leukemia (142,168), followed by cancers of the central nervous system (19%) and lymphomas (11%) (168). Moreover, pediatric cancer survivors are at risk of developing severe long-term side effects decades after the end of their treatments (29). In particular, they may acquire CMD as well as cardiovascular diseases (CVD), including congestive

heart failure, coronary artery disease, myocardial infarction, cardiac arrest and stroke (31,34,73,115), which represent the leading cause of premature death after cancer recurrence or second cancer (29,31,127). Consequently, the American Heart Association has identified pediatric cancer survivors as a specific population at high risk for CVD (92). A major part of the studies aiming the identification of CMD in cancer survivor population was carried out with ALL survivors being the largest group of survivors (**Table 1**). Nonetheless, studies were still completed in survivors of childhood cancers other than ALL (**Table 2**). The childhood cancer treated with hematopoietic cell transplantation could result in a higher recurrence of CMD. Studies had aimed this specific population (**Table 3**). These studies regardless the type of cancer and the type of treatment have shown that pediatric cancer survivors may experience CMD such as obesity (67,131,139,185), dyslipidemia (72,80,101,106,111,129,131,134,139,176), insulin resistance (IR) (111,134,174) and hypertension (36), all well-established features of the MetS (129,134,185). The latter are associated with pro-oxidant, inflammatory and prothrombotic biomarkers (182,191). Thus, they might represent the link between cancer treatment, development of CVD and accelerated atherosclerosis in cancer survivors.

Although there is a large body of evidence supporting the tendency of cancer survivors to develop the MetS and related complications, the precise etiology and underlying mechanisms are poorly understood. Reference has frequently been made to cancer nature, genetic heritage and anti-cancer therapeutic modalities (56,119,163). Given the limited state of knowledge concerning the pathogenesis of the potential mechanisms related to the metabolic perturbations in cancer survivors, efforts have been deployed and met with success as they identified intricate mechanisms, including oxidative stress (OxS), chronic inflammation, adipose tissue dysfunction, endocrine disruption (hypothalamic-pituitary axis), cellular aging, organ damage (liver and pancreas), sarcopenia, and epigenetic alterations (**Figure 2**). The mechanisms proposed by the authors of the different studies are summarized in **Tables 1-3**.

Intriguingly, the contribution of intestinal dysbiosis to the CMD has been poorly explored in cancer survivors. Nevertheless, in non-cancer populations, alterations in the gut ecosystem has shown to trigger low-grade inflammation, excess visceral fat accumulation and reduction in insulin sensitivity, which collectively increase the risk of CMD (13,26,109).

The aim of the following section is to exhaustively review and critically discuss the potential mechanisms for CMD in cancer survivors. In subsequent sections, gut dysbiosis will be discussed as a central mechanism for CMD in cancer survivors.

OxS and inflammation

A potential mechanism for the pathogenic effects of several chemotherapeutic agents may be through the induction of OxS and inflammation (151), two processes tightly linked to the development of MetS, T2D and CVD (151,178,182,195). In effect, cancer treatments such as anthracyclines, platinum and alkylators generate high levels of reactive oxygen species that induce OxS and inflammation (4,7,23,38,40,49). Furthermore, growing evidence stresses the augmentation of lipid peroxidation products, the decline of total radical-trapping capacity of blood, the reduced concentrations of antioxidants such as vitamins (E, C, β -carotene) and the marked reduction of tissue glutathione levels that occurs during chemotherapy by the same agents (40). It is recognized that the excessive production of free radicals and the chronic presence of inflammation cause damages to proteins, DNA, mitochondrial membranes, endothelial cells, membrane lipids, not sparing the intestinal barrier (27,40,57,64,83,167,172). A study of 24 childhood ALL (cALL) survivors aged between 5 and 13 years highlighted their weakened defense system against OxS (49). Compared to a control group of similar age range, erythrocyte glutathione peroxidase activity was lower and 8-oxo-dG levels in circulating leukocytes were higher, exposing their vulnerability to free radicals (49). As to the inflammation aspect, higher levels of proinflammatory adipokines and cytokines are present in patients with cancer during (35,105,143,192) and after (66,141) chemotherapy up to 5 years after treatment initiation (93). Furthermore, total body irradiation and immunosuppressive treatments during hematopoietic cell transplantation promote the production of proinflammatory adipokines and cytokines in association with CMD (6,128,173). The presence of systemic inflammation and enhanced immune system activation in young adult survivors of cALL was demonstrated (4,7,38). Briefly, compared to healthy controls, cALL survivors have higher levels of circulating CRP, cytokines (IL-6, IL-2, IL-10, IL-17a), and immunity markers (CD38 and HLA-DR on T cells: CD4+ & CD8+, circulating sCD163 from monocytes and macrophages) (4,7,38).

Another study compared the high-density lipoprotein (HDL) proteomics from metabolically healthy and unhealthy cALL survivors. Results showed an enrichment of pro-thrombotic (e.g. fibrinogen) and pro-inflammatory (e.g. amyloid A) proteins in HDL isolated from the unhealthy group (63).

Mitochondrial dysfunction

The damages caused to the mitochondria by OxS may promote dysfunctions in fatty acid β -oxidation. In addition, anthracyclines, platinum and alkylators alter mitochondrial fatty acid β -oxidation by decreasing carnitine palmitotransferase-1 (157). In turn, the free fatty acids that are not oxidized can trigger dyslipidemia, especially hypertriglyceridemia, and raised hepatic fat storage (151) (**Figure 3**). Low levels of HDL-cholesterol were also noticed (54,140). A study has recently characterized the lipid profile and lipoprotein composition of children and young adult cALL survivors (122). The authors found that dyslipidemic cALL survivors had very-low-density lipoproteins and HDL₂ particles enriched with triglycerides in combination with low HDL-cholesterol plasma levels, supporting the hypothesis of dysfunctions in fatty acid β -oxidation due to damage to mitochondria (122). In the same cohort, comparing metabolically healthy and unhealthy, by extending the scope of their investigation, the authors revealed raised lipid peroxidation, weak antioxidant defense, reduced expression of the PGC1- α transcription factor (a robust modulator of mitochondrion biogenesis and OxS), and increased protein expression of the pro-apoptotic cytochrome c in mitochondria isolated from peripheral blood mononuclear cells (98). Furthermore, proteomic analysis of mitochondria by mass spectrometry revealed changes in the regulation of proteins related to inflammation, apoptosis, energy production, redox and antioxidant activity, fatty acid β -oxidation, protein transport and metabolism, and signalling pathways between healthy and unhealthy cALL survivors (98). Although these interesting findings underlined the implication of mitochondrial dysfunction in cardiometabolic complications, further investigations are needed to determine the cause-effect relationship.

Visceral fat as a determinant of obesity-associated metabolic complications

Survivors of childhood cancer exhibit an increased risk to accumulate excess visceral adiposity, which could influence their inflammatory status. In fact, exposure of cALL survivors to cranial

radiotherapy (CRT) was associated with increased visceral and abdominal adiposity, decreased lean body mass, and altered levels of leptin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) (84). They displayed 65% more visceral fat than non-CRT survivors even if the liver and muscle did not experience fat infiltration (84). Similarly, an excess of adiposity coupled with reduced muscle mass was reported in childhood leukemia survivors receiving hematopoietic cell transplantation (18,123). The same phenomenon was described in prepubertal and pubertal survivors of various childhood cancers (128). Adipose tissue is considered an endocrine organ that releases adipokines, including plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), TNF- α , IL-6, resistin, leptin and adiponectin (91) and the secretion of these mediators is involved in CMD (39,46,91). As previously mentioned, specific chemotherapeutic agents induce OxS and inflammation during treatment, creating an environment conducive to excessive accumulation of visceral fat, which could persist during survivorship. During chronic low-grade inflammation, macrophages infiltrate the adipose tissue and induce adipocyte dysfunction (91). Adipocyte and resident macrophages act together to generate inflammatory molecules with autocrine and paracrine effects positioning the adipose tissue as a pro-inflammatory organ (182). OxS can amplify fat accumulation by stimulating pre-adipocyte proliferation and adipocyte differentiation and by increasing mature adipocyte size (167). OxS also decreases adipose tissue production of anti-inflammatory adiponectin and increases the synthesis of inflammatory cytokines (167). These conditions can alter insulin signaling by activating serine and threonine phosphorylation of the insulin receptor and, in turn, lower glucose transporter 4 translocation (21,167). Besides, IL-6 increases the levels of suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3) in adipose tissue, muscle cells and hepatocytes. SOCS3 impairs insulin action by binding to the insulin receptor and its substrates (IRS-1 and IRS-2) leading to their ubiquitination and degradation (28). As demonstrated, survivors are at higher risk to accumulate visceral fat. Thus, the previously production of cytokines by fat tissue and reduced insulin sensitivity could be one of the mechanisms explaining the development of IR in childhood cancer survivors. In addition, pro-inflammatory cytokines inhibit adiponectin synthesis in the adipocyte, which has metabolic actions mimicking those of insulin: it promotes glucose uptake, inhibits hepatic neoglucogenesis and stimulates endothelial nitric oxide (NO) production (94).

Endothelium

The vascular endothelium plays a critical role in the regulation of arterial tone blood flow, inflammation and thrombosis (59). Inflammatory processes in the vascular endothelium refer to the expression of pro-inflammatory genes, and cell adhesion molecules, along with recruitment, migration and infiltration of circulating cells. These mechanisms, exacerbated by OxS, are central to the pathophysiology of vascular diseases (81). Chemotherapeutic agents, anthracyclines and bleomycin increase the production of free radicals and induce OxS (32). The latter, if persisting, can lead to the decoupling of endothelial NO synthase, generating superoxide anions rather than NO necessary for vascular relaxation, and may contribute to the development of CVD in survivors of childhood cancer (32,87,166,186). Results from a pilot study demonstrated that despite similarities in cardiovascular health parameters [body mass index, blood pressure and fitness], cALL survivors had a lower hyperemia index than their healthy siblings, which is an indicator of poorer endothelial health (153). Endothelial dysfunction was also reported in long-term survivors of cALL who had impaired overall brachial flow mediated dilation response compared to healthy controls (85). In these studies, the hypothesis of chemotherapeutic agents' toxic effect (OxS and inflammation) on endothelium was raised but no evidence was provided. The development of endothelial dysfunction and early CVD can also be partially explained by the endothelial cell exposure to free fatty acids, adipokines and pro-inflammatory cytokines (140,182). Inflammatory cytokines may impair the activation of endothelial NOS leading to vasomotor dysfunction (59,140). Also, having higher visceral fat volume has been associated with impaired flow-mediated vasodilation (59,77,136). Experimental and clinical research has demonstrated that endothelial dysfunction may precede the development of IR (140). Thus, it has been suggested that damage caused to the endothelium by cancer treatment could contribute to the progression of the MetS (134). Studies showed that endothelial NO synthase-deficient mice develop IR and metabolic abnormalities, including mitochondrial dysfunction, and high circulating levels of triglycerides and free fatty acids (53,97). In humans, *NOS3* gene polymorphisms have been associated with IR (117). In prospective studies, increased plasma biomarkers of endothelial dysfunction were associated to the risk of T2D incidence (113,114).

Cellular aging

Cellular aging is a phenomenon that involves three main interlinked processes: 1) accumulation of unrepaired DNA damage and telomere shortening; 2) impaired cell and tissue renewal caused by the depletion of stem cell and progenitor cell pools; and 3) chronic systemic inflammation. Accordingly, premature development of age-related chronic conditions was observed in survivors of pediatric cancers including chronic inflammation (4,7,187) and telomere attrition (4,187). Undoubtedly, MetS in cancer survivors is probably multifactorial but OxS and inflammation are two driving forces for its pathogenesis. Their impact can be seen through multiple dysfunction sites as visceral fat, endothelium, cellular aging (unrepaired DNA damage) and mitochondria. Evidently, thorough studies are needed to delineate the precise mechanisms of CMD in cancer survivors, to highlight the role of antineoplastic drugs mediated OxS /inflammation, and to elucidate the impact of antioxidants.

Endocrine system

Cancer disease process, irradiation, chemotherapeutic agents and brain surgery induce endocrine sequelae and CMD (33,138). The homeostatic control of energy balance is highly regulated by a complex neuronal network wherein the hypothalamus plays a key role through its connection to the brainstem and various forebrain regions (48,181). Cancer or its therapy may damage the hypothalamic-pituitary axis and engender imbalances in growth hormone (GH), gonadotropin (FSH and LH), thyroid stimulating hormone and adrenocorticotropin with the induction of MetS (46). The hypothalamus and pituitary gland are particularly sensitive to radiation, but the impact of chemotherapy on them has not been studied extensively (46). Growth, thyroid and sex hormones deficiencies are associated with the presence of MetS. Furthermore, damages to the hypothalamus or down-regulation of hypothalamic leptin receptors can result in central leptin resistance. Leptin concentrations are proportional to body fat mass and communicates primarily with the hypothalamus to regulate satiety and energy expenditure (90,175). In a cross-sectional study performed in cALL survivors, higher leptin/adiponectin ratios were associated with measures of body fat and IR (175) and the latter was also observed among non-overweight and non-obese subjects but was not associated with their leptin/adiponectin ratio (175). Therefore, it was proposed that instead of processing a signal to burn energy during exercise and rest, these subjects inadequately stored energy (175). In a cohort of adult cALL survivors compared to

siblings, it was established that exposition to CRT in doses ≥ 20 Gy was associated with an increased risk for obesity, particularly for females treated at a younger age. Authors suggested that these results were consequences to an age-sensitive radiation-induced insult to the pituitary-hypothalamic axis, causing leptin receptor insensitivity and/or GH deficiencies (133). In young survivors of non-brain malignant solid tumors, 31.7% of them presented with at least one endocrine abnormality, including hypogonadism (11.5%), hypothyroidism (9.4%), short stature (9.4%), GH deficiency (8.6%) and MetS components (15.1%) (160).

GH stimulates protein synthesis and contributes to lipolysis. It also indirectly exerts insulin-like effects, such as stimulation of glucose uptake by peripheral tissues, via increased IGF-1 production by the liver and local tissues. GH deficiency in pre-pubescent children leads to a decrease in growth and is associated with changes in body composition such as lower lean body mass and higher fat mass, anthropometric features that are associated with dyslipidemia and IR (46). GH deficiency caused by CRT treatment is usually permanent, whereas GH deficiency triggered by chemotherapy is temporary. Consequently, children usually undergo a catch-up growth at the end of chemotherapy treatment (75). In a retrospective study, 2 cALL survivors among 235 treated with chemotherapy (without CRT) needed GH replacement therapy after being diagnosed with growth failure and GH deficiency (75). In an Italian prospective study of pediatric cancer survivors, an association was reported between GH deficiency and an increased risk of dyslipidemia (60). According to a study by Gurney et al. a strong correlation was established between CRT and a GH deficiency (72). In addition, GH deficiency in women was associated with a lower level of IGF-1, higher fasting glucose, abdominal obesity and dyslipidemia (72). However, in a study by Follin et al., GH replacement therapy for 12 - and 24 months did not improve post-treatment lipid profile of cALL survivors (62). However, other CVD risk factors were improved after a 12-month treatment: there was a decrease in median plasma glucose and fat mass and an increase in median muscle and lean mass. Furthermore, the number of patients that fulfilled the criteria of the MetS as per International Diabetes Federation definition was reduced (6 vs.1 after 12 months) (62). In another study, after 12 months of physiological GH replacement, only minor improvements were observed in body composition, lipid profiles and bone mineral density in GH deficient adult survivors of childhood cancer (125). The authors concluded that GH deficiency may

not be the most important factor contributing to the adverse lipid profile and body composition observed in survivors (125).

Orchiectomy, radiotherapy or chemotherapy may decrease the levels of testosterone and estrogen, thereby favoring central obesity, IR and dyslipidemia (46,191). In that aspect, low levels of testosterone have been associated with a higher prevalence of the MetS and with visceral obesity, IR, and dyslipidemia, in survivors of prostate cancer (12), Wilms tumor (68) and leukemia (102,134). Local radiotherapy to head and neck cancer can cause an insufficiency of thyroid hormone, a protein important for the regulation of triglyceride, HDL-cholesterol and glucose in association with MetS (46,179). In fact, hypothyroidism is mainly found after neck radiation in Hodgkin's lymphoma and head and neck cancer, and after total body irradiation (TBI) in haematological cancer (46,156,171). Also, alkylating agents have been associated with hypothyroidism in non-brain malignant tumor (160). A study in cALL survivors has identified a trend for higher risk of MetS in young patients with hypothyroidism (134).

Despite evidence of endocrine dysfunction in cancer survivors, the results for hormone replacement therapy are mixed in their effects on cardiometabolic complications. Thus, endocrine dysfunctions seem to represent only a part of the equation in the development of metabolic disturbances in childhood cancer survivors. Future research efforts aimed at the mechanisms underlying the development of CMD in survivors might then be better allocated by focusing on OxS and inflammation as well the emerging role of intestinal dysbiosis.

Genetic/ epigenetic / gene expression

Genetics unequivocally can contribute to the development of long-term cardiometabolic complications of childhood cancer survivors. Also, since epigenetic mechanisms are highly sensible to the host environment such as nutrition and chemicals (47) they can be affected by cancer treatments.

The polymorphism Gln223Arg of *Leptin receptor* gene was associated with obesity in female cALL survivors. Female carriers of this polymorphism and treated with CRT (≥ 20 Gy) were at higher risk of having body mass index ≥ 25 kg/m² (152). In a genome-wide association study of a pediatric

cancer survivor population, genetic variants linked to neural growth, repair and connectivity were associated with an increased risk of obesity in survivors exposed to CRT (193). The genetic polymorphisms were identified near or within the 4 genomic regions: the *FAM155A*, *SOX11*, *CDH18*, and *GLRA3*. The strongest association was found for the SNP located near the *FAM155A* gene region, a gene expressed in the hypothalamus and pituitary gland (193). In another study, whole-exome sequencing was performed in cALL survivors. Rare and common variants in the *BAD* and *FCRL3* genes correlated with the extreme cardiometabolic phenotype (≥ 3 risk factors) whereas other common and rare variants (*OGFOD3*, *APOB*, *BAD* and *SERPINA6*) were associated with dyslipidemia, obesity and IR (55). *BAD* is a gene that encodes for a protein member of the pro-apoptotic Bcl-2 protein family. These proteins, in response to activation by hypoxia, reactive oxygen species, nutrient withdrawal or DNA damage, create pores in the mitochondrial membrane through which cytochrome can be released, leading to cell death (55). *FCRL3* has a role in immune regulation, thus it may contribute to the inflammation process in MetS pathogenesis (55).

In a population of cALL survivors of the Province of Quebec in Canada, 3 major genes associated with lipid profile (*APOE*, LDL receptor (*LDLR*) and *LPL*) (122) were analyzed using whole-exome sequencing data. The analyses revealed that the metabolic and lipid profiles were not different between survivor and control carriers of the same genotype (122). It was concluded that the genetic component does not appear to be the cause of the prevalence of dyslipidemia in this cALL cohort (122).

Many epigenetic modifications occur as part of the normal cellular aging process. Overall, global hypomethylation, CpG island hypermethylation and changes in histone methylation increase with normal aging (43). Exposure to chemotherapeutic agents commonly used to treat cancer induce DNA hypermethylation at CpG islands in human cells. These include topoisomerase II inhibitors etoposide and nalidixic acid (e.g. usage: lymphomas, sarcomas, refractory ALL, lung and testicular cancers), the anthracycline doxorubicin (e.g. usage: ALL, lymphoma, breast and bladder cancers), the microtubule inhibitors vincristine, vinblastine and colchicine (e.g. usage: ALL, lung, ovarian and breast cancers), DNA cross-linking agent cisplatin (e.g. usage: brain tumors, neuroblastoma, testicular, ovarian, cervical and breast cancers), hydroxyurea (e.g. usage: leukemia),

antimetabolites cytarabine, 5-fluorouracil, 5-fluorodeoxyuridine and methotrexate [e.g. usage: ALL, acute myeloid leukemia (AML), brain tumor, breast cancer] (130). Other drugs are rather DNA hypomethylating agents including azacitidine, decitabine (e.g. usage: AML), hydralazine (e.g. usage: lung, colon and rectum cancer) and MG98 (e.g. usage: solid tumor) (89). While these chemotherapeutic agents are effective at damaging cancer cells, they also induce hypermethylation at CpG islands of normal cells and can accelerate their aging process (43). Very few studies have yet demonstrated the link between the acceleration of normal cellular aging process through DNA methylation in cancer survivors and during cancer treatments. A study in 44 childhood cancer survivors, mainly composed of ALL, myeloid leukemia and Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma was designed to examine the presence of long-lasting immune alterations (44). The results demonstrated that more than 10 years post-treatment, survivors treated with TBI/HSCT had an altered DNA methylation patterns in their T cell, particularly in genes controlling immune and inflammatory processes and OxS (44). In this study, a gene ontology analysis was performed in 419 genes containing differentially methylated cytosines. The investigators identified enrichments for gene ontology terms linked to OxS and immune processes, including positive and negative regulation of cytokine production. Differential methylation was also found in microRNA-124 that is linked to T cell polarization and inflammation. Since inflammation and OxS are associated with cellular aging, the biological age was assessed by using the Epigenetic-Aging-Signature method. Authors found that both groups of survivors had a higher predicted biological age than their chronological age, with the group that had been treated with TBI/HSCT exhibiting a higher predicted biological age (44).

There is now a growing interest in epigenetic modifications as part of accelerated cellular aging process in cancer survivors. Although limited, the results reported so far are promising given the role of this mechanism in the development of CMD in cancer survivors. Obviously, additional investigations are needed to strengthen our understanding of the role of this premature cellular aging in cancer survivors.

Physical activity / Nutrition

Poor diet and low levels of physical activity contribute to the development of cardiometabolic perturbations in childhood cancer survivors. In the general population, increasing physical activity and maintaining good cardiorespiratory and muscular fitness reduce the risk of developing CMD (147,169). In a cohort of cALL survivors, the association between cardiorespiratory fitness, physical activity levels and cardiometabolic outcomes was evaluated. It was demonstrated that a good cardiorespiratory fitness was associated with a lower prevalence of obesity and of low HDL-cholesterol (100). In a smaller study, cALL survivors had poorer physical fitness (measured with VO_{2peak}) compared to age- and sex-matched healthy controls (86). Several chemotherapy agents can damage specific organ function, which can limit the capacity of cancer survivors to perform physical activities. Vincristine is associated with the development of peripheral neuropathies (86,188) that can reduce muscle strength and impaired balance. Anthracyclines are associated with long-term cardiotoxicity (161) and cyclophosphamide with reduced pulmonary function (86,88), causing impairment in cardiovascular fitness.

During cancer treatment, children are much more inactive than their peers (86), which impairs the development of their musculature and their ability to do the activity (86). In 19 survivors of high risk neuroblastoma, components of frail health (low lean mass, low physical activity volume, weakness and slowness) were more frequently observed (187). In a cross-sectional study, survivors of cALL had lower lean muscle mass and percentage of lean muscle compared to race-, age- and gender-matched controls. In this study, lean muscle mass was associated with protein intake, resistance training and regular physical activity in both survivors and controls (20).

To date, few studies have evaluated the relationship between diet and cardiometabolic outcomes in pediatric cancer survivors. Robien et al. appraised the usual dietary intake of 72 cALL survivors by comparing with several guidelines (150). The results showed that cALL survivors had excess sodium and sugar intakes and insufficient ingestion of whole grains based on the World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research recommendations (150). Only half of the participants consumed a minimum of 5 fruits and vegetables per day and $\leq 30\%$ of the total energy intake in fat as recommended by the Dietary Approaches to Stop Hypertension and the United States Department of Agriculture Food Guide (150). These observations demonstrated that usual dietary intakes of several LLA survivors are not in agreement with the recommendations to reduce

their risk of obesity, MetS components and CVD (150). Similar observations were made in 164 survivors of cALL. Intakes of dairy products, fruits, vegetables and whole grains were lower than recommended by the United States Department of Agriculture, whereas the energy intake provided from sweets was 70% higher than the recommendations (177). Nonetheless, in cALL survivors, greater adherence to a Mediterranean diet pattern was associated with lower visceral adiposity, subcutaneous adiposity, waist circumference and body mass index (174). Overall, nutrition as a major player in the modulation of intestinal microbiota represents a venue that should be examined carefully given its importance in the prevention of CMD in childhood cancer survivors.

Gut microbiota alterations in relation with childhood cancer and its treatment

Intestinal microbiota

The intestinal microbiota, with its 10^{14} microorganisms equipped with 3 million genes, is essential for the normal functioning of the body. One third of gut microbiota is common to most individuals while the other two thirds are specific to all of us, shaping a kind of fingerprints. Currently, intestinal microbiota is considered as an organ in itself, which lives in symbiosis with its host and fulfills various functions, including digestion of substrates undigested by the host providing up to 10% of energy needs (110), the establishment and maturation of the immune system (30,41), preservation of mucosal barrier, production of vitamins (B and K) and protection against pathogenic microorganisms (70). During the last decade, it appears that intestinal microbiota exerts a significant influence on epithelial homeostasis as well as on a large number of intestinal and extra-intestinal diseases. In particular, dysbiosis is associated with a plethora of CMD.

Microbiota modulators

Destabilizing exogenous and endogenous factors provoke variations of intestinal microbiota via impairment of its diversity and composition, giving rise to the expansion of pernicious bacterial taxa. The marked shifts in the ratio of phyla, particularly Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria and Proteobacteria may be induced by dietary changes, chemical agents (e.g. drugs, antibiotics), intestinal mucosa, immune system, gastrointestinal peristalsis, OxS, bacteriophage induction,

microbial toxin release [e.g. bacteriocin, lipopolysaccharide (LPS)] and even psychological stress. Combined actions of separate factors exacerbate microbial shifts, allowing the amplified dysbiosis to generate or promote pathological states.

Large shifts in the ratio between these phyla or the expansion of new bacterial groups lead to a disease-promoting imbalance, which is often referred to as dysbiosis. It has been reported that chemotherapy used in cancer treatment alters the composition and diversity of the intestinal microbiota (82,120,121,184,200). Microbiota diversity was also found affected by abdominal and pelvic radiotherapy (108,126). Notwithstanding, a few studies have evaluated whether these changes perpetuate in time (38,42,108,126). It was proposed that alterations in intestinal microbiota that occur during therapy could impact metabolic outcomes long after the end of cancer treatment (8,11). The aim of the following section is to review the few studies investigating intestinal dysbiosis at different time points of childhood cancer chemotherapy up to survivorship.

Gut microbiota profile in childhood cancer patients/survivors

Only very few studies investigating gut microbiota during and after childhood cancer treatment have been published (8). Nonetheless, all the studies supported that cancer treatments, mainly chemotherapy, were associated to intestinal dysbiosis during and after treatments (8). It was proposed that not only direct bacteriostatic/bactericidal effects of chemotherapeutic agents can modulate microbiota, but that their severe immunosuppressive actions could also affect the immunological regulation of bacterial growth (155). However, most cancer patients receive a combination of chemotherapeutic agents and often broad-spectrum antibiotics as prophylactic or therapeutic treatment for co-infections. Thereby, it is difficult to pinpoint the impact of individual chemotherapy agents and antibiotics on intestinal dysbiosis. Moreover, the microbiota altered by the antibiotics may not recover to its original phenotype after the end of treatment (52,151). Until now, it remains unclear whether the observed changes in gut microbiota are a causative factor of cancer itself rather than the unique consequence of treatments (189,199). Nonetheless, the specific roles of the different chemotherapeutic or antibiotic agents on gut dysbiosis still need to be disentangled. The limited studies that characterized intestinal dysbiosis on the time scale in relation with childhood cancer are: (1) cancer diagnosis phase; (2) during

chemotherapy treatments; and (3) throughout survivorship (**Table 4**). These periods are summarized hereinafter subsections.

At the time of cancer diagnosis

So far, only one study has evaluated gut microbiota composition of cALL patients at the time of diagnosis (145). Before any chemotherapeutic treatment and compared to healthy siblings, the investigators found lower bacterial diversity, accompanied by a reduced relative abundance of *Lachnospiraceae* (that includes *Clostridium* XIVa and IV groups) and *Roseburia* in the cALL group. Nonetheless, both groups were dominated by *Bacteroides*, *Prevotella* and *Faecalibacterium*, and shared many taxa (145). Microbiota diversity was found increased after the initiation of chemotherapy compared to diagnosis. Unfortunately, no data are available on the microbiota profile after completion of chemotherapy treatment (145).

During chemotherapy treatments

In a study with 9 children with acute myeloid leukemia, treatment with chemotherapy and antibiotics led to an important decrease in anaerobic bacteria that was partly compensated by an increase in potentially pathogenic enterococci (184). In addition, at all-time points during treatments, the biomass of bacteria per gram of dry weight feces was 100-fold lower than healthy controls. It was suggested that the antibiotics could not on their own explain the observed decrease in anaerobic bacteria during treatment. Before a new chemotherapy course, the bacterial diversity was restored partially, but it decreased again after the next cycle even if antibiotic prophylaxis was maintained between chemotherapy cycles (184). The abundance of four anaerobic bacteria groups (*Bacteroides* species, *Clostridium* cluster XIVa, *Faecalibacterium* (*F. prausnitzii*) and *Bifidobacterium* species) was lower during treatment. The total number of *Bacteroides* and *Bifidobacterium* was still significantly lower six weeks after the end of chemotherapy, whereas a recovery was observed for *Clostridium* cluster XIVa and *Faecalibacterium prausnitzii* (184). *In vitro* experiments confirmed a direct bacteriostatic effect of the chemotherapeutic agents daunorubicin, etoposide and cytarabine (184).

Also, in adult patients with non-Hodgkin's lymphoma, there was a decreased alpha-diversity, defined as species richness or the number of different species in a sample. Concomitantly, an

important reduction of *Faecalibacterium* and an increase of *Escherichia* abundance were observed after one course of conditioning treatment for hematopoietic stem-cell transplantation (120).

Interesting data were reported in the adult population. In a group of 17 that had received chemotherapy with or without concomitant antibiotics, *Bacteroides* were minimally impacted by treatments, but *Clostridium* clusters IV and XIVa were found to be sensitive to chemotherapy and antibiotics (200). In another study with 28 non-Hodgkin's lymphoma patients, abundances of Firmicutes (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*) and Actinobacteria (*Bifidobacterium*) were decreased, while the wealth of Proteobacteria (*Enterococcaceae* and *Enterobacteriaceae*) amplified after chemotherapy (without antibiotics) (121). In contrast with other reports, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* and *Escherichia coli* were decreased in cALL patients following analysis of stool samples collected three days after end of a high-dose methotrexate cycle, a partial recuperation of the content in these bacteria seven days after the end of methotrexate treatment was observed, with the exception of *E. coli* that surpassed its initial levels (82). In addition, the bacterial biomass measured in stools, one day before the initiation of the high-dose methotrexate treatment, was 29.6% lower compared with samples obtained from healthy children (82). In adulthood colorectal cancer, 43 patients received radical surgery combined with adjuvant chemotherapy. After 5 rounds of chemotherapy, there were no significant differences in both microbiota diversity and composition compared to before treatment. Nonetheless, the ratio of *Bacteroidetes* to *Firmicutes* was increased and the Gram-negative *Bacteroidetes* were more abundant after chemotherapy, resulting in a shift in the Gram-positive to Gram-negative bacteria ratio (95).

Non-cancer animal models were also used to study how chemotherapeutic agents (i.e. methotrexate) affect gut microbiota and gastrointestinal mucositis (15,61). Using a rat model, 4 to 6 days following methotrexate treatment, microbiota diversity and a number of fecal bacteria were found decreased, while potentially enteropathogenic bacteria (*Bacteroides*, Enterococci and *Enterobacteriaceae*) were relatively increased (61).

After chemotherapy treatments in survivors

To our knowledge, only two studies analyzed the microbiota profile of childhood survivors and they observed intestinal dysbiosis persisting after the end of cancer treatments (38,42). A study with 73 adult cALL survivors showed a lower abundance of *Faecalicabacterium*, *Ruminococaceae* and *Lachnospiraceae* and genes associated with bacterial motility, sporulation and bacterial chemotaxis were less abundant than in controls (38). These results indicate different microbiome functional pathways between survivors and healthy controls. In another study, the fecal microbial diversity was examined in 13 Hodgkin lymphoma survivors and their 13 unaffected twins (42). While the differences in microbial diversity were modest, the Hodgkin lymphoma survivors had fewer unique operational taxonomic units (42).

These few small studies have certainly shown that intestinal dysbiosis is present at different points in time during or after cancer treatments. However, the impact of various chemotherapeutic agents and antibiotics on the gut microbiota is still tangled. In that respect, additional studies are needed to clarify the role of individual chemotherapeutic agent and antibiotics on intestinal dysbiosis. Nonetheless, no sufficient data is available to determine whether the modification to the microbiota perpetuate on the long-term in cancer survivors. It would be enlightening to have studies that investigate the microbiota profile in patients newly diagnosed, through different time points during treatments and after the end of treatment in a long-term perspective.

Gut microbiota as a central mechanism for CMD in childhood cancer survivors

As mentioned previously, O_xS, chronic inflammation, and epigenetic alterations have been identified as potentially underlying the development of CMD in cancer survivors, but the intestinal dysbiosis contribution remains unknown. The aim of the following section is to exhaustively review the emerging role of intestinal dysbiosis in cancer survivor complications, especially CMD, and critically discuss the mechanisms.

Gut dysbiosis, peripheral inflammation and endotoxemia

No study has directly evaluated the role of gut dysbiosis in inflammatory signalling pathways in cancer survivors. However, the gut microbiota may influence host metabolism by altering

inflammatory signalling pathways (109) (**Figure 4**). As intestinal dysbiosis is linked to decreased short-chain fatty acid (SCFA) production, lower mucus thickness and decreased antimicrobial defence, these conditions create a favourable environment for the translocation of pathogen associated molecular patterns (PAMPs) (e.g. LPS, peptidoglycan and flagellin) from the gut to the blood circulation, a phenomenon named metabolic endotoxemia (26,45). Circulating levels of LPS and other PAMPs have been associated with CMD (3,26).

Of note, SCFA are metabolic products of anaerobic fermentation by microbial communities. They play an important role in host physiology. In addition to be a major source of energy for colonocytes, they are able to influence the microbial environment and ecology by communicating with host cells. Among others, they regulate gene expression of immune cells and act as inflammation suppressors (104).

Butyrate is synthesized by bacterial groups such as *F. prausnitzii*, *Clostridium XIVa* and *Roseburia* (26). A reduced abundance of butyrate producers during or after cancer treatments was negatively associated with the peripheral inflammatory biomarkers IL-6 and CRP (38). Hence, it is possible that the reduction in these commensal species impacts inflammatory status of patients and survivors (135). Byndloss et al. demonstrated in a mice model treated with the antibiotic streptomycin that butyrate contributes to microbiota ecosystem by maintaining anaerobic conditions in the intestinal lumen (24). This SCFA activates peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in colonocytes, which limits the luminal bioavailability of oxygen by driving the energy metabolism of colonocytes towards beta-oxidation and oxygen consumption (24). A depletion of butyrate may then induce colonocytes to switch their energy metabolism from glucose to lactate (anaerobic glycolysis), a pathway that do not consume oxygen. Higher oxygen availability promotes the proliferation of the Gram-negative bacteria *Enterobacteriaceae* (24) and concurrently may increase LPS levels (124). In the systemic circulation, LPS infiltrates organs, such as the liver or adipose tissue, and trigger an innate immune response inducing low-grade inflammation (3,21). In particular, LPS binds the plasma LPS-binding protein (LBP) and activates the receptor protein CD14 located in the plasma membrane of macrophages. The LPS-LBP-CD14 complex binds TLR-4 on the surface of macrophages generating inflammation via activation of the NF- κ B pathway (17,22). Future studies in cancer survivor population should consider evaluating

concentration of LPS in combination with plasmatic LBP levels. A such methodological strategy may provide a better marker of the innate immune response to the LPS infiltration.

Propionate regulates the production of antimicrobial factors by immune cells. Particularly, it promotes *de novo* generation of T_{reg} and mucosal-associated invariant T cells (MAIT) in the colon (26,196). A decrease in propionate could contribute to lower the abundance of these immune cells (26). T_{reg} cells have anti-inflammatory functions (17) and MAIT cells of the gut mucosa and biliary epithelium have antimicrobial roles. A reduction in *Lachnospiraceae* abundance, a producer of propionate, was reported during and after chemotherapy (38,121) and could possibly impact inflammatory status of patients and survivors.

Enhanced barrier integrity, including thick mucus layer and adequate tight junction structure of epithelial cells, prevents translocation of bacteria and PAMPs (183). Methotrexate at high doses causes structural and functional injury to the gastrointestinal tract as it was demonstrated in a rat model. In fact, Methotrexate increases gut permeability by altering the tight junction proteins and their cellular distribution (15). In addition, chemotherapy and gut dysbiosis can lead to loss of epithelial cells (8). The mucus layer of the intestinal epithelium acts as a mechanical barrier. This protective mucus is comprised of glycoproteins, trefoil factors and mucins produced by goblet cells (183), and its composition is critical in the protection against inflammation. Interestingly, butyrate-producing bacteria are thought to play a role in the composition of the mucus layer, as butyrate stimulates synthesis of mucins. Thus, the reduced abundance of such butyrate-producing bacteria reported in cancer patients and survivors (38,121,200) may impact the integrity of the mucus layer.

Studies indicate that intestinal dysbiosis is related to visceral fat accumulation and abdominal obesity although the mechanisms are not fully understood even more in cancer survivor populations. Nonetheless, strong associations were found between fecal microbial profiles and visceral fat in 1313 adult twins (13). Alpha diversity was negatively associated with obesity and was found lower in individuals with greater abdominal adiposity and visceral fat (13). OTUs belonging to *Oscillospira*, *Lachnospira* and *Ruminococcus* were negatively associated with visceral fat mass (13). Therefore, the lower abundance of *Ruminococaceae* and *Lachnospiraceae* and

overall microbial diversity reported in childhood cancer survivors (38) could promote excessive visceral fat accumulation (38,42).

Additional investigations are needed to clearly establish the link between the intestinal dysbiosis phenotype found in cancer survivors and their inflammatory status. However, as per the observations reported, it is possible to predict that their microbiota phenotype is potentially pro-inflammatory. To increase our understanding of gut dysbiosis on inflammatory signalling pathway in a population of cancer survivors, future studies should focus on the evaluation of the relationship between the microbiota functional status (e.g. SFCA production) and measured peripheral biomarkers of endotoxemia and inflammation. It would be also interesting to assess the association of butyrate levels, proliferation of the *Enterobacteriaceae* and endotoxemia profile in a cancer survivor population.

Gut dysbiosis / gut-brain axis

To our knowledge there is no study that evaluates the relationship between intestinal dysbiosis and brain metabolic functions in childhood cancer survivors. Miscommunication between the gut and the central system could alter host energy metabolism, as well as appetite/hunger-increasing and/or satiety/fullness-suppressing properties, which can lead to obesity. The gut-brain axis is involved a bidirectionally connection between the gastrointestinal tract and the nervous system. The hormones and neuro-hormones secreted by the nervous system modulate gastrointestinal digestive and metabolic activities, and vice-versa (189). The composition and diversity of the gut microbiota affect markedly this bidirectional communication (181), a phenomenon reported in childhood cancer survivors. Through this gut-brain axis, gut microbiota plays a key regulatory role in host energy metabolism and central appetite. The gut peptide hormones, glucagon-like peptide 1 (GLP 1) and peptide YY (PYY), are stimulated in response to gut nutrient content. They interact with various receptors in the gut-brain axis, affecting satiety and glucose metabolism in the short- and intermediate term (48,181).

Butyrate and propionate stimulate the secretion of gut peptides by binding to the G protein coupled receptors (GPR)-43 and GPR-41 expressed on the enteroendocrine L-cells (48). Thus, the reduction of commensal bacteria producer of butyrate and propionate in cancer patients during

chemotherapy (121,200) and in cancer survivors (38) could impact the secretion of gut peptides and impact glucose metabolism and weight gain. To our knowledge, this hypothesis has not yet been validated in cancer population.

Most of the studies on gut microbiota in childhood cancer survivors focused mainly on their richness and composition. The evaluation of bacteria community biomass and function is critical for a better understanding of the mechanisms allowing to uncover the best appropriate therapies.

Genotoxicity of intestinal dysbiosis

Some metabolites derived from gut bacteria are genotoxic, damaging host cell DNA. They can cause double stranded breaks in DNA that, if not repaired through the DNA repair processes, can introduce point mutations, insertions, deletions, or chromosomal rearrangements (17). Colibactin is a bacterial toxin synthesized by *Enterobacteriaceae* (mainly *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae*) (58,144). Colibactin causes senescence of epithelial cells and apoptosis of immune cells (58). Moreover, the cytolethal distending toxin, produced by some *Proteobacteria*, induces cell cycle arrest dependent on the DNA damage response triggered by DNA double-strand breaks (16,17). Thus, the increase abundance of *Enterobacteriaceae* and *Proteobacteria* after chemotherapy reported in cancer patients (121) could affect the integrity of the intestinal barrier through the production of colibactin and cytolethal. However, this is an area that definitely needs further research in cancer survivor population.

Interplay between nutrition, gut microbiota and CMD

Role of nutrition in gut microbiota and CMD

Diet plays an important role in maintaining the composition of the microbiota (194). During cancer treatment, diet is often impaired (151), which may lead to gut dysbiosis (150) and modify concomitantly the numbers of metabolite-producing bacteria. In turn, an increase or decrease of SCFA and trimethylamine-N can impact several metabolic pathways (146).

Alterations of microbiota by diet and functional nutrients

The observations reported above demonstrated that intestinal dysbiosis is present at different points in time during and after cancer treatments, and a potential relationship between microbial dysbiosis, OxS and peripheral inflammation is highly probable. Thus, gut microbiota modulation strategies that could restore microbial imbalance, prevent chronic inflammation and consequently development of late effects in childhood cancer survivors are very attractive. In general population, numerous dietary intervention studies have been conducted to manipulate the gut microbiota to improve host outcomes whereas no specific investigation were completed aiming at childhood cancer survivor population. This section aims to briefly review the potential in latest research on the interplay between diet/food supplement and gut microbiota modulation that would be beneficial in childhood cancer population.

Mediterranean diet

Mediterranean diet has been found to be associated with reduced incidences of several chronic disease among non-cancer population such as obesity, T2D, MetS and CVD (69,118,158,164). Similarly, in a cohort of 117 adult survivors of cALL, adherence to a Mediterranean diet was associated with lower adiposity and waist circumference (174). The beneficial effects of the Mediterranean diet might be attributed to its high fiber content, its source of mono- and poly-unsaturated fatty acids, as well as antioxidants and polyphenols. It has been suggested that the mechanisms by which this diet is beneficial to the host health is mediated by an interplay between the nutrients provided and the gut microbiome. First, fiber-rich, plant-based diets have been associated with greater microbial richness that could impact the production of beneficial SCFA that could impact on the reduction of metabolic endotoxemia (9).

Prebiotics

Prebiotics are food components not digestible by the human body and beneficially affect the host bacteria present in the colon (180). Prebiotics are found in common food, such as vegetables and whole-grain cereals, and yoghurt. They are a subgroup of dietary fibres known as fermentable fibers, which implies they are transformed by the gut microbiota into SCFAs and promote proliferation of selected commensal bacteria in the colon (180). Prebiotics, through their inducing of SCFAs by commensal bacteria, might participate in the glucose and lipid homeostasis.

Preclinical and clinical studies have demonstrated beneficial impact of prebiotic intake, mostly inulin, on insulin sensitivity, LDL-cholesterol, triglyceride and HDL-cholesterol concentrations as well on MetS (76,103,190). These beneficial impacts have not been yet demonstrated in cancer survivor population. Hence, prospective longitudinal cohort studies are needed to determine the benefits in this population. Conversely, pre- and probiotics have been studied for the prevention and treatment of cancer, but this aspect is very much in its infancy (159). The clinical studies in that domain are limited but still demonstrated potential effects of prebiotics as immunomodulators or by maintaining intestinal barrier function (159). These beneficial effects are highly probable to be found in the cancer survivor population.

Probiotics

Probiotics are live bacteria and yeast and when administrated in a viable form and in adequate amounts, are beneficial to human health. They are usually added to yoghurts or taken as food supplements (180). Probiotics have anti-inflammatory, hypoglycemic, insulinotropic, antioxidative, and satietogenic properties (96). They have been studied to be an adjuvant to treatment of CMD but not in a cancer survivor population (96). It has been reported that multi-strain probiotic have a potentially beneficial effect on glucose and lipid homeostasis in T2D by reducing IR and inflammation (1,79,154,198). However, the precise mechanisms have not yet been fully established in cancer and the avenue of multi-strain probiotics could be looked at in a population of cancer survivor population presenting cardiometabolic outcomes. Further investigations are required to identify which strain of probiotics should be used, and to define appropriate dosage and length of treatment.

Polyphenols

Dietary polyphenols are one of the most important groups of natural antioxidants found in human diets, including fruits, vegetables, grains, tea, essential oils and their derived foods and beverages. Phenolic compounds have direct and indirect antioxidant and anti-inflammatory activities that help mitigate OxS at the cellular level (198). Similarly to prebiotics, polyphenols can affect gut microbiota communities and stimulate bacterial production of SCFAs (137). They can, therefore, have indirect beneficial effects on host metabolism. Phenolic compounds from diets or

supplements are a very attractive option for the prevention of CMD, with a possible interest for cancer survivors with intestinal dysbiosis and low chronic inflammation. However, the success of this approach is determined by their bioavailability and metabolism in the gut. The phenolic compounds not absorbed by the small intestine reach the colon where they may be catabolized into low-molecular-weight compounds that are potentially absorbed and then enter the systemic circulation where they can exert biological activity (148). The absorption and transport of phenolic acids and their metabolites to target tissues have been identified to be reduced in T2D and obesity in humans and rodent models (148). The alteration of the microbiota under these conditions can be part of the reason underlying the reduction of phenolic compound metabolite absorption and transportation in systemic circulation (148). To advance the research in this area, there is a need to strengthen our knowledge on the bioavailability of polyphenols and their metabolites in the gut together with their mechanisms in OxS, inflammation and CMD in cancer survivors.

These emerging nutritional strategies to modulate intestinal microbiota and to impact cardiometabolic outcomes are very important issues on which research should focus on. However, we have to take into account the interindividual variability of gut microbiota and host responsiveness (78), which are difficult to predict in response to dietary interventions. The variability may have implications on the consistency and interpretation of results among studies especially in cancer survivors. Research should continue investigating nutritional interventions to improve cardiometabolic health and concomitantly deepen our knowledge of the gut microbiota and host physiology.

Limits of studies

Most of the studies included in this review used fecal stool samples to evaluate gut microbiota. However, it has been reported that fecal microbiome is different from mucosal-associated microbiome (17). Furthermore, metagenomic sequencing, the method mostly used to evaluate gut microbiota composition and diversity, does not provide insight into the spatial distribution of microbes. The organization of microbial communities into biofilms might be an important factor to consider (17). Archaea, viruses, phages, yeast and fungi are also present in the gut and likely interact with the intestinal bacterial community and the host immune system (26,149). They

might influence their activities and functions, but most of the roles and interactions remain unknown (26). So far, they have not been studied in cancer or survivor populations.

Conclusion and perspectives

Although the available literature reports a high incidence of CMD in pediatric cancer survivors, their precise etiology and underlying mechanisms remain enigmatic. Several very important tracks have been suggested. One promising hypothesis involves modifications of gut microbiota during and following cancer treatment. Microbiome modulators (e.g. antimicrobials, diet, prebiotics or probiotics) should be developed depending on the type and stage of CMD in cancer survivors.

ACKNOWLEDGEMENTS

The current work was supported by a grant from the Institute of Cancer Research of the Canadian Institutes of Health Research (V.M. & E.L.), the JA deSeve Research Chair in nutrition (E.L.), the FRSQ doctoral scholarship award and Cole Foundation Fellowship (S.M.)

AUTHOR DISCLOSURE STATEMENT

The authors have declared that no competing interests exist.

LIST OF ABBREVIATIONS

ALL: acute lymphoblastic leukemia

AML: acute myeloid leukemia

CMD: cardiometabolic disorder

CRT: cranial radiotherapy

CVD: cardiovascular diseases

DASH: Dietary Approaches to Stop Hypertension

GH: growth hormone

GLP-1: glucagon-like peptide 1

GPR: G protein coupled receptors

Gy: gray

HDL: high-density lipoprotein

HSCT: hematopoietic stem-cell transplantation

IGF-1: insulin-like growth factor-1

IR: insulin resistance

IRS: insulin receptor substrate

LPB: LPS-binding protein

LPS: lipopolysaccharide

MAIT: mucosal-associated invariant T

MetS: metabolic syndrome

NO: nitric oxide

OxS: oxidative stress

PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1

PAMP: pathogen associated molecular patterns

PYY: peptide YY

SCFA: short chain fatty acid

T2D: type 2 diabetes

TBI: total body irradiation

TMA: trimethylamine-N

TMAO: trimethylamine-N-oxide

USDA: United States Department of Agriculture

WCRF/AICR: World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research

References

1. Akbari V, Hendijani F. Effects of probiotic supplementation in patients with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev* 74: 774-784, 2016.
2. Aldhafiri F, Al-Nasser A, Al-Sugair A, Al-Mutairi H, Young D, Reilly JJ. Obesity and metabolic syndrome in adolescent survivors of standard risk childhood acute lymphoblastic leukemia in Saudi Arabia. *Pediatr Blood Cancer* 59: 133-7, 2012.
3. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermudez-Humaran LG, Smirnova N, Berge M, Sulpice T, Lahtinen S, Ouwehand A, Langella P, Rautonen N, Sansonetti PJ, Burcelin R. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med* 3: 559-72, 2011.
4. Ariffin H, Azanan MS, Abd Ghafar SS, Oh L, Lau KH, Thirunavakarasu T, Sedan A, Ibrahim K, Chan A, Chin TF, Liew FF, Jeyamogan S, Rosli ES, Baharudin R, Yap TY, Skinner R, Lum SH, Hainaut P. Young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia show evidence of chronic inflammation and cellular aging. *Cancer* 123: 4207-4214, 2017.
5. Armenian SH, Sun CL, Vase T, Ness KK, Blum E, Francisco L, Venkataraman K, Samoa R, Wong FL, Forman SJ, Bhatia S. Cardiovascular risk factors in hematopoietic cell transplantation survivors: role in development of subsequent cardiovascular disease. *Blood* 120: 4505-12, 2012.
6. Arvidson J, Lonnerholm G, Tuvemo T, Carlson K, Lannering B, Lonnerholm T. Prepubertal growth and growth hormone secretion in children after treatment for hematological malignancies, including autologous bone marrow transplantation. *Pediatr Hematol Oncol* 17: 285-97, 2000.
7. Azanan MS, Abdullah NK, Chua LL, Lum SH, Abdul Ghafar SS, Kamarulzaman A, Kamaruzzaman S, Lewin SR, Woo YL, Ariffin H, Rajasuriar R. Immunity in young adult survivors of childhood leukemia is similar to the elderly rather than age-matched controls: Role of cytomegalovirus. *Eur J Immunol* 46: 1715-26, 2016.

8. Bai J, Behera M, Bruner DW. The gut microbiome, symptoms, and targeted interventions in children with cancer: a systematic review. *Support Care Cancer* 26: 427-439, 2018.
9. Bailey MA, Holscher HD. Microbiome-Mediated Effects of the Mediterranean Diet on Inflammation. *Adv Nutr* 9: 193-206, 2018.
10. Barbosa-Cortes L, Lopez-Alarcon M, Mejia-Arangure JM, Klunder-Klunder M, Del Carmen Rodriguez-Zepeda M, Rivera-Marquez H, de la Vega-Martinez A, Martin-Trejo J, Shum-Luis J, Solis-Labastida K, Lopez-Aguilar E, Matute-Gonzalez G, Bernaldez-Rios R. Adipokines, insulin resistance, and adiposity as a predictors of metabolic syndrome in child survivors of lymphoma and acute lymphoblastic leukemia of a developing country. *BMC Cancer* 17: 125, 2017.
11. Barnea D, Raghunathan N, Friedman DN, Tonorezos ES. Obesity and Metabolic Disease After Childhood Cancer. *Oncology (Williston Park)* 29: 849-55, 2015.
12. Basaria S, Muller DC, Carducci MA, Egan J, Dobs AS. Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. *Cancer* 106: 581-8, 2006.
13. Beaumont M, Goodrich JK, Jackson MA, Yet I, Davenport ER, Vieira-Silva S, Debelius J, Pallister T, Mangino M, Raes J, Knight R, Clark AG, Ley RE, Spector TD, Bell JT. Heritable components of the human fecal microbiome are associated with visceral fat. *Genome Biol* 17: 189, 2016.
14. Belle FN, Kasteler R, Schindera C, Bochud M, Ammann RA, von der Weid NX, Kuehni CE, Swiss Pediatric Oncology G. No Evidence of Overweight in Long-Term Survivors of Childhood Cancer After Glucocorticoid Treatment. *Cancer*, 2018.
15. Beutheu Youmba S, Belmonte L, Galas L, Boukhattala N, Bole-Feysot C, Dechelotte P, Coeffier M. Methotrexate modulates tight junctions through NF-kappaB, MEK, and JNK pathways. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 54: 463-70, 2012.
16. Bezine E, Vignard J, Mirey G. The cytolethal distending toxin effects on Mammalian cells: a DNA damage perspective. *Cells* 3: 592-615, 2014.

17. Bhatt AP, Redinbo MR, Bultman SJ. The role of the microbiome in cancer development and therapy. *CA Cancer J Clin* 67: 326-344, 2017.
18. Bizzarri C, Pinto RM, Ciccone S, Brescia LP, Locatelli F, Cappa M. Early and progressive insulin resistance in young, non-obese cancer survivors treated with hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 62: 1650-5, 2015.
19. Blijdorp K, van Waas M, van der Lely AJ, Pieters R, van den Heuvel-Eibrink M, Neggers S. Endocrine sequelae and metabolic syndrome in adult long-term survivors of childhood acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 37: 367-71, 2013.
20. Boland AM, Gibson TM, Lu L, Kaste SC, DeLany JP, Partin RE, Lanctot JQ, Howell CR, Nelson HH, Chemaitilly W, Pui CH, Robison LL, Mulrooney DA, Hudson MM, Ness KK. Dietary Protein Intake and Lean Muscle Mass in Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Report From the St. Jude Lifetime Cohort Study. *Phys Ther* 96: 1029-38, 2016.
21. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6, 2014.
22. Boulange CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med* 8: 42, 2016.
23. Buttros Dde A, Nahas EA, Vespoli Hde L, Uemura G, de Almeida Bda R, Nahas-Neto J. Risk of metabolic syndrome in postmenopausal breast cancer survivors. *Menopause* 20: 448-54, 2013.
24. Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chavez F, Tiffany CR, Cevallos SA, Lokken KL, Torres TP, Byndloss AJ, Faber F, Gao Y, Litvak Y, Lopez CA, Xu G, Napoli E, Giulivi C, Tsolis RM, Revzin A, Lebrilla CB, Baumler AJ. Microbiota-activated PPAR-gamma signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science* 357: 570-575, 2017.
25. Canada CCSNCIo. 2008. Canadian Cancer Statistics 2008. www.cancer.ca/statistics 2018 October 5.
26. Cani PD. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut* 67: 1716-1725, 2018.

27. Cao S, Wu H, Wang C, Zhang Q, Jiao L, Lin F, Hu CH. Diquat-induced oxidative stress increases intestinal permeability, impairs mitochondrial function, and triggers mitophagy in piglets. *J Anim Sci* 96: 1795-1805, 2018.
28. Carow B, Rottenberg ME. SOCS3, a Major Regulator of Infection and Inflammation. *Front Immunol* 5: 58, 2014.
29. Casco S, Soto-Vega E. Development of Metabolic Syndrome Associated to Cancer Therapy: Review. *Horm Cancer* 7: 289-295, 2016.
30. Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat Rev Immunol* 10: 735-44, 2010.
31. Chao C, Xu L, Bell E, Cooper R, Mueller L. Long-term Health Outcomes in Survivors of Childhood Cancer Diagnosed Between 1990 and 2000 in a Large US Integrated Health Care System. *J Pediatr Hematol Oncol* 38: 123-30, 2016.
32. Chaosuwannakit N, D'Agostino R, Jr., Hamilton CA, Lane KS, Ntim WO, Lawrence J, Melin SA, Ellis LR, Torti FM, Little WC, Hundley WG. Aortic stiffness increases upon receipt of anthracycline chemotherapy. *J Clin Oncol* 28: 166-72, 2010.
33. Chemaitilly W, Sklar CA. Endocrine complications in long-term survivors of childhood cancers. *Endocr Relat Cancer* 17: R141-59, 2010.
34. Chen MH, Colan SD, Diller L. Cardiovascular disease: cause of morbidity and mortality in adult survivors of childhood cancers. *Circ Res* 108: 619-28, 2011.
35. Cheung YT, Ng T, Shwe M, Ho HK, Foo KM, Cham MT, Lee JA, Fan G, Tan YP, Yong WS, Madhukumar P, Loo SK, Ang SF, Wong M, Chay WY, Ooi WS, Dent RA, Yap YS, Ng R, Chan A. Association of proinflammatory cytokines and chemotherapy-associated cognitive impairment in breast cancer patients: a multi-centered, prospective, cohort study. *Ann Oncol* 26: 1446-51, 2015.
36. Chow EJ, Pihoker C, Hunt K, Wilkinson K, Friedman DL. Obesity and hypertension among children after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 110: 2313-20, 2007.

37. Chow EJ, Simmons JH, Roth CL, Baker KS, Hoffmeister PA, Sanders JE, Friedman DL. Increased cardiometabolic traits in pediatric survivors of acute lymphoblastic leukemia treated with total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant* 16: 1674-81, 2010.
38. Chua LL, Rajasuriar R, Azanan MS, Abdullah NK, Tang MS, Lee SC, Woo YL, Lim YA, Ariffin H, Loke P. Reduced microbial diversity in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia and microbial associations with increased immune activation. *Microbiome* 5: 35, 2017.
39. Chueh HW, Yoo JH. Metabolic syndrome induced by anticancer treatment in childhood cancer survivors. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* 22: 82-89, 2017.
40. Conklin KA. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr Cancer Ther* 3: 294-300, 2004.
41. Conroy ME, Shi HN, Walker WA. The long-term health effects of neonatal microbial flora. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 9: 197-201, 2009.
42. Cozen W, Yu G, Gail MH, Ridaura VK, Nathwani BN, Hwang AE, Hamilton AS, Mack TM, Gordon JI, Goedert JJ. Fecal microbiota diversity in survivors of adolescent/young adult Hodgkin lymphoma: a study of twins. *Br J Cancer* 108: 1163-7, 2013.
43. Cupit-Link MC, Kirkland JL, Ness KK, Armstrong GT, Tchkonina T, LeBrasseur NK, Armenian SH, Ruddy KJ, Hashmi SK. Biology of premature ageing in survivors of cancer. *ESMO Open* 2: e000250, 2017.
44. Daniel S, Nylander V, Ingerslev LR, Zhong L, Fabre O, Clifford B, Johnston K, Cohn RJ, Barres R, Simar D. T cell epigenetic remodeling and accelerated epigenetic aging are linked to long-term immune alterations in childhood cancer survivors. *Clin Epigenetics* 10: 138, 2018.
45. Dao MC, Clement K. Gut microbiota and obesity: Concepts relevant to clinical care. *Eur J Intern Med* 48: 18-24, 2018.

46. de Haas EC, Oosting SF, Lefrandt JD, Wolffenbuttel BH, Sleijfer DT, Gietema JA. The metabolic syndrome in cancer survivors. *Lancet Oncol* 11: 193-203, 2010.
47. de Luca A, Hankard R, Borys JM, Sinnott D, Marcil V, Levy E. Nutriepigenomics and malnutrition. *Epigenomics* 9: 893-917, 2017.
48. De Silva A, Bloom SR. Gut Hormones and Appetite Control: A Focus on PYY and GLP-1 as Therapeutic Targets in Obesity. *Gut Liver* 6: 10-20, 2012.
49. de Sousa Almondes KG, de Oliveira TF, Siviero-Miachon AA, de Martino Lee ML, de Carvalho Rondó PH, de Melo Loureiro AP, Spinola-Castro ÂM, Cozzolino SMF. Selenium inadequacy is not associated with oxidative stress in child and adolescent acute lymphocytic leukemia survivors. *Nutrition* 30: 563-568, 2014.
50. de Vathaire F, El-Fayech C, Ben Ayed FF, Haddy N, Guibout C, Winter D, Thomas-Teinturier C, Veres C, Jackson A, Pacquement H, Schlumberger M, Hawkins M, Diallo I, Oberlin O. Radiation dose to the pancreas and risk of diabetes mellitus in childhood cancer survivors: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 13: 1002-10, 2012.
51. DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, Siegel RL, Stein KD, Kramer JL, Alteri R, Robbins AS, Jemal A. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 64: 252-71, 2014.
52. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 Suppl 1: 4554-61, 2011.
53. Duplain H, Burcelin R, Sartori C, Cook S, Egli M, Lepori M, Vollenweider P, Pedrazzini T, Nicod P, Thorens B, Scherrer U. Insulin resistance, hyperlipidemia, and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 104: 342-5, 2001.
54. Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients* 5: 498-508, 2013.

55. England J, Drouin S, Beaulieu P, St-Onge P, Krajinovic M, Laverdiere C, Levy E, Marcil V, Sinnott D. Genomic determinants of long-term cardiometabolic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *BMC Cancer* 17: 751, 2017.
56. Essig S, Li Q, Chen Y, Hitzler J, Leisenring W, Greenberg M, Sklar C, Hudson MM, Armstrong GT, Krull KR, Neglia JP, Oeffinger KC, Robison LL, Kuehni CE, Yasui Y, Nathan PC. Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* 15: 841-51, 2014.
57. Faber M, Coudray C, Hida H, Mousseau M, Favier A. Lipid peroxidation products, and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy, including adriamycin. A preliminary study. *Biol Trace Elem Res* 47: 117-23, 1995.
58. Fais T, Delmas J, Barnich N, Bonnet R, Dalmaso G. Colibactin: More Than a New Bacterial Toxin. *Toxins (Basel)* 10, 2018.
59. Farb MG, Gokce N. Visceral adiposopathy: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig* 21: 125-36, 2015.
60. Felicetti F, D'Ascenzo F, Moretti C, Corrias A, Omede P, Marra WG, Arvat E, Fagioli F, Brignardello E, Gaita F. Prevalence of cardiovascular risk factors in long-term survivors of childhood cancer: 16 years follow up from a prospective registry. *Eur J Prev Cardiol* 22: 762-70, 2015.
61. Fijlstra M, Ferdous M, Koning AM, Rings EH, Harmsen HJ, Tissing WJ. Substantial decreases in the number and diversity of microbiota during chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis in a rat model. *Support Care Cancer* 23: 1513-22, 2015.
62. Follin C, Thilen U, Ahren B, Erfurth EM. Improvement in cardiac systolic function and reduced prevalence of metabolic syndrome after two years of growth hormone (GH) treatment in GH-deficient adult survivors of childhood-onset acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1872-5, 2006.

63. Fournier M, Bonneil E, Garofalo C, Grimard G, Laverdiere C, Krajcinovic M, Drouin S, Sinnott D, Marcil V, Levy E. Altered proteome of high-density lipoproteins from paediatric acute lymphoblastic leukemia survivors. *Sci Rep* 9: 4268, 2019.
64. Francisqueti FV, Chiaverini LC, Santos KC, Minatel IO, Ronchi CB, Ferron AJ, Ferreira AL, Correa CR. The role of oxidative stress on the pathophysiology of metabolic syndrome. *Rev Assoc Med Bras (1992)* 63: 85-91, 2017.
65. Friedman DN, Hilden P, Moskowitz CS, Suzuki M, Boulad F, Kernan NA, Wolden SL, Oeffinger KC, Sklar CA. Cardiovascular Risk Factors in Survivors of Childhood Hematopoietic Cell Transplantation Treated with Total Body Irradiation: A Longitudinal Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 23: 475-482, 2017.
66. Ganz PA, Bower JE, Kwan L, Castellon SA, Silverman DH, Geist C, Breen EC, Irwin MR, Cole SW. Does tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) play a role in post-chemotherapy cerebral dysfunction? *Brain Behav Immun* 30 Suppl: S99-108, 2013.
67. Garmey EG, Liu Q, Sklar CA, Meacham LR, Mertens AC, Stovall MA, Yasui Y, Robison LL, Oeffinger KC. Longitudinal changes in obesity and body mass index among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 26: 4639-45, 2008.
68. Geenen MM, Bakker PJ, Kremer LC, Kastelein JJ, van Leeuwen FE. Increased prevalence of risk factors for cardiovascular disease in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia and Wilms tumor treated with radiotherapy. *Pediatr Blood Cancer* 55: 690-7, 2010.
69. Grosso G, Marventano S, Yang J, Micek A, Pajak A, Scalfi L, Galvano F, Kales SN. A comprehensive meta-analysis on evidence of Mediterranean diet and cardiovascular disease: Are individual components equal? *Crit Rev Food Sci Nutr* 57: 3218-3232, 2017.
70. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 361: 512-9, 2003.

71. Gunn HM, Emilsson H, Gabriel M, Maguire AM, Steinbeck KS. Metabolic Health in Childhood Cancer Survivors: A Longitudinal Study in a Long-Term Follow-Up Clinic. *J Adolesc Young Adult Oncol* 5: 24-30, 2016.
72. Gurney JG, Ness KK, Sibley SD, O'Leary M, Dengel DR, Lee JM, Youngren NM, Glasser SP, Baker KS. Metabolic syndrome and growth hormone deficiency in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 107: 1303-12, 2006.
73. Gurney JG, Ojha RP, Ness KK, Huang S, Sharma S, Robison LL, Hudson MM, Kaste SC. Abdominal aortic calcification in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the St. Jude Lifetime Cohort study. *Pediatr Blood Cancer* 59: 1307-9, 2012.
74. Guzzinati S, Virdone S, De Angelis R, Panato C, Buzzoni C, Capocaccia R, Francisci S, Gigli A, Zorzi M, Tagliabue G, Serraino D, Falcini F, Casella C, Russo AG, Stracci F, Caruso B, Michiara M, Caiazzo AL, Castaing M, Ferretti S, Mangone L, Rudisi G, Sensi F, Mazzoleni G, Pannoizzo F, Tumino R, Fusco M, Ricci P, Gola G, Giacomini A, Tisano F, Candela G, Fanetti AC, Pala F, Sardo AS, Ruggie M, Botta L, Maso LD. Characteristics of people living in Italy after a cancer diagnosis in 2010 and projections to 2020. *BMC Cancer* 18: 169, 2018.
75. Haddy TB, Mosher RB, Nunez SB, Reaman GH. Growth hormone deficiency after chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia in children who have not received cranial radiation. *Pediatr Blood Cancer* 46: 258-61, 2006.
76. Hald S, Schioldan AG, Moore ME, Dige A, Laerke HN, Agnholt J, Bach Knudsen KE, Hermansen K, Marco ML, Gregersen S, Dahlerup JF. Effects of Arabinoxylan and Resistant Starch on Intestinal Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Subjects with Metabolic Syndrome: A Randomised Crossover Study. *PLoS One* 11: e0159223, 2016.
77. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Kozaki K, Ako J, Sugimoto N, Yoshizumi M, Toba K, Ouchi Y. The impairment of flow-mediated vasodilatation in obese men with visceral fat accumulation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22: 477-84, 1998.

78. Healey GR, Murphy R, Brough L, Butts CA, Coad J. Interindividual variability in gut microbiota and host response to dietary interventions. *Nutr Rev* 75: 1059-1080, 2017.
79. Hendijani F, Akbari V. Probiotic supplementation for management of cardiovascular risk factors in adults with type II diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr* 37: 532-541, 2018.
80. Hoffman KE, Derdak J, Bernstein D, Reynolds JC, Avila NA, Gerber L, Steinberg SM, Chrousos G, Mackall CL, Mansky PJ. Metabolic syndrome traits in long-term survivors of pediatric sarcoma. *Pediatr Blood Cancer* 50: 341-6, 2008.
81. Houston M. The role of nutrition and nutraceutical supplements in the treatment of hypertension. *World J Cardiol* 6: 38-66, 2014.
82. Huang Y, Yang W, Liu H, Duan J, Zhang Y, Liu M, Li H, Hou Z, Wu KK. Effect of high-dose methotrexate chemotherapy on intestinal Bifidobacteria, Lactobacillus and Escherichia coli in children with acute lymphoblastic leukemia. *Exp Biol Med (Maywood)* 237: 305-11, 2012.
83. Hurrell S, Hsu WH. The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomed J* 40: 257-262, 2017.
84. Janiszewski PM, Oeffinger KC, Church TS, Dunn AL, Eshelman DA, Victor RG, Brooks S, Turoff AJ, Sinclair E, Murray JC, Bashore L, Ross R. Abdominal obesity, liver fat, and muscle composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 3816-21, 2007.
85. Jarvela LS, Niinikoski H, Heinonen OJ, Lahteenmaki PM, Arola M, Kemppainen J. Endothelial function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: effects of a home-based exercise program. *Pediatr Blood Cancer* 60: 1546-51, 2013.
86. Jarvela LS, Niinikoski H, Lahteenmaki PM, Heinonen OJ, Kapanen J, Arola M, Kemppainen J. Physical activity and fitness in adolescent and young adult long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Cancer Surviv* 4: 339-45, 2010.

87. Jenei Z, Bardi E, Magyar MT, Horvath A, Paragh G, Kiss C. Anthracycline causes impaired vascular endothelial function and aortic stiffness in long term survivors of childhood cancer. *Pathol Oncol Res* 19: 375-83, 2013.
88. Jenney ME, Faragher EB, Jones PH, Woodcock A. Lung function and exercise capacity in survivors of childhood leukaemia. *Med Pediatr Oncol* 24: 222-30, 1995.
89. Johnson AA, Akman K, Calimport SR, Wuttke D, Stolzing A, de Magalhaes JP. The role of DNA methylation in aging, rejuvenation, and age-related disease. *Rejuvenation Res* 15: 483-94, 2012.
90. Jung HS, Myung SK, Kim BS, Seo HG. Metabolic syndrome in adult cancer survivors: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 95: 275-82, 2012.
91. Kang YE, Kim JM, Joung KH, Lee JH, You BR, Choi MJ, Ryu MJ, Ko YB, Lee MA, Lee J, Ku BJ, Shong M, Lee KH, Kim HJ. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. *PLoS One* 11: e0154003, 2016.
92. Kavey RE, Allada V, Daniels SR, Hayman LL, McCrindle BW, Newburger JW, Parekh RS, Steinberger J, American Heart Association Expert Panel on P, Prevention S, American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Y, American Heart Association Council on E, Prevention, American Heart Association Council on Nutrition PA, Metabolism, American Heart Association Council on High Blood Pressure R, American Heart Association Council on Cardiovascular N, American Heart Association Council on the Kidney in Heart D, Interdisciplinary Working Group on Quality of C, Outcomes R. Cardiovascular risk reduction in high-risk pediatric patients: a scientific statement from the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science; the Councils on Cardiovascular Disease in the Young, Epidemiology and Prevention, Nutrition, Physical Activity and Metabolism, High Blood Pressure Research, Cardiovascular Nursing, and the Kidney in Heart Disease; and the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation* 114: 2710-38, 2006.

93. Kesler S, Janelsins M, Koovakkattu D, Palesh O, Mustian K, Morrow G, Dhabhar FS. Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors. *Brain Behav Immun* 30 Suppl: S109-16, 2013.
94. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 113: 1888-904, 2006.
95. Kong C, Gao R, Yan X, Huang L, He J, Li H, You J, Qin H. Alterations in intestinal microbiota of colorectal cancer patients receiving radical surgery combined with adjuvant CapeOx therapy. *Sci China Life Sci*, 2019.
96. Lazar V, Ditu LM, Pircalabioru GG, Picu A, Petcu L, Cucu N, Chifiriuc MC. Gut Microbiota, Host Organism, and Diet Triologue in Diabetes and Obesity. *Front Nutr* 6: 21, 2019.
97. Le Gouill E, Jimenez M, Binnert C, Jayet PY, Thalmann S, Nicod P, Scherrer U, Vollenweider P. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) knockout mice have defective mitochondrial beta-oxidation. *Diabetes* 56: 2690-6, 2007.
98. Leahy J, Spahis S, Bonneil E, Garofalo C, Grimard G, Morel S, Laverdiere C, Krajcinovic M, Drouin S, Delvin E, Sinnett D, Marcil V, Levy E. Insight from mitochondrial functions and proteomics to understand cardiometabolic disorders in survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Metabolism* 85: 151-160, 2018.
99. Lega IC, Pole JD, Austin PC, Lau C, Nathan PC, Baxter NN. Diabetes Risk in Childhood Cancer Survivors: A Population-Based Study. *Can J Diabetes* 42: 533-539, 2018.
100. Lemay V, Caru M, Samoilenko M, Drouin S, Alos N, Lefebvre G, Levy E, Lippe S, Marcil V, Sultan S, Bertout L, Krajcinovic M, Laverdiere C, Raboisson MJ, Sinnett D, Andelfinger G, Curnier D. Prevention of Long-term Adverse Health Outcomes With Cardiorespiratory Fitness and Physical Activity in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2019.

101. Levy E, Samoilenko M, Morel S, England J, Amre D, Bertout L, Drouin S, Laverdière C, Krajcinovic M, Sinnett D. Cardiometabolic Risk Factors in Childhood, Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia—A Petale Cohort. *Scientific reports* 7: 17684, 2017.
102. Li C, Liu P, Liu L, Zhang X, Yang P, Sheng H, Bu L, Li H, Qu S. Metabolic syndrome in hematologic malignancies survivors: a meta-analysis. *Med Oncol* 32: 422, 2015.
103. Liu F, Prabhakar M, Ju J, Long H, Zhou HW. Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr* 71: 9-20, 2017.
104. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol* 19: 29-41, 2017.
105. Lyon DE, Cohen R, Chen H, Kelly DL, McCain NL, Starkweather A, Ahn H, Sturgill J, Jackson-Cook CK. Relationship of systemic cytokine concentrations to cognitive function over two years in women with early stage breast cancer. *J Neuroimmunol* 301: 74-82, 2016.
106. Malhotra J, Tonorezos ES, Rozenberg M, Vega GL, Sklar CA, Chou J, Moskowitz CS, Eshelman-Kent DA, Janiszewski P, Ross R, Oeffinger KC. Atherogenic low density lipoprotein phenotype in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Lipid Res* 53: 2747-54, 2012.
107. Malvezzi M, Bertuccio P, Rosso T, Rota M, Levi F, La Vecchia C, Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women? *Ann Oncol* 26: 779-86, 2015.
108. Manichanh C, Varela E, Martinez C, Antolin M, Llopis M, Doré J, Giralt J, Guarner F, Malagelada J-R. The gut microbiota predispose to the pathophysiology of acute postradiotherapy diarrhea. *The American journal of gastroenterology* 103: 1754, 2008.
109. Mazidi M, Rezaie P, Kengne AP, Mobarhan MG, Ferns GA. Gut microbiome and metabolic syndrome. *Diabetes Metab Syndr* 10: S150-7, 2016.

110. McNeil NI. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr* 39: 338-42, 1984.
111. Meacham LR, Chow EJ, Ness KK, Kamdar KY, Chen Y, Yasui Y, Oeffinger KC, Sklar CA, Robison LL, Mertens AC. Cardiovascular risk factors in adult survivors of pediatric cancer—a report from the childhood cancer survivor study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19: 170-81, 2010.
112. Meacham LR, Sklar CA, Li S, Liu Q, Gimpel N, Yasui Y, Whitton JA, Stovall M, Robison LL, Oeffinger KC. Diabetes mellitus in long-term survivors of childhood cancer. Increased risk associated with radiation therapy: a report for the childhood cancer survivor study. *Arch Intern Med* 169: 1381-8, 2009.
113. Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *Jama* 291: 1978-1986, 2004.
114. Meigs JB, O'Donnell CJ, Tofler GH, Benjamin EJ, Fox CS, Lipinska I, Nathan DM, Sullivan LM, D'Agostino RB, Wilson PW. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 55: 530-537, 2006.
115. Mertens AC, Liu Q, Neglia JP, Wasilewski K, Leisenring W, Armstrong GT, Robison LL, Yasui Y. Cause-specific late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* 100: 1368-79, 2008.
116. Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, Rowland JH, Yabroff KR, Alfano CM, Jemal A, Kramer JL, Siegel RL. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*, 2019.
117. Miranda JA, Belo VA, Souza-Costa DC, Lanna CM, Tanus-Santos JE. eNOS polymorphism associated with metabolic syndrome in children and adolescents. *Molecular and cellular biochemistry* 372: 155-160, 2013.
118. Mitrou PN, Kipnis V, Thiebaut AC, Reedy J, Subar AF, Wirfalt E, Flood A, Mouw T, Hollenbeck AR, Leitzmann MF, Schatzkin A. Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med* 167: 2461-8, 2007.

119. Mody R, Li S, Dover DC, Sallan S, Leisenring W, Oeffinger KC, Yasui Y, Robison LL, Neglia JP. Twenty-five-year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* 111: 5515-23, 2008.
120. Montassier E, Batard E, Massart S, Gastinne T, Carton T, Caillon J, Le Fresne S, Caroff N, Hardouin JB, Moreau P, Potel G, Le Vacon F, de La Cochetiere MF. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals shift in patient faecal microbiota during high-dose chemotherapy as conditioning regimen for bone marrow transplantation. *Microb Ecol* 67: 690-9, 2014.
121. Montassier E, Gastinne T, Vangay P, Al-Ghalith GA, Bruley des Varannes S, Massart S, Moreau P, Potel G, de La Cochetiere MF, Batard E, Knights D. Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome. *Aliment Pharmacol Ther* 42: 515-28, 2015.
122. Morel S, Leahy J, Fournier M, Lamarche B, Garofalo C, Grimard G, Poulain F, Delvin E, Laverdiere C, Krajinovic M, Drouin S, Sinnett D, Marcil V, Levy E. Lipid and lipoprotein abnormalities in acute lymphoblastic leukemia survivors. *J Lipid Res* 58: 982-993, 2017.
123. Mostoufi-Moab S, Magland J, Isaacoff EJ, Sun W, Rajapakse CS, Zemel B, Wehrli F, Shekdar K, Baker J, Long J, Leonard MB. Adverse Fat Depots and Marrow Adiposity Are Associated With Skeletal Deficits and Insulin Resistance in Long-Term Survivors of Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Bone Miner Res* 30: 1657-66, 2015.
124. Munford RS. Endotoxemia-menace, marker, or mistake? *J Leukoc Biol* 100: 687-698, 2016.
125. Murray RD, Darzy KH, Gleeson HK, Shalet SM. GH-deficient survivors of childhood cancer: GH replacement during adult life. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 129-35, 2002.
126. Nam YD, Kim HJ, Seo JG, Kang SW, Bae JW. Impact of pelvic radiotherapy on gut microbiota of gynecological cancer patients revealed by massive pyrosequencing. *PLoS One* 8: e82659, 2013.
127. Nathan PC, Amir E, Abdel-Qadir H. Cardiac Outcomes in Survivors of Pediatric and Adult Cancers. *Can J Cardiol* 32: 871-80, 2016.

128. Neville KA, Cohn RJ, Steinbeck KS, Johnston K, Walker JL. Hyperinsulinemia, impaired glucose tolerance, and diabetes mellitus in survivors of childhood cancer: prevalence and risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 4401-7, 2006.
129. Nottage KA, Ness KK, Li C, Srivastava D, Robison LL, Hudson MM. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br J Haematol* 165: 364-74, 2014.
130. Nyce J. Drug-induced DNA hypermethylation and drug resistance in human tumors. *Cancer Res* 49: 5829-36, 1989.
131. Oeffinger KC, Adams-Huet B, Victor RG, Church TS, Snell PG, Dunn AL, Eshelman-Kent DA, Ross R, Janiszewski PM, Turoff AJ, Brooks S, Vega GL. Insulin resistance and risk factors for cardiovascular disease in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 27: 3698-704, 2009.
132. Oeffinger KC, Buchanan GR, Eshelman DA, Denke MA, Andrews TC, Germak JA, Tomlinson GE, Snell LE, Foster BM. Cardiovascular risk factors in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 23: 424-30, 2001.
133. Oeffinger KC, Mertens AC, Sklar CA, Yasui Y, Fears T, Stovall M, Vik TA, Inskip PD, Robison LL, Childhood Cancer Survivor S. Obesity in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 21: 1359-65, 2003.
134. Oudin C, Simeoni MC, Sirvent N, Contet A, Begu-Le Coroller A, Bordigoni P, Curtillet C, Poiree M, Thuret I, Play B, Massot MC, Chastagner P, Chambost H, Auquier P, Michel G. Prevalence and risk factors of the metabolic syndrome in adult survivors of childhood leukemia. *Blood* 117: 4442-8, 2011.
135. Papanicolas LE, Gordon DL, Wesselingh SL, Rogers GB. Not Just Antibiotics: Is Cancer Chemotherapy Driving Antimicrobial Resistance? *Trends Microbiol* 26: 393-400, 2018.

136. Parikh NI, Keyes MJ, Larson MG, Pou KM, Hamburg NM, Vita JA, O'Donnell CJ, Vasan RS, Mitchell GF, Hoffmann U, Fox CS, Benjamin EJ. Visceral and subcutaneous adiposity and brachial artery vasodilator function. *Obesity (Silver Spring)* 17: 2054-9, 2009.
137. Parkar SG, Trower TM, Stevenson DE. Fecal microbial metabolism of polyphenols and its effects on human gut microbiota. *Anaerobe* 23: 12-19, 2013.
138. Patterson BC, Wasilewski-Masker K, Ryerson AB, Mertens A, Meacham L. Endocrine health problems detected in 519 patients evaluated in a pediatric cancer survivor program. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 810-8, 2012.
139. Pietila S, Makiperna A, Sievanen H, Koivisto AM, Wigren T, Lenko HL. Obesity and metabolic changes are common in young childhood brain tumor survivors. *Pediatr Blood Cancer* 52: 853-9, 2009.
140. Polovina MM, Potpara TS. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders. *Postgrad Med* 126: 38-53, 2014.
141. Pomykala KL, Ganz PA, Bower JE, Kwan L, Castellon SA, Mallam S, Cheng I, Ahn R, Breen EC, Irwin MR, Silverman DH. The association between pro-inflammatory cytokines, regional cerebral metabolism, and cognitive complaints following adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Brain Imaging Behav* 7: 511-23, 2013.
142. Pui CH, Mullighan CG, Evans WE, Relling MV. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* 120: 1165-74, 2012.
143. Puztai L, Mendoza TR, Reuben JM, Martinez MM, Willey JS, Lara J, Syed A, Fritsche HA, Bruera E, Booser D, Valero V, Arun B, Ibrahim N, Rivera E, Royce M, Cleeland CS, Hortobagyi GN. Changes in plasma levels of inflammatory cytokines in response to paclitaxel chemotherapy. *Cytokine* 25: 94-102, 2004.
144. Putze J, Hennequin C, Nougayrede JP, Zhang W, Homburg S, Karch H, Bringer MA, Fayolle C, Carniel E, Rabsch W, Oelschlaeger TA, Oswald E, Forestier C, Hacker J, Dobrindt U. Genetic structure and distribution of the colibactin genomic island among members of the family Enterobacteriaceae. *Infect Immun* 77: 4696-703, 2009.

145. Rajagopala SV, Yooseph S, Harkins DM, Moncera KJ, Zabokrtsky KB, Torralba MG, Tovchigrechko A, Highlander SK, Pieper R, Sender L, Nelson KE. Gastrointestinal microbial populations can distinguish pediatric and adolescent Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) at the time of disease diagnosis. *BMC Genomics* 17: 635, 2016.
146. Rajani C, Jia W. Disruptions in gut microbial-host co-metabolism and the development of metabolic disorders. *Clin Sci (Lond)* 132: 791-811, 2018.
147. Ramirez-Velez R, Correa-Bautista JE, Lobelo F, Izquierdo M, Alonso-Martinez A, Rodriguez-Rodriguez F, Cristi-Montero C. High muscular fitness has a powerful protective cardiometabolic effect in adults: influence of weight status. *BMC Public Health* 16: 1012, 2016.
148. Redan BW, Buhman KK, Novotny JA, Ferruzzi MG. Altered transport and metabolism of phenolic compounds in obesity and diabetes: implications for functional food development and assessment. *Advances in Nutrition* 7: 1090-1104, 2016.
149. Richard ML, Sokol H. The gut mycobiota: insights into analysis, environmental interactions and role in gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 16: 331-345, 2019.
150. Robien K, Ness KK, Klesges LM, Baker KS, Gurney JG. Poor adherence to dietary guidelines among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 30: 815-22, 2008.
151. Rosen GP, Nguyen HT, Shaibi GQ. Metabolic syndrome in pediatric cancer survivors: a mechanistic review. *Pediatr Blood Cancer* 60: 1922-8, 2013.
152. Ross JA, Oeffinger KC, Davies SM, Mertens AC, Langer EK, Kiffmeyer WR, Sklar CA, Stovall M, Yasui Y, Robison LL. Genetic variation in the leptin receptor gene and obesity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 22: 3558-62, 2004.
153. Ruble K, Davis CL, Han HR. Endothelial health in childhood acute lymphoid leukemia survivors: pilot evaluation with peripheral artery tonometry. *J Pediatr Hematol Oncol* 37: 117-20, 2015.

154. Sabico S, Al-Mashharawi A, Al-Daghri NM, Wani K, Amer OE, Hussain DS, Ahmed Ansari MG, Masoud MS, Alokail MS, McTernan PG. Effects of a 6-month multi-strain probiotics supplementation in endotoxemic, inflammatory and cardiometabolic status of T2DM patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr* 38: 1561-1569, 2019.
155. Saghafian-Hedengren S, Soderstrom I, Sverremark-Ekstrom E, Nilsson A. Insights into defective serological memory after acute lymphoblastic leukaemia treatment: The role of the plasma cell survival niche, memory B-cells and gut microbiota in vaccine responses. *Blood Rev* 32: 71-80, 2018.
156. Sanders JE, Hoffmeister PA, Woolfrey AE, Carpenter PA, Storer BE, Storb RF, Appelbaum FR. Thyroid function following hematopoietic cell transplantation in children: 30 years' experience. *Blood* 113: 306-8, 2009.
157. Sayed-Ahmed MM, Darweesh AQ, Fatani AJ. Carnitine deficiency and oxidative stress provoke cardiotoxicity in an ifosfamide-induced Fanconi Syndrome rat model. *Oxid Med Cell Longev* 3: 266-74, 2010.
158. Schwingshackl L, Missbach B, Konig J, Hoffmann G. Adherence to a Mediterranean diet and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Public Health Nutr* 18: 1292-9, 2015.
159. Scott AJ, Merrifield CA, Younes JA, Pekelharing EP. Pre-, pro- and synbiotics in cancer prevention and treatment-a review of basic and clinical research. *Ecancermedicalscience* 12: 869, 2018.
160. Shalitin S, Laur E, Lebenthal Y, Ash S, Yaniv I, Phillip M. Endocrine complications and components of the metabolic syndrome in survivors of childhood malignant non-brain solid tumors. *Horm Res Paediatr* 81: 32-42, 2014.
161. Shankar SM, Marina N, Hudson MM, Hodgson DC, Adams MJ, Landier W, Bhatia S, Meeske K, Chen MH, Kinahan KE, Steinberger J, Rosenthal D, Cardiovascular Disease Task Force of the Children's Oncology G. Monitoring for cardiovascular disease in survivors of childhood

- cancer: report from the Cardiovascular Disease Task Force of the Children's Oncology Group. *Pediatrics* 121: e387-96, 2008.
162. Siviero-Miachon AA, Monteiro CM, Pires LV, Rozalem AC, Silva NS, Petrilli AS, Spinola-Castro AM. Early traits of metabolic syndrome in pediatric post-cancer survivors: outcomes in adolescents and young adults treated for childhood medulloblastoma. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 55: 653-60, 2011.
 163. Siviero-Miachon AA, Spinola-Castro AM, Guerra-Junior G. Detection of metabolic syndrome features among childhood cancer survivors: a target to prevent disease. *Vasc Health Risk Manag* 4: 825-36, 2008.
 164. Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 92: 1189-96, 2010.
 165. Sohn YB, Kim SJ, Park SW, Kim SH, Cho SY, Lee SH, Yoo KH, Sung KW, Chung JH, Koo HH, Jin DK. The metabolic syndrome and body composition in childhood cancer survivors. *Korean J Pediatr* 54: 253-9, 2011.
 166. Soutati A, Mountzios G, Avgerinou C, Papaxoinis G, Pectasides D, Dimopoulos MA, Papadimitriou C. Endothelial vascular toxicity from chemotherapeutic agents: preclinical evidence and clinical implications. *Cancer Treat Rev* 38: 473-83, 2012.
 167. Spahis S, Borys JM, Levy E. Metabolic Syndrome as a Multifaceted Risk Factor for Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal* 26: 445-461, 2017.
 168. Statistics CCSsACoC. 2017. Canadian Cancer Statistics 2017 Canadian Cancer Society. cancer.ca/Canadian-Cancer-Statistics-2017-EN.pdf 2018 October 5.
 169. Tarp J, Bugge A, Moller NC, Klakk H, Rexen CT, Grontved A, Wedderkopp N. Muscle Fitness Changes During Childhood Associates With Improvements in Cardiometabolic Risk Factors: A Prospective Study. *J Phys Act Health* 16: 108-115, 2019.

170. Taskinen M, Saarinen-Pihkala UM, Hovi L, Lipsanen-Nyman M. Impaired glucose tolerance and dyslipidaemia as late effects after bone-marrow transplantation in childhood. *Lancet* 356: 993-7, 2000.
171. Tell R, Lundell G, Nilsson B, Sjodin H, Lewin F, Lewensohn R. Long-term incidence of hypothyroidism after radiotherapy in patients with head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 60: 395-400, 2004.
172. Tian T, Wang Z, Zhang J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. *Oxid Med Cell Longev* 2017: 4535194, 2017.
173. Tichelli A, Rovo A, Passweg J, Schwarze CP, Van Lint MT, Arat M, Socie G, Late Effects Working Party of the European Group for B, Marrow T. Late complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* 2: 583-601, 2009.
174. Tonorezos ES, Robien K, Eshelman-Kent D, Moskowitz CS, Church TS, Ross R, Oeffinger KC. Contribution of diet and physical activity to metabolic parameters among survivors of childhood leukemia. *Cancer Causes Control* 24: 313-21, 2013.
175. Tonorezos ES, Vega GL, Sklar CA, Chou JF, Moskowitz CS, Mo Q, Church TS, Ross R, Janiszewski PM, Oeffinger KC. Adipokines, body fatness, and insulin resistance among survivors of childhood leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 58: 31-6, 2012.
176. Trimis G, Moschovi M, Papassotiriou I, Chrousos G, Tzortzatou-Stathopoulou F. Early indicators of dysmetabolic syndrome in young survivors of acute lymphoblastic leukemia in childhood as a target for preventing disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 29: 309-14, 2007.
177. Tylavsky FA, Smith K, Surprise H, Garland S, Yan X, McCammon E, Hudson MM, Pui CH, Kaste SC. Nutritional intake of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: evidence for bone health interventional opportunities. *Pediatr Blood Cancer* 55: 1362-9, 2010.
178. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, Maruyama N, Kitagawa N, Tanaka T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 4673-6, 2003.

179. Uzunlulu M, Yorulmaz E, Oguz A. Prevalence of subclinical hypothyroidism in patients with metabolic syndrome. *Endocr J* 54: 71-6, 2007.
180. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* 361: k2179, 2018.
181. van de Wouw M, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr* 147: 727-745, 2017.
182. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 444: 875-80, 2006.
183. van Vliet MJ, Harmsen HJ, de Bont ES, Tissing WJ. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis. *PLoS Pathog* 6: e1000879, 2010.
184. van Vliet MJ, Tissing WJ, Dun CA, Meessen NE, Kamps WA, de Bont ES, Harmsen HJ. Chemotherapy treatment in pediatric patients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut. *Clin Infect Dis* 49: 262-70, 2009.
185. van Waas M, Neggers SJ, Pieters R, van den Heuvel-Eibrink MM. Components of the metabolic syndrome in 500 adult long-term survivors of childhood cancer. *Ann Oncol* 21: 1121-6, 2010.
186. van Waas M, Neggers SJ, Raat H, van Rij CM, Pieters R, van den Heuvel-Eibrink MM. Abdominal radiotherapy: a major determinant of metabolic syndrome in nephroblastoma and neuroblastoma survivors. *PLoS One* 7: e52237, 2012.
187. Vatanen A, Hou M, Huang T, Soder O, Jahnukainen T, Kurimo M, Ojala TH, Sarkola T, Turanlahti M, Saarinen-Pihkala UM, Jahnukainen K. Clinical and biological markers of premature aging after autologous SCT in childhood cancer. *Bone Marrow Transplant* 52: 600-605, 2017.

188. Veringa SJ, van Dulmen-den Broeder E, Kaspers GJ, Veening MA. Blood pressure and body composition in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 58: 278-82, 2012.
189. Vivarelli F, Canistro D, Babot Marquillas C, Cirillo S, De Nicola GR, Iori R, Biagi G, Pinna C, Gentilini F, Pozzo L, Longo V, Paolini M. The combined effect of Sango sprout juice and caloric restriction on metabolic disorders and gut microbiota composition in an obesity model. *Int J Food Sci Nutr* 69: 192-204, 2018.
190. Weitkunat K, Stuhlmann C, Postel A, Rumberger S, Fankhanel M, Woting A, Petzke KJ, Gohlke S, Schulz TJ, Blaut M, Klaus S, Schumann S. Short-chain fatty acids and inulin, but not guar gum, prevent diet-induced obesity and insulin resistance through differential mechanisms in mice. *Sci Rep* 7: 6109, 2017.
191. Westerink NL, Nuver J, Lefrandt JD, Vrieling AH, Gietema JA, Walenkamp AM. Cancer treatment induced metabolic syndrome: Improving outcome with lifestyle. *Crit Rev Oncol Hematol* 108: 128-136, 2016.
192. Williams AM, Shah R, Shayne M, Huston AJ, Krebs M, Murray N, Thompson BD, Doyle K, Korotkin J, van Wijngaarden E, Hyland S, Moynihan JA, Cory-Slechta DA, Janelins MC. Associations between inflammatory markers and cognitive function in breast cancer patients receiving chemotherapy. *J Neuroimmunol* 314: 17-23, 2018.
193. Wilson CL, Liu W, Yang JJ, Kang G, Ojha RP, Neale GA, Srivastava DK, Gurney JG, Hudson MM, Robison LL, Ness KK. Genetic and clinical factors associated with obesity among adult survivors of childhood cancer: A report from the St. Jude Lifetime Cohort. *Cancer* 121: 2262-70, 2015.
194. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 334: 105-8, 2011.
195. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* 7: 14-24, 2013.

196. Zeng H, Chi H. Metabolic control of regulatory T cell development and function. *Trends Immunol* 36: 3-12, 2015.
197. Zhang FF, Rodday AM, Kelly MJ, Must A, MacPherson C, Roberts SB, Saltzman E, Parsons SK. Predictors of being overweight or obese in survivors of pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Pediatr Blood Cancer* 61: 1263-9, 2014.
198. Zhang Q, Wu Y, Fei X. Effect of probiotics on glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicina (Kaunas)* 52: 28-34, 2016.
199. Zitvogel L, Daillere R, Roberti MP, Routy B, Kroemer G. Anticancer effects of the microbiome and its products. *Nat Rev Microbiol* 15: 465-478, 2017.
200. Zwielehner J, Lassi C, Hippe B, Pointner A, Switzeny OJ, Remely M, Kitzweger E, Ruckser R, Haslberger AG. Changes in human fecal microbiota due to chemotherapy analyzed by TaqMan-PCR, 454 sequencing and PCR-DGGE fingerprinting. *PLoS One* 6: e28654, 2011.

Table 1. Metabolic syndrome and its components and mechanisms proposed in survivors of childhood ALL & AML

Type of cancer	Treatment*	Survival time†	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
Cross sectional studies					
ALL	CT only, n=16 CT+CRT, n=10	13.3 y	62% of survivors had at least 1 CVRF 30% of survivors had > 2 CVRF	- Hypopituitarism: GHD - Reduced physical activity due to lower physical capacity	(132)
ALL	CT only, n= 422 CT+CRT, n= 1343	17.0 y	↑ risk of obesity in survivors treated with CRT≥20Gy vs. siblings:	Age-sensitive radiation-induced insult of the pituitary-hypothalamic axis leading to leptin insensitivity and/or GHD	(133)
ALL	CT only, n= 25 CT+CRT, n= 50	24.6 y (mean)	- Prevalence of MetS: ∅ between survivors and general population - 60% of CRT-treated and 20% of non-CRT-treated survivors had ≥ 2 MetS components.	GHD	(72)
ALL	CT only, n=62 CT+CRT, n=18	6.3 y	Prevalence of MetS in survivors compared to general population - CT only: 2-fold ↑ -CT with CRT: 5-fold ↑	- Low grade inflammation - Endothelial dysfunction	(176)
ALL	CT only, n=78 CT+CRT, n=40	17.5 y (since dx)	- ↑ HOMA-IR in survivors (CRT-treated & no CRT-treated), vs. in general population - ↑ risk of ≥ 3 CVRF in female survivors vs. women in general population	- Potential interrelation between GHD, leptin insensitivity and physical inactivity	(131)
ALL & Wilms tumor	CT only, n=56 CT+CRT, n=85	ND	- Wilms tumor: RT+CT-treated survivors vs. healthy controls: HT: 21.6% in survivors vs. 1.4% in controls Multiple CVRFs: 16.2% in survivors vs. 2.9% in controls - Wilms tumor & ALL: CT-treated vs. healthy controls: ∅ observed - ALL: RT+CT-treated survivors: 15% had GHD - Wilms tumor: RT+CT-treated survivors: 18.9% had hypogonadism	- GHD (ALL survivors) - Hypogonadism (Wilms survivors)	(68)
ALL	CT only, n=104 CT+CRT, n=58	18 y	- 13% of survivors had MetS - CRT-treated survivors vs. non-CRT-treated survivors: ↑ risk of MetS determined by higher prevalence of overweight & HT	- Endothelial dysfunction caused by anthracyclines and radiotherapy (hypertension)	(185)
ALL	CT only, n=56	6.2 y (mean)	- Total cohort: prevalence of MetS: 7.1% (IDF criteria) and 5.4% (NCEP III criteria) - BMI-to-age underestimated over-fatness (measured by DXA) present in 53% of survivors	Insufficient data	(2)
ALL	CT only, n=49 CT+CRT, n=67	17.5 y (mean)	- Mean leptin/kg fat mass higher for ♀ than ♂ & for CRT-treated than not CRT-treated - ↑ HOMA-IR associated with ↑ leptin: adiponectin ratio	- Central leptin resistance - Central body composition change	(175)

Type of cancer	Treatment*	Survival time†	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
ALL	CT only, n=277 CT+CRT, n=507	26.1 y	ALL survivors vs. reference values from a national study: Higher risk of MetS, HT, Low HDL-C, Obesity, IR	None	(129)
ALL & lymphoma	CT only, n=35 CT+CRT, n=17	4 y	Among MetS components, the prevalence of HDL-C low was the most common (42%), followed by central obesity (29%).	Insufficient data	(10)
ALL	CT only, n=100 CT+CRT, n=147	15.2 y	- CRT: predictor of dyslipidemia and ↑ LDL-C. - Male gender: predictor for pre-HT/HT. - Obesity at the end of treatment: predictor of obesity at interview & of MetS - Survivors vs. general population: ↑ risk of MetS, dyslipidemia, pre-HT/HT and ↑ LDL-C	- Endothelial damage - Damage to endocrine organs - Alterations in adipose tissue metabolism	(101)
ALL, NHL, HL	CT only, n=889 CT+glucocorticoids, n=686 CT+CRT, n=196 CT+glucocorticoids+CRT, n=196	16.5 y	- Prevalence of overweight (26%) in survivors, comparable to siblings and to general population - No evidence of a dose-response relationship between cumulative glucocorticoid doses and being overweight - No evidence that CRT modified the effect of the cumulative glucocorticoid dose on being overweight.	- Catabolic effects of glucocorticoids on muscle, fat and lean mass composition	(14)
ALL	CT only, n=133 CT+CRT, n=32	ND	- Highest level of corticosteroid exposure associated with obesity and HT - Treatment intensity and CRT not independently associated with BMI or blood pressure changes	- Corticosteroid dose-response effects on gluconeogenesis & fat metabolism and distribution - Inotropic and vasoconstrictive effects on the cardiovascular system	(36)
ALL	CT only, n=37 CT+CRT, n=31	16.0 y	- Total cohort: ↑ Systolic and diastolic blood pressure vs. reference values from a national study - ♀: ↑ BMI vs. reference values from a national study - ♀: ↑ BMI in CRT-treated vs. not CRT-treated	- Physical inactivity most prominent in women - Vincristine associated neuropathy, leading to gait disturbances, muscle weakness and, physical inactivity - Effects of steroids on body composition - Vascular endothelium damage	(188)
ALL	CT only, n=70 CT+CRT, n=13	13.4 y (mean, since dx)	- ↑ BMI z-score at diagnosis associated with ↑ risk of being overweight/obesity at treatment completion - Weight gain during treatment associated with being overweight/obesity 5 years post-treatment	- Hypothalamic-pituitary dysfunction - Sedentary lifestyle	(197)

*CT was mostly delineated with a combination of standard drugs comprising: L-asparaginase, mercaptopurine, methotrexate, vincristine, alkylating agents, epipodophyllotoxins, glucocorticosteroids, cyclophosphamide, cytarabine. †Survival time at the time of the study is expressed as median otherwise specified. ALL, acute lymphoblastic leukemia; BMI, body mass index; CVRF, cardiovascular risk factor; CT, chemotherapy; CRT, cranial radiotherapy; DX, diagnosis; DXA, dual-energy x-ray absorptiometry; GHD, growth hormone deficiency; HDL, high density lipoprotein; HL, Hodgkin's lymphoma; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance; HT, hypertension; IDF, International Diabetes

Federation; IR, insulin resistance; LDL, low density lipoprotein; MetS, metabolic syndrome; NCEP, National Cholesterol Education Program; ND, no data; NHL, non-Hodgkin's lymphoma; Ref., reference; RT, radiotherapy; ↑, increase; ∅, no difference.

Table 2. Metabolic syndrome and its components and mechanisms proposed in survivors of childhood cancers other than ALL

Type of cancer	Treatment	Survival time*	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
Cross-sectional studies					
Sarcoma (mainly Ewing)	CT only, n=5 CT+local radiation, n=27 Local radiation included: CRT, n=8 Pulmonary radiation, n=5 TBI, n=7	17.3 y	Survivors vs. general population - ↑ risk ≥ 2 MetS components - ↑ risk of HT - ↑ risk of hypertriglyceridemia - ♂: ↑ risk of visceral abdominal obesity	- Hypogonadism - Inflammation (PAI-1 and urine beta-2 microglobulin) - Physical inactivity	(80)
Brain tumor	Resection/biopsy, n=51/1 CT, n=17 CRT, n=20	6.2 y	- Overweight, obesity and central obesity associated with CRT, hypothalamic/hypophyseal damage, GHD and impaired physical mobility. - CRT associated with hypercholesterolemia, ↑LDL-C, HT & MetS. - Impaired mobility associated with hypercholesterolemia - Hypothalamic/hypophyseal damage associated with MetS and GHD	- Damage to the hypothalamic pituitary axis (GHD) - Impaired physical mobility	(139)
Brain tumor	Total/partial surgical resection RT boost (54 Gy) CT, combination of standard drugs†:	5.9 y (mean)	Survivors vs. controls: ↑ waist circumference and HOMA-IR, but values within normal ranges	Hypothalamic lesion / GHD	(162)
Wilms tumor, neuroblastoma ^a	Nephrectomy, n= 74 Adrenalectomy, n=46 CT, n=90 Abdomen RT, n=42 Thorax RT, n=2 Neck RT, n=1 Spine RT, n=1	26.2 y	- Survivors vs. controls: ↑ risk of ≥ 2 MetS components in nephroblastoma & neuroblastoma survivors - Survivors treated with abdominal irradiation vs. without: ↑ hypertension, TG, LDL-C, free fatty acids, % of visceral fat, but ↓ waist circumference	- Increased visceral fat - Vascular endothelium damage	(186)
ALL, AML, CNS tumor, HL, NHL, Wilms tumor, neuroblastoma	CRT, n=3044 Abdominal RT, n=1462 TBI, n=112 CT agents:	ND	Survivors vs. healthy siblings: - ↑ risk of diabetes ↑ risk of diabetes with: - TBI - Abdominal irradiation	Abdominal irradiation: - Damage to pancreatic islets and impaired insulin secretion (β-cell dysfunction) - Alterations in adipose-derived hormones after radiation (leptin, resistin & adiponectin)	(112)

Type of cancer	Treatment	Survival time*	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
a, soft tissue sarcoma, bone tumor	Alkylating agents, n=4299 Corticosteroids, n=4222 Anthracyclines, n=3362		- CRT	Total body irradiation: - Damage to pancreatic islets and impaired insulin secretion (β -cell dysfunction) but in a lesser extent than abdominal irradiation - GHD (especially if treatment received at a young age) - Hypogonadism - Increase in visceral fat and in release of free fatty acids (impact on insulin resistance)	
ALL, AML, CNS tumor, HL, NHL, Wilms tumor, neuroblastoma, soft tissue sarcoma, bone tumor	CRT, n=3044 Abdominal RT, n=1462 TBI, n=112 CT agents: Alkylating agents, n=4299 Corticosteroids, n=4222 Anthracyclines, n=3362	ND	- Survivors more likely than siblings to take medications for HT, dyslipidemia and diabetes - Survivors not more likely than siblings to have obesity or CVRF - Factors associated with having CVRF: - Older age at interview (≥ 40 vs. < 30 years of age) - Exposure to TBI - Radiation to chest and abdomen - Physical inactivity	Vascular injury and vascular fibrosis	(111)
Leukemia, intracranial germ cell tumor, brain tumor, neuroblastoma others	CT, n=98 CRT, n=33 HSCT, n=32 HSCT+TBI, n=30	3.9 y (mean)	- CRT dose: positively correlated with BMI and waist circumference - 62.2% of survivors had at least one abnormal lipid value - TG positively correlated with % of body fat - HDL-C negatively correlated with % of body fat	- Unfavorable body fat composition - Hypothalamic/pituitary damage/GHD	(165)
Solid tumor or lymphoma (including leukemia)	No RT, no CT, n=252 RT, no CT, n=488 No RT, CT, n=686 RT and CT, n=1144	28 y	- Survivors treated with ≥ 10 Gy to the tail of the pancreas: \uparrow risk of diabetes - \uparrow in the risk of diabetes per Gy of CRT treatment in survivors < 2 years old at time of RT vs. survivors exposed older	Damage to pancreas tail-by radiation where islets of Langerhans are mainly located	(50)
Non-brain malignant solid tumor	Surgery, n=126 CT, n=135 Local irradiation, n=58 CRT, n=12 HSCT, n=29	9.6 y (mean)	- 44 patients (31.7%) had at least one endocrine abnormality: hypogonadism (11.5%), hypothyroidism (9.4%), short stature (9.4%), GHD (8.6%) and components of the MetS (15.1%) - Risk of an endocrinopathy associated with CRT, local radiation, HSCT and older age at last visit	- GHD (HT, low HDL-C and hypertriglyceridemia) - Hypothyroidism (disturbed lipid profile) - Hypogonadism (body composition, lipid metabolism, blood pressure and blood vessel)	(160)
AYA cancers (breast, thyroid, melanoma,	ND	4.4 y (mean)	Survivors vs. Non-cancer controls: \uparrow incidence rate ratio for mortality, second cancer, cerebrovascular disease, dyslipidemia, heart disease, hypogonadism, renal failure and thyroid disorder	None	(31)

Type of cancer	Treatment	Survival time*	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
testis, HL, NHL, cervix and others)					
Leukemia, lymphoma, sarcoma, Wilms tumor, brain tumor, neuroblastoma, germ cell tumor, others	CT only, n=136 CT+RT, n=104 CRT, n=47 HSCT+TBI, n=12 HSCT, n=20 Radical nephrectomy, n=16	ND	- 51 survivors (19%) had hypertension - ↑ risk of hypertension associated with male gender and being aged ≥18 years - 89 survivors (32.2%) were overweight/obese - ↑ risk of overweight/obesity associated with CRT, being older (≥18 years) and male gender	Hypothalamic damage	(71)
Childhood cancers (mainly: leukemia, lymphoma and cancer of CNS)	ND	11.2 y (mean)	- Survivors vs. age- and gender-matched controls: ↑ risk of diabetes - Survivors treated between 6 and 10 years old vs. older survivors: ↑ risk of diabetes - Cancers with highest risk of diabetes: leukemia and lymphoma	Damage to pancreas and visceral adipose tissue	(99)

*Survival time at the time of the study is expressed as median otherwise specified. ALL, acute lymphoblastic leukemia; AYA, adolescent and young adult; CNS, central nervous system; CVRF, cardiovascular risk factor; CT, chemotherapy; CRT, cranial radiotherapy; GHD, growth hormone deficiency; HDL, high density lipoprotein; HL, Hodgkin's lymphoma; HR, hazard ratio; HSCT, hematopoietic stem-cell transplantation; HT, hypertension; MS, metabolic syndrome; ND, no data; NHL, non-Hodgkin's lymphoma; Ref., reference; RT, radiotherapy; TBI, total body irradiation; TG, triglyceride; ↑, increase.

Table 3. Metabolic syndrome and its components and mechanisms proposed in childhood cancer survivors treated with hematopoietic cell transplantation

Type of cancer	Treatment	Survival time*	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
ALL & AMT	CT only, n=97 CT+CRT, n=27 HSCT+TBI, n=43 HSCT no TBI, n= 17	15.4 y	Prospective study - Total cohort: 9.2% had MetS - HSCT and TBI treatment associated with high TG and fasting glucose, low-HDL-C	- Hypogonadism - Hypothyroidism - Endothelial damage - Nutritional insults during a period of developmental plasticity resulting in a MetS phenotype	(134)
ALL, AML, Hodgkin's lymphoma, NHL, brain tumor, sarcoma, others	CT only, n=103 CT+RT, n=163 HSCT+TBI, n=29 HSCT, n=45	16.1 y	- TBI and GHD ↑ the risk of hypercholesterolaemia and hypertriglyceridaemia - ↑ risk of hypercholesterolaemia in survivors who underwent autologous HSCT or platinum-based CT - ↑ risk of obesity with brain tumor and anthracyclines exposure	- Hypothalamic/hypophyseal damage due to surgery or radiation therapy - Mobility impairment due to brain injury - Less physical activity and poor nutrition due to psychological distress and/or depressive disorders	(60)
Leukemia & other hematologic diseases	CT only, n=9 CT+CRT, n=4 HSCT+TBI, n=18 HSCT no TBI, n= 5	10.8 y	Prevalence of MetS: HSCT survivors: 39% Non-HSCT survivors: 8% Healthy controls: 0%	- Hypogonadism and chronic GHVD	(170)
ALL, AML, NHL, Hodgkins' disease, neuroblastoma, Wilms tumor, bone tumors, soft tissue tumors, brain tumors, others	CT only, n=24 CT+CRT, n=137 CT+abdominal irradiation, n=20 HSCT+TBI, n=35 HSCT, n=32	12.9 y	- Similar BMI between survivors and healthy siblings (children) and reference values from a national study (adults) - Prevalence of abdominal adiposity almost double in prepubertal survivors vs. healthy siblings	- Prolonged catabolism and malnutrition during treatment regimens with consequences on long-term changes in body composition: lower lean body and muscle mass - Mitochondrial dysfunction due to irradiation - ↑ in adipocytokine secretion by adipose tissue (adiponectin, TNFα and IL-6)	(128)
ALL	CT only, n=43 CT+CRT, n=5 HSCT+TBI, n=26	10.0 y (since dx)	- 23.1% of TBI-treated survivors met criteria for MetS vs. 4.2% of non-TBI-treated survivors -HSCT-treated survivors: ↑ CRP & leptin, ↓ adiponectin	- Chronic inflammation - ↑ visceral fat	(37)

Type of cancer	Treatment	Survival time*	Key findings	Mechanisms proposed	Ref.
AML	CT only, n=12 HSCT+TBI, n=9	20 y	- CT-only survivors vs. controls: no higher frequency of MetS components - HSCT survivors vs. controls: higher waist hip ratio and dyslipidemia - CT-only & TBI-treated survivors vs. ref. values from a national study: ↑ total fat % - HSCT survivors vs. reference values from a national study: ↓ lean mass %	- Hypothyroidism (HSTC only) - Gonadal dysfunction after CT	(19)
ALL, AML, others	HSCT, n=24 HSCT+TBI, n=21	4.0 y (with NGT) 6.9 y (with IGT/DM) 7.0 y	No increased prevalence of obesity but redistribution of fat tissue with central fat accumulation	- Changes in central body composition change	(18)
Lymphoma, acute & chronic leukemia, multiple myeloma, others	HSCT, n=891 HSCT+TBI, n=994	7.0 y	- Prevalence of CVRFs ↑ among HSCT recipients compared to general population - Grade II-IV acute GVH ↑ risk for HT, diabetes and dyslipidemia	- Gonadal dysfunction - Radiation-induced pancreatic and/or hepatic injury	(5)
ALL, AML & lymphoma	HSCT+TBI, n=85 HSCT+TBI, n=38	8.0 y	- GHD, CRT and grade II-IV acute GVHD associated with risk of having CVRF cluster - Compared to age-, sex- and race-matched reference values from a national study, TBI-treated survivors had higher prevalence of high TG and low HDL-C, but not of glucose intolerance, HT or CVRF cluster	- Sarcopenic obesity (pattern of visceral adiposity and muscle deficit) - Dysfunctional adipose tissue (↑ inflammation) - Radiation-induced neuroendocrine dysregulation of the hypothalamic-pituitary axis: a) leptin insensitivity or b) upregulation of proinflammatory pathways (IKKβ/NF-Kβ) in the hypothalamus	(65)

*Survival time at the time of the study is expressed as median otherwise specified. ALL, acute lymphoblastic leukemia; CVRF, cardiovascular risk factor; CT, chemotherapy; GHD, growth hormone deficiency; GVHD, graft-versus-host disease; HR, hazard ratio; HSCT, hematopoietic stem-cell transplantation; HT, hypertension; IGT/DM, impaired glucose tolerance/diabetes mellitus; LH, luteinizing hormone; NGT, normal glucose tolerance; OR, odd ratio; Ref., reference; RT, radiotherapy; TC, total cohort; TG, triglyceride; TSH, thyroid stimulating hormone; ↑, increase; ∅, no difference.

Table 4. Gut microbiota during and after chemotherapy

Type of cancer	Participants	Chemotherapy	Use of prophylaxis and/or therapeutic antibiotics	Timing of sample collection	Impact on gut microbiota diversity	Impact on bacterial abundance	Ref.
ALL	Cancer patients n=28 Healthy siblings n=23	Leukemia treatment protocol: induction, consolidation and maintenance therapy	Sulfamethoxazole and trimethoprim in prophylaxis	Feces samples collected: 1. at the time of diagnosis before patient received CT 2. during CT (at induction, consolidation & maintenance therapy) Controls were sampled once	<u>Patients (at diagnosis) vs. controls</u> Lower microbiota diversity in patients vs. controls <u>Patients during course of CT vs. before CT</u> Microbiota diversity increased over the course of CT.	<u>Patients (at diagnosis) vs. controls</u> Lower abundance <i>Anaerostipes, Coprococcus, Roseburia, Ruminococcus and Lachnospiraceae</i> (comprises the <i>Clostridium</i> XIVa and IV groups)	(145)
AML	Cancer patients n=9 Healthy control n=1	AML-97-treatment protocol of the Dutch Childhood Oncology Group (36 CT cycles, high-dose cytarabine, daunorubicine, and etoposide; amsacrine, high-dose cytarabine, and etoposide; and mitoxantrone and high-dose cytarabine)	All patients received prophylaxis antibiotics: oral colistin, neomycin and amphotericin B or with ciprofloxacin and itraconazol	Feces samples collected: 1. During 4 consecutive CT cycles out of 36 cycles (2 samples per cycle; <i>early</i> sample: day 2 of cycle; <i>late</i> sample: day 11 of cycle) 2. After treatment (at least 6 weeks after) 3. 11 samples from a single healthy control were collected during a 2-month period	<u>Patients during course of CT vs. after treatment</u> Microbiota diversity was the lowest during cycles I and III of CT. <u>Patients (after treatment) vs. control</u> The fingerprint of the after-treatment samples showed a diversity comparable to the healthy control.	<u>Patients (after 4 CT cycles) vs. controls</u> Lower abundance: <i>Bacteroides</i> species, <i>Clostridium</i> cluster XIVa, <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> and <i>Bifidobacterium</i> . Partially recovered after treatment <i>Bifidobacterium</i> and <i>Bacteroides</i> species Totally recovered after treatment <i>Clostridium</i> XIVa and <i>F. prausnitzii</i>	(184)
NHL	Cancer patients n=8	Myeloablative conditioning regimen for 5 consecutive days, including high-dose	Most of participants received antibiotics in	Feces samples collected: 1. prior to CT	<u>After vs. before CT</u> Steep reduction in alpha-diversity	<u>After vs. before CT</u> Decrease in abundance: <i>Faecalibacterium</i> and <i>Bifidobacterium</i> Increase in abundances:	(120)

Type of cancer	Participants	Chemotherapy	Use of prophylaxis and/or therapeutic antibiotics	Timing of sample collection	Impact on gut microbiota diversity	Impact on bacterial abundance	Ref.
		carmustin, etoposide, aracytine and melphalan	prophylaxis before conditioning therapy (penicillin V and cotrimoxazole). During CT patients did not receive concomitant antibiotics.	2. 7 days later immediately prior to HSCT		<i>Eschrichia</i>	
Adult onset cancers	Cancer patients n=17 Age and gender-matched healthy controls n=17	A single immune-suppressive CT cycle. Only 2 patients had not received prior CT treatments.	With or without concomitant antibiotics	Feces samples collected: 1. before the day of CT 2. 1-4 days after CT 3. 5-9 days after CT 4. Healthy controls provided 4 samples during the same 2 weeks as patients	No data	<u>1 -4 days after CT vs. before CT</u> Decrease in abundance: <i>Clostridium</i> cluster <i>XIVa</i> , <i>Clostridium</i> clusters <i>IV</i> , <i>Bacteroides</i> and <i>Bifidobacteria</i> <u>5-9 days after CT vs. 1-4 days after CT</u> Recovery in abundance: <i>Clostridium</i> cluster <i>XIVa</i> , <i>Clostridium</i> clusters <i>IV</i> , <i>Bacteroides</i> and <i>Bifidobacteria</i> <u>Patients vs. controls</u> Decrease in total bacteria following chemotherapy > any variation in total bacteria observed in controls	(200)
NHL	Cancer patients n=28	Myeloablative conditioning regimen for 5 consecutive days, including: high-dose Carmustine, Etoposide, Aracytine and Melphalan. HSCT occurred on day 7.	No concomitant antibiotics	1. Feces samples collected: a. prior to administration of CT b. 7 days later immediately prior to HSCT	<u>After vs. before CT</u> Reduction in alpha-diversity	<u>After vs. before CT:</u> Decrease in abundance at phylum level: Firmicutes and Actinobacteria Increase in abundances at phylum level: Proteobacteria Decrease in abundance at genus level: <i>Ruminococcus</i> , <i>Oscillospira</i> , <i>Blautia</i> , <i>Lachnospira</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Dorea</i> , <i>Coprococcus</i> ,	(121)

Type of cancer	Participants	Chemotherapy	Use of prophylaxis and/or therapeutic antibiotics	Timing of sample collection	Impact on gut microbiota diversity	Impact on bacterial abundance	Ref.
						<i>Anaerostipes, Clostridium, Collinsella, Adlercreutzia</i> and <i>Bifidobacterium</i> Increase abundance at genus level: <i>Citrobacter, Klebsiella, Enterococcus, Megasphaera</i> and <i>Parabacteroides</i>	
cALL	Cancer patients n=36 Healthy controls n=36	High-dose methotrexate	No use of antibiotics for two weeks before high-dose methotrexate CT	Feces samples collected: 1. the day prior CT 2. third day after CT 3. seventh after CT	Patients vs. controls Biomass lower by 29.6 %	<u>Third day after CT vs. before CT</u> Decrease in abundance: <i>Bifidobacteria, Lactobacillus</i> and <i>E. coli</i> Partially recovered on the seventh day: <i>Bifidobacteria</i> and <i>Lactobacillus</i> Totally recovered and increased of abundance on the seventh day: <i>E. coli</i>	(82)
Colorectal cancer	Cancer patients n=43	Radical surgery followed by the standardized CapeOx therapy scheme (oxaliplatin and capecitabine)	Ornidazole and cephalosporin for preoperative gastrointestinal preparation and postoperative infection prevention.	Feces samples collected: 1. At hospital registration 2. 3 weeks after surgery 3. At the end of the first to fifth cycles of CT	Richness and diversity before and after surgery: No significant difference found in the Shannon, Simpson, Chao, and Ace indices Diversity between pre-CT and multiple cycles of CapeOx therapy: No difference found	<u>After vs. before CT</u> Increase in: Ratio of Bacteroidetes to Firmicutes Decrease in abundance: <i>Morganella, Pyramidobacter, Proteus, Escherichia-Shigella</i> Increase in abundance: <i>Bilophila, Comamonas, Collinsella, Butyricimonas, Eggerthella, Anaerostipes.</i>	(95)
HL	Survivors [mean duration since diagnosis (range): 22.5 (10-36) years] n=13 Healthy controls	No information	No information	Feces samples collected at home: 1. Survivors 2. Healthy controls	Survivors vs. controls Modest reduction in the alpha-diversity reflected by fewer unique OTUs. The difference was not significant when	No Data	(42)

Type of cancer	Participants	Chemotherapy	Use of prophylaxis and/or therapeutic antibiotics	Timing of sample collection	Impact on gut microbiota diversity	Impact on bacterial abundance	Ref.
	n=13 (unaffected twin)				diversity analysis was restricted to abundant OTUs.		
cALL	Survivors (≥ 5 years since end of treatment) n=73 Healthy controls n=61	Leukemia treatment	No information	Fecal samples from sterile anal swabs: 1. Survivors 2. Healthy controls	Survivors vs. controls 1. Reduced alpha-diversity (measured by Chao1, observed OTUs & phylogenetic distance) 2. No cluster into clear distinct groups with beta-diversity estimates	Survivors vs. controls Increase in abundance at phylum level: <i>Bacteroidetes and Proteobacteria</i> Increase in abundance at genus level: <i>Firmicutes members (Tissierellaceae and Staphylococaceae), Actinobacteria</i> (e.g. genus <i>Corynebacterium</i>) Decrease in abundance: <i>Ruminococaceae, Lachnospiraceae and Faecalibacterium,</i>	(38)

ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; cALL, childhood ALL; CT, chemotherapy; HL, Hodgkin's lymphoma; HSCT, hematopoietic stem-cell transplantation; NHL, non-Hodgkin's lymphoma.

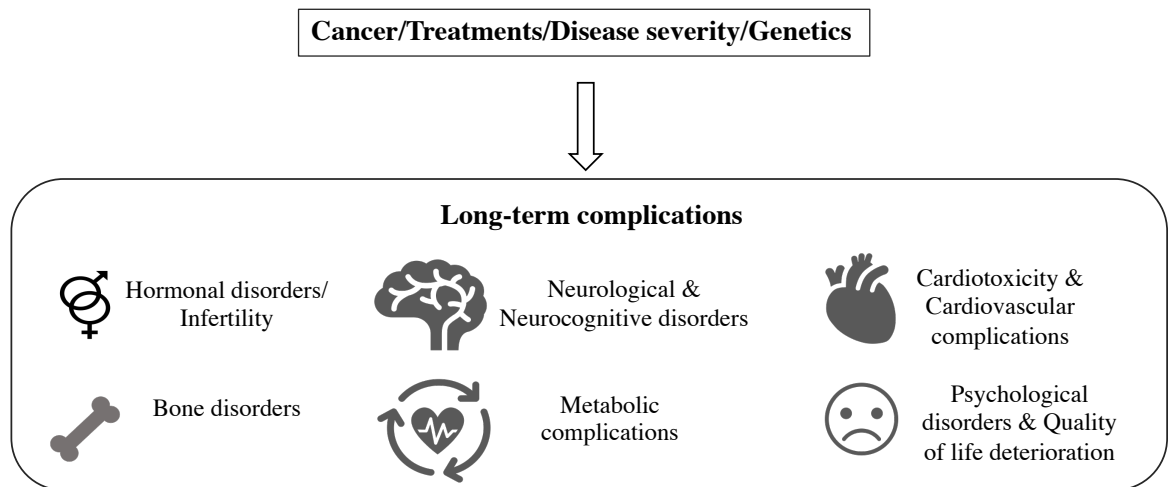


Figure 1. Potential long-term morbidities among childhood cancer survivors driven by cancer history, genetic predisposition, disease severity, and side-risks of treatment.

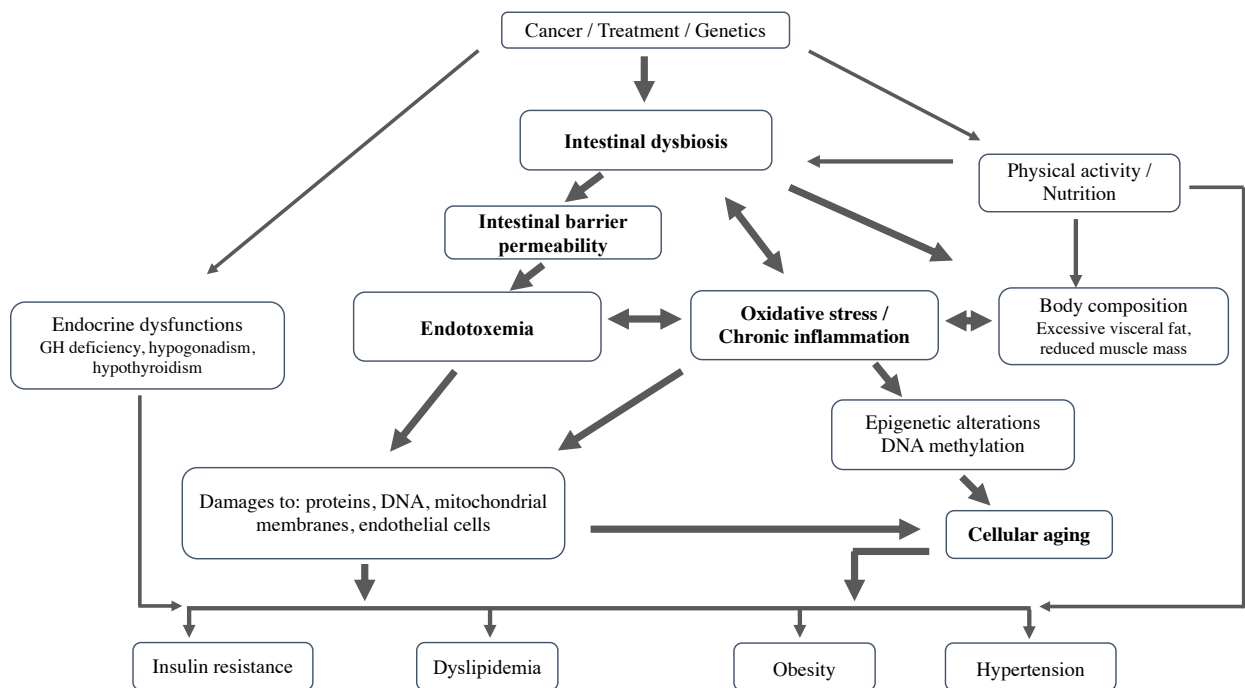


Figure 2. Potential mechanisms underlying cardiometabolic perturbations of childhood cancer survivors.

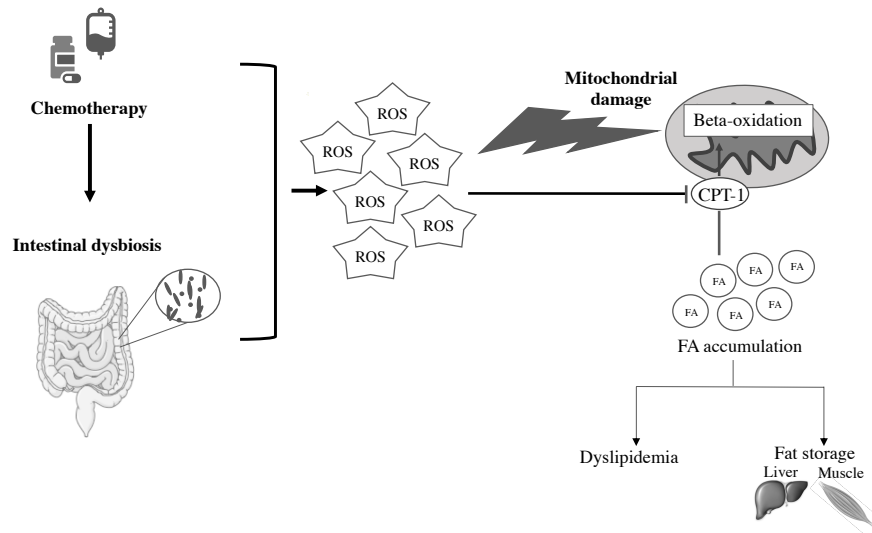


Figure 3. Effect of oxidative stress on mitochondria. Cancer treatments such as anthracyclines, platinum and alkylators generate high levels of ROS that induce OxS and inflammation. The damages caused to the mitochondria by oxidative stress may promote dysfunctions in fatty acid beta-oxidation. In addition, anthracyclines, platinum and alkylators alter mitochondrial fatty acid beta-oxidation by decreasing CPT-1. CPT-1, carnitine palmitoyl transferase 1; ROS, reactive oxygen species.

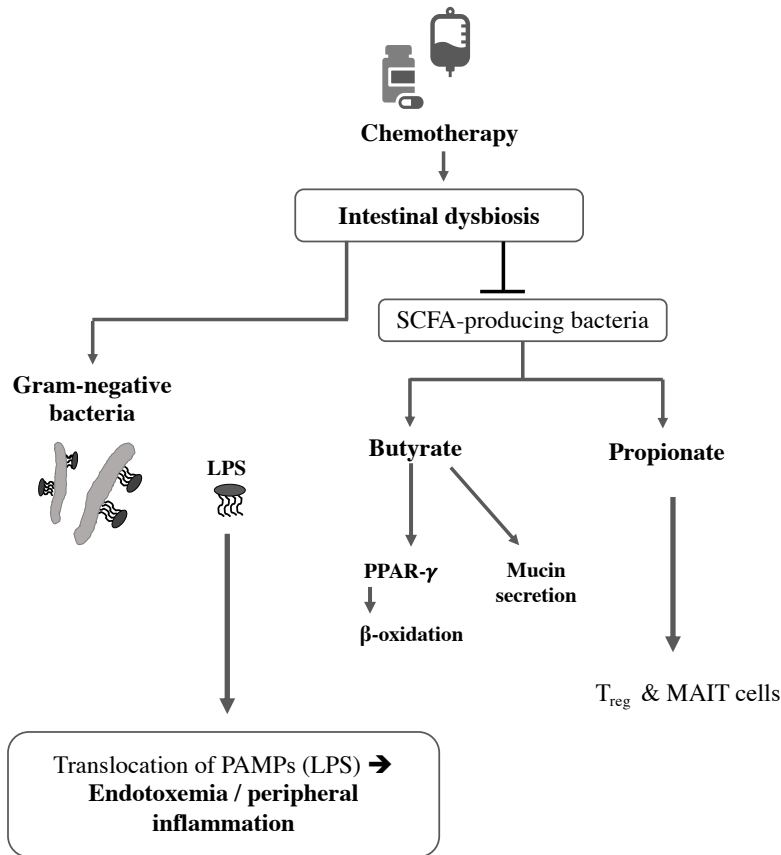


Figure 4. Contribution of intestinal dysbiosis in altering inflammatory signalling pathways.

Cancer treatments, mainly chemotherapy, are associated with intestinal dysbiosis. Intestinal dysbiosis leads to decreased SCFA production, mucus thickness and antimicrobial defence. A depletion in butyrate may provoke colonocyte to switch their energy metabolism from beta-oxidation to anaerobic glycolysis by not activating PPAR- γ . Higher oxygen availability promotes proliferation of the Gram-negative bacteria *Enterobacteriaceae* and concurrently increase LPS levels. Propionate regulates the production of antimicrobial factors by the immune cells T_{reg} (anti-inflammatory functions) and MAIT (antimicrobial roles). Butyrate-producing bacteria also play a role in the composition of the mucus layer, as butyrate stimulates synthesis of mucins. Chemotherapeutic agents can cause structural and functional injury to tight junctions increasing intestinal permeability. SCFA: short-chain fatty acid; LPS: lipopolysaccharide.

8.8 Article 8

Biomarkers of Cardiometabolic Complications in Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia

Sophia Morel, Pauline Léveillé, Mariia Samoilenko, Anita Franco, Jade England, Nicolas Malaquin, Véronique Tu, Guillaume B. Cardin, Simon Drouin, Francis Rodier, Sarah Lippé, Maja Krajinovic, Caroline Laverdière, Daniel Sinnett, Geneviève Lefebvre, Emile Levy, Valérie Marcil.

Article publié dans la revue *Scientific Report – Nature* en novembre 2020.

Cet article répond aux objectifs spécifiques 3.2 et 3.3

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a participé à la collecte de données, au dosage des biomarqueurs, à l'analyse des données, à la planification et l'exécution des analyses statistiques, à l'interprétation des résultats et à la rédaction du manuscrit.

Biomarkers of cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia

Sophia Morel^{1,5}, Pauline Léveillé^{1,2}, Mariia Samoilenko^{1,3}, Anita Franco¹, Jade England^{1,4}, Nicolas Malaquin⁶, Véronique Tu⁶, Guillaume B. Cardin⁶, Simon Drouin¹, Francis Rodier^{6,7}, Sarah Lippé^{1,2}, Maja Krajinovic^{1,4}, Caroline Laverdière⁴, Daniel Sinnett^{1,4}, Geneviève Lefebvre³, Emile Levy^{1,5}, Valérie Marcil^{1,5*}

¹Research Centre of Sainte-Justine University Health Center, Université de Montréal, Montreal, Quebec, H3T 1C5, Canada.

²Department of Psychology, Université de Montréal, Montréal, Quebec, H3T 1C5, Canada

³Department of Mathematics, Université du Québec à Montréal, Montreal, Quebec, H3C 3P8, Canada.

⁴Department of Pediatrics, Université de Montréal, Montreal, Quebec, H3T 1C5, Canada.

⁵Department of Nutrition, Université de Montréal, Montreal, Quebec, H3T 1C5, Canada.

⁶CRCHUM and Institut du cancer de Montréal, Montreal, Quebec, H2X 0A9, Canada.

⁷Department of Radiology, Radio-oncology, and Nuclear Medicine, Université de Montréal, Montréal, Quebec, H3T 1C5, Canada.

Address for correspondence:

*Dr. Valerie Marcil

CHU Sainte-Justine

3175 Côte Ste-Catherine room 4.17.006

Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5

Tel.: (514) 345-4931 (3272)

E-mail: valerie.marcil@umontreal.ca

ABSTRACT

Survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL) are at higher risk of developing cardiometabolic complications. We aimed at exploring the associations between biomarkers of inflammation, oxidative stress, endothelial function, endotoxemia and cardiometabolic risk factors. We conducted a cross-sectional analysis in 246 cALL survivors (mean age, 22.1±6.3 years; mean time since diagnosis, 15.5±5.2 years) and evaluated the associations using a series of logistic regressions. Using structural equation models, we also tested if the relationship between endotoxemia and cardiometabolic complications was mediated by the latent (unobserved) variable inflammation inferred from the observed biomarkers CRP, TNF- α and IL-6. High leptin-adiponectin ratio was associated with obesity [adjusted OR = 15.7; 95% CI (6.2–39.7)], insulin resistance [20.6 (5.2–82.1)] and the metabolic syndrome [11.2 (2.6–48.7)]. Higher levels of plasminogen activator inhibitor-1 and tumor necrosis factor- α were associated with obesity [3.37 (1.6–7.1) and 2.34 (1.3–4.2), respectively] whereas high C-reactive protein levels were associated with insulin resistance [3.3 (1.6–6.8)], dyslipidemia [2.6 (1.4–4.9)] and MetS [6.5 (2.4–17.9)]. Our analyses provided evidence for a directional relationship between lipopolysaccharide binding protein, related to metabolic endotoxemia, inflammation and cardiometabolic outcomes. Identification of biomarkers and biological mechanisms could open new avenues for prevention strategies to minimize the long-term sequelae, improve follow-up and optimize the quality of life of this high-risk population.

INTRODUCTION

Survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia (cALL) are at increased risk of long-term cardiometabolic complications including obesity, insulin resistance, dyslipidemia and hypertension¹⁻⁴. While the precise etiology of these long-term complications is not fully understood, cranial radiation therapy (CRT) and chemotherapy have been proposed as contributing factors^{3,5}. Possible underlying mechanisms include oxidative stress, chronic inflammation, adipose tissue dysfunction, endocrine disorders and accelerated cellular aging (reviewed in⁶). Identifying biomarkers related to long-term treatment outcomes could improve our knowledge on the biological factors influencing them and help predicting these morbidities in individuals and/or subgroups of patients.

In young adult survivors of cALL, the presence of systemic inflammation and increased activation of the immune system have been demonstrated⁷⁻⁹. In parallel, studies found high levels of adipokines and pro-inflammatory cytokines during¹⁰⁻¹³ and after^{14,15} chemotherapy, up to 5 years after the initiation of treatment¹⁶. Exposure to CRT can affect several metabolic pathways and thus promoting weight gain, insulin resistance and hormonal deficiencies¹⁷. Excess adipose tissue accompanying obesity promotes the synthesis and release of adipokines along with the development of a systemic inflammatory state, which may affect insulin sensitivity and vascular function¹⁸. Consequently, some adipokines including leptin and adiponectin have been proposed as biomarkers of metabolic disturbances in populations of childhood cancer survivors¹⁹⁻²², but all studies stressed the need for validating these findings in additional cohorts.

Endothelial dysfunction was reported in long-term survivors of cALL²³, which seemingly contributes to their greater risk for cardiovascular disease development²⁴⁻²⁸. The infiltration and retention of low-density lipoprotein (LDL) in the arterial intima initiate an inflammatory endothelial process leading to atherosclerotic plaque formation. Modification of LDL through oxidation causes endothelial cells to express leucocyte adhesion molecules. In cALL survivors, circulatory levels of the adhesion molecules intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)²⁹, vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1)³⁰ and E-selectin³¹ were found elevated, although their relationship with cardiometabolic outcomes was not assessed.

Many chemotherapeutic agents induce oxidative stress and trigger an inflammatory response^{7-9,32-34}. Oxidative stress is caused by the imbalance between the generation of free radicals and antioxidant defenses. If reactive oxygen species are not scavenged, they may conduct to widespread lipid, protein and DNA damage. Systemic inflammation also increases the susceptibility for oxidative modifications by endothelial and smooth muscle cells to LDL. To control the flux of reactive oxygen species, aerobic cells possess endogenous antioxidant enzymes that include superoxide dismutases (SOD) and glutathione peroxidases (GPx). Although several studies reported changes in antioxidant enzyme activities in serum leukocytes and red blood cells of leukemia patients during pathogenesis of leukemia and/or treatment (reviewed in³⁵), findings are discordant and studies have not addressed these aspects in cancer survivors. Besides, mitochondrion is implicated in a variety of cellular functions including cell signaling, metabolism, cell death, aging, and cancer³⁶. Variations in mitochondrial DNA (mtDNA)^{37,38} and in the regulation of mitochondrial proteins related to inflammation and to antioxidant activity have been identified in cALL survivors³⁹, but no prior study has examined the relationship between mtDNA and cardiometabolic complications in this particular group of patients.

Endotoxins derived from intestinal bacteria are among the factors triggering a peripheral inflammatory state. Accordingly, the gut microbiota is recognized as a contributor to the systemic inflammation⁴⁰ and oxidative stress⁴¹, which can remotely affect peripheral organs implicated in the development of obesity, insulin resistance and atherosclerosis^{42,43}. Release of bacterial lipopolysaccharides (LPS), produced by Gram-negative bacteria, contribute to chronic⁴⁴ and adipose tissue⁴⁵ inflammation. LPS-binding protein (LBP) is produced mainly by the liver and helps mediate the LPS-induced inflammatory response⁴⁶. Not only gut microbiota influence blood levels of LPS, but intestinal counts of Gram-negative bacteria was found correlated to LBP⁴⁷. It is possible that endotoxemia, caused by changes in the intestinal microbiota during cALL treatment, triggers a pro-oxidative and pro-inflammatory state leading to the development of cardiometabolic complications.

There is a need to validate the utility of biomarker testing in order to characterize subgroups of patients most susceptible of developing late cardiometabolic complications. Therefore, our first objective was to explore the associations between blood biomarkers of oxidative stress,

inflammation, endothelial function and endotoxemia and cardiometabolic risk factors in cALL survivors. Our second objective was to test, using structural equation models, if the relationship between endotoxemia and cardiometabolic complications was mediated by the latent (unobserved) variable inflammation inferred from the observed biomarkers CRP, TNF- α and IL-6.

RESULTS

Cohort characteristics

Relevant demographic and treatment characteristics are outlined in **Table 1**. Median age at interview was 21.8 years, ranging from 8.5 to 41.0 years, and median time elapsed since diagnosis was 15.2 years. A total of 146 participants (59.4%) had received CRT (dose range: 10-19.8 Gy, with 47% of survivors having received ≥ 18 Gy). Dyslipidemia was the most prevalent cardiometabolic complication (41.5%), followed by obesity (32.5%), insulin resistance (17.1%) and pre-hypertension (pre-HTN) or hypertension (HTN) (12.2%). Among the types of anomalies that define dyslipidemia, 12.2% had elevated triglycerides, 17.5% high LDL-cholesterol (LDL-C) and 23.2% low high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels. Additionally, metabolic syndrome (MetS) affected a total of 22 participants (9.0%).

Associations between biomarkers and cardiometabolic complications

In preliminary analyses, all biomarkers were tested in one third of participants and associations with cardiometabolic outcomes were assessed. Testing was carried out in additional participants when associations were significant or close to significance. Depending on the biomarkers, data of 79 to 244 participants were analyzed (**Table 2**).

The associations between biomarkers of inflammation and cardiometabolic complications are outlined in **Table 3**. Adjusted models revealed that higher adiponectin levels were protective of obesity (OR = 0.18; 95% CI 0.09–0.38), insulin resistance (OR = 0.17; 95% CI 0.07–0.45) and dyslipidemia (OR = 0.34; 95% CI 0.18–0.66). Furthermore, participants with higher adiponectin levels were at lower risk of having MetS (OR = 0.07; 95% CI 0.01–0.38). Conversely, the risk of obesity and insulin resistance was associated with greater leptin levels (OR = 9.57; 95% CI 3.41–26.86 and OR = 13.17; 95% CI 3.68–47.10, respectively). The previous results are reflected in

leptin-adiponectin ratio deleterious associations. The latter was associated with the risk of obesity (OR = 15.69; 95% CI 6.20–39.67), insulin resistance (OR = 20.60; 95% CI 5.17–82.14) and MetS (OR = 11.20; 95% CI 2.58–48.69). High PAI-1 levels were associated with the risk of having obesity (OR = 3.37; 95% CI 1.61–7.05). Higher CRP levels (>3 mg/L vs. ≤3 mg/L) were associated with insulin resistance (OR = 3.27; 95% CI 1.58–6.79), dyslipidemia (OR = 2.61; 95% CI 1.40–4.86) and MetS (OR = 6.52; 95% CI 2.28–17.85). Participants with higher TNF- α levels were at increased risk of having obesity (OR = 2.34; 95% CI 1.31–4.18). Higher visfatin levels were protective of insulin resistance (OR = 0.27; 95% CI 0.11–0.66).

Among the biomarkers of oxidative stress measured, only oxidized-LDL (Ox-LDL) concentrations were associated with dyslipidemia (OR=7.90; 95% CI 3.80–16.4). After correction for multiple testing, GSH, GPx, SOD and protein carbonyl levels were not associated with any cardiometabolic complication (**Table 4**). LBP, a biomarker of endotoxemia, was associated with obesity (OR = 2.03; 95% CI, 1.13–3.65) and dyslipidemia (OR=1.92; 95% CI, 1.09–3.37) (**Table 5**). Levels of ICAM-1 were associated with obesity (OR = 2.15; 95% CI 1.21–3.82) and MetS (OR = 3.60; 95% CI 1.32–9.84) (**Table 6**).

Among the disturbances that define dyslipidemia, only an association with low HDL-C was observed. High LBP levels were associated with low HDL-C (OR = 3.26; 95% CI 1.37–7.73) (**Supplementary Table S2**). No other association was found when the associations between the biomarkers and the risk of having high triglycerides, high LDL-C, and low HDL-C were analyzed individually (**Supplementary Tables 3 to S5**).

Structural equation models to assess LBP-inflammation-cardiometabolic complication relationships

For two SEM considered (see Figures 1 and 2), estimated factor loadings of CRP, TNF- α and IL-6 for the latent variable *inflammation*, as well as the path coefficients reflecting the relationships between LBP, *inflammation* and the cardiometabolic outcomes are presented in **Tables 7 and 8**. As indicated by the goodness-of-fit measures, the models hypothesized generally appeared to fit well the data ^{48,49}. Estimated path coefficients representing relationships between LBP, *inflammation* and cardiometabolic outcomes indicated expected significant directional

relationships with the exception of hypertension (**Table 7**). The standardized regression coefficients between LBP, inflammation and MetS were also statistically significant (**Table 8**). Of note, the covariables *age at interview* and *sex* were associated with dyslipidemia and hypertension respectively (**Table 7**). The covariable exposition to CRT was not associated with cardiometabolic outcomes (**Tables 7 and 8**).

DISCUSSION

We found associations between several inflammatory biomarkers and obesity, dyslipidemia and insulin resistance in a cohort of adolescent and young adult survivors of cALL. Our analyses support the hypothesis of a directional relationship between LBP, a biomarker of endotoxemia, *inflammation* and cardiometabolic outcomes. These results are in agreement with the hypothesis that, in cALL survivors, endotoxemia triggers a pro-inflammatory state that is associated with the development of cardiometabolic complications.

We found that high TNF- α levels were associated with the risk of obesity. TNF- α contributes to metabolic dysregulation by impairing lipid storage and oxidative capacity of adipose tissues⁵⁰. TNF- α can impact whole body insulin sensitivity through increased free fatty acids and altered adipokine production⁵⁰. Our finding corroborates a large body of literature showing a strong correlation between TNF- α plasma levels and obesity [reviewed in⁵¹], as well as its relationship with BMI in obese children^{52,53} and adolescents⁵⁴.

Our analyses also revealed that high CRP levels are associated with the risk of insulin resistance, dyslipidemia and MetS. CRP is an acute-phase protein secreted by the liver and the adipose tissue in response to pro-inflammatory cytokines (e.g. TNF- α and IL-6). It is a sensitive marker of systemic inflammation⁵⁵ and has been associated with cardiometabolic risk⁵⁶. Consistent with our results, many studies reported increased plasma CRP in cALL survivors compared to controls^{7-9,29}. CRP levels were associated with the MetS in this population⁸.

Our results showed altered adipokine levels in relation to cardiometabolic outcomes. Adjusted model showed that higher leptin-adiponectin ratio was associated with an elevated risk of obesity, insulin resistance and low HDL-C. There are compelling data that emphasize the associations between adiponectin, leptin and cardiometabolic complications in cALL survivors^{19-21,57-60}. In adolescent survivors, high leptin-adiponectin ratio was associated with MetS²⁰. Particularly, visceral adiposity was associated with disturbed adipokine balance (i.e., increased leptin and decreased adiponectin)^{61,62}, chronic low-grade inflammation⁶³ and dyslipidemia as characterized by decreased HDL-C levels. Our results support the reported positive association between plasma adiponectin levels and HDL-C⁶⁴. Adiponectin regulates HDL-C concentration by

reducing HDL-C catabolism⁶⁵ and contributes to the inhibition of hepatic lipase activity⁶⁵, an enzyme that hydrolyzes triglycerides and phospholipids contained in HDL particles. In our study, high leptin-adiponectin ratio was associated with increased risk of insulin resistance. In line with our results, HOMA-IR has been associated with higher leptin-adiponectin ratio in both men and women¹⁹ and in women only⁵⁸.

We also found that high leptin levels were strongly associated with the risk of obesity and insulin resistance. This finding corroborates the presence of long-term hyperleptinemia in cALL survivors^{19,21} that may disrupt communication with the brain and, ultimately, energy usage and insulin signalling⁶⁶. Our results also emphasized the association between low visfatin levels and the risk of insulin resistance. The role of visfatin in insulin resistance is still controversial [reviewed in⁶⁷]. Visfatin was reported to have insulin-like activity and to bind the insulin receptor, thereby lowering blood glucose levels⁶⁸. In mice, acute administration of visfatin lowered blood glucose levels⁶⁸. Interestingly, transient overexpression of visfatin enhanced its plasma level, improved insulin sensitivity and had hypocholesterolemic effects in normal-chow rats and rats on high-fat diet^{69,70}. However, another study found that visfatin does not have insulin-mimetic effects in mice but rather functions as an extracellular NAD biosynthetic enzyme critical for glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic β -cells⁷¹. Although studies have provided evidence that visfatin is a biomarker for cALL remission⁷² and bone mineral density of cALL survivors⁷³, no prior study had yet examined the relationship between visfatin levels and cardiometabolic risk factors in the context of survivorship. In parallel, we have highlighted the association between high PAI-1 levels, a physiological regulatory protein of the fibrinolytic system, and the risk of obesity in our cohort. In line with our findings, a study reported increased plasma PAI-1 levels in cALL survivors compared to controls⁷⁴, but the association with obesity was not assessed.

Clinical studies have demonstrated that serum LPS levels were closely related to obesity⁷⁵⁻⁷⁷ and insulin resistance^{76,78,79}. While our study did not reveal an association, we cannot exclude that this negative result could be the result of the short half-life of LPS⁸⁰. LBP is considered a biomarker of plasma endotoxin exposure because its half-life (24 h) is longer than of LPS (<8 min in mice and up to 3 h in humans)⁸¹. Hence, it has been used as a proxy to assess chronic endotoxemia⁸². We found that higher LBP levels were associated with an increased risk of obesity,

insulin resistance and low HDL-C in cALL survivors. LBP participates in the LPS-mediated inflammatory response, facilitating the binding of LPS to toll-like receptor 4 (TLR4)⁸³. TLR4 activation leads to increase transcription pro-inflammatory genes that promote the initiation of cytokine signalling cascades⁸³, reactive oxygen species production and insulin desensitization⁸⁴. TLR4 activation by LPS and LBP complex in insulin target cells can directly dampen insulin action through mechanisms involving cytokine and pro-inflammatory kinases JNK, IKK and p38⁸⁴. LBP also acts as a lipid transfer protein by catalysing the transfer of LPS-sCD14 complexes to HDL particles⁸⁵. Our findings corroborate other studies in which LBP levels were strongly associated with lipid abnormalities^{75,86-89}. They are also in agreement with two prospective studies showing associations between higher LBP levels and the risk of insulin resistance and impaired fasting glucose in men⁹⁰, and with the risk of MetS in men and women⁸⁹. Similarly, cross-sectional studies highlighted a relationship between higher LBP levels and insulin resistance in adolescent men and women⁹¹ or in adult men^{75,92}. Also, in our study, the SEM analysis supports that the relationships between endotoxemia and obesity, insulin resistance, dyslipidemia and MetS are mediated by *inflammation*. This indicates that circulating LBP is a relevant biomarker for systemic inflammation in cALL survivors.

Among the biomarkers of OxS examined, associations were found only for ox-LDL with dyslipidemia and having low HDL-C. There has been a growing body of evidence suggesting that plasma ox-LDLs are increased in pathologic conditions linked to cardiovascular diseases including insulin resistance, obesity and MetS^{93,94}. As for endothelial function, only ICAM-1 levels were associated with the risk of obesity and MetS. A recent study reported increased plasma ICAM-1 levels in 64 cALL survivors (median age of 15 years) compared to 36 controls²⁹. Conversely to our findings, a small study by Barbosa-Cortés *et al.* did not find any association between circulating ICAM-1 levels and the prevalence of the MetS in cALL or lymphoma survivors²⁰. These discrepancies with our study may be due, in part, to different patients' characteristics (median age of 12.1 vs. 21.8 years), CRT exposure (32.7 vs. 59.4%) and number of participants with MetS (n=7 vs. n=22). As a matter of fact, it was reported that ICAM-1 levels can be influenced by age, insulin resistance and other inflammatory conditions⁹⁵. We did not report associations between VCAM-1 or E-selectin and cardiometabolic complications. Elsewhere, a small study comprising of

27 cALL survivors (median age of 20 years) reported high VCAM-1 levels compared to 20 controls³⁰, but the association with cardiometabolic complications was not investigated. In the general population, no evidence of a positive association of VCAM-1 and cardiometabolic outcomes has been reported⁹⁶⁻⁹⁸. However, it was suggested that VCAM-1 is expressed primarily at an advanced stage of atherosclerosis⁹⁸ whereas ICAM-1 is a general marker of a pro-inflammatory state in healthy population. Besides, E-selectin was found correlated with obesity and insulin resistance among obese subjects^{99,100} and to be a good predictor for insulin resistance in women¹⁰¹. In the context of cALL survivorship, no prior study has examined the relationship between E-selectin and cardiometabolic complications, despite the important roles played by this protein in endothelial function.

Finally, no significant association was found between the biomarkers and hypertension. Conversely, two studies in cALL and lymphoma survivors found that low levels of adiponectin were associated with hypertension^{20,22}. These different findings could be explained by the fact that our study was restricted to survivors of cALL and by the low prevalence of hypertension in our cohort (12%) compared to the others (27% and 54%).

The strengths of our study include a broad panel of blood biomarkers of endotoxemia, inflammation, oxidative stress and endothelial function in a well-characterized cohort of cALL survivors. We used the SEM, a multivariate statistical analysis technique, in addition to the conventional regression analysis. This allows to simultaneously test the relationships between the different variables potentially explaining the development of the cardiometabolic complications. Limitations include the monocentric study design and the absence of a healthy control group. Additionally, as our study population was Caucasian, our results may not be generalizable to other ethnic groups as, in epidemiological studies, plasma levels of inflammatory biomarkers associated with cardiometabolic diseases can differ by ethnic group¹⁰². Although we did adjust *a priori* for four selected confounding variables, residual confounding by other factors may bias the results. The modest size of our cohort (n=246, corresponding to the maximal sample size) may have limited our ability to detect weak associations, especially given that sample sizes available for analyses depended on biomarkers. In general, we acknowledge that our study may have generated both false-negative and false-positive findings and will need to be replicated in larger

samples. Since structural equation modeling is very sensible to sample size ¹⁰³ our results should be interpreted with caution. Furthermore, there is no cutoff for fit indices to evaluate the goodness of fit for a model including binary variables^{104,105}. Hence, the cutoff used to evaluate the goodness of fit of our models were defined for models with continuous variables, a limit that has to be considered.

CONCLUSIONS

This study revealed significant associations between plasma biomarkers of visceral inflammation, endotoxemia and endothelial function and late occurring cardiometabolic adverse effects in cALL survivors. It also highlights the relationship between LBP, a protein related to metabolic endotoxemia, *inflammation* and the presence of cardiometabolic complications. Identification of biomarkers and biological mechanisms could open new avenues for prevention strategies to minimize the long-term sequelae, improve patient follow-up and ultimately optimize the quality of life of this high-risk population.

MATERIAL AND METHODS

Study population and protocol

Participants survivors of cALL included in this study (n=246) were recruited as part of the PETALE study (Sainte-Justine University Health Center (SJUHC), Quebec, Canada). The study design and cohort characteristics are described in¹⁰⁶. Briefly, subjects enrolled in the PETALE study were treated for cALL at SJUHC with the Dana Farber Cancer Institute protocols 87-01 to 05-01¹⁰⁷. Survivors less than 19 years old at diagnosis, more than 5 years post diagnosis and free of relapse were invited to participate. At interview, participants completed a core laboratory assessment as well as anthropometric and clinical evaluations. Demographic characteristics relevant for the following analyses are outlined in **Table 1**. The study was approved by the Institutional Review Board of SJUHC and investigations were carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from study participants or parents/guardians.

Assessment of cardiometabolic complications

Participants were assessed for cardiometabolic outcomes, specifically obesity, insulin resistance, pre-HTN and HTN and dyslipidemia (cut-off values presented in **Supplementary Table 1**). The prevalence of cardiometabolic complications in this cohort has been previously described⁴. Briefly, obesity was determined by the presence of at least one of two factors: obese according to body mass index (BMI)^{108,109} and/or high waist circumference^{110,111}. Insulin resistance measured in fasting plasma and defined by the presence of at least two of three factors: glucose >6.1 mmol/L; and/or; glycated hemoglobin >6.0%; and/or; homeostasis model assessment [HOMA-IR, insulin (mIU/L) x glucose (mmol/L)/22.5] ≥ 2.86 (adults)¹¹² or $\geq 95^{\text{th}}$ percentile (children)¹¹³. Pre-HTN and HTN were determined according to current recommendations in adults (normal <130/85 mmHg; pre-HTN: $\geq 130/85$ and <140/90 mmHg; HTN $\geq 140/90$ mmHg)¹¹⁴ and in children (normal: <90th percentile; pre-HTN: $\geq 90^{\text{th}}$ and <95th percentile and HTN $\geq 95^{\text{th}}$ percentile according to age and height)¹¹⁵. Participants who were taking drugs to treat hypertension were also considered hypertensive. Dyslipidemia was determined in fasting plasma by the presence of at least one of three factors: high LDL-C; high triglycerides and/or low HDL-C according to cut-off

values for age and sex^{116,117}. MetS was defined according to the International Diabetes Federation¹¹⁸. For participants 16 years and older, we considered: having waist circumference ≥ 94 cm in men and ≥ 80 cm in women, plus any two of the following factors: (i) triglycerides ≥ 1.70 mmol/L or on drug treatment; (ii) HDL-C < 1.03 mmol/L in men and < 1.3 mmol/L in women or on therapy; (iii) systolic ≥ 130 mmHg or diastolic ≥ 85 mmHg or on treatment and; (iv) fasting glucose ≥ 5.6 mmol/L. For children 10 to 16 years, MetS was defined by waist circumference $\geq 90^{\text{th}}$ percentile plus any two of: (i) triglycerides ≥ 1.70 mmol/L; (ii) HDL-C < 1.03 mmol/L; (iii) systolic ≥ 130 mmHg or diastolic ≥ 85 mmHg and; (iv) fasting glucose ≥ 5.6 mmol/L.

Quantification of biomarkers

Overnight fasting peripheral blood samples were collected in EDTA tubes that were kept on ice until centrifugation. Plasma was separated by low speed centrifugation (2,200 g, 20 min) at 4°C within 45 min of collection and stored at -80°C until analysis. White blood cells were isolated and stored at -80°C until analysis. Red blood cells (RBCs) were washed with saline, butylated hydroxytoluene (10 μ l/ml) (Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA) was added and RBCs were stored at -80°C until analysis.

Biomarkers of inflammation

Commercial ELISA kits were used to measure the following biomarkers in fasting plasma: adiponectin (#BMS2032), resistin (#BMS2040) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (#BMS2033) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), leptin (# EZHL-80SK, EMD Millipore, Burlington, MA, USA) and visfatin (#EIA-VIS, RayBiotech, GA, USA). High sensitivity CRP was measured in fasting serum by immunoturbidimetry. IL-6 and TNF- α were measured in fasting plasma using the multiplex ELISA V-Plex Pro-inflammatory Panel I according to the manufacturer's instructions (MesoScale Discovery, Rockville, MD, USA).

Biomarkers of oxidative stress

SOD activity was measured in plasma by the method of xanthine/xanthine oxidase using kits from Caymen Chemical (#706002, Ann Arbor, MI, USA). GPx activity was measured in RBCs by measuring consumed NADPH using kits from Caymen Chemical (#703102, Ann Arbor, MI, USA).

Ox-LDL and protein carbonyls were measured using ELISA kits from Merckodia AB (#10-1143-01, Uppsala, Sweden) and Cell Biolabs Inc. (#STA-310, San Diego, CA, USA), respectively. Total glutathione was measured in RBCs by spectrophotometry with the GSH recycling method^{119,120}. The intra-assay CVs for SOD, GPx, Ox-LDLs, GSH were 24.2%, 11.4%, 9.5% and 10.8%, respectively. Mitochondrial DNA was determined by Quantitative real-time PCR. Genomic DNA was extracted from white blood cells using the Purelink Genomic DNA kit (Thermo Fisher Scientific) following manufacturer's instructions. DNA was quantified using a spectrophotometer and concentrations were adjusted to 10ng/ml. qPCR for human mitochondria-encoded NADH dehydrogenase 1 (*MT-ND1*) and hemoglobin subunit beta (*HBB*) expression analysis was performed using Taqman gene expression probes #Hs02596873_s1 and #Hs00758889_s1, respectively. Transcript expression was determined with the 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Expression levels were measured by Relative Quantity (RQ, $2^{-\Delta\Delta Ct}$), where *HBB* expression served as endogenous control for normalization¹²¹.

Biomarkers of endotoxemia

Levels of LPS and LBP were measured in fasting plasma using commercial ELISA kits from Elabscience (#E-EL-0025, Houston, TX, USA) and Cell Sciences (#CKM043, Newburyport, MA, USA), respectively. The intra-assay CVs for LPS and LBP were 15.7% and 8.1%, respectively.

Biomarkers of endothelial function

Levels of E-selectin were measured using kits from RayBiotech (#ELH-Eselectin, Norcross, GA, USA). ICAM-1 and VCAM-1 were measured in fasting plasma with V-PLEX assay kits (Meso-Scale Discovery, Rockville, MD, USA). All experiments were achieved following manufacturers' protocols and all readings were performed using the DTX800/800 Multimode microplate reader (Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

Statistical analyses

The biomarkers were dichotomized by the median, with the exception of CRP that was dichotomized by comparing normal (≤ 3 mg/L) to high (> 3 mg/L) levels. The association was assessed between each biomarker and each cardiometabolic outcome using a logistic regression analysis with the targeted biomarker as the independent variable. Analyses were performed without adjustment (crude models) and with adjustment for CRT exposure, age at diagnosis, time since diagnosis and sex (adjusted models). Firth's penalized maximum likelihood estimation procedure was used to mitigate problems of quasi-complete separation of data points encountered in standard logistic regression analyses^{122,123}. Nominal significance level α was set to 0.05. Biomarkers were categorized according to their functional pathways. To consider multiple testing, Bonferroni-adjusted significance level α_{adj} was calculated within the following groups of biomarkers: inflammation, oxidative stress, endotoxemia and endothelial function ($\alpha_{adj} = \alpha/k$, where k is the number of biomarkers in each category: inflammation: $k=9$; oxidative stress: $k=6$; endotoxemia: $k=2$; and endothelial function: $k=3$). Analyses were performed using SAS software, version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

We examined the relationship between LBP (endotoxemia), inflammation and metabolic outcomes using structural equation models (SEM). A SEM estimates all model parameters simultaneously and thus assesses the strength of a particular relationship within the context of a model that can include both measured and constructed (latent) variables¹²⁴. We hypothesized that LBP was associated with the cardiometabolic outcomes through full mediation by the latent (unobserved) variable *inflammation* inferred from the observed biomarkers CRP, TNF- α and IL-6. In the SEM, the estimation process aims to minimize the difference between the sample- and model-implied variance-covariance matrices. The latent variable was estimated by analysing the variance and covariance of the biomarkers (CRP, TNF- α and IL-6). The loading biomarker CRP was fixed to 1 and the residual covariances of the latent variables were set at zero. Two structural models were considered. In the first model, the studied cardiometabolic outcomes were obesity, dyslipidemia, insulin resistance and HTN. In the second model, MetS was the only outcome studied. In the two models, the outcome regressions were adjusted for CRT exposure, age at interview and sex. Figures 1 and 2 present the path diagrams corresponding to models 1 and 2,

respectively. The conventional rules of SEM visualization were applied¹²⁵. The diagonally weighted least squares (DWLS) estimator was used to handle the studied binary outcomes¹⁰⁵. Standardized parameter estimates were presented in addition to their non standardized counterparts in order to compare the relative impact of variables measured on the different scales¹²⁶. Model fit was evaluated using Comparative Fit Index (CFI), TLI (Tucker–Lewis index), Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA), and Standardized Root Mean Square Residual (SRMR). The conventional cutoffs indicating a good model–data fit are CFI > 0.95, TLI > 0.95, RMSEA < 0.06, and SRMR < 0.08¹²⁷, but some recent studies have cautioned against their applying to ordered categorical data^{104,105}. The SEM analyses were performed using R package Lavaan version 0.6-6.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

The data generated and analysed during the current study are not publicly available due to confidentiality reasons but are available from the corresponding author on reasonable request.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interests.

DISCLOSURE STATEMENT

The authors declare that they have no financial or personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence this work. The authors also declare non-financial competing interests, including personal or professional relations with organizations and individuals.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Institute of Cancer Research (ICR) of the Canadian Institutes of Health Research (CIHR), in collaboration with C17 Council, Canadian Cancer Society (CCS), Cancer Research Society (CRS), Garron Family Cancer Centre at the Hospital for Sick Children, Ontario Institute for Cancer Research (OICR) and Pediatric Oncology Group of Ontario (POGO) (grant number: TCF 118694). PL is holding a fellowship from the Fonds de la Recherche du Québec-Santé (FRQ-S); VT received a Canderel fellowship from the Institut du cancer de Montréal (ICM); FR holds a FRQ-S junior II career awards (33070) and received support from the ICM for this project; GL is a Research Scholar of the Fonds de recherche Québec-Santé; VM was funded by a Transition grant from the Cole Foundation. The sponsors had no involvement in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

DS, MK, EL, SD, SL, CL and VM conceived the study and participated in the design and coordination. VM and SM collected the cardiometabolic data. VM, JE and SM classified participants according to their metabolic status. AF and SM performed the biomarkers analysis at SJUHC. NM, VT, GBC and FR performed circulating biomarkers analysis using V-PLEX assays at the CRCHUM. SM, PL, JE, SD and VM analyzed data. PL, MS, SM, VM, SD and GL planned the statistical analysis. PL, MS and SM performed the statistical analysis. SM, PL and VM interpreted the data. SM, PL, AF, MS, SD, EL, DS and VM contributed to the writing of the manuscript. All authors have read and approved this manuscript.

REFERENCES

- 1 Baker, K. S. *et al.* Impact of treatment exposures on cardiovascular risk and insulin resistance in childhood cancer survivors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **22**, 1954-1963. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-13-0610> (2013).
- 2 Oeffinger, K. C. Are survivors of acute lymphoblastic leukemia (ALL) at increased risk of cardiovascular disease? *Pediatr Blood Cancer* **50**, 462-467; discussion 468. <https://doi.org/10.1002/pbc.21410> (2008).
- 3 Nottage, K. A. *et al.* Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br J Haematol*. <https://doi.org/10.1111/bjh.12754> (2014).
- 4 Levy, E. *et al.* Cardiometabolic Risk Factors in Childhood, Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia - A Petale Cohort. *Sci Rep* **7**, 17684. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17716-0> (2017).
- 5 Withycombe, J. S. *et al.* Weight patterns in children with higher risk ALL: A report from the Children's Oncology Group (COG) for CCG 1961. *Pediatr Blood Cancer* **53**, 1249-1254. <https://doi.org/10.1002/pbc.22237> (2009).
- 6 Morel, S., Delvin, E., Marcil, V. & Levy, E. Intestinal Dysbiosis and Development of Cardiometabolic Disorders in Childhood Cancer Survivors: A Critical Review. *Antioxidants and Redox Signaling*. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8102> (2020).
- 7 Chua, L. L. *et al.* Reduced microbial diversity in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia and microbial associations with increased immune activation. *Microbiome* **5**, 35, doi:10.1186/s40168-017-0250-1 (2017).
- 8 Ariffin, H. *et al.* Young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia show evidence of chronic inflammation and cellular aging. *Cancer* **123**, 4207-4214. <https://doi.org/10.1002/cncr.30857> (2017).

- 9 Azanan, M. S. *et al.* Immunity in young adult survivors of childhood leukemia is similar to the elderly rather than age-matched controls: Role of cytomegalovirus. *Eur J Immunol* **46**, 1715-1726. <https://doi.org/10.1002/eji.201646356> (2016).
- 10 Lyon, D. E. *et al.* Relationship of systemic cytokine concentrations to cognitive function over two years in women with early stage breast cancer. *J Neuroimmunol* **301**, 74-82. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.11.002> (2016).
- 11 Cheung, Y. T. *et al.* Association of proinflammatory cytokines and chemotherapy-associated cognitive impairment in breast cancer patients: a multi-centered, prospective, cohort study. *Ann Oncol* **26**, 1446-1451. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv206> (2015).
- 12 Puzstaj, L. *et al.* Changes in plasma levels of inflammatory cytokines in response to paclitaxel chemotherapy. *Cytokine* **25**, 94-102 (2004).
- 13 Williams, A. M. *et al.* Associations between inflammatory markers and cognitive function in breast cancer patients receiving chemotherapy. *J Neuroimmunol* **314**, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.10.005> (2018).
- 14 Ganz, P. A. *et al.* Does tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) play a role in post-chemotherapy cerebral dysfunction? *Brain Behav Immun* **30 Suppl**, S99-108. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.07.015> (2013).
- 15 Pomykala, K. L. *et al.* The association between pro-inflammatory cytokines, regional cerebral metabolism, and cognitive complaints following adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Brain Imaging Behav* **7**, 511-523. <https://doi.org/10.1007/s11682-013-9243-2> (2013).
- 16 Kesler, S. *et al.* Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors. *Brain Behav Immun* **30 Suppl**, S109-116. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.05.017> (2013).
- 17 Bulow, B., Link, K., Ahren, B., Nilsson, A. S. & Erfurth, E. M. Survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia, with radiation-induced GH deficiency, exhibit hyperleptinaemia

- and impaired insulin sensitivity, unaffected by 12 months of GH treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)* **61**, 683-691. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.02149.x> (2004).
- 18 Lee, S., Gungor, N., Bacha, F. & Arslanian, S. Insulin resistance: link to the components of the metabolic syndrome and biomarkers of endothelial dysfunction in youth. *Diabetes Care* **30**, 2091-2097. <https://doi.org/10.2337/dc07-0203> (2007).
- 19 Tonorezos, E. S. *et al.* Adipokines, body fatness, and insulin resistance among survivors of childhood leukemia. *Pediatr Blood Cancer* **58**, 31-36. <https://doi.org/10.1002/pbc.22964> (2012).
- 20 Barbosa-Cortes, L. *et al.* Adipokines, insulin resistance, and adiposity as a predictors of metabolic syndrome in child survivors of lymphoma and acute lymphoblastic leukemia of a developing country. *BMC Cancer* **17**, 125. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3097-8> (2017).
- 21 Jahnukainen, K. *et al.* Increased Body Adiposity and Serum Leptin Concentrations in Very Long-Term Adult Male Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Horm Res Paediatr* **84**, 108-115. <https://doi.org/10.1159/000431092> (2015).
- 22 Kojima, C. *et al.* Adipocytokines in childhood cancer survivors and correlation with metabolic syndrome components. *Pediatr Int* **55**, 438-442. <https://doi.org/10.1111/ped.12087> (2013).
- 23 Jarvela, L. S. *et al.* Endothelial function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: effects of a home-based exercise program. *Pediatr Blood Cancer* **60**, 1546-1551. <https://doi.org/10.1002/pbc.24565> (2013).
- 24 Chen, M. H., Colan, S. D. & Diller, L. Cardiovascular disease: cause of morbidity and mortality in adult survivors of childhood cancers. *Circ Res* **108**, 619-628. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.224519> (2011).
- 25 Gurney, J. G. *et al.* Abdominal aortic calcification in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the St. Jude Lifetime Cohort study. *Pediatr Blood Cancer* **59**, 1307-1309. <https://doi.org/10.1002/pbc.24134> (2012).

- 26 Mertens, A. C. *et al.* Cause-specific late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* **100**, 1368-1379. <https://doi.org/10.1093/jnci/djn310> (2008).
- 27 Chao, C., Xu, L., Bell, E., Cooper, R. & Mueller, L. Long-term Health Outcomes in Survivors of Childhood Cancer Diagnosed Between 1990 and 2000 in a Large US Integrated Health Care System. *J Pediatr Hematol Oncol* **38**, 123-130. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000000492> (2016).
- 28 Chao, C. *et al.* Cardiovascular Disease Risk Profiles in Survivors of Adolescent and Young Adult (AYA) Cancer: The Kaiser Permanente AYA Cancer Survivors Study. *J Clin Oncol* **34**, 1626-1633. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.65.5845> (2016).
- 29 Sadurska, E., Zaucha-Prazmo, A., Brodzisz, A., Kowalczyk, J. & Ben-Skowronek, I. Premature atherosclerosis after treatment for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Ann Agric Environ Med* **25**, 71-76. <https://doi.org/10.5604/12321966.1230680> (2018).
- 30 Sulicka, J. *et al.* Elevated markers of inflammation and endothelial activation and increased counts of intermediate monocytes in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Immunobiology* **218**, 810-816. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.09.003> (2013).
- 31 Masopustova, A. *et al.* Plethysmographic and biochemical markers in the diagnosis of endothelial dysfunction in pediatric acute lymphoblastic leukemia survivors - new applications. *Physiol Res* **67**, 903-909. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933754> (2018).
- 32 de Sousa Almondes, K. G. *et al.* Selenium inadequacy is not associated with oxidative stress in child and adolescent acute lymphocytic leukemia survivors. *Nutrition* **30**, 563-568 (2014).
- 33 Buttros Dde, A. *et al.* Risk of metabolic syndrome in postmenopausal breast cancer survivors. *Menopause* **20**, 448-454. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e318272bd4a> (2013).

- 34 Conklin, K. A. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr Cancer Ther* **3**, 294-300. <https://doi.org/10.1177/1534735404270335> (2004).
- 35 Irwin, M. E., Rivera-Del Valle, N. & Chandra, J. Redox control of leukemia: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* **18**, 1349-1383. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4258> (2013).
- 36 Chandel, N. S. Mitochondria as signaling organelles. *BMC Biol* **12**, 34. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-12-34> (2014).
- 37 Lipshultz, S. E. *et al.* Impaired mitochondrial function is abrogated by dexrazoxane in doxorubicin-treated childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Cancer* **122**, 946-953. <https://doi.org/10.1002/cncr.29872> (2016).
- 38 Wen, Q., Hu, Y., Ji, F. & Qian, G. Mitochondrial DNA alterations of peripheral lymphocytes in acute lymphoblastic leukemia patients undergoing total body irradiation therapy. *Radiat Oncol* **6**, 133. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-6-133> (2011).
- 39 Leahy, J. *et al.* Insight from Mitochondrial Functions and Proteomics to Understand Cardiometabolic Disorders in Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.03.011> (2018).
- 40 Chassaing, B., Ley, R. E. & Gewirtz, A. T. Intestinal Epithelial cell Toll-like Receptor 5 Regulates the Intestinal Microbiota to Prevent Low-grade Inflammation and Metabolic Syndrome in Mice. *Gastroenterology*. [https://doi.org/S0016-5085\(14\)01072-5](https://doi.org/S0016-5085(14)01072-5) [pii] 10.1053/j.gastro.2014.08.033 (2014).
- 41 Qin, J. *et al.* A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* **490**, 55-60. <https://doi.org/nature11450> [pii] 10.1038/nature11450 (2012).
- 42 Le Chatelier, E. *et al.* Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* **500**, 541-546. <https://doi.org/nature12506> [pii]

- 10.1038/nature12506 (2013).
- 43 Wang, J. *et al.* Modulation of gut microbiota during probiotic-mediated attenuation of metabolic syndrome in high fat diet-fed mice. *ISME J.* <https://doi.org/ismej201499> [pii] 10.1038/ismej.2014.99 (2014).
- 44 Cani, P. D. *et al.* Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* **57**, 1470-1481. <https://doi.org/10.2337/db07-1403> (2008).
- 45 Karlsson, F. H. *et al.* Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* **498**, 99-103. <https://doi.org/10.1038/nature12198> (2013).
- 46 Grube, B. J. *et al.* Lipopolysaccharide binding protein expression in primary human hepatocytes and HepG2 hepatoma cells. *J Biol Chem* **269**, 8477-8482 (1994).
- 47 Schroedl, W., Kleessen, B., Jaekel, L., Shehata, A. A. & Krueger, M. Influence of the gut microbiota on blood acute-phase proteins. *Scandinavian journal of immunology* **79**, 299-304. <https://doi.org/10.1111/sji.12161> (2014).
- 48 Parry, S. Fit Statistics commonly reported for CFA and SEM. *Cornell Statistical Consulting Unit: Cornell University* (2017).
- 49 Cangur, S. & Ercan, I. Comparison of model fit indices used in structural equation modeling under multivariate normality. *Journal of Modern Applied Statistical Methods* **14**, 14 (2015).
- 50 Lee, B. C. & Lee, J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta* **1842**, 446-462. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.017> (2014).
- 51 Srikanthan, K., Feyh, A., Visweshwar, H., Shapiro, J. I. & Sodhi, K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *Int J Med Sci* **13**, 25-38. <https://doi.org/10.7150/ijms.13800> (2016).

- 52 Reinehr, T., Stoffel-Wagner, B., Roth, C. L. & Andler, W. High-sensitive C-reactive protein, tumor necrosis factor alpha, and cardiovascular risk factors before and after weight loss in obese children. *Metabolism* **54**, 1155-1161. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.03.022> (2005).
- 53 Berberoglu, M. Evaluation of the correlation between serum tumor necrosis factor-alpha and relative body mass index (RBMI) in childhood. *J Pediatr Endocrinol Metab* **14**, 543-547 (2001).
- 54 Moon, Y. S., Kim, D. H. & Song, D. K. Serum tumor necrosis factor-alpha levels and components of the metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism* **53**, 863-867 (2004).
- 55 Kolb-Bachofen, V. A review on the biological properties of C-reactive protein. *Immunobiology* **183**, 133-145. [https://doi.org/10.1016/S0171-2985\(11\)80193-2](https://doi.org/10.1016/S0171-2985(11)80193-2) (1991).
- 56 Pearson, T. A. *et al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* **107**, 499-511 (2003).
- 57 Giordano, P. *et al.* Endothelial dysfunction and cardiovascular risk factors in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Int J Cardiol* **228**, 621-627. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.11.025> (2017).
- 58 Latoch, E. *et al.* Adipokines and Insulin Resistance in Young Adult Survivors of Childhood Cancer. *Int J Endocrinol* **2016**, 6349134. <https://doi.org/10.1155/2016/6349134> (2016).
- 59 Esbenshade, A. J., Simmons, J. H., Koyama, T., Lindell, R. B. & Friedman, D. L. Obesity and insulin resistance in pediatric acute lymphoblastic leukemia worsens during maintenance therapy. *Pediatr Blood Cancer* **60**, 1287-1291. <https://doi.org/10.1002/pbc.24489> (2013).
- 60 Beauloye, V., Steffens, M., Zech, F., Vermylen, C. & Maiter, D. Characterization of insulin resistance in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia and non-

- Hodgkin lymphoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* **78**, 790-798. <https://doi.org/10.1111/cen.12047> (2013).
- 61 Medina-Bravo, P. *et al.* Decrease in serum adiponectin levels associated with visceral fat accumulation independent of pubertal stage in children and adolescents. *Arch Med Res* **42**, 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2011.03.002> (2011).
- 62 Asayama, K. *et al.* Decrease in serum adiponectin level due to obesity and visceral fat accumulation in children. *Obes Res* **11**, 1072-1079. <https://doi.org/10.1038/oby.2003.147> (2003).
- 63 Sanip, Z., Ariffin, F. D., Al-Tahami, B. A., Sulaiman, W. A. & Rasool, A. H. Obesity indices and metabolic markers are related to hs-CRP and adiponectin levels in overweight and obese females. *Obes Res Clin Pract* **7**, e315-320. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2012.05.002> (2013).
- 64 Marsche, G. *et al.* Adiponectin Predicts High-Density Lipoprotein Cholesterol Efflux Capacity in Adults Irrespective of Body Mass Index and Fat Distribution. *J Clin Endocrinol Metab* **102**, 4117-4123. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00933> (2017).
- 65 Schneider, J. G., von Eynatten, M., Schiekofer, S., Nawroth, P. P. & Dugi, K. A. Low plasma adiponectin levels are associated with increased hepatic lipase activity in vivo. *Diabetes Care* **28**, 2181-2186 (2005).
- 66 Follin, C. *et al.* Associations between Metabolic Risk Factors and the Hypothalamic Volume in Childhood Leukemia Survivors Treated with Cranial Radiotherapy. *PLoS One* **11**, e0147575. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147575> (2016).
- 67 Saddi-Rosa, P., Oliveira, C. S., Giuffrida, F. M. & Reis, A. F. Visfatin, glucose metabolism and vascular disease: a review of evidence. *Diabetol Metab Syndr* **2**, 21. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-2-21> (2010).
- 68 Fukuhara, A. *et al.* Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* **307**, 426-430. <https://doi.org/10.1126/science.1097243> (2005).

- 69 Qin, S. *et al.* [Effects of visfatin gene overexpression on insulin sensitivity in the insulin-resistant rats induced by high-fat diet]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **88**, 365-368 (2008).
- 70 Sun, Q. *et al.* Overexpression of visfatin/PBEF/Nampt alters whole-body insulin sensitivity and lipid profile in rats. *Ann Med* **41**, 311-320. <https://doi.org/10.1080/07853890902729760> (2009).
- 71 Revollo, J. R. *et al.* Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab* **6**, 363-375. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.09.003> (2007).
- 72 Skoczen, S. *et al.* Visfatin concentrations in children with leukemia before and after stem cell transplantation. *Exp Hematol* **42**, 252-260. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2013.12.006> (2014).
- 73 Siviero-Miachon, A. A. *et al.* Visfatin is a positive predictor of bone mineral density in young survivors of acute lymphocytic leukemia. *J Bone Miner Metab* **35**, 73-82. <https://doi.org/10.1007/s00774-015-0728-5> (2017).
- 74 Brouwer, C. A. *et al.* Endothelial damage in long-term survivors of childhood cancer. *J Clin Oncol* **31**, 3906-3913. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.46.6086> (2013).
- 75 Sun, L. *et al.* A marker of endotoxemia is associated with obesity and related metabolic disorders in apparently healthy Chinese. *Diabetes Care* **33**, 1925-1932. <https://doi.org/10.2337/dc10-0340> (2010).
- 76 Troseid, M. *et al.* Plasma lipopolysaccharide is closely associated with glycemic control and abdominal obesity: evidence from bariatric surgery. *Diabetes Care* **36**, 3627-3632. <https://doi.org/10.2337/dc13-0451> (2013).
- 77 Liang, H., Hussey, S. E., Sanchez-Avila, A., Tantiwong, P. & Musi, N. Effect of lipopolysaccharide on inflammation and insulin action in human muscle. *PLoS One* **8**, e63983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063983> (2013).

- 78 Jayashree, B. *et al.* Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem* **388**, 203-210. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1911-4> (2014).
- 79 Creely, S. J. *et al.* Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **292**, E740-747. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00302.2006> (2007).
- 80 Munford, R. S. Detoxifying endotoxin: time, place and person. *J Endotoxin Res* **11**, 69-84. <https://doi.org/10.1179/096805105X35161> (2005).
- 81 Laugerette, F. *et al.* Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **302**, E374-386. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00314.2011> (2012).
- 82 Citronberg, J. S. *et al.* Reliability of plasma lipopolysaccharide-binding protein (LBP) from repeated measures in healthy adults. *Cancer Causes Control* **27**, 1163-1166. <https://doi.org/10.1007/s10552-016-0783-9> (2016).
- 83 Lu, Y. C., Yeh, W. C. & Ohashi, P. S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine* **42**, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.01.006> (2008).
- 84 Kim, J. J. & Sears, D. D. TLR4 and Insulin Resistance. *Gastroenterol Res Pract* **2010**. <https://doi.org/10.1155/2010/212563> (2010).
- 85 Wurfel, M. M., Hailman, E. & Wright, S. D. Soluble CD14 acts as a shuttle in the neutralization of lipopolysaccharide (LPS) by LPS-binding protein and reconstituted high density lipoprotein. *J Exp Med* **181**, 1743-1754 (1995).
- 86 Gonzalez-Quintela, A. *et al.* Determinants of serum concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the adult population: the role of obesity. *PLoS One* **8**, e54600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054600> (2013).

- 87 Lassenius, M. I. *et al.* Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. *Diabetes Care* **34**, 1809-1815. <https://doi.org/10.2337/dc10-2197> (2011).
- 88 Saghafi-Asl, M., Amiri, P., Naghizadeh, M., Ghavami, S. M. & Karamzad, N. Association of endotoxaemia with serum free fatty acids in metabolically healthy and unhealthy abdominally obese individuals: a case-control study in northwest of Iran. *BMJ Open* **7**, e015910. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-015910> (2017).
- 89 Liu, X. *et al.* Lipopolysaccharide binding protein, obesity status and incidence of metabolic syndrome: a prospective study among middle-aged and older Chinese. *Diabetologia* **57**, 1834-1841. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3288-7> (2014).
- 90 Tilves, C. M. *et al.* Association of Lipopolysaccharide-Binding Protein With Aging-Related Adiposity Change and Prediabetes Among African Ancestry Men. *Diabetes Care* **39**, 385-391. <https://doi.org/10.2337/dc15-1777> (2016).
- 91 Kim, K. E. *et al.* Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels as a biomarker of obesity-related insulin resistance in adolescents. *Korean J Pediatr* **59**, 231-238. <https://doi.org/10.3345/kjp.2016.59.5.231> (2016).
- 92 Moreno-Navarrete, J. M. *et al.* Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* **36**, 1442-1449. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.256> (2012).
- 93 Holvoet, P., Lee, D. H., Steffes, M., Gross, M. & Jacobs, D. R., Jr. Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome. *JAMA* **299**, 2287-2293. <https://doi.org/10.1001/jama.299.19.2287> (2008).
- 94 Trpkovic, A. *et al.* Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* **52**, 70-85. <https://doi.org/10.3109/10408363.2014.992063> (2015).
- 95 Kilic, I. D. *et al.* Circulating adhesion molecules and arterial stiffness. *Cardiovasc J Afr* **26**, 21-24. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2014-060> (2015).

- 96 Luc, G. *et al.* Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* **170**, 169-176 (2003).
- 97 Malik, I. *et al.* Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* **358**, 971-976. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06104-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06104-9) (2001).
- 98 Shai, I. *et al.* Soluble intercellular adhesion molecules, soluble vascular cell adhesion molecules, and risk of coronary heart disease. *Obesity (Silver Spring)* **14**, 2099-2106. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.245> (2006).
- 99 Pontiroli, A. E. *et al.* Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol* **150**, 195-200 (2004).
- 100 Zanni, M. V., Stanley, T. L., Makimura, H., Chen, C. Y. & Grinspoon, S. K. Effects of TNF-alpha antagonism on E-selectin in obese subjects with metabolic dysregulation. *Clin Endocrinol (Oxf)* **73**, 48-54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03741.x> (2010).
- 101 Meigs, J. B., Hu, F. B., Rifai, N. & Manson, J. E. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* **291**, 1978-1986. <https://doi.org/10.1001/jama.291.16.1978> (2004).
- 102 Stepanikova, I., Oates, G. R. & Bateman, L. B. Does one size fit all? The role of body mass index and waist circumference in systemic inflammation in midlife by race and gender. *Ethn Health* **22**, 169-183. <https://doi.org/10.1080/13557858.2016.1235681> (2017).
- 103 Wolf, E. J., Harrington, K. M., Clark, S. L. & Miller, M. W. Sample Size Requirements for Structural Equation Models: An Evaluation of Power, Bias, and Solution Propriety. *Educ Psychol Meas* **76**, 913-934. <https://doi.org/10.1177/0013164413495237> (2013).
- 104 Xia, Y. & Yang, Y. RMSEA, CFI, and TLI in structural equation modeling with ordered categorical data: The story they tell depends on the estimation methods. *Behavior research methods* **51**, 409-428 (2019).

- 105 Xia, Y. & Yang, Y. The influence of number of categories and threshold values on fit indices in structural equation modeling with ordered categorical data. *Multivariate Behavioral Research* **53**, 731-755 (2018).
- 106 Marcoux, S. *et al.* The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatr Blood Cancer* **64**. <https://doi.org/10.1002/pbc.26361> (2017).
- 107 Vrooman, L. M. *et al.* The low incidence of secondary acute myelogenous leukaemia in children and adolescents treated with dexrazoxane for acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium. *Eur J Cancer* **47**, 1373-1379. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.03.022> (2011).
- 108 Van den Broeck, J., Willie, D. & Younger, N. The World Health Organization child growth standards: expected implications for clinical and epidemiological research. *Eur J Pediatr* **168**, 247-251. <https://doi.org/10.1007/s00431-008-0796-9> (2009).
- 109 Alberti, K. G., Zimmet, P., Shaw, J. & Group, I. D. F. E. T. F. C. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* **366**, 1059-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67402-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67402-8) (2005).
- 110 National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, E. & Treatment of High Blood Cholesterol in, A. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* **106**, 3143-3421 (2002).
- 111 Katzmarzyk, P. T. Waist circumference percentiles for Canadian youth 11-18y of age. *Eur J Clin Nutr* **58**, 1011-1015. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601924> (2004).
- 112 Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert, C., Goldenberg, R. & Punthakee, Z. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Can J Diabetes* **37 Suppl 1**, S8-11. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2013.01.011> (2013).

- 113 Allard, P. *et al.* Distribution of fasting plasma insulin, free fatty acids, and glucose concentrations and of homeostasis model assessment of insulin resistance in a representative sample of Quebec children and adolescents. *Clin Chem* **49**, 644-649 (2003).
- 114 Stern, R. H. The new hypertension guidelines. *J Clin Hypertens (Greenwich)* **15**, 748-751. <https://doi.org/10.1111/jch.12171> (2013).
- 115 Paradis, G., Tremblay, M. S., Janssen, I., Chiolero, A. & Bushnik, T. Blood pressure in Canadian children and adolescents. *Health Rep* **21**, 15-22 (2010).
- 116 Genest, J. *et al.* 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult - 2009 recommendations. *Can J Cardiol* **25**, 567-579 (2009).
- 117 FOR, E. P. O. I. G. & CHILDREN, R. R. I. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics* **128**, S213 (2011).
- 118 Zimmet, P. *et al.* The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* **8**, 299-306. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2007.00271.x> (2007).
- 119 Griffith, O. W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* **106**, 207-212 (1980).
- 120 Lavoie, J. C. & Chessex, P. Gender and maturation affect glutathione status in human neonatal tissues. *Free Radic Biol Med* **23**, 648-657 (1997).
- 121 Livak, K. J. & Schmittgen, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **25**, 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262> (2001).
- 122 Allison, P. D. *Logistic Regression Using SAS®: Theory and Application, Second Edition*. (SAS Institute 2012).
- 123 Allison, P. D. in *SAS Global Forum*. 1-11.

- 124 Dion, P. A. Interpreting Structural Equation Modeling Results: A Reply to Martin and Cullen. *Journal of Business Ethics* **83**, 365-368 (2008).
- 125 Epskamp, S. semPlot: Unified Visualizations of Structural Equation Models. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **22**, 474-483. <https://doi.org/10.1080/10705511.2014.937847> (2015).
- 126 Kwan, J. L. Y. & Chan, W. Comparing standardized coefficients in structural equation modeling: a model reparameterization approach. *Behavior Research Methods* **43**, 730-745. <https://doi.org/10.3758/s13428-011-0088-6> (2011).
- 127 Hu, L. t. & Bentler, P. M. Cutoff criteria for fit indexes in covariance structure analysis: Conventional criteria versus new alternatives. *Structural equation modeling: a multidisciplinary journal* **6**, 1-55 (1999).

	Total (n = 246)
Sex N (%)	
Male	121 (49.2)
Female	125 (50.8)
Age at interview, years	
Mean (SD)	22.1 (6.3)
Median (range)	21.8 (8.5 – 41.0)
Age at cancer diagnosis, years	
Mean (SD)	6.6 (4.6)
Median (range)	4.8 (0.9 – 18.0)
Time since diagnosis, years	
Mean (SD)	15.5 (5.2)
Median (range)	15.2 (5.4 – 28.2)
CRT exposure N (%)	146 (59.4)
Obesity	80 (32.5)
Insulin resistance	42 (17.1)
Pre-HTN/HTN	30 (12.2)
Dyslipidemia	102 (41.5)
Low HDL-C	57 (23.2)
High LDL-C	43 (17.5)
High TG	30 (12.2)
Metabolic syndrome	22 (9.0)

Table 1. Demographic and clinical characteristics of participants. Metabolic syndrome was defined according to the International Diabetes Federation. CRT cranial radiotherapy; HDL-C high-density lipoprotein-cholesterol; HTN hypertension; LDL-C low-density lipoprotein-cholesterol; SD standard deviation; TG triglycerides.

Biomarker	Median	Range
Biomarkers of inflammation		
Adiponectin (ng/ml) n=176	14.8	1.02 – 43.9
Leptin (µg/ml) n=157	11.3	0.43 – 50.0
Resistin (µg/ml) n=87	4.88	1.03 – 13.3
Visfatin (pg/ml) n=161	81.7	2.39 – 539
IL-6 (pg/ml) n=237	0.36	0.01 – 9.01
TNF-α (pg/ml) n=244	2.06	0.83 – 55.2
PAI-1 (ng/ml) n=145	17.9	0.54 – 155
CRP (mg/l) n=238	1.00	0.00 – 22.0
Biomarkers of oxidative stress		
SOD (U/ml) n=156	105	55.8 – 167
GPx (nmol/min/ml) n=244	632	139 – 1414
GSH (nmol/mg proteins) n=240	42.3	18.6 – 77.1
Ox-LDL (U/l) n=169	53.2	19.3 – 101
Protein carbonyls (nmol/mg) n=87	0.59	0.11 – 1.90
mtDNA (relative gene expression) n=227	4.68	2.15 – 7.56
Biomarkers of endotoxemia		
LPS (ng/ml) n=125	12.5	2.20 – 26.6
LBP (µg/ml) n=244	18.8	4.25 – 48.3
Biomarkers of endothelial function		
ICAM-1 (ng/ml) n=244	537	284 – 1343
VCAM-1 (ng/ml) n=244	695	365 – 1573
E-Selectin (ng/ml) n=79	17.0	2.50 – 43.7

Table 2. Median and range values of each blood biomarkers according to their functional group. CRP C-reactive protein; GPx glutathione peroxidase; GSH glutathione; ICAM-1 intercellular adhesion molecule-1; mtDNA mitochondrial DNA; LBP lipopolysaccharide-binding protein; LPS lipopolysaccharide; Ox-LDL oxidized-low-density lipoprotein; PAI-1 plasminogen activator inhibitor-1; SOD superoxide dismutase; TNF-α tumor necrosis factor-α; VCAM-1 vascular cell adhesion molecule-1.

Biomarker	Obesity		Insulin resistance		Pre-HTN/HTN		Dyslipidemia		MetS		
	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	
	Crude models										
Adiponectin	0.27 (0.14–0.52)	<.0001	0.21 (0.08–0.53)	<0.001	0.73 (0.30–1.81)	0.50	0.36 (0.20–0.67)	0.001	0.08 (0.02–0.46)	0.004	
Leptin	5.65 (2.76–11.6)	<.0001	6.09 (2.25–16.5)	<0.001	0.41 (0.15–1.09)	0.07	1.19 (0.64–2.23)	0.58	1.71(0.61–4.83)	0.32	
Ratio Leptin:Adiponectin	13.9 (6.09–31.7)	<.0001	16.6 (4.29–63.9)	<0.001	0.65 (0.26–1.67)	0.37	2.20 (1.16–4.17)	0.02	6.88 (1.71–27.7)	0.007	
Resistin	1.04 (0.43–2.47)	0.94	2.48 (0.73–8.43)	0.15	1.03 (0.31–3.38)	0.97	1.81(0.77–4.24)	0.17	3.98 (0.89–17.8)	0.07	
Visfatin	0.67 (0.36 – 1.28)	0.22	0.25 (0.10–0.62)	0.003	1.26 (0.5 –3.19)	0.62	0.69 (0.37–1.29)	0.24	0.45 (0.16–1.32)	0.15	
IL-6	1.79 (1.04–3.09)	0.04	0.90 (0.47–1.75)	0.76	1.18 (0.54–2.58)	0.68	1.25 (0.74–2.09)	0.40	1.80 (0.74–4.40)	0.20	
TNF- α	1.86 (1.08–3.20)	0.03	1.81 (0.92–3.56)	0.09	1.02 (0.48–2.17)	0.96	1.10 (0.66–1.83)	0.72	2.85 (1.11–7.37)	0.03	
PAI-1	3.30 (1.64–6.62)	<0.001	3.23 (1.29–8.13)	0.01	1.66 (0.62–4.46)	0.32	2.23 (1.15–4.33)	0.02	2.94 (0.93–9.28)	0.07	
CRP	2.82 (1.57–5.07)	<0.001	3.73 (1.87–7.47)	<0.001	0.97 (0.41–2.28)	0.95	2.71 (1.52–4.83)	<0.00	5.02 (2.03–12.4)	<0.00	
	Adjusted models										
Adiponectin	0.18 (0.09–0.38)	<.0001	0.17 (0.07–0.45)	<0.001	1.04 (0.41–2.66)	0.94	0.34 (0.18–0.66)	0.002	0.07 (0.01–0.38)	0.002	
Leptin	9.57 (3.41–26.9)	<.0001	13.2 (3.68–47.1)	<.0001	0.99 (0.29–3.36)	0.99	1.70 (0.72–4.06)	0.23	3.21 (0.86–11.9)	0.08	
Ratio	15.7 (6.20–39.7)	<.0001	20.6 (5.17–82.1)	<.0001	1.14 (0.4–3.14)	0.81	2.89 (1.34–6.24)	0.007	11.2 (2.58–48.7)	0.001	
Resistin	0.88 (0.34–2.30)	0.80	2.26 (0.65–7.85)	0.20	1.49 (0.42–5.32)	0.54	1.97 (0.74–5.21)	0.17	7.40 (1.29–42.5)	0.03	
Visfatin	0.74 (0.38–1.45)	0.38	0.27 (0.11–0.66)	0.004	0.96 (0.36–2.54)	0.94	0.66 (0.34–1.32)	0.24	0.41 (0.14–1.25)	0.12	
IL-6	1.72 (0.98–3.02)	0.06	0.88 (0.45–1.72)	0.71	1.23 (0.56–2.71)	0.61	1.22 (0.71–2.10)	0.47	1.78 (0.73–4.33)	0.21	
TNF- α	2.34 (1.31–4.18)	0.004	2.13 (1.06–4.29)	0.03	0.83 (0.38–1.81)	0.65	1.22 (0.71–2.10)	0.46	3.40 (1.29–8.94)	0.01	
PAI-1	3.37 (1.61–7.05)	0.001	3.14 (1.25–7.90)	0.02	1.78 (0.64–4.96)	0.27	1.99 (0.98–4.04)	0.06	2.40 (0.76–7.52)	0.13	
CRP	2.21 (1.19–4.09)	0.01	3.27 (1.58–6.79)	0.002	1.53 (0.61–3.82)	0.37	2.61 (1.40–4.86)	0.003	6.52 (2.38–17.9)	<0.00	

Table 3. Associations between biomarkers of inflammation and cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: crude and adjusted models. The crude and adjusted models were assessed between each biomarker and each cardiometabolic outcome. Models were adjusted for CRT exposure, age at diagnosis, time since diagnosis and sex. Odds ratio (non-corrected 95% CI) and p-value are indicated

for each association. Significant associations are in boldface. Bonferroni-adjusted alpha=0.05 / number of biomarkers = 0.05 / 9 = 0.006. Metabolic syndrome was defined according to the International Diabetes Federation. CI confidence interval; CRP C-reactive protein; CRT cranial radiotherapy; HTN arterial hypertension; IL-6 interleukin-6; MetS metabolic syndrome; PAI-1 plasminogen activator inhibitor-1; TNF- α tumor necrosis factor- α .

Biomarker	Obesity		Insulin resistance		Pre-HTN/HTN		Dyslipidemia		MetS	
	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value
Crude models										
GSH	0.55 (0.32–0.95)	0.03	0.71 (0.37–1.39)	0.32	1.08 (0.50–2.33)	0.85	0.79 (0.47–1.32)	0.36	1.35 (0.56–3.29)	0.51
GPx	0.83 (0.49–1.42)	0.50	0.80 (0.41–1.55)	0.50	1.57 (0.73–3.38)	0.25	1.78 (1.06–2.97)	0.03	1.22 (0.52–2.91)	0.65
Ox-LDL	1.31 (0.70–2.44)	0.40	1.39 (0.63–3.06)	0.41	0.82 (0.32–2.05)	0.66	7.89 (3.97–15.7)	<.000	3.08 (1.00–9.55)	0.05
Protein carbonyls	1.04 (0.43–2.47)	0.94	1.72 (0.53–5.58)	0.37	0.49 (0.14–1.69)	0.26	1.26 (0.54–2.92)	0.60	1.52 (0.42–5.57)	0.53
SOD	1.24 (0.65–2.36)	0.52	1.09 (0.49–2.42)	0.84	0.80 (0.32–2.03)	0.64	0.90 (0.48–1.69)	0.75	0.76 (0.27–2.10)	0.59
mtDNA	1.14 (0.65–2.00)	0.64	0.89 (0.44–1.80)	0.74	0.86 (0.39–1.89)	0.71	1.09 (0.64–1.86)	0.75	1.59 (0.61–4.17)	0.34
Adjusted models										
GSH	0.51 (0.29–0.91)	0.02	0.72 (0.36–1.42)	0.34	1.35 (0.61–2.99)	0.46	0.88 (0.51–1.51)	0.65	1.62 (0.65–4.00)	0.30
GPx	0.84 (0.48–1.46)	0.53	0.80 (0.41–1.57)	0.52	1.56 (0.71–3.43)	0.27	1.98 (1.15–3.42)	0.01	1.30 (0.55–3.09)	0.55
Ox-LDL	1.36 (0.71–2.62)	0.35	1.36 (0.61–3.02)	0.46	0.66 (0.25–1.71)	0.39	7.90 (3.80–16.4)	<.000	2.87 (0.93–8.86)	0.07
Protein carbonyls	0.72 (0.28–1.90)	0.51	1.42 (0.42–4.78)	0.58	0.57 (0.16–2.10)	0.40	1.02 (0.40–2.63)	0.96	1.73 (0.42–7.20)	0.45
SOD	1.11 (0.55–2.21)	0.78	0.97 (0.42–2.23)	0.94	1.17 (0.43–3.17)	0.76	0.88 (0.43–1.78)	0.72	0.82 (0.29–2.39)	0.72
mtDNA	1.27 (0.71–2.25)	0.43	0.97 (0.48–1.98)	0.94	0.78 (0.35–1.75)	0.55	1.22 (0.70–2.13)	0.49	1.82 (0.69–4.77)	0.22

Table 4. Associations between biomarkers of oxidative stress and cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: crude and adjusted models. The crude and adjusted models were assessed between each biomarker and each cardiometabolic outcome. Models were adjusted for CRT exposure, age at diagnosis, time since diagnosis and sex. Odds ratio (non-corrected 95% CI) and p-value are indicated

for each association. Significant associations are in boldface. Bonferroni-adjusted $\alpha=0.05 / \text{number of biomarkers} = 0.05 / 6 = 0.008$. Metabolic syndrome was defined according to the International Diabetes Federation. CI: confidence interval; CRT: cranial radiotherapy; GPx: glutathione peroxidase; GSH: glutathione; HTN: arterial hypertension; MetS: metabolic syndrome; mtDNA: mitochondrial DNA; Ox-LDL: oxidized low-density lipoprotein; SOD: superoxide dismutase.

Biomarker	Obesity		Insulin resistance		Pre-HTN/HTN		Dyslipidemia		MetS		
	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	
	Crude models										
LPS	0.60 (0.29–1.24)	0.17	0.91 (0.36–2.31)	0.85	0.88 (0.31–2.54)	0.82	0.80 (0.40–1.62)	0.53	0.39 (0.11–1.45)	0.16	
LBP	2.59 (1.48–4.51)	0.001	2.26 (1.13–4.51)	0.021	0.74 (0.35–1.59)	0.45	2.18 (1.30–3.67)	0.003	2.75 (1.07–7.11)	0.04	
	Adjusted models										
LPS	0.58 (0.27–1.25)	0.16	0.88 (0.34–2.27)	0.80	0.90 (0.29–2.75)	0.85	0.83 (0.39–1.77)	0.62	0.44 (0.12–1.59)	0.21	
LBP	2.03 (1.13–3.65)	0.019	1.77 (0.86–3.66)	0.12	0.99 (0.44–2.23)	1.00	1.92 (1.09–3.37)	0.024	2.60 (0.96–7.06)	0.06	

Table 5. Associations between biomarkers of endotoxemia and cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: crude and adjusted models. The crude and adjusted models were assessed between each biomarker and each cardiometabolic outcome. Models were adjusted for CRT exposure, age at diagnosis, time since diagnosis and sex. Odds ratio (non-corrected 95% CI) and p-value are indicated for each association. Significant associations are in boldface. Bonferroni-adjusted alpha=0.05 / number of biomarkers = 0.05 / 2 = 0.025. Metabolic syndrome was defined according to the International Diabetes Federation. CI: confidence interval; CRT: cranial radiotherapy; HTN: arterial hypertension; LBP: lipopolysaccharide-binding protein; LPS: lipopolysaccharide; MetS: metabolic syndrome.

Biomarker	Obesity		Insulin resistance		Pre-HTN/HTN		Dyslipidemia		MetS		
	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	OR (95 % CI)	<i>p</i> value	
	Crude models										
ICAM-1	2.11 (1.22–3.65)	0.007	2.00 (1.01–3.96)	0.05	1.00 (0.47–2.13)	1.000	1.83 (1.10–3.07)	0.02	3.51 (1.30–9.53)	0.014	
VCAM-1	0.60 (0.35–1.02)	0.06	0.63 (0.32–1.24)	0.18	1.16 (0.54–2.47)	0.70	0.58 (0.35–0.98)	0.04	0.83 (0.35–1.98)	0.68	
E-Selectin	2.44 (0.96–6.20)	0.06	1.03 (0.31–3.42)	0.96	0.71 (0.21–2.40)	0.58	1.42 (0.59–3.47)	0.44	1.62 (0.44–6.00)	0.47	
	Adjusted models										
ICAM-1	2.15 (1.21–3.82)	0.009	1.91 (0.95–3.84)	0.07	1.09 (0.50–2.38)	0.81	1.82 (1.06–3.13)	0.03	3.60 (1.32–9.84)	0.013	
VCAM-1	0.86 (0.47–1.57)	0.62	0.84 (0.40–1.77)	0.65	0.81 (0.35–1.88)	0.62	0.79 (0.44–1.42)	0.43	1.30 (0.50–3.40)	0.583	
E-Selectin	3.41 (1.15 – 10.3)	0.03	1.10 (0.33–3.72)	0.88	0.55 (0.15–2.04)	0.37	1.65 (0.60–4.57)	0.33	1.59 (0.40–6.25)	0.511	

Table 6. Associations between biomarkers of endothelial function and cardiometabolic complications in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: crude and adjusted models. The crude and adjusted models were assessed between each biomarker and each cardiometabolic outcome. Models were adjusted for CRT exposure, age at diagnosis, time since diagnosis and sex. Odds ratio (non-corrected 95% CI) and *p*-value are indicated for each association. Bonferroni-adjusted $\alpha=0.05 / \text{number of biomarkers} = 0.05 / 3 = 0.017$. Metabolic syndrome was defined according to the International Diabetes Federation. CI: confidence interval; CRT: cranial radiotherapy; HTN: arterial hypertension; ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1; MetS: metabolic syndrome; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1.

	Non standardized estimates	Standardized estimates	
	Estimate (95% CI)	Estimate (95% CI)	p value
Loadings of the biomarkers CRP, TNF-α and IL-6 for the latent variable <i>inflammation</i>			
CRP	1.000	0.871 (0.761, 0.981)	< 0.001
TNF- α	0.012 (-0.087, 0.110)	0.012 (-0.086, 0.109)	0.82
IL-6	0.060 (0.031, 0.089)	0.345 (0.219, 0.472)	< 0.001
Regression of <i>inflammation</i> on LBP			
LBP	0.304 (0.245, 0.363)	0.714 (0.604, 0.823)	< 0.001
Regression of obesity on <i>inflammation</i>, sex, age at interview, CRT			
<i>Inflammation</i>	0.097 (0.041, 0.153)	0.324 (0.216, .552)	< 0.001
Sex (M vs F)	-0.248 (-0.607, 0.111)	-0.117 (-0.278, 0.049)	0.17
Age at interview	0.009 (-0.019, 0.038)	0.056 (-0.113, 0.223)	0.52
CRT (Yes vs No)	0.185 (-0.198, 0.567)	0.086 (-0.088, 0.256)	0.34
Regression of dyslipidemia on <i>inflammation</i>, sex, age at interview, CRT			
<i>Inflammation</i>	0.082 (0.024, 0.139)	0.274 (0.099, 0.448)	< 0.01
Sex (M vs F)	0.197 (-0.168, 0.561)	0.093 (-0.079, 0.266)	0.29
Age at interview	0.031 (0.001, 0.062)	0.188 (0.011, 0.365)	0.04
CRT (Yes vs No)	0.125 (-0.247, 0.498)	0.058 (-0.115, 0.231)	0.51
Regression of insulin resistance on <i>inflammation</i>, sex, age at interview, CRT			
<i>Inflammation</i>	0.115 (0.056, 0.173)	0.381 (0.212, 0.549)	< 0.001
Sex (M vs F)	-0.127 (-0.544, 0.290)	-0.060 (-0.255, 0.135)	0.55
Age at interview	0.006 (-0.032, 0.044)	0.037 (-0.187, 0.261)	0.75
CRT (Yes vs No)	0.253 (-0.180, 0.686)	0.117 (-0.079, 0.313)	0.24
Regression of pre-HTN/HTN on <i>inflammation</i> adjusted for sex, age at interview, CRT			
<i>Inflammation</i>	0.014 (-0.085, 0.113)	0.046 (-0.276, 0.367)	0.78
Sex (M vs F)	0.801 (0.239, 1.363)	0.371 (0.142, 0.600)	< 0.01
Age at interview	-0.007 (-0.050, 0.035)	-0.043 (-0.291, 0.205)	0.73
CRT (Yes vs No)	0.234 (-0.270, 0.737)	0.106 (-0.121, 0.333)	0.36
Goodness of fit measures: CFI = 0.997, TLI = 0.997, RMSEA (90% CI) = 0.010 (0.000, 0.056), SRMR = 0.090			

Table 7. SEM estimates of the associations between LBP, *inflammation*, obesity, dyslipidemia, insulin resistance and pre-HTN/HTN. *p* values of non-standardized estimates are not shown as they are almost identical to *p* values of standardized estimates. CRT: cranial radiotherapy; CFI: Comparative Fit Index; HTN: hypertension; LBP: LPS binding protein; RMSEA: Root Mean Square Error of Approximation; SRMR: Standardized Root Mean Square Residual; TLI: Tucker-Lewis Index.

	Non standardized estimates	Standardized estimates	
	Estimate (95% CI)	Estimate (95% CI)	<i>p</i> value
Loadings of the biomarkers CRP, TNF-α and IL-6 for the latent variable <i>inflammation</i>			
CRP	1.000	0.944 (0.767, 1.122)	< 0.001
TNF- α	0.002 (-0.072, 0.076)	0.002 (-0.076, 0.081)	0.95
IL-6	0.051 (0.019, 0.083)	0.322 (0.181, 0.463)	< 0.001
Regression of <i>inflammation</i> on LBP			
LBP	0.297 (0.238, 0.355)	0.649 (0.502, 0.796)	< 0.001
Regression of metabolic syndrome on <i>inflammation</i> adjusted for sex, age at interview, CRT			
<i>Inflammation</i>	0.099 (0.031, 0.168)	0.345 (0.153, 0.537)	< 0.001
Sex (M vs F)	0.397 (-0.143, 0.937)	0.182 (-0.055, 0.418)	0.13
Age at interview	0.045 (-0.004, 0.093)	0.254 (-0.009, 0.517)	0.06
CRT (Yes vs No)	0.131 (-0.513, 0.774)	0.059 (-0.230, 0.347)	0.69
Goodness of fit measures: CFI = 1.000, TLI = 1.042, RMSEA (90% CI) = 0.000 (0.000, 0.043), SRMR = 0.025			

Table 8. SEM estimates of the associations between LBP, *inflammation* and metabolic syndrome. *p* values of non-standardized estimates are not shown as they almost identical to *p* values of standardized estimates. CRT: cranial radiotherapy; CFI: Comparative Fit Index; LB: LPS binding protein; RMSEA: Root Mean Square Error of Approximation; SRMR: Standardized Root Mean Square Residual; TLI: Tucker-Lewis Index.

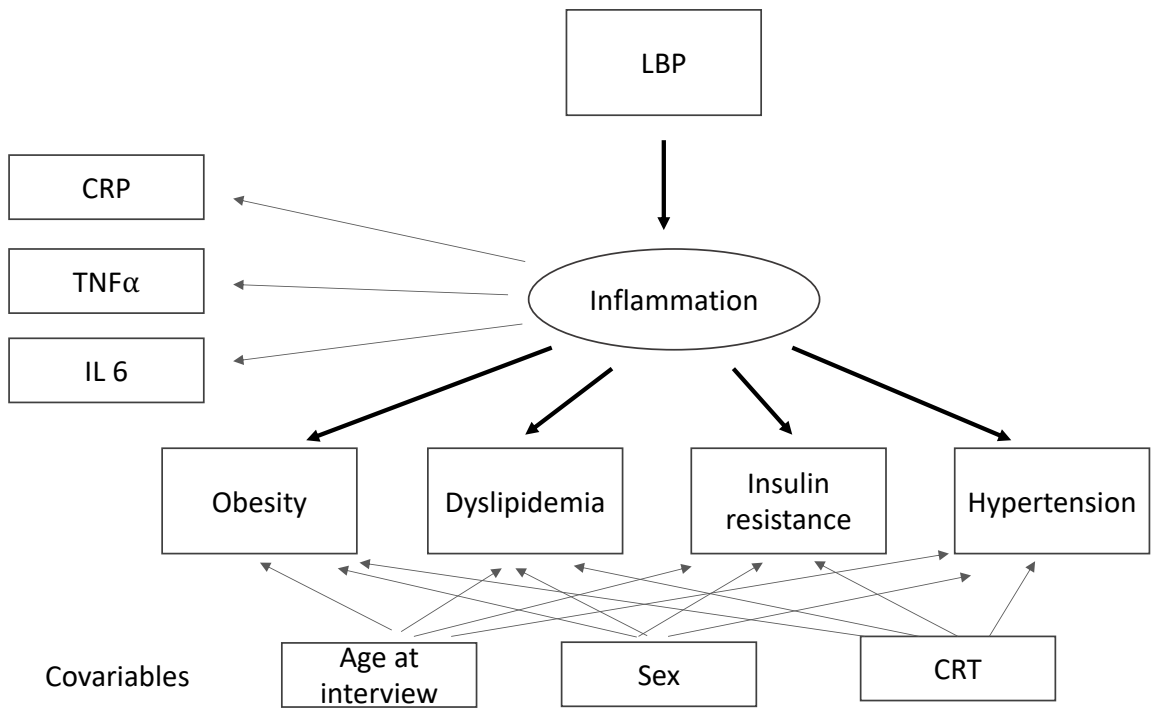


Figure 1. Path diagrams corresponding to structural equation model between LBP (biomarker of endotoxemia), inflammation as latent variable (derived from CRP, TNF- α and IL-6) and cardiometabolic outcomes. The conventional rules of SEM visualization were applied.

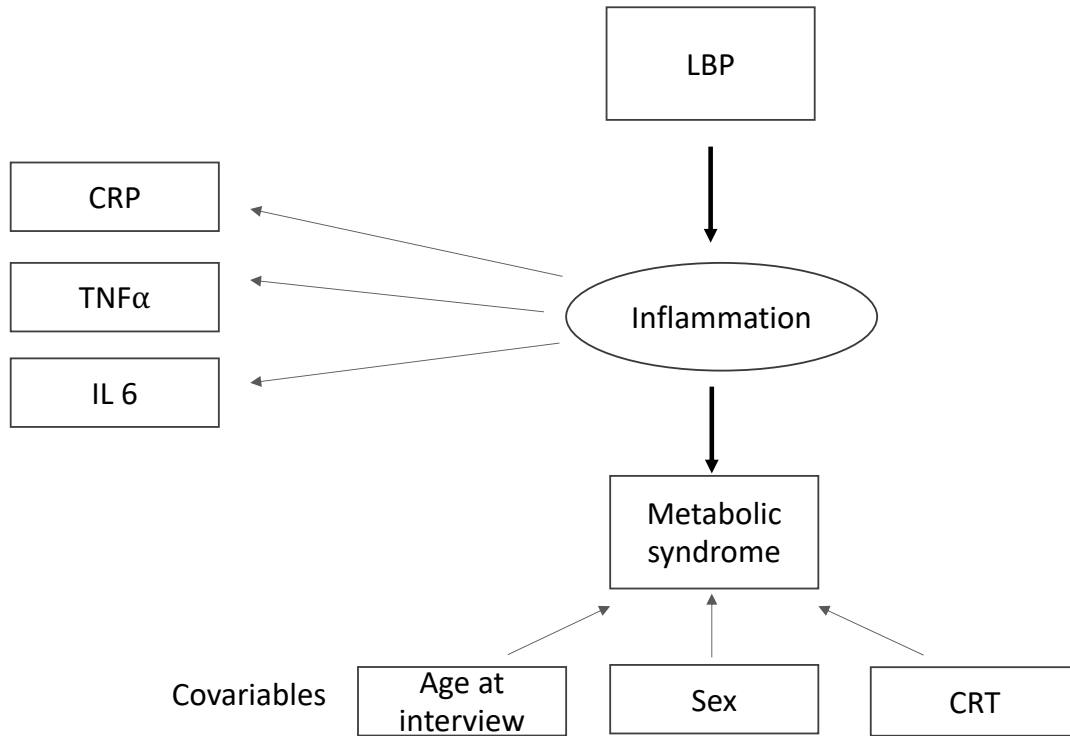


Figure 2. Path diagrams corresponding to structural equation model between LBP (biomarker of endotoxemia), inflammation as latent variable (derived from CRP, TNF- α and IL-6) and metabolic syndrome. The conventional rules of SEM visualization were applied.

8.9 Résultats préliminaires : microbiote intestinal

Contribution de l'étudiante

L'étudiante a coordonné la collecte des échantillons, a préparé les échantillons pour l'extraction et le séquençage de l'ADN, a contribué aux analyses et à l'interprétation des résultats.

Ces résultats répondent à l'objectif spécifique 3.4 et sont présentés sous forme classique.

8.9.1 Caractéristiques cliniques des survivants de la LLA sélectionnés pour l'analyse du microbiote intestinal

Pour l'analyse du microbiote intestinal, nous avons identifié 11 survivants avec un phénotype métabolique extrême (≥ 2 facteurs de risque cardiométabolique) et 11 survivants appariés selon l'âge et le sexe sans complication cardiométabolique. L'analyse de l'âge et de la durée depuis la fin des traitements n'a révélé aucune différence significative entre les survivants de la LLA n'ayant aucun facteur de risque cardiométabolique et les survivants avec un phénotype métabolique extrême. La totalité du groupe des survivants ayant un phénotype cardiométabolique extrême était atteinte d'obésité. La prévalence de la préhypertension et de l'hypertension était de 27 % dans ce groupe. La résistance à l'insuline et la dyslipidémie affectaient une majorité de ce groupe avec 72 % et 91 % respectivement.

Tableau 10. – Caractéristiques cliniques des survivants de la LLA sélectionnés pour l'analyse du microbiote intestinal

	Survivants de la LLA Aucun facteur de risque cardiométabolique	Survivants de la LLA ≥ 2 facteurs de risque cardiométabolique
Total	n= 11	n= 11
Âge (an)	23,5 (5,8)	26,1 (6,4)
Sexe : mâle %	63,6	54,5
Adultes, %	72,7	81,8
Durée depuis la fin des traitements	14,5 (5,3)	17,3 (6,2)
Risque élevé au diagnostic %	45,5	54,5
RTC, %	36,4	72,7
Obésité, %	0	100
Résistance à l'insuline, %	0	72,2
Dyslipidémie, %	0	90,9
Pre/hypertension, %	0	27,3
Adolescents	n= 3	n=2

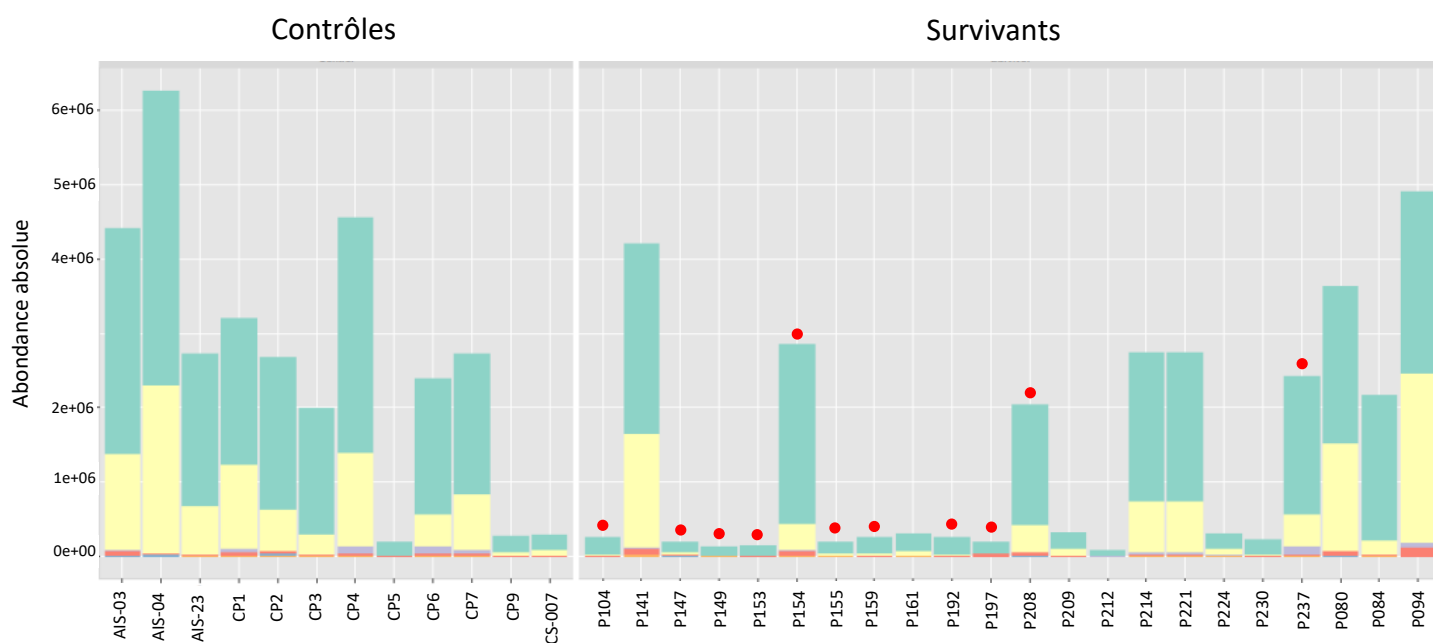
Obésité, %	0	100
Résistance à l'insuline, %	0	0
Dyslipidémie, %	0	100
Pre/hypertension, %	0	50
Adultes	n=8	n=9
Obésité, %	0	100
Résistance à l'insuline, %	0	88,9
Dyslipidémie, %	0	88,9
Pré/hypertension, %	0	22,2

RTC, radiothérapie crânienne.

8.9.2 Résultats : abondance de bactéries intestinales dans un sous-groupe de la cohorte PETALE et un groupe contrôle

L'abondance absolue au niveau des Phylum, normalisée par la concentration d'ADN (mesure semi-quantitative) chez les contrôles et les survivants est montrée à la **Figure 14A**. La même mesure, stratifiée selon le phénotype cardiométabolique des survivants, est illustrée à la **Figure 14B**. On peut observer qu'une grande partie des contrôles (8/11) avaient une abondance de phyla plus grande que les survivants ayant deux facteurs de risque ou plus (8/11) (**Figure 14B**).

A.



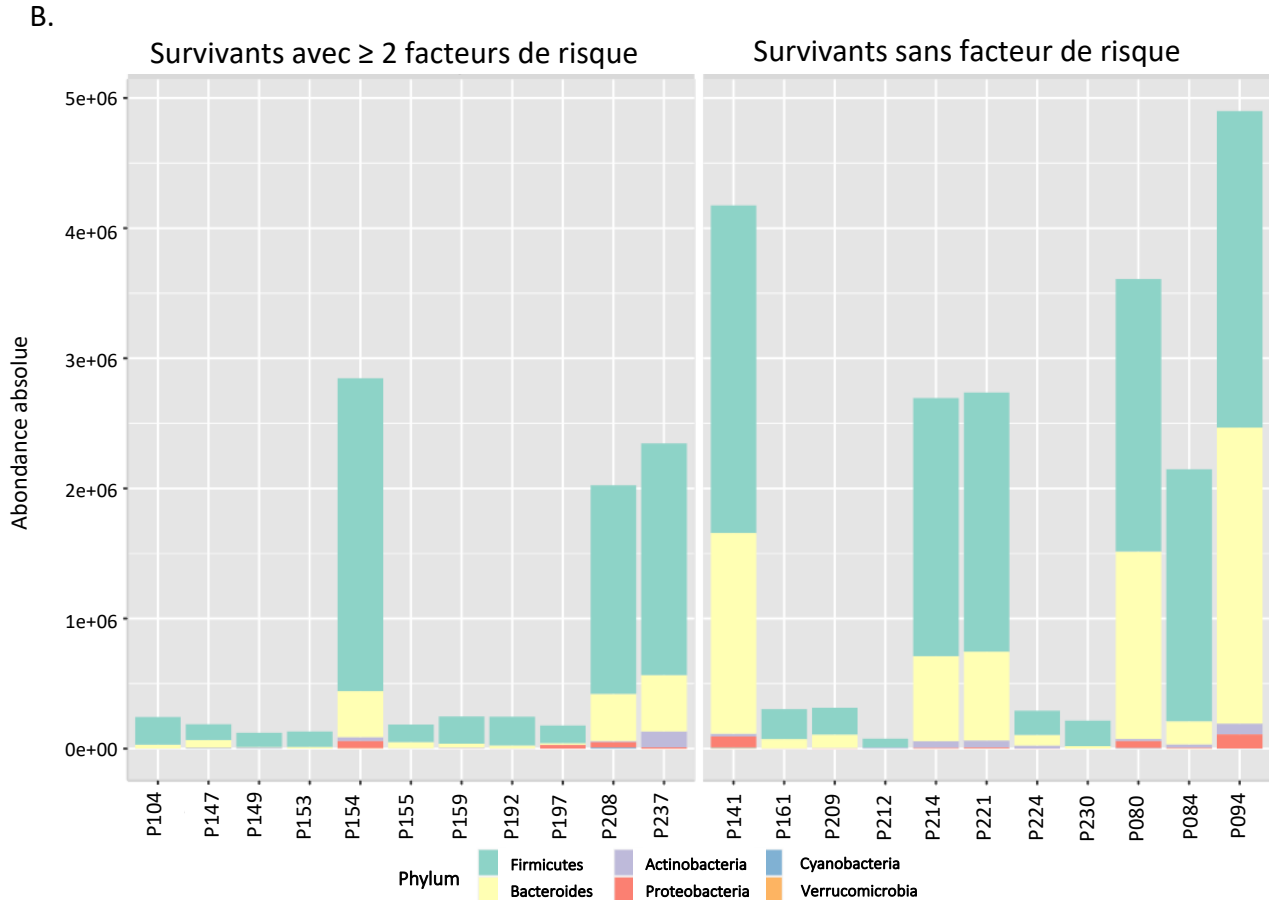


Figure 14. – Représentation de l’abondance absolue de phylum du microbiote intestinal.

A. Représentation de l’abondance de phylum chez 11 contrôles n’ayant pas eu de cancer en comparaison avec 22 survivants de la cohorte PETALE. B. Représentation de l’abondance de phylum chez 11 survivants ayant ≥ 2 facteurs de risque cardiométabolique en comparaison avec 11 survivants sains (0 facteur de risque). La composition du microbiote intestinal (semi-quantitatif) a été établie en tenant compte de la concentration d’ADN des échantillons de selles. Les points rouges dans le graphique A représentent les survivants ayant ≥ 2 facteurs de risque.

8.9.3 Résultats : diversité du microbiote intestinal dans un sous-groupe de la cohorte PETALE et un groupe contrôle

Nous n’avons pas observé de différence au niveau de la diversité alpha entre les contrôles et les survivants peu importe la méthode utilisée (Chao1 ou Shannon) (**Figure 15**). L’indice de Chao1 mesure la richesse en espèces soit le nombre d’espèces (ou OTU) observé dans un échantillon.

L'indice de Shannon mesure la diversité d'un échantillon en tenant compte de la richesse des espèces mais aussi de la régularité de la distribution des espèces (équitabilité – *evenness* en anglais). Par contre nous avons noté une diversité plus grande selon l'indice de Shannon chez les survivants avec un phénotype extrême en comparaison avec les survivants sains mais sans être statistiquement significative.

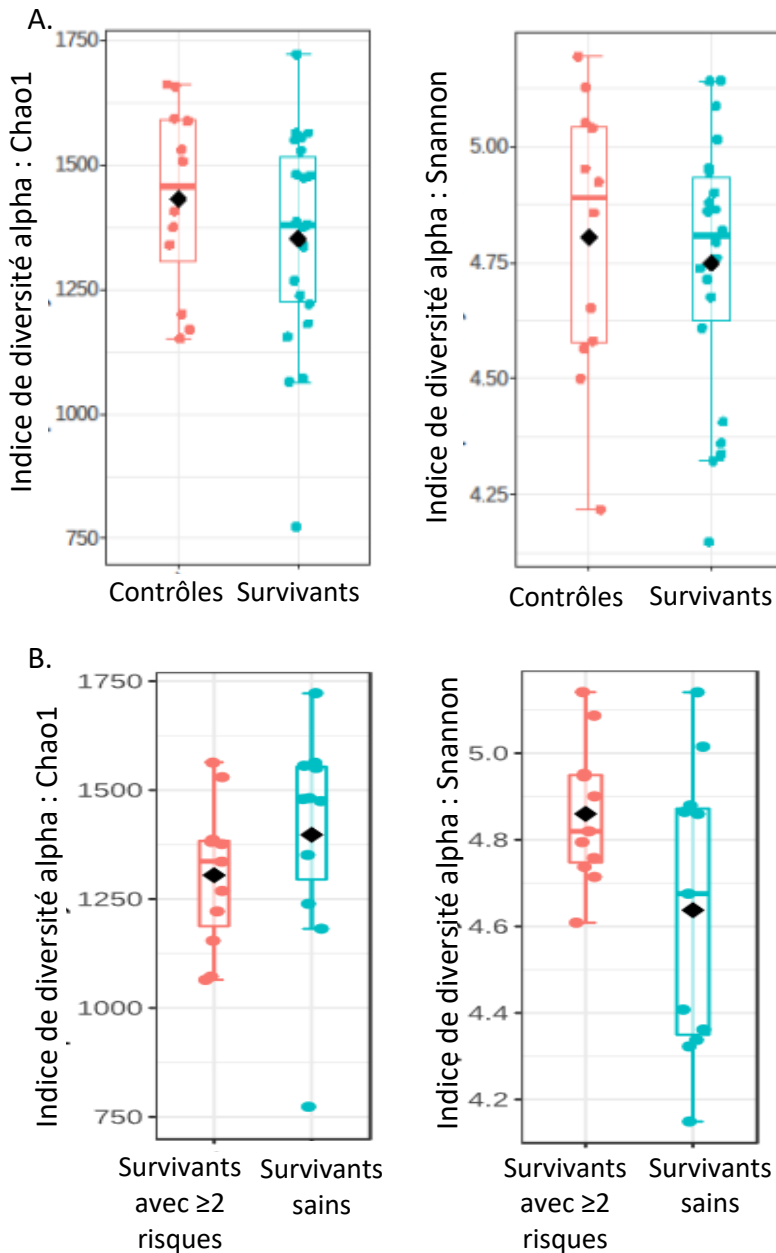


Figure 15. – Comparaison des indices de richesse et de diversité du microbiote intestinal

A. Comparaison des indices de richesse et de diversité du microbiote intestinal entre les contrôles (n=11) et les survivants (n=22) B. Comparaison des indices de richesse et de diversité du microbiote intestinal entre les survivants ayant ≥ 2 facteurs de risque cardiométabolique (n=11) et les survivants sains (0 facteur de risque; n=11). L'indice Chao1 a été utilisé pour mesurer la richesse et l'indice Shannon la diversité. Le losange représente la moyenne et la ligne à l'intérieur du diagramme en boîte représente la médiane.

8.9.4 Résultats : composition du microbiote intestinal chez un sous-groupe de la cohorte PETALE et un groupe contrôle

La carte thermique (**Figure 16**) illustre que la richesse des phyla de 8 survivants sur 11 avec phénotype extrême est inférieure à celle de la plupart des contrôles (8/11) et à plus de la moitié des survivants sains (6/11). La faible abondance du phylum Firmicutes est la plus marquée. Le dendrogramme dans le haut de la carte thermique est repris à la **Figure 17**. Il résulte de l'analyse hiérarchique par grappes de l'abondance bactérienne totale et illustre bien que l'ensemble des individus se séparent en deux groupes distincts.

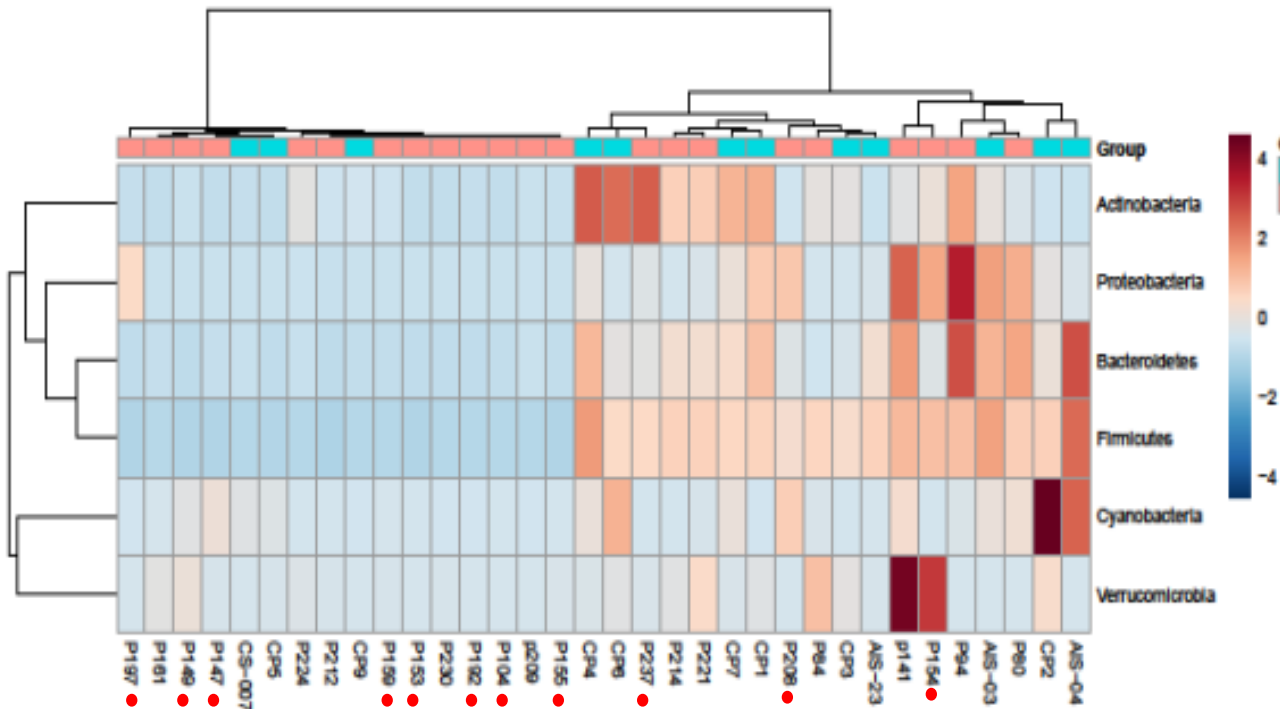


Figure 16. – Carte thermique pour la distance euclidienne de la composition du phylum entre les survivants et les contrôles

L'abondance microbienne a été établie en tenant compte de la concentration d'ADN des échantillons de selles. Les points rouges représentent les survivants ayant ≥ 2 facteurs de risque.

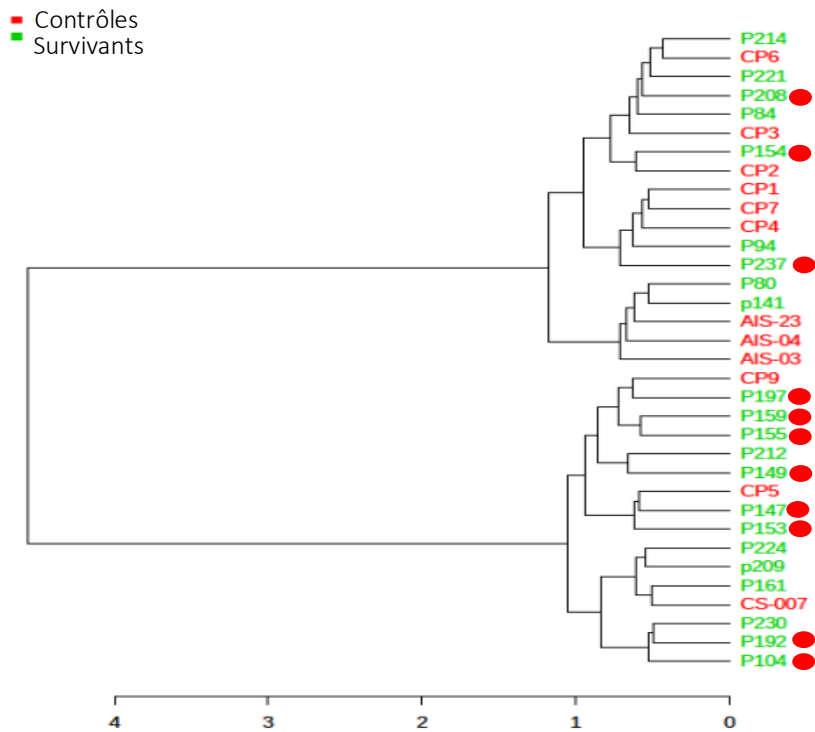


Figure 17. – Analyse hiérarchique par grappes de l’abondance bactérienne chez les survivants et contrôles

Analyse hiérarchique par grappes utilisant un algorithme de similarité de Bray-Curtis et de regroupement de Ward pour les données d’abondance bactérienne qui est normalisé à la somme de toutes les lectures dans chaque échantillon. Les points rouges représentent les survivants ayant ≥ 2 facteurs de risque.

L’abondance du phylum Firmicutes, de sa classe Clostridia, de son ordre Clostridiales (**Figure 18**) et de sa famille *Ruminococcaceae* (**Figure 19**) est plus basse chez les survivants comparativement aux contrôles (**Figure 18**). La significativité statistique est toutefois perdue suite à l’ajustement pour le «false discovery rate» (FDR). Il est à noter que 8 des survivants avec phénotype extrême présentent des quantités les plus faibles pour ces 4 groupes.

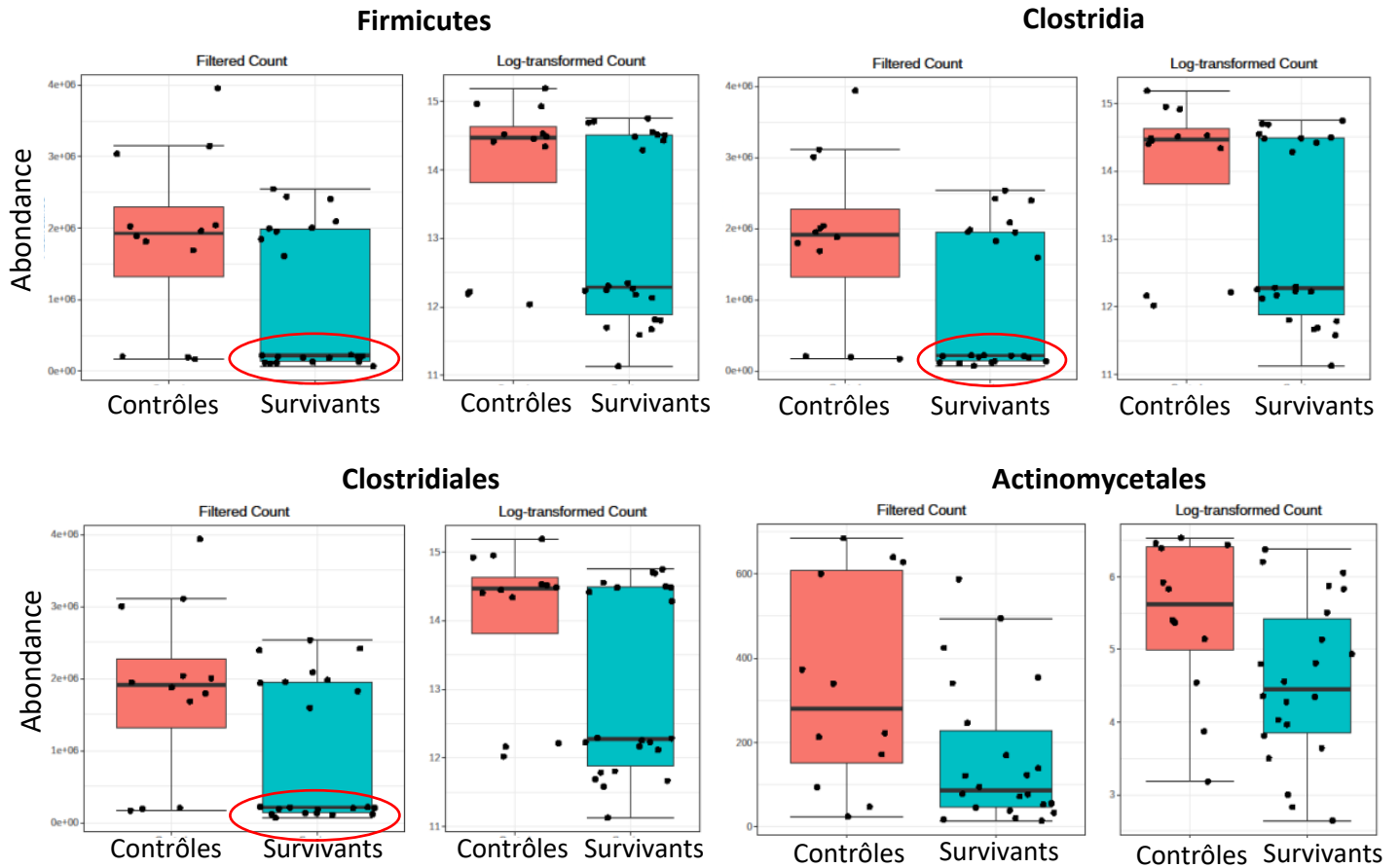


Figure 18. – Différentiel de l'abondance au niveau du phylum, classe et ordre chez les survivants et les contrôles

Les analyses ont été complétées avec l'outil d'analyse MetagenomeSeq. Les valeurs d'abondance ont été normalisées selon la concentration d'ADN. La valeur de p était sous 0,05 pour les comparaisons de l'abondance des phyla, des classes ou ordres bactériens mais la significativité statistique est toutefois perdue suite à l'ajustement pour le «false discovery rate». La zone encerclée du phylum Firmicutes, de sa classe Clostridia et de son ordre Clostridiales inclue 8 survivants ayant 2 facteurs de risque ou plus et 5 survivants sans facteur de risque.

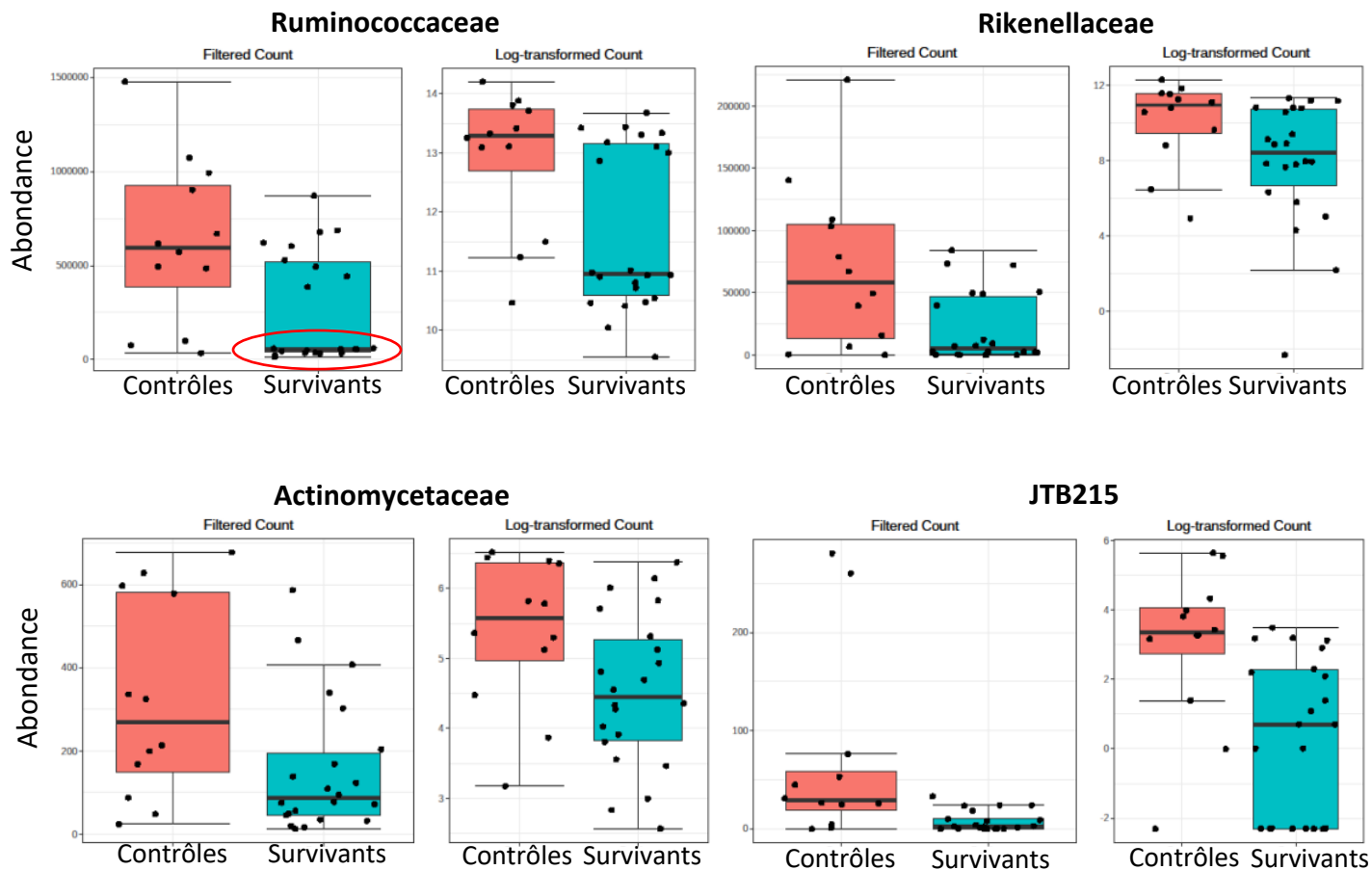


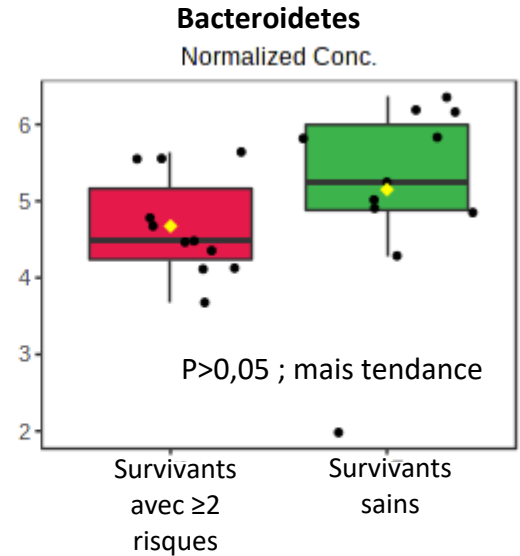
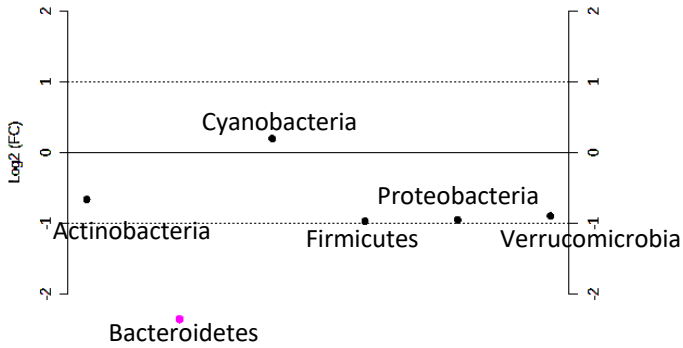
Figure 19. – Différentiel de l'abondance des familles des survivants et des contrôles

Les analyses ont été complétées avec l'outil metagenomeSeq. La valeur de p était sous 0,05 pour les comparaisons de l'abondance des familles bactériennes mais la significativité statistique est toutefois perdue suite à l'ajustement pour le «false discovery rate». La zone encerclée de la famille *Ruminococcaceae* inclue 8 survivants ayant 2 facteurs de risque ou plus et 5 survivants sans facteur de risque.

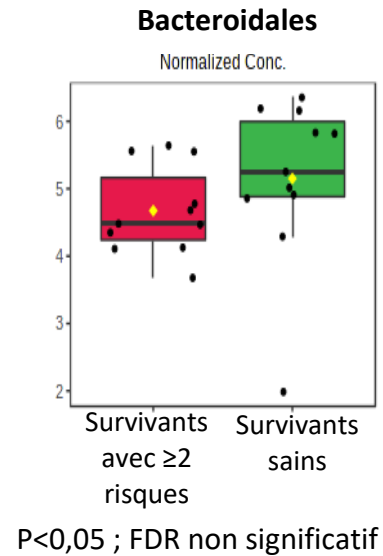
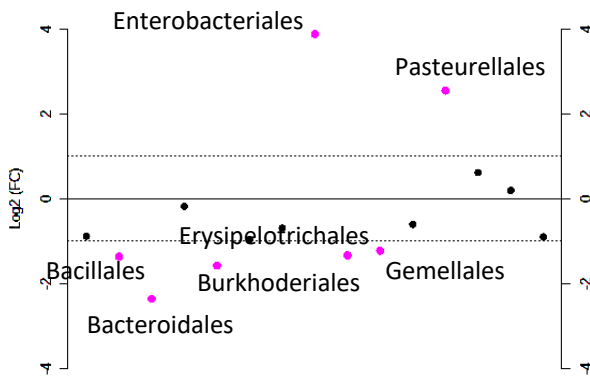
Des comparaisons de l'abondance des phyla, des classes, des ordres et des familles ont été effectuées entre les deux groupes de survivants (**Figure 20**). Peu de résultats statistiquement significatifs ont été trouvés. On trouve toutefois une tendance à la richesse en Bacteroidetes (phylum) et en Bacteroidales (ordre) à être plus basse chez les survivants avec phénotype extrême. Dans les familles, seule l'abondance la Gemellacea était différente entre les deux groupes et ceci avant l'ajustement de la valeur p. Aucune différence n'a été constatée au niveau

des genres, incluant le *F. Praunitzi*, même si des différences ont été observées dans le phylum, classe, ordre et famille auxquels il appartient (Firmicutes, Clostridia, Clostridiales et *Ruminococcaceae*).

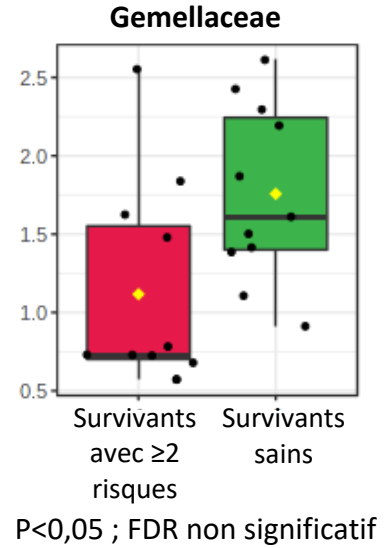
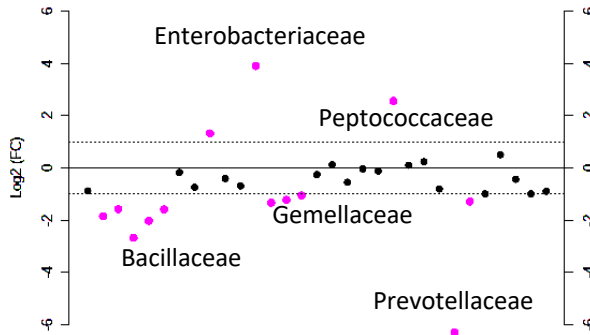
A. Facteurs de changement (abondance des phyla)



B. Facteurs de changement (abondance des ordres)



C. Facteurs de changement (abondance des familles)



D. Facteurs de changement (abondance des genres)

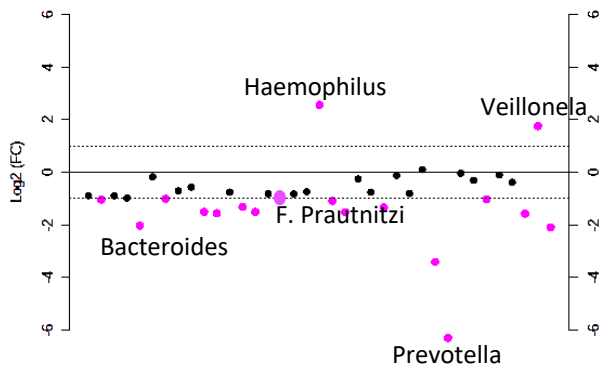


Figure 20. – Comparaison de l'abondance des phyla, ordres, familles et genres bactériens entre survivants ayant un phénotype extrême et survivants sains

Les facteurs de changement (fold change) sont le ratio entre l'abondance du microbiote des survivants ayant 2 facteurs et plus et les survivants sains. A. Comparaison selon l'abondance des phyla. B. Comparaison selon l'abondance des ordres. C. Comparaison selon l'abondance des familles D. Comparaison selon l'abondance des genres. Un diagramme en boîte a été ajouté lorsqu'il avait une différence de l'abondance d'un phylum, d'un ordre ou d'une famille de bactéries entre les deux groupes de survivants. La valeur de p a été ajustée pour le FDR. FDR, false discovery rate.

L'ensemble des analyses a également été complété avec les données normalisées par la biomasse bactérienne de chaque échantillon. Aucun résultat significatif n'a été observé. Les résultats de ces analyses ne sont pas présentés dans cette thèse.

8.10 Résultats préliminaires : modèle murin xénogénique

Contributions de l'étudiante :

En collaboration avec le laboratoire de Dr Elie Haddad, l'étudiante a élaboré le protocole expérimental. Elle a complété l'expérience avec les animaux avec du support pour la greffe de blastes et le sacrifice des animaux. Elle a effectué les analyses et l'interprétation des résultats.

Ces résultats répondent à l'objectif spécifique 3.5 et sont présentés sous forme classique.

8.10.1 Caractéristiques cliniques des souris contrôles et greffées

Les caractéristiques cliniques des souris contrôles et greffées sont présentées dans le **Tableau 11**. On peut constater que le blaste 09-2013 était beaucoup plus agressif en raison de l'atteinte très rapide dans le temps des signes cliniques de la leucémie pour le début du traitement au méthotrexate ou le sacrifice de la souris traitée ou non traitée. Ces résultats montrent que ce blaste n'est pas un candidat pour les expériences subséquentes. À l'inverse, les souris greffées avec le blaste 17-2014 ont survécu 4 semaines après la fin des traitements et avant le sacrifice tel que prévu au protocole. De plus, au moment du sacrifice, ces souris présentaient un niveau de CD45 humain (marqueur de cellules leucémiques) inférieur à 20 %. Il est à noter que l'évolution du poids des souris n'a pas été affectée par la maladie.

Tableau 11. – Caractéristiques cliniques chez les souris NSG contrôles et greffées

Groupe	Âge jour 0 (semaine)	Poids jour 0 (g)	Date début du MTX	Date fin du MTX	Durée après traitement (semaine)	Date du sacrifice	Durée depuis la greffe (jours)	% CD45H semaine du décès	Poids semaine du décès (g)
<i>Blaste 17-2014¹</i>									
L40	8	22,6	∅	∅	∅	15-07	103	63,7	27,9
L41	8	22,6	11-06	26-07	4	23-08	142	17,2	27,7
L42	8	24,6	11-06	26-07	4	23-08	142	17,6	28,4
<i>Blaste 09-2013</i>									
L44	8	21,0	∅	∅	∅	02-05	29	77,1	20,3
L43	8	23,8	24-03	07-06	2	25-06	83	90,1	25,7
L49	8	21,3	24-03	07-06	2	21-06 ²	79	23,2	22,9
<i>Blaste 16-2013</i>									
L68	6.9	21,8	∅	∅	∅	06-06	64	74,5	26,1
L67	6.9	18,8	14-05	28-06	3,5	22-07	110	87,1	27,5

Contrôles

L54	7.7	22,4	NA	NA	NA	23-08	142	0	25,9
L55	7.7	21,2	NA	NA	NA	23-08	142	0	26,6

¹Les souris ont été greffées le 3 avril 2019 avec 3 sources de blaste et 2 souris contrôles avec du salin. ² La souris L49 est morte subitement. Ø, souris greffée, mais non traitée. CD45H, CD45 humain; MTX, méthotrexate.

8.10.2 Mesures des organes au sacrifice des souris contrôles et greffées

Au moment du sacrifice, les différents organes des souris ont été pesés ou mesurés : foie, duodénum, jéjunum, iléon et colon. Il y avait très peu de tissu adipeux mésentérique chez l'ensemble des souris, le poids variait de .17 g à 0 g (aucun tissu adipeux pour 2 souris) (résultats non montrés). Il est à noter que deux souris ayant été greffées avec le blaste le plus agressif (09-2013) présentaient au moment du sacrifice des intestins sanguinolents. Une de ces deux souris (L49) est morte subitement sans avoir une charge de CD45 humain élevée, mais avec une charge de CD45 murin très élevée par rapport aux autres souris. Aucun test n'a pu être effectué sur les tissus collectés de cette souris. Les souris greffées traitées ou non avaient tendance à avoir des foies plus gros que les souris contrôles (**Tableau 12**). Les mesures des sections de l'intestin n'ont pas révélé de différences importantes entre les souris greffées et contrôles.

Tableau 12. – Mesures des organes au sacrifice des souris contrôles et greffées : poids du foie et longueur des différentes sections de l'intestin.

	Contrôles n=2	Greffées				Méthotrexate		Concentration de CD45 au sacrifice	
		Total n=7	17-2014 n=3	09-2013 n=2 ¹	16-2013 n=2	Non-traitée n=3	Traitée n=4 ¹	<20 % n=2	>50 % n=5
Foie (g)	1,03 (0,06)	1,53 (0,12) [†]	1,25 (0,03) [*]	1,48 (0,15)	2,01(0,02) ^{**}	1,48 (0,28)	1,55 (0,14) [†]	1,27 (0,02) [†]	1,63 (0,18) [†]
<i>En cm</i>									
Duodénum	3,4 (0,1)	5,03 (0,55)	4,23 (0,89)	6,0 (0,87) [†]	4,75 (1,25)	5,5 (0,5) [*]	4,74 (0,86)	3,35 (0,15)	5,5 (0,69)
Jéjunum	20,0 (0,25)	18,2 (0,74)	18,6 (0,85)	18,0 (1,5)	18,0 (2,45)	16,2 (0,93) [*]	19,4 (0,52)	18,9 (1,38)	17,7 (1,07)
Iléon	20,0 (0,25)	18,5 (0,6)	18,6 (0,85)	18,3 (1,17)	18,5 (1,95)	16,8 (0,6) [*]	19,4 (0,52)	18,9 (0,66)	18,1 (0,84)

Colon	7,4 (0,2)	9,14 (0,76)	8,5 (0,76)	10,1 (1,99)	8,6 (0,1)*	10,8 (1,64)	8,12 (0,32)	7,76 (0,13)	10,0 (1,02)
-------	-----------	-------------	------------	-------------	------------	-------------	-------------	-------------	-------------

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. ¹La souris L49 morte subitement n'est pas incluse dans les résultats. [†]P<0,1 ; ^{*}P≤0,05 ; ^{**}P≤0,01 versus contrôles

8.10.3 Profil lipidique plasmatique et hépatique des souris contrôles et greffées

Les souris ont été nourries avec une diète régulière (Chow) tout au long de cette expérience. Le profil lipidique à jeun plasmatique et hépatique a été comparé entre les souris contrôles et les souris greffées ainsi qu'entre les différents sous-groupes : (i) source de blaste, (ii) souris traitée ou non et (iii) niveau de CD45 humain. Les résultats des tests statistiques non paramétriques sont présentés dans le **Tableau 13**. Le taux de cholestérol total plasmatique est plus élevé de façon significative chez les souris greffées, traitées et dont la concentration de CD45 au sacrifice était >50%. Les TG plasmatique suit les mêmes tendances que le cholestérol total mais sans résultat significatif. Il est à noter que les souris traitées et ayant un niveau de CD45 inférieur à 20 % présentaient une concentration de TG similaire aux contrôles. Comme on peut observer à la **Figure 21**, les niveaux des lipides plasmatiques, plus particulièrement les TG et les phospholipides sont associés avec les concentrations de CD45 humain (reflète la présence de la LLA) mais n'atteignaient pas la significativité statistique due au petit nombre d'échantillons. La seule différence notable au niveau du foie est le taux des TG inférieur chez les souris ayant un niveau de CD45 >50% en comparaison avec les souris contrôles. Cependant, il est à considérer dans l'interprétation de ce résultat l'écart moyen standard chez les souris contrôles, qui se chiffre à 6,22 ce qui reflète une grande variabilité au niveau des TG chez les deux souris contrôles.

Tableau 13. – Profil lipidique plasmatique et hépatique chez les souris contrôles, greffées traitées et non traitées.

	Contrôles	Greffées			Méthotrexate		Concentration de CD45 au sacrifice		
	n=2	Total n=7	17-2014 n=3	09-2013 n=2 ¹	16-2013 n=2	Non-traitée n=3	Traitée n=4 ¹	<20 % n=2	>50 % n=5
<i>Plasma</i>									
TG	31,8 (5,05)	37,0 (2,15)	33,5 (2,84)	36,5 (4,5)	42,7 (1,4)	41,1 (1,7)	33,9 (2,72)	31,2 (2,8)	39,3 (2,05)
CT	39,7 (2,65)	56,9 (4,14) [†]	58,7 (9,48)	49,3 (1,66) [†]	61,6 (1,99) [*]	62,9 (8,61)	52,3 (2,63) [*]	49,3 (2,32)	59,9 (5,25) [†]
PL	2,2 (0,24)	2,53 (0,16)	2,38 (0,35)	2,42 (0,05)	2,86 (0,14)	2,82 (0,18)	2,31 (0,19)	2,07 (0,28)	2,71 (0,13) [†]
<i>Foie</i>									
TG	12,9 (6,22)	5,76 (1,38) [†]	9,6 (0,39)	2,32 (0,24)	3,44 (0,24)	5,17 (2,07)	6,2 (2,09)	9,77 (0,62)	4,16 (1,31) [†]
CT	2,54 (0,08)	2,5 (0,1)	2,51 (0,01)	2,39 (0,41)	2,6 (0,17)	2,31 (0,17)	2,65 (0,08)	2,51 (0,02)	2,5 (0,15)
CL	1,91 (0,13)	2,03 (0,1)	1,89 (0,03)	2,03 (0,31)	2,27 (0,1)	1,93 (0,13)	2,11 (0,14)	1,87 (0,05)	2,1 (0,12)
CE	0,63 (0,21)	0,47 (0,06)	0,63 (0,04)	0,37 (0,1)	0,33 (0,07)	0,38 (0,11)	0,54 (0,07)	0,64 (0,07)	0,4 (0,06)
PL	166 (6,7)	145 (7,7)	163 (3,6)	143 (10,6)	121 (6,5) [*]	136 (13,7)	152 (8,7)	163 (6,2)	138 (8,6)

Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. ¹La souris L49 morte subitement n'est pas incluse dans les résultats. CE, cholestérol ester ; CL, cholestérol libre ; CT, cholestérol total ; PL, phospholipide ; SEM, erreur standard de la moyenne ; TG, triglycéride. [†]P<0,1 ; ^{*}P≤0,05 versus contrôles.

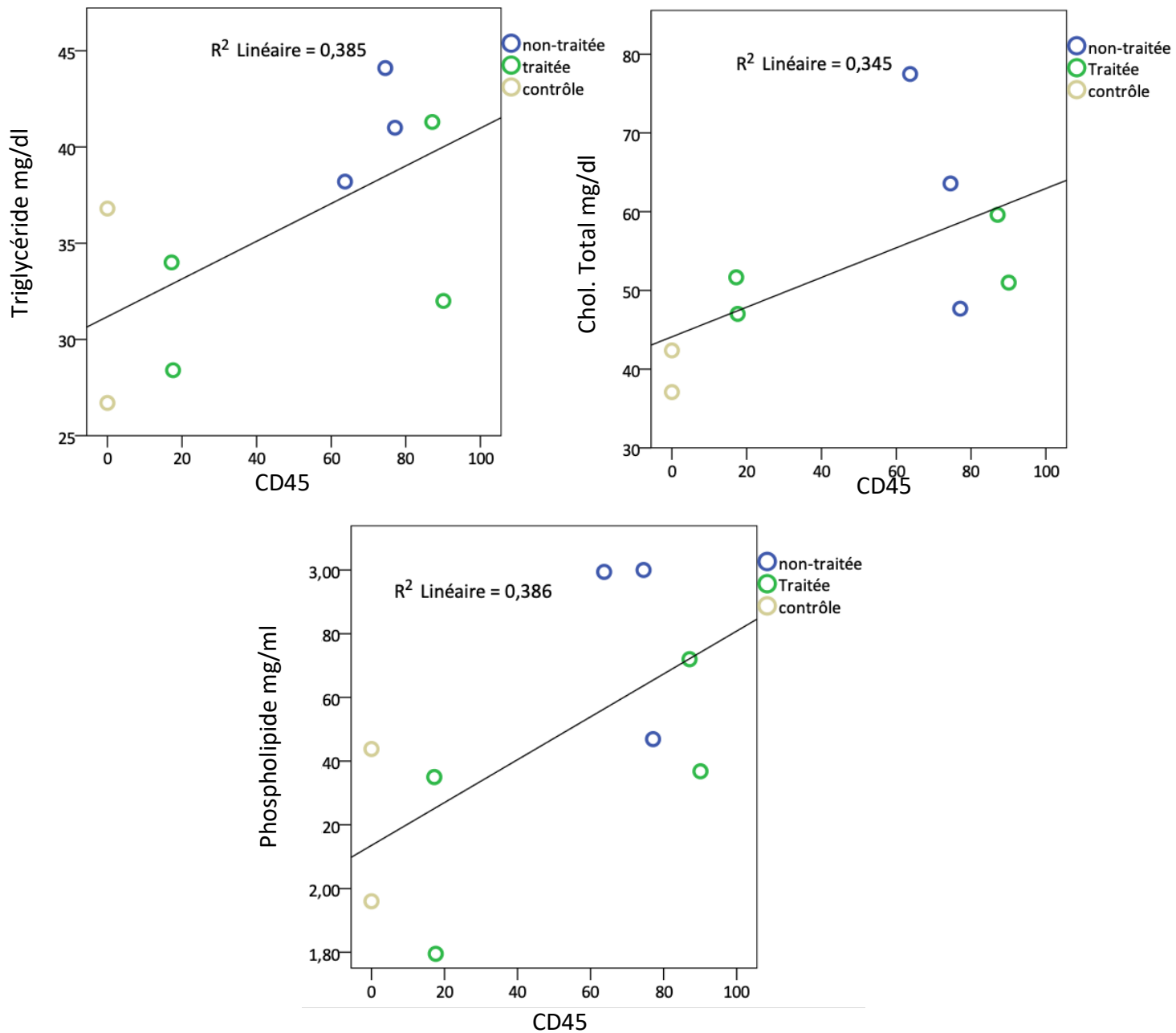


Figure 21. – Association du profil lipidique plasmatique avec le niveau de maladie chez les souris greffées.

Ces résultats de cette étude pilote démontrent la faisabilité d'utiliser ce modèle murin xénogénique de LLA dans le cadre d'étude des mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans le développement des complications cardiométabolique en utilisant pour la greffe, un blaste qui n'est pas agressif (cinétique de plus de 90 jours chez la souris selon ces résultats) avec un nombre suffisant de souris pour les analyses.

9 Discussion

Les survivants de la LLA de l'enfant sont à risque de développer des complications de santé dont les désordres cardiométaboliques. Nos travaux innovateurs à l'aide de la cohorte PETALE ont permis de caractériser l'état de santé cardiométabolique chez une population d'adolescents et de jeunes adultes québécois survivants de la LLA de l'enfant alors que la plupart des études existantes ont visé des cohortes de survivants adultes. De plus, nous avons amélioré notre compréhension de la manière dont le régime alimentaire et les composantes alimentaires affectent cette population, un aspect qui avait été peu étudié jusqu'à présent. L'identification, par nos travaux, de biomarqueurs et de mécanismes biologiques impliquant le microbiote intestinal dans le développement des facteurs de risque cardiométabolique au sein de cette population, en plus d'élargir les connaissances qui sont actuellement limitées, offre de nouvelles pistes pour les recherches futures et permettra d'élaborer de nouvelles stratégies d'intervention.

Plus particulièrement, les travaux inclus dans cette thèse ont permis de (i) mettre en lumière la prévalence élevée des composantes du SM, notamment l'obésité et la dyslipidémie; (ii) révéler les mauvaises habitudes alimentaires des survivants adolescents et jeunes adultes et de démontrer qu'elles affectent leur état nutritionnel et métabolique; (iii) caractériser des sous-groupes de survivants de la LLA les plus susceptibles de développer des complications cardiométaboliques en mettant en évidence les associations entre les biomarqueurs plasmatiques de l'inflammation viscérale, de l'endotoxémie et de la fonction endothéliale et les complications cardiométaboliques; (iv) valider l'hypothèse selon laquelle, l'endotoxémie déclenche un état pro-inflammatoire étroitement associé au développement de complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique; et (v) souligner l'implication de la dysbiose du microbiote intestinal dans les anomalies métaboliques relevées, et élaborer sur le sujet par une revue exhaustive de la littérature.

Finalement, des travaux exploratoires analysant la composition et la diversité du microbiote intestinal chez les survivants métaboliquement sains et de phénotype extrême ont générés des données prometteuses qui serviront à orienter les prochaines études. En outre, la faisabilité

d'utiliser un modèle murin de xénogreffe de la LLA pour étudier les mécanismes biologiques a été démontrée dans le cadre de cette thèse.

9.1 Complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique

L'évaluation de la cohorte de PETALE a mis en évidence la forte prévalence des complications cardiométaboliques chez les adolescents et jeunes adultes survivants et a confirmé un risque cardiovasculaire accru par rapport à la population générale canadienne, ce qui élargit les observations obtenues menées chez les adultes [136,147,152,161,390,394,395] (**Article 1**).

Le SM a été identifié chez 11,7 % (définition de la FID) et 8,6 % (définition du NCEP-ATP III) des adultes (les deux sexes confondus) alors que chez les adolescents, le SM a été identifié seulement chez les garçons (7,3 %; définition de la FID), participants de notre étude. Ces résultats sont comparables à ceux de l'étude française L.E.A. qui a rapporté une prévalence globale du SM de 6,9 % (définition NCEP-ATP III) dans une cohorte relativement jeune (âge moyen de 24,2 ans) [396]. En outre, nous avons constaté que plus de 60 % de notre cohorte présentait au moins un facteur de risque cardiométabolique, approchant à ce que Kourti et coll. avaient observé soit 55,7 % de leur jeune cohorte de survivants de la LLA (âge médian à la visite de 15,2 ans; traités par chimiothérapie sans RTC) avaient au moins un critère du SM (taux élevé de TG, intolérance au glucose et obésité) [397].

Dans la cohorte de PETALE, l'obésité à la fin du traitement était le seul prédicteur de SM qui restait significatif dans le modèle univarié multiple parmi l'exposition à la RTC, le sexe masculin, l'âge à la visite, l'âge au diagnostic, l'obésité à la fin du traitement et le delta de l'IMC entre le début et la fin des traitements. Saultier et coll. ont constaté que l'âge au moment de la visite, le sexe masculin et l'IMC au moment du diagnostic étaient des facteurs de risque du SM dans leur étude et aucun lien n'a été révélé avec l'exposition à la RTC [396]. L'IMC en fin de traitement n'a pas été analysé dans cette étude [396].

À des fins de comparaison, nous avons utilisé les données de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé menée par Statistique Canada cycle 3 (2012-2013) pour sélectionner des

contrôles appartenant au même groupe d'âge que les participants de notre étude. L'échantillon de cette enquête a été sélectionné afin de représenter la population générale du Canada soit environ 96 % des Canadiens âgés de 6 à 79 ans [398,399]. Dans la cohorte PETALE, le risque relatif (RR) pour le SM (définition de la FID) était de 2,23 et n'était significatif que chez les participants exposés à la RTC (RR de 2,50). L'étude de cohorte St Jude Life a identifié un RR de 1,76 de SM par rapport à la population générale et en utilisant la définition du NCEP-ATP III [152]. Comme dans la cohorte de PETALE, ce risque plus élevé n'était significatif que chez ceux qui étaient exposés à la RTC [152].

Bien que nos résultats aient montré qu'une grande partie de la cohorte PETALE était atteinte de surpoids (19,0 %) et d'obésité (32,8 %), le risque n'était pas supérieur à celui de la population générale, même après stratification pour l'exposition à la RTC. En outre, l'obésité n'expliquait pas le risque accru de dyslipidémie, de préhypertension/hypertension ou de LDL-C élevé, car l'ajustement du statut d'obésité ne modifiait pas les résultats, ce qui suggère que l'obésité n'est peut-être pas le mécanisme expliquant leur développement. Conformément à nos résultats, une étude incluant de très jeunes survivants (âge médian de 13,3 ans) a montré que, pour les patients à risque standard (risque de rechute de la LLA au moment du diagnostic), les taux de surpoids et d'obésité n'étaient pas plus élevés que ceux de leurs pairs non cancéreux [400]. Par contre, l'obésité à la fin du traitement de la LLA était un prédicteur important de la présence d'obésité chez les survivants de la cohorte PETALE. De même, Razzouk et coll. [401] ont observé que le jeune âge (<6 ans) et le surpoids ou l'obésité au moment du diagnostic étaient les meilleurs prédicteurs de l'obésité à l'âge adulte dans une étude portant sur 456 survivants de la LLA ou d'un lymphome pédiatrique [401]. Cette étude a conclu que c'est plutôt la catégorie de l'IMC au moment du diagnostic, et non le type de traitement du SNC reçu, qui prédisait le poids à l'âge adulte chez les survivants d'hémopathies malignes pédiatriques. Contrairement à nous, les auteurs n'ont pas analysé l'association avec l'obésité à la fin du traitement.

La prévalence de dyslipidémies dans la cohorte PETALE était particulièrement élevée, affectant plus de 40 % des participants. Ces chiffres sont supérieurs à ceux d'une autre étude réalisée chez de jeunes survivants de la LLA (âge médian de 11,7 ans, étendue : 7-22 ans) qui a constaté que 23,3 % des 60 patients présentaient une dyslipidémie [402]. Nos résultats ont montré que

l'exposition à la RTC et l'âge plus avancé au moment de la visite étaient des prédicteurs de la dyslipidémie, en particulier pour un taux de LDL-C élevé. En outre, les survivants de la LLA de PETALE présentaient un risque plus élevé de dyslipidémie que la population générale, une constatation qui, après stratification selon la RTC, ne demeurait pas statistiquement significative chez ceux ayant reçu la chimiothérapie sans RTC.

Compte tenu de leur jeune âge, la prévalence élevée (20 %) de la préhypertension et de l'hypertension chez les participants masculins de PETALE est préoccupante. Nous avons constaté que le sexe masculin, plutôt que l'exposition à la radiothérapie, était fortement prédictif de l'hypertension. La prévalence de l'hypertension dans d'autres études allait de 8,3 à 36,7 %, dans lesquelles l'impact du sexe n'était pas mentionné [8,396,402,403]. Nous avons également observé un risque accru de préhypertension et d'hypertension par rapport à la population générale, qui est demeuré statistiquement significatif après avoir inclus dans le modèle l'obésité comme covariable. Tout comme l'étude PETALE, l'étude sur la cohorte de St Jude Lifetime a révélé un risque plus élevé par rapport aux contrôles (RR de 4,23) et pour le sexe masculin (RR de 1,23) [152]. Les résultats d'une cohorte française de survivants de la LLA chez l'enfant ont également indiqué le sexe masculin [Rapport de cotes (RC)=3,47] et l'âge à la dernière évaluation (RC=1,08 pour chaque année de suivi supplémentaire) comme facteurs de risque d'hypertension artérielle [396]. Bien que l'étiologie de l'hypertension chez les survivants adultes de la LLA pédiatrique ne soit pas entièrement comprise, on pense que le système cardiovasculaire des enfants en développement est très sensible aux effets toxiques des agents chimiothérapeutiques [403] qui pourraient directement ou indirectement endommager l'endothélium vasculaire [404,405]. En outre, même si nous avons constaté que le risque de préhypertension ou d'hypertension était plus élevé chez les survivants exposés à la RTC, le RR était proche de la signification statistique pour les participants non exposés, ce qui suggère que l'exposition à la RTC et les agents chimiothérapeutiques contribuent tous deux au risque.

Plusieurs études ont soutenu que les survivants de la LLA chez l'enfant sont exposés à un risque accru de DT2 [147,152,154]. La prévalence du prédiabète était faible dans la cohorte de PETALE (n=8 participants), étant donné le jeune âge moyen de la cohorte, ce qui a empêché des associations significatives et causé des problèmes de convergence dans les multiples modèles

statistiques. Cependant, l'âge au moment de la visite était marginalement associé au prédiabète. Dans l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé, la prévalence de prédiabète était trop faible dans le groupe d'âge à l'étude afin que nous puissions utiliser ces données selon les politiques de confidentialité de Statistique Canada. Cependant, nous pouvons présumer une très faible prévalence de prédiabète dans la population générale dans le groupe d'âge d'intérêt.

Il est à noter que dans la cohorte de PETALE, seuls les survivants exposés à la RTC présentaient un risque cardiométabolique plus élevé que la population générale. La RTC a été proposée comme un facteur contribuant au développement des complications cardiométaboliques [14,152]. Cependant, d'autres études ont indiqué que la chimiothérapie seule pouvait favoriser ces effets tardifs. La prévalence de la résistance à l'insuline [147], l'obésité [21] et d'autres facteurs de risques cardiovasculaires [147] a été trouvée supérieure chez les jeunes adultes ayant survécu à la LLA que chez les contrôles, que les survivants aient été exposés ou non à la RTC.

La prévalence de la dyslipidémie dans la cohorte de PETALE a été évaluée en un premier temps selon des paramètres lipidiques classiques : TG, HDL-C et LDL-C. Cependant, la dyslipidémie athérogène ne se résume pas seulement à des anomalies du profil lipidique. La composition des lipoprotéines et le profil des Apo sont autant importants pour définir les risques d'athérosclérose. Le deuxième article visait à approfondir la caractérisation de la dyslipidémie chez les participants de la cohorte PETALE pour mieux évaluer leur risque d'athérosclérose (**Article 2**).

Nous avons observé des différences dans les concentrations plasmatiques d'Apo entre les survivants de la LLA avec et sans dyslipidémie et les contrôles sains. Principalement, les niveaux d'Apo B-100 dans le plasma étaient plus élevés alors que les concentrations d'Apo A-I étaient réduites, entraînant une augmentation du rapport B-100/A-I chez les survivants de la LLA avec et sans dyslipidémie. Ce rapport déséquilibré entre les particules d'Apo B-100 potentiellement athérogènes et les particules d'Apo A-I anti-athérogènes est un prédicteur de risque cardiovasculaire établi [114,128]. Il est à souligner que ce rapport déséquilibré a été observé autant chez les survivants dyslipidémiques que non dyslipidémiques.

À notre connaissance, avant cet article (**Article 2**), aucune information n'était disponible sur la composition des lipoprotéines en lipides et en Apo dans le contexte de la survie à la LLA

pédiatrique. Les résultats révèlent des variations dans la teneur de diverses lipoprotéines. Chez les sujets atteints de dyslipidémie et en particulier d'hypertriglycéridémie, nous avons trouvé des VLDL avec une fraction protéique réduite et enrichie en TG et cholestérol libre. Le ratio du contenu du noyau (TG et cholestérol estérifié) et de la membrane extérieure (cholestérol libre, protéine et phospholipide) des VLDL était donc plus élevé ce qui reflète une taille des particules plus grande. Bien que le mécanisme précis conduisant à l'hypertriglycéridémie dans la cohorte PETALE soit inconnu, le ratio plus faible de l'Apo B-100/TG chez les survivants dyslipidémiques pourrait indiquer une production accrue de VLDL de grandes tailles plutôt qu'une biogenèse accrue du nombre de particules VLDL par le foie. Les concentrations élevées d'Apo C-II et de C-III observées dans le plasma et également dans les VLDL peuvent ralentir la dégradation des VLDL riches en TG. Si, à des concentrations modérées, l'Apo C-II représente un activateur de la LPL pour la lipolyse des VLDL, son excès (comme nous l'avons observé chez les survivants de la LLA) peut entraver l'activité de la LPL et la clairance des VLDL, entraînant une hypertriglycéridémie [133]. De plus, comme l'Apo C-III est un inhibiteur bien connu de la LPL, des niveaux plus élevés suggèrent un retard dans l'élimination des lipoprotéines riches en TG de la circulation [406-408]. Dans l'ensemble, ces modifications de la composition des VLDL peuvent affecter leur catabolisme et expliquer l'hypertriglycéridémie chez les survivants de la LLA.

Nos résultats ont aussi montré d'importantes altérations de la composition et de la taille des HDL₂, et de la distribution de ses Apo, chez les survivants dyslipidémiques et non dyslipidémiques. Les HDL₂ étaient enrichies en TG et plus pauvres en phospholipides, un indicateur de particules de plus grandes tailles. Le rapport Apo A-I/A-II était sensiblement réduit, et une tendance à la hausse a été constatée dans le rapport Apo C-II/C-III. Toutes ces modifications peuvent compromettre le rôle protecteur des HDL contre les MCV. Des niveaux plus élevés d'Apo A-II ont été associés à un potentiel pro-athérogène [409] et prédit l'incidence du SM et du DT2 [410]. De plus, des chercheurs ont souligné les fonctions opposées des Apo A-I et A-II : la première était plus efficace pour améliorer le transport inverse du cholestérol et activer la LCAT, tandis que la seconde présentait des effets inhibiteurs pernicieux [411-413].

Le risque élevé de dyslipidémie chez les jeunes survivants est préoccupant, d'autant plus qu'une étude américaine a rapporté que seulement 5,7 % des adolescents survivants de la LLA ont été

soumis à un dépistage lipidique [414]. Selon nos conclusions, étant donné le risque accru de dyslipidémie, cette population devrait faire l'objet d'un suivi rigoureux. Il est donc important de définir les facteurs de risque de dyslipidémie pour améliorer le dépistage hâtif des survivants de la LLA avec un suivi précoce et approprié basé sur le risque.

L'état de santé cardiométabolique des jeunes survivants de la LLA définit dans les articles 1 et 2, confirme la nécessité d'étudier leur état nutritionnel et leur diète ainsi qu'identifier des biomarqueurs des complications cardiométaboliques ce qui permettra de développer des stratégies de prévention ciblées pour prévenir les complications à long terme et personnaliser le suivi.

9.2 Nutrition et complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique

Afin d'étudier l'état nutritionnel et les apports alimentaires des participants de l'étude PETALE, un outil adapté à cette population était requis. Nous avons donc développé et validé un QFA spécifique aux survivants de la LLA du Québec (**Article 3**). Le résultat final consistait en un QFA comprenant 190 items dont au moins 106 comportaient des sous-questions pour décrire plus précisément la nature des aliments consommés. Ce questionnaire permet d'évaluer la diète habituelle, les nutriments favorisant la santé des os et la défense antioxydante.

Dans le cadre du processus de validation du QFA, de bons coefficients de corrélation ont été obtenus entre le QFA administré par une nutritionniste et le JA-3j complété par les participants pour la plupart des nutriments. Les coefficients de corrélation sont généralement plus élevés pour les QFA administrés par un interviewer que pour les QFA auto-administrés [415,416]. La liste d'aliments précise et complète de notre questionnaire et son adaptation aux habitudes alimentaires de la population ont contribué à sa bonne précision. De plus, pour limiter les biais liés aux variations saisonnières des régimes alimentaires [417], les participants devaient rapporter leur consommation alimentaire des deux derniers mois.

Les apports en nutriments ajustés en fonction de l'énergie ont été calculés pour les deux outils afin de réduire l'effet confondant de l'apport énergétique total sur des nutriments spécifiques.

Nous avons constaté que, pour les glucides, les protéines et les micronutriments, les corrélations étaient légèrement influencées par l'apport énergétique total, tandis que les coefficients de corrélation des nutriments astreints aux lipides étaient amoindris. Les coefficients de corrélation trouvés entre les nutriments ajustés en fonction de l'énergie dérivés des QFA et des JA-3j étaient comparables aux résultats d'une revue de la littérature (entre 0,4 et 0,7) [417], à l'exception des lipides et des nutriments reliés aux lipides (acides gras saturés, mono-insaturés et polyinsaturés) pour lesquels les coefficients étaient plus faibles dans notre étude. Cependant, les résultats des autres analyses statistiques complétées (classification en quartiles, coefficient kappa pondéré) reliés aux lipides soutiennent l'utilisation du QFA pour classer les apports en lipides au sein d'un groupe.

Par rapport au JA-3j, les valeurs moyennes des apports en macro- et micronutriments ont été surestimées par notre QFA, à l'exception des nutriments liés aux lipides. Les différences étaient inférieures à 20 % pour tous les macronutriments. Ces résultats concordent avec de nombreuses études de validation des QFA qui ont fait état de surestimations des apports en énergie et en nutriments par rapport aux journaux alimentaires ou aux rappels de 24 heures [418-428]. Cependant, d'autres groupes ont signalé une sous-estimation des apports en énergie et en nutriments [305,416,429,430]. À notre connaissance, une seule étude a visé à valider un QFA spécifique aux survivants du cancer chez les enfants [429]. À l'inverse de nos conclusions, le QFA a révélé une sous-estimation substantielle des apports alimentaires par rapport aux rappels alimentaires répétés de 24 heures. Toutefois, cette comparaison est biaisée par la petite taille de l'échantillon (seulement 16 participants âgés de 5 à 22 ans), une population différente de la nôtre (Américains et Canadiens français), avec des divergences dans les critères d'inclusion et de l'utilisation de rappels de 24 heures comme outil de référence [429] au lieu de journaux alimentaires.

Nous avons constaté des différences plus importantes entre les QFA et les JA-3j pour les micronutriments que pour les macronutriments. Si des aliments contenant des micronutriments spécifiques n'ont pas été consommés pendant les jours couverts par le JA-3j, il en résulte probablement une faible corrélation avec les QFA. De plus, la liste détaillée des fruits et légumes

dans le QFA pourrait expliquer les surestimations observées pour la vitamine A, la vitamine C et les fibres alimentaires.

Comme l'indiquent Willet & Lenart, la reproductibilité fait référence à la cohérence des mesures du questionnaire lors de plusieurs administrations à la même personne à des moments différents, étant donné que les conditions ne sont jamais identiques lors d'administrations répétées [431]. Alors qu'un minimum de 3 évaluateurs et un échantillon de 30 personnes ont été suggérés pour les études de fiabilité [432], les coefficients de corrélation intraclasse obtenus dans nos analyses de reproductibilité ont été jugés modérés à bons malgré la présence de deux évaluateurs et d'un échantillon de 29 personnes. Comme l'indique Cade et al, des coefficients de corrélation de 0,5 à 0,7 entre deux administrations d'une QFA sont habituels [415]. Nos résultats ont dépassé 0,7 pour la plupart des nutriments testés, même si un an en moyenne sépare l'administration des deux QFA.

En conclusion, les résultats obtenus confirment la reproductibilité et la précision du QFA développé pour classer correctement les individus en fonction de leur consommation alimentaire. Cet outil s'est avéré essentiel dans la poursuite de nos travaux. Les données obtenues avec le QFA validé ont donc été utilisées pour les analyses de l'état nutritionnel et des apports alimentaires des participants de la cohorte PETALE en association avec la dyslipidémie, la santé osseuse ainsi que les complications cardiométaboliques, le profil métabolique et inflammatoire.

Apports de macro- et micronutriments et niveaux de HDL-C

Les principales conclusions du quatrième article (**Article 4**) sont l'identification d'une association inverse entre un apport alimentaire élevé de macro- et micronutriments spécifiques et le risque de présenter des taux de HDL-C faibles chez les survivants de la LLA : protéines, sélénium, zinc, cuivre, riboflavine et niacine. De plus une consommation plus élevée de viande (y compris de viande rouge et blanche), en tant que groupe d'aliments, était inversement associée au risque d'avoir un taux de HDL-C faible, tandis que la restauration rapide était associée positivement avec ce risque.

À ce jour, peu d'études ont évalué la relation entre le régime alimentaire et les complications cardiométaboliques chez les survivants d'un cancer pédiatrique et aucune n'avait examiné

spécifiquement les associations avec le HDL-C. Le non-respect des recommandations alimentaires chez les adultes ayant survécu à une LLA pédiatrique était traduit par une consommation excessive de sucre et de gras et par une consommation insuffisante de céréales complètes, de légumes et de fruits [185,291]. Des habitudes alimentaires inadéquates ont également été observées dans la cohorte PETALE. Par exemple, les participants consommaient chaque jour en moyenne plus d'une portion de restauration rapide alors qu'ils consommaient moins de 0,5 portion de céréales complètes et seulement 2 portions de fruits et 3 portions de légumes. Dans la population générale, les apports en protéines, folate et magnésium ont été associés à des taux plus élevés de HDL-C [299,433]. La consommation d'alcool et d'acide myristique (14:0), un gras saturé contenu entre autres dans le beurre et fromage, a également été associée à des taux de HDL-C plus élevés, tandis que les glucides et le fer ont été associés à des taux de HDL-C plus faibles [299]. Un essai clinique a montré qu'un régime alimentaire riche en glucides complexes, en remplacement des gras (principalement les gras mono-insaturés), n'avait pas d'impact sur les concentrations de HDL-C [434]. Cependant, il a augmenté la dégradation de plusieurs protéines structurelles des HDL telles que l'Apo A1, Apo A2 et Apo E [434]. Nous n'avons pas observé d'association entre les apports en glucides ou en lipides, les protéines étant le seul macronutriment associé au HDL-C au sein de la cohorte PETALE.

Dans notre étude, un IMC élevé a été associé à un risque de présenter des taux de HDL-C bas. La sécrétion d'adipokines pro-inflammatoires (par exemple PAI-1, TNF- α , IL-6, résistine) [216] par le tissu adipeux contribue au développement de la résistance à l'insuline, du diabète et de la dyslipidémie [248]. La relation entre l'obésité abdominale et un faible taux de HDL-C a été démontrée dans plusieurs études [435-438]. Il est à noter que dans notre étude, l'activité physique modérée à vigoureuse n'a pas été associée au taux de HDL-C dans les modèles de régression logistique. Cette conclusion est contraire à de nombreux rapports montrant que l'activité physique a un impact positif sur le profil lipidique [439,440] et en particulier sur le taux de HDL-C [440-443]. Cependant, les données de l'Enquête sur la santé en Angleterre et en Écosse n'ont révélé aucune association statistiquement significative entre l'inactivité physique et un faible taux de HDL-C [444].

Un apport plus élevé en protéines a été inversement associé à un risque de présenter des taux de HDL-C faibles. Cependant, l'apport en protéines était supérieur à l'ANR tant pour les participants ayant un taux de HDL-C faible que normal. L'ANR de 0,8 g de protéines/kg de poids corporel représente la consommation minimale de protéines nécessaire pour éviter une carence pouvant entraîner une perte progressive de la masse musculaire chez les adultes en bonne santé [445,446]. Des études antérieures ont fait état de résultats comparables dans la population générale. Dans une étude utilisant les données de la NHANES 2001-2010, l'apport habituel en protéines variait de 0,69 à 1,51 g/kg de poids corporel et un régime alimentaire plus riche en protéines était associé à des taux de HDL-C plus élevés [433]. Les mécanismes par lesquels l'apport en protéines pourrait élever les concentrations de HDL-C sont encore inconnus, mais il a été proposé que leurs propriétés, autres que le contenu énergétique, pourraient être responsables de leur effet bénéfique [433].

Dans notre étude, seuls deux groupes d'aliments ont été associés aux taux de HDL-C : la restauration rapide et la viande. De même, dans une étude prospective qui s'est déroulée sur une période de 20 ans chez de jeunes adultes (25-42 ans à la première rencontre), les participants du quartile le plus élevé de consommation de restauration rapide, par rapport au quartile le plus bas, étaient en moyenne 5,7 kg plus pondéreux (95 % IC : 2,1 - 9,2 ; p = 0,002), avaient un tour de taille plus élevé de 5,3 cm (95 % IC : 2,8 - 7,9 ; p < 0,001) et avaient un taux de HDL-C inférieur de 0,14 mmol/L (95 % IC : -8,3 - 2,6 ; p < 0,001) [447]. La viande fournit des protéines de haute qualité, des acides aminés essentiels et des micronutriments tels que le fer, les vitamines A et B12, le zinc, le sélénium et l'acide folique. Cependant, les données probantes suggèrent que les régimes alimentaires riches en viande rouge (bœuf, porc, agneau et veau) et en viande transformée (fumée, salée ou en conserve) sont associés au développement de MCV [448,449], mais cela reste controversé [450-453]. L'impact d'une consommation hebdomadaire de 200 et 500 g de viande rouge maigre non transformée dans le cadre d'un régime méditerranéen a été évalué dans le cadre de deux essais contrôlés, croisés et randomisés de 5 semaines [454]. À la fin de l'intervention, il n'y avait aucune différence dans la diminution du taux de HDL-C entre les deux régimes [454]. Une méta-analyse d'essais contrôlés randomisés a conclu que la consommation de $\geq 0,5$ portion de viande rouge/jour n'influence pas le taux de HDL-C [455]. Dans notre étude,

les participants ont consommé en moyenne 0,44 portion de viande rouge par jour (33 g/par jour ou 231 g/par semaine). Le groupe alimentaire de la viande comprenait la viande rouge, la viande blanche et la viande transformée. La stratification de l'analyse selon les trois sous-groupes de viande n'a pas révélé d'association ou de tendance significative, probablement en raison du manque de puissance statistique. Des études supplémentaires sont nécessaires dans de grandes cohortes de survivants de la LLA pédiatrique pour confirmer et comprendre l'association entre la consommation de la viande et le niveau de HDL-C.

Une méta-analyse en réseau d'interventions nutritionnelles a classé 10 grands groupes d'aliments (céréales raffinées, céréales complètes, fruits et légumes, noix, légumineuses, œufs, produits laitiers, viande rouge, poisson et boissons sucrées) en fonction de leurs effets sur les paramètres cardiométaboliques, y compris le HDL-C [456]. Le poisson a été classé premier pour son effet sur l'augmentation du taux de HDL-C, avant les noix, les œufs, la viande rouge, les céréales raffinées et les céréales complètes, qui se sont également révélées efficaces pour augmenter le HDL-C [456]. Les légumineuses ont été classées en dernier, après les boissons sucrées. Bien que ces résultats soient conformes à nos conclusions pour le groupe des aliments à base de viande, nous n'avons pas observé d'association entre la consommation de poisson, de noix, de céréales complètes et raffinées et le taux de HDL-C dans la cohorte PETALE. La taille de l'échantillon pourrait contribuer à expliquer l'absence d'association. De même, dans notre étude, le groupe alimentaire des légumineuses, composé de protéines végétales (légumineuses et tofu), n'a pas été associé au HDL-C dans le modèle de régression logistique. Cela pourrait s'expliquer en partie par le fait que la consommation quotidienne moyenne de légumineuses était très faible (médiane du groupe de 0,03 portion/jour).

Le sélénium, le zinc, le cuivre, la riboflavine et la niacine sont des minéraux et des vitamines contenus principalement dans les aliments riches en protéines. Les produits céréaliers, les légumineuses, les noix, la viande, le poisson, les produits laitiers et les œufs sont les principales sources de ces micronutriments. Une association inverse a été trouvée entre les apports de l'ensemble de ces minéraux et vitamines et le risque de présenter des taux de HDL-C bas. Pour quatre de ces cinq nutriments, l'apport de densité moyenne (g/1000 kcal) était nettement plus faible chez les survivants de la LLA ayant un taux de HDL-C faible. Cependant, les apports étaient

supérieurs ou très proches de 100 % de l'ANR pour tous les participants. De même, l'Enquête nationale américaine NHANES (2007-2010) a fait état d'une faible prévalence d'un apport insuffisant pour toutes les vitamines B et pour plusieurs minéraux, dont le cuivre, le phosphore, le sélénium et le zinc [457].

Certaines des principales fonctions de ces micronutriments sont liées au métabolisme, à la transcription des gènes (ex. : zinc et la transcription des récepteurs des hormones stéroïdiennes) et à l'équilibre oxydatif [458]. Le sélénium, un oligométal, est connu pour sa capacité antioxydante qui est attribuée à son intégration dans les sélénoprotéines telles que la GPx [459]. À notre connaissance, la relation entre les apports élevés de sélénium et les taux de HDL-C n'a pas été étudiée ailleurs. Cependant, l'impact des niveaux sanguins de sélénium ou de la supplémentation en sélénium sur le HDL-C est contradictoire : une étude a rapporté une association positive [460] alors que d'autres n'ont trouvé aucune relation [461-463].

Le zinc est une composante structurelle des protéines et participe à plusieurs fonctions cellulaires, notamment la prolifération et la différenciation des cellules, la synthèse de l'ARN et de l'ADN, la stabilisation des membranes cellulaires, l'équilibre redox et l'apoptose [464]. Une méta-analyse a mis en évidence que la supplémentation en zinc chez l'homme réduit les niveaux de HDL-C de 0,05 mmol/L (IC à 95 % : -0,74-4,98) par rapport au placebo, mais sans atteindre la signification statistique ($p = 0,15$) [465]. Cependant, chez les participants dont le métabolisme est altéré, la supplémentation en zinc a augmenté le taux de HDL-C (0,16 mmol/L, 95 % IC : 2,38-9,92, $p < 0,05$) [465]. Selon ces études, des apports élevés en zinc pourraient démontrer un effet bénéfique particulièrement chez les personnes en mauvaise santé métabolique.

Le cuivre est essentiel pour diverses enzymes qui catalysent les réactions d'oxydoréduction, notamment la SOD [466]. Une supplémentation en cuivre (5 mg/jour) pendant 45 jours chez 73 patients hypercholestérolémiques (26-46 ans) a réduit le cholestérol total, les LDL-C et les TG et a légèrement augmenté le HDL-C [467]. Cependant, dans une étude incluant des hommes en bonne santé ayant un statut en cuivre adéquat, la supplémentation en cuivre n'a pas affecté les profils lipidiques [468]. Étant donné que les survivants de cancer pédiatrique sont exposés à un risque de complications métaboliques [142,150,154,156], l'impact de la consommation de cuivre sur le HDL-C pourrait être plus important que pour les populations saines.

La riboflavine, ou vitamine B2, est essentielle au fonctionnement des systèmes hématologique, neurologique, cardiovasculaire et endocrinien en raison de son rôle dans le métabolisme mitochondrial et énergétique [469]. Une étude utilisant les données de la Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2015-2016 (n = 6062 ; ≥19 ans) a abouti à des conclusions conformes aux nôtres : un faible apport en riboflavine (<1,5 mg/jour) chez les hommes était associé à un faible taux de HDL-C (OR : 1,362, 95 % IC : 1,017-1,824, p = 0,038) [469]. Cependant, dans notre cohorte, les apports en riboflavine de tous les participants étaient supérieurs à l'ANR.

La niacine est un terme collectif désignant l'acide nicotinique et ses dérivés, tels que la nicotinamide. L'acide nicotinique est une vitamine soluble qui appartient au groupe des vitamines B [470]. Les doses pharmacologiques d'acide nicotinique influencent le profil lipidique en augmentant le HDL-C et en réduisant les TG, le LDL-C et la lipoprotéine (a) [471]. De plus, un apport alimentaire plus faible en vitamines niacine, riboflavine, thiamine, B6 et vitamine C a été associé à une augmentation de la gravité des maladies coronariennes [472]. Cependant, la relation entre l'apport alimentaire en niacine et le HDL-C n'a pas été évaluée ailleurs, à notre connaissance.

Notre étude soutient un effet bénéfique potentiel des protéines alimentaires, de la viande, du sélénium, du zinc, du cuivre, de la riboflavine et de la niacine, et un effet délétère de la restauration rapide sur le HDL-C chez les survivants de la LLA. Ce travail fournit des éléments fondamentaux qui contribuent à notre compréhension du rôle de la nutrition dans le développement de la dyslipidémie chez cette population. Ces résultats et le risque accru de dyslipidémie chez les survivants soutiennent la nécessité de poursuivre la recherche visant l'état nutritionnel en association avec la dyslipidémie.

Statut nutritionnel en vitamine D

Malgré un apport relativement faible en vitamine D, la prévalence de l'insuffisance ou de la carence en vitamine D n'était pas plus élevée chez les participants de PETALE que dans la population générale canadienne.

Selon les données cumulées à partir des QFA, les apports en vitamine D ont été évalués (**Article 5**). L'évaluation nutritionnelle révèle que les trois quarts des survivants ont un apport total en

vitamine D inférieur au besoin moyen estimé (400 UI/j). Par contre, une grande proportion d'entre eux ont un apport en calcium supérieur au besoin moyen estimé [473]. L'apport relativement faible en vitamine D est quelque peu inattendu. L'hypothèse à priori de l'étude était que les survivants seraient plus enclins à suivre les recommandations en lien avec l'apport en vitamine D, étant plus susceptibles de développer des morbidités musculo-squelettique. Nos résultats ressemblent à ceux d'autres études menées dans d'autres populations canadiennes [474,475]. D'autre part, la prévalence d'un apport insuffisant en vitamine D (inférieur à 400 UI/j) observée dans la cohorte PETALE est similaire à celle rapportée par Zhou et coll. [476] pour les femmes et les hommes de 25 ans et plus. Contrairement à l'apport en vitamine D, nous avons observé un faible pourcentage de participants (26,4 %) dont les concentrations sériques de 25OHD₃ sont considérées comme insuffisantes (25OHD₃ ≥30 - <50 nM) et 6,4 % comme déficientes (25OHD₃ <30 nM). Par conséquent, contrairement à notre hypothèse de travail initiale, la prévalence de l'insuffisance ou de la carence en vitamine D n'est pas plus élevée chez les participants de la cohorte PETALE que dans la population générale canadienne [477,478]. Nos résultats diffèrent de ceux d'une étude de taille similaire menée auprès de jeunes patients atteints de cancer, dans laquelle 24,6 % des participants présentaient une carence en vitamine D. Cependant, le seuil différent pour définir la carence en vitamine D (<37,5 nM) explique en partie cette différence [283]. La classification du statut nutritionnel en vitamine D est basée sur les besoins requis pour une santé osseuse adéquate qui sont établis selon la concentration sérique de 25OHD₃. Selon l'Institut de Médecine, ce seuil se situe à 50nM de 25OHD₃ [479]. Cependant, les experts ne s'entendent pas tous sur cette valeur. Un groupe américain, la Société endocrinienne et un groupe européen, la Fondation internationale d'ostéoporose ont plutôt statué un seuil de 25OHD₃ à 75 nM pour une santé optimale [480,481]. En utilisant cette valeur seuil, 75 % des participants de la cohorte PETALE, seraient classés comme en insuffisance en vitamine D, ce pourcentage étant similaire à celui de la population canadienne en général [478].

Il a été démontré dans la cohorte PETALE, comme d'autres l'ont fait [482-484], que l'adiposité définie à partir de l'IMC est une variable explicative des concentrations sériques de 25OHD₃. Ceci est particulièrement évident lorsque l'on compare les participants obèses aux non obèses. Bien qu'une tendance de relation inverse entre le taux de 25OHD₃ et le pourcentage de graisse

corporelle ou le tour de taille ait été trouvée, celle-ci ne s'est pas avérée statistiquement significative. Ceci est contraire aux observations de Hannemann et coll. relevées dans une vaste étude épidémiologique portant sur plus de 7000 hommes et femmes [485]. Ils ont rapporté que le tour de taille et le pourcentage de graisse corporelle étaient inversement liés aux concentrations sériques de 25OHD₃. La petite taille de l'échantillon de la cohorte PETALE et de larges intervalles de confiance pourraient expliquer les résultats différents.

Suite à nos travaux pour déterminer l'état nutritionnel en vitamine D, nous avons vérifié si celui-ci était associé aux composantes du SM. Nous avons observé, uniquement chez les femmes, une association marquée entre les concentrations de HDL-C et de 25OHD₃, ce qui confèrerait à la vitamine D un effet cardioprotecteur dépendamment du sexe. En fait, les résultats obtenus supportent un rôle modeste de la vitamine D dans le métabolisme des lipides chez les survivants de la LLA pédiatrique.

Qualité de la diète et santé cardiométabolique

La qualification de l'alimentation à l'aide de 7 scores nutritionnels (**Article 6**) a révélé que les survivants de la LLA pédiatrique de la cohorte PETALE adhéraient peu à la diète méditerranéenne, respectaient peu les recommandations nutritionnelles de l'OMS et, selon le score HEI-2015, la qualité de leur alimentation devait être améliorée. En moyenne, plus de la moitié de l'apport énergétique quotidien des participants était fournie par des aliments ultra-transformés. Il a également été constaté que les résultats des scores alimentaires étaient associés à plusieurs paramètres cardiométaboliques, à savoir les taux de HDL-C et de TG, le HOMA-IR, l'hypertension et l'accumulation de facteurs de risque cardiométaboliques. La qualité de l'alimentation était également associée aux taux de TNF- α et d'adiponectine en circulation.

Il est bien documenté que, dans la population générale, le respect des recommandations alimentaires et la qualité du régime alimentaire sont sous-optimaux [486]. Il semble que les survivants de cancers pédiatriques ne fassent pas exception. Il a été montré que les survivants de la LLA pédiatrique respectent mal les recommandations alimentaires [185,295,296]. Entre autres, les survivants consomment une grande quantité de sucres libres, d'aliments transformés et raffinés, de sodium et peu de fruits et légumes [185,295]. Étant donné que les survivants du

cancer chez les enfants ont un risque accru de maladies métaboliques et cardiovasculaires [211] et de cancer secondaire [487], l'adhésion à des habitudes alimentaires saines devrait être encouragée dans cette population.

Les associations entre l'alimentation et la dyslipidémie observées sont en accord avec notre hypothèse qu'une alimentation a le potentiel de diminuer ou d'augmenter le risque de développer une dyslipidémie chez les survivants de la LLA. Une meilleure adhérence à une diète méditerranéenne chez les adultes de notre cohorte (déterminée par le score MEDAS) a été inversement associée au risque d'avoir un faible taux de HDL-C. Au contraire, des associations positives ont été constatées avec un régime plus pro-inflammatoire (déterminé à l'aide du score E-DII™ [488,489]) et une consommation plus importante d'aliments ultra-transformés. Une telle association inverse a été trouvée entre le score E-DII et le taux de HDL-C dans une population adulte américaine [490]. Nous avons également observé qu'une plus grande contribution des aliments ultra-transformés à l'apport énergétique total était associée à un taux élevé de TG. Différents aliments ou nutriments peuvent contribuer au rôle bénéfique de l'alimentation dans la prévention de la dyslipidémie chez les survivants de la LLA. En autres, plusieurs composantes alimentaires faisant partie d'une diète riche en fruits, en légumes, en céréales complètes, en gras insaturés peuvent améliorer la fonction des HDL. Par exemple, les polyphénols contenus dans l'huile d'olive peuvent augmenter le transport inverse du cholestérol et la taille des particules, favoriser une meilleure stabilité en réduisant la teneur en TG et améliorer le statut redox [491]. De plus, de fortes doses d'acide eicosapentaénoïque augmentent le transport inverse du cholestérol et améliorent les fonctions anti-inflammatoires et antioxydantes des HDL [492].

Nous avons précédemment démontré que les participants de notre cohorte présentaient un risque accru de préhypertension et d'hypertension par rapport à la population générale (risque relatif de 2,59) (**Article 1**). Nous avons observé qu'une meilleure adhérence à la diète méditerranéenne chez les enfants (mesuré par le score KIDMED) et aux recommandations nutritionnelles de l'OMS pour prévenir des maladies chroniques (mesuré par le score HDI-2018) était associée négativement au risque de préhypertension/hypertension. Un régime alimentaire plus inflammatoire aussi a été associé à un risque accru. Dans une cohorte d'adultes brésiliens, on a constaté une relation inverse entre un régime alimentaire riche en fruits, légumes,

légumineuses, céréales complètes et poissons et une pression artérielle systolique élevée [493]. Cependant, aucune relation entre la pression artérielle et l'observance de la diète méditerranéenne n'a été trouvée chez des adolescents [494].

Bien que nous ayons observé des tendances pour les associations entre plusieurs scores nutritionnels et les indicateurs d'adiposité (IMC et tour de taille), la signification statistique n'a jamais été atteinte, peut-être en raison de la taille limitée de notre échantillon. Les causes de l'obésité sont complexes et multifactorielles. Non seulement les aspects quantitatifs et qualitatifs de l'alimentation peuvent avoir un impact, mais d'autres facteurs tels que l'activité physique [495], les habitudes de sommeil [496] et la génétique [497] contribuent au maintien du poids corporel par la régulation des processus métaboliques et endocriniens. Bien qu'elle semble intuitive, la contribution de la qualité de l'alimentation au maintien du poids corporel et de l'adiposité après un cancer pédiatrique reste à être confirmée.

Des études antérieures ont montré qu'une diète pro-inflammatoire (mesurée par le score DII™) est associée à une augmentation de biomarqueurs inflammatoires [498] et de l'incidence des MCV [499]. De même, un régime alimentaire occidental typiquement riche en aliments pro-inflammatoires a été associé à une altération du métabolisme du glucose, à une résistance à l'insuline et au risque de MCV [500,501]. Dans la cohorte PETALE, des associations entre les scores alimentaires et les biomarqueurs inflammatoires TNF- α , IL-6 et l'adiponectine ont été observées. Les niveaux de TNF- α ont été associés positivement à une diète plus pro-inflammatoire et une plus grande contribution des aliments ultra-transformés à l'apport énergétique. Les niveaux d'IL-6 ont aussi été associés aux apports en aliments ultra-transformés. Les participants ayant un régime alimentaire plus pro-inflammatoire (score E-DII™), avaient un risque plus élevé d'avoir un HOMA-IR élevé, un indicateur appréciable de la résistance à l'insuline. Dans la littérature, un score E-DII™ plus élevé a été positivement associé aux niveaux de TNF- α chez les adolescents [498]. Finalement, les participants ayant une meilleure adhérence à la diète méditerranéenne avaient des taux d'adiponectine plus élevés. Tel que décrit précédemment, l'adiponectine produite par le tissu adipeux est responsable de la modulation de plusieurs processus métaboliques tels que l'hémostase du glucose et l'oxydation des acides gras, en plus d'avoir des propriétés anti-inflammatoires [502,503]. D'autres études sont nécessaires pour évaluer clairement si et

comment un « régime pro-inflammatoire » peut contribuer au développement de la résistance à l'insuline et du DT2, en particulier dans les populations de survivants de cancer pédiatrique qui ont potentiellement une inflammation de bas grade.

Nous n'avons trouvé aucune association entre la qualité du régime alimentaire et les biomarqueurs leptine et CRP. Semblablement, les taux de leptine n'ont pas été associés aux habitudes alimentaires dans une population générale [504]. Toutefois la CRP a été associée aux apports en acides gras trans chez les femmes obèses [505].

Cette étude a montré que les adolescents et les jeunes adultes survivants de la LLA pédiatrique ne respectent pas bien les recommandations alimentaires. Nos résultats confirment l'association d'un régime alimentaire de qualité et une meilleure santé cardiométabolique des survivants, qui se traduit par une alimentation riche en fruits, légumes, céréales complètes, gras insaturés ainsi que par une consommation limitée d'aliments pro-inflammatoires et ultra-transformés. Il a été suggéré que les mécanismes par lesquels ce type d'alimentation est bénéfique pour la santé sont médiés par une interaction entre les nutriments contenus dans ces groupes d'aliments et le microbiote intestinal. Les régimes alimentaires riches en fibres et à base de plantes ont été associés à une plus grande richesse microbienne qui pourrait avoir un impact sur la production de métabolites bénéfiques (par exemple les AGCC) et ainsi éviter l'endotoxémie métabolique [506].

9.3 Dysbiose intestinale et endotoxémie chez les survivants de la LLA pédiatrique

La revue de la littérature (**Article 7**) nous a permis de constater que la chimiothérapie et la radiothérapie sont associées au développement des désordres cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique [16-19]. Plusieurs mécanismes sous-jacents au développement de ces complications ont été proposés. Ils comprennent le SOx [20], l'inflammation chronique [21], le dysfonctionnement du tissu adipeux [22], les troubles endocriniens [23] et le vieillissement cellulaire accéléré [24]. Cette revue a surtout permis de détailler le rôle émergent de la dysbiose intestinale dans les séquelles retrouvées chez les survivants adultes du cancer de

l'enfant, en particulier les complications cardiométaboliques. Plus particulièrement, le rôle potentiel de l'endotoxémie causée par des modifications du microbiote intestinal chez les survivants de cancer pédiatrique a été décrit. (**Figure 22**).

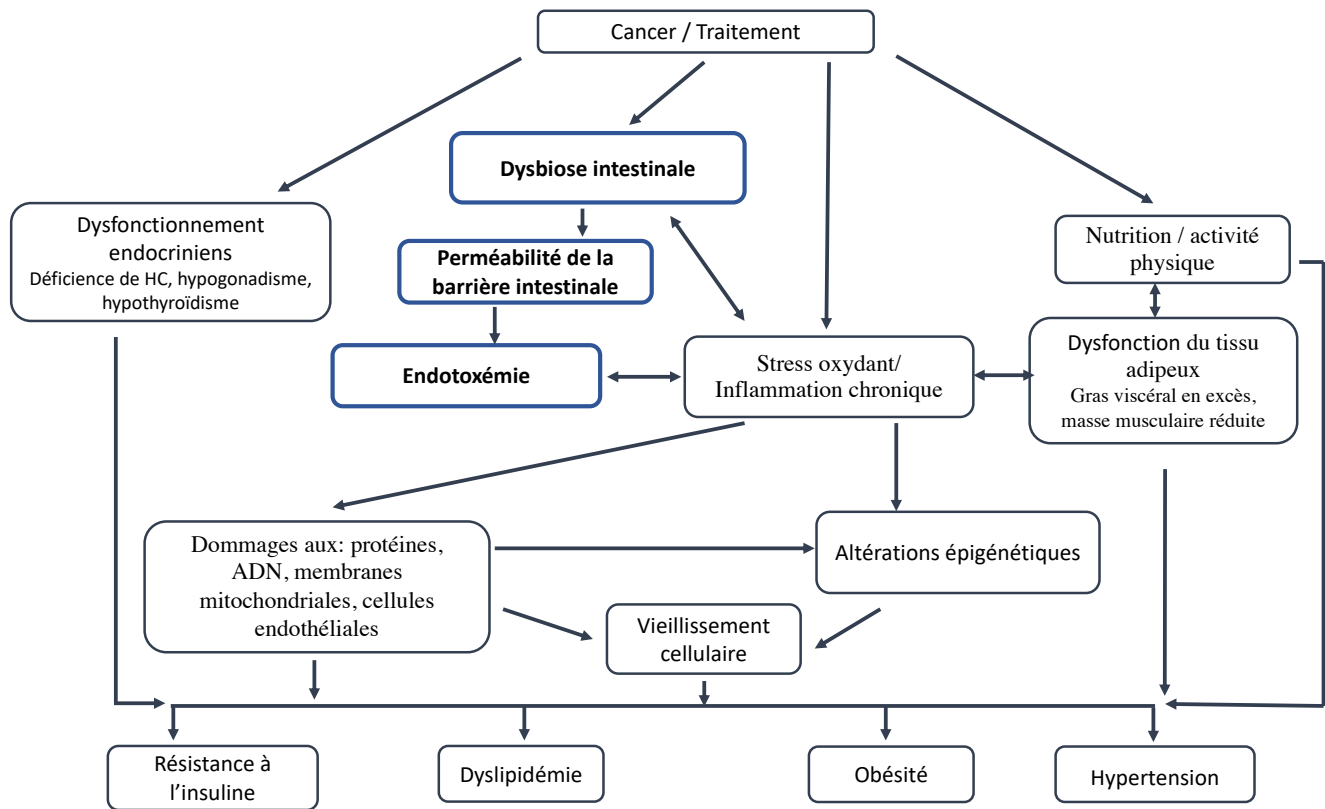


Figure 22. – Mécanismes potentiels sous-jacents au développement des complications cardiométaboliques chez les survivants de cancer pédiatrique proposés dans la littérature incluant le rôle de l'endotoxémie métabolique résultante d'une dysbiose intestinale.

Endotoxémie et complications cardiométaboliques

Nous avons révélé des associations significatives entre les biomarqueurs plasmatiques de l'inflammation viscérale, de l'endotoxémie et de la fonction endothéliale et les complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique (**Article 8**). Nous avons également mis en évidence la relation entre la LBP, une protéine liée à l'endotoxémie métabolique et la

présence de complications cardiométaboliques médiée par l'inflammation ce qui n'avait pas été démontré jusqu'à présent dans une population de survivants de la LLA.

Nous avons aussi constaté que des niveaux élevés de TNF- α étaient fortement associés au risque d'obésité. Le TNF- α contribue à la dérégulation métabolique en altérant le stockage des lipides et la capacité d'oxydation des tissus adipeux [507]. Le TNF- α peut avoir un impact sur la sensibilité à l'insuline en augmentant les acides gras libres et en altérant la production d'adipokines [507]. Ceci corrobore un grand nombre de résultats montrant une forte corrélation entre les niveaux plasmatiques de TNF- α et l'obésité (revus dans [508]), ainsi que sa relation avec l'IMC chez les enfants obèses [509,510] et les adolescents [511].

Nos analyses ont également révélé que des niveaux élevés de CRP étaient associés au risque de résistance à l'insuline, de dyslipidémie et de SM. La CRP est une protéine en phase aiguë sécrétée par le foie et le tissu adipeux en réponse à des cytokines pro-inflammatoires (par exemple TNF- α et IL-6). Il s'agit d'un marqueur sensible de l'inflammation systémique [512] ayant été associé à un risque cardiométabolique [513]. Conformément à nos résultats, de nombreuses études ont fait état d'une augmentation de la CRP chez les survivants de la LLA par rapport à des participants contrôles [24,179,180,514]. Aussi, les niveaux de CRP ont été associés au SM chez des survivants de la LLA pédiatrique [179].

Présenter des niveaux élevés de leptine a été associé aux complications cardiométaboliques alors que l'inverse a été observé pour l'adiponectine. Un ratio leptine - adiponectine plus élevé était associé à un risque accru d'obésité, de résistance à l'insuline et des taux de HDL-C faibles. De telles associations entre l'adiponectine, la leptine et les complications cardiométaboliques ont été trouvées dans d'autres cohortes de survivants de la LLA pédiatrique [161,162,515-519]. En particulier, l'adiposité viscérale a été associée à une perturbation de l'équilibre des adipokines (c'est-à-dire une augmentation de la leptine et une diminution de l'adiponectine) [520,521], à une inflammation chronique de bas grade [522] et à une dyslipidémie caractérisée par une diminution du HDL-C. De plus, nos résultats confirment l'association positive entre les niveaux d'adiponectine et le HDL-C [523]. L'adiponectine influence les concentrations de HDL-C en contribuant à l'inhibition de l'activité de la lipase hépatique [524], une enzyme qui hydrolyse les

TG et les phospholipides contenus dans les particules de HDL et qui facilite le catabolisme du HDL-C [524]. Dans notre étude, un ratio leptine-adiponectine élevé a été associé à un risque accru de résistance à l'insuline. Conformément à nos résultats, l'HOMA-IR a été associé à un ratio leptine – adiponectine plus élevé dans d'autres populations de jeunes adultes survivants de cancer pédiatrique [161,516].

Nous avons également constaté que des niveaux élevés de leptine étaient fortement associés au risque d'obésité et de résistance à l'insuline. Ce résultat supporte l'hypothèse de la présence d'une hyperleptinémie à long terme chez les survivants de LLA pédiatrique [161,518] ce qui peut perturber la communication entre la leptine et l'hypothalamus et ainsi nuire à la régulation de l'équilibre énergétique et à la signalisation de l'insuline [525]. Nos résultats ont également souligné l'association entre de faibles taux de visfatine et le risque de résistance à l'insuline. Le rôle de la visfatine dans la résistance à l'insuline est cependant controversé (revu dans [237]). La visfatine aurait une activité analogue à celle de l'insuline et se lierait au récepteur de l'insuline, abaissant ainsi le taux de glucose sanguin chez la souris [526]. Bien que des études aient démontré que la visfatine est un biomarqueur de la rémission de la LLA pédiatrique [527] et de la densité minérale osseuse des survivants de la LLA pédiatrique [528], aucune étude antérieure n'avait encore examiné sa relation avec les facteurs de risque cardiométabolique dans le contexte de la survie. En parallèle, nous avons mis en évidence l'association entre des taux élevés de PAI-1, une protéine de régulation physiologique du système fibrinolytique, et le risque d'obésité dans la cohorte PETALE. Conformément à nos conclusions, une étude a fait état d'une augmentation des taux plasmatiques de PAI-1 chez les survivants de la LLA pédiatrique par rapport à des participants contrôles [529].

Des études cliniques ont démontré que les taux sériques de LPS étaient étroitement associés à l'obésité [530-532] et à la résistance à l'insuline [531,533,534]. Bien que notre étude n'ait pas révélé d'association, nous ne pouvons pas exclure que ce résultat négatif puisse être biaisé par la courte demi-vie du LPS [535]. La LBP est considérée comme un biomarqueur de l'exposition aux endotoxines plasmatiques, car sa demi-vie (24 h) est plus longue que celle du LPS (<8 min chez la souris et jusqu'à 3 h chez l'homme) [356]. Elle a donc été utilisée comme substitut pour évaluer l'endotoxémie chronique [357]. Nous avons constaté que des taux de LBP plus élevés étaient

associés à un risque accru d'obésité, de résistance à l'insuline et de faibles taux de HDL-C chez les survivants de la LLA. Tel que décrit précédemment, la LBP participe à la réponse inflammatoire médiée par le LPS, facilitant la liaison du LPS au récepteur TLR4 [536]. L'activation du TLR4 entraîne une augmentation de la transcription de gènes pro-inflammatoires, favorisant l'initiation des cascades de signalisation des cytokines [536], la production d'ERO et la désensibilisation à l'insuline [537]. Nos résultats corroborent ceux d'autres études (autres populations que survivants de cancer) dans lesquelles les niveaux de LBP étaient associés à des anomalies lipidiques [530,538-541]. Ils sont également en accord avec deux études prospectives montrant des associations entre des niveaux de LBP plus élevés et le risque de résistance à l'insuline et d'anomalie de la glycémie à jeun [542] et avec le risque de SM [541]. De même, des études transversales ont mis en évidence une relation entre des taux de LBP plus élevés et la résistance à l'insuline chez les adolescents [543] ou chez les hommes adultes [530,544]. De plus, dans notre étude, les deux modèles d'équation structurelle (technique statistique) soutiennent que les relations entre l'endotoxémie et l'obésité, la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et le SM sont médiées par l'inflammation (variable latente déduite des données de CRP, TNF- α et IL-6). Cela indique que la LBP circulante est un biomarqueur pertinent pour l'indication d'inflammation systémique chez les survivants de la LLA pédiatrique.

Parmi les biomarqueurs de SOx examinés, des associations n'ont été trouvées qu'entre les LDL oxydées et la dyslipidémie et le faible taux de HDL-C. De plus en plus de preuves suggèrent que les LDL oxydées en circulation sont augmentées dans les états pathologiques liés aux maladies cardiovasculaires [545,546]. En ce qui concerne les biomarqueurs de la fonction endothéliale, seuls les niveaux d'ICAM-1 ont été associés au risque d'obésité et de SM dans nos travaux. Une étude récente a fait état d'une augmentation des taux plasmatiques d'ICAM-1 chez 64 survivants de la LLA pédiatrique (âge médian de 15 ans) contre 36 contrôles [514]. Il est à noter que les niveaux de ICAM-1 peuvent être influencés par l'âge, la résistance à l'insuline et d'autres conditions inflammatoires [547]. Nous n'avons pas observé d'associations entre la VCAM-1 ou la E-sélectine et les complications cardiométaboliques. Ailleurs, malgré l'observation de niveaux élevés de VCAM-1 chez de jeunes survivants de LLA par rapport à des contrôles [548], l'association avec la santé cardiométabolique n'a pas été étudiée. Dans la population générale, aucune preuve

d'une association positive entre le VCAM-1 et les paramètres cardiométaboliques n'a été rapportée [549-551]. Cependant, il a été suggéré que le VCAM-1 est principalement exprimé à un stade avancé de l'athérosclérose [551] alors que l'ICAM-1 est un marqueur général d'un état pro-inflammatoire dans la population saine. En outre, l'E-sélectine a été corrélée à l'obésité et à la résistance à l'insuline chez des sujets obèses [552,553] et a été identifiée comme un bon prédicteur de la résistance à l'insuline chez les femmes [554]. Dans le contexte de la survie à la LLA, aucune étude antérieure n'avait examiné la relation entre l'E-sélectine et les complications cardiométaboliques, malgré les rôles importants joués par cette protéine dans la fonction endothéliale.

Enfin, aucune association significative n'a été trouvée entre les biomarqueurs et l'hypertension artérielle. À l'inverse, deux études portant sur des survivants de LLA et de lymphomes ont montré que de faibles niveaux d'adiponectine étaient associés à l'hypertension [162,555]. Ces différents résultats pourraient s'expliquer par le fait que notre étude était limitée aux survivants de la LLA pédiatrique et par la faible prévalence de l'hypertension dans notre cohorte (12 %) par rapport aux deux études citées (27 % et 54 %).

Ces résultats augmentent notre compréhension des voies de l'endotoxémie et de l'inflammation et permettent l'identification de biomarqueurs liés à ces voies chez les survivants de la LLA. Ceci est crucial si l'on veut optimiser la prévention et le traitement des désordres métaboliques chez la population de survivants de LLA.

Profil du microbiote intestinal chez les survivants de LLA

L'étude de la composition et de la diversité du microbiote intestinal a été réalisée dans un groupe de 11 survivants sains, 11 survivants ayant 2 ou plus facteurs de risque cardiométabolique et 11 contrôles n'ayant jamais eu de cancer. Les résultats obtenus, quoiqu'intéressants, ne se sont pas avérés statistiquement significatifs. Une grande proportion des survivants avec un phénotype extrême (8/11) présentait une abondance bactérienne au niveau des phyla plus basse que plus de la moitié des survivants sains (6/11) et qu'une grande partie des contrôles (8/11). En outre, on a pu observer une tendance à une plus grande diversité (déterminé avec l'indice de Shannon) chez les survivants avec 2 ou plus facteurs de risque. L'abondance bactérienne plus basse chez

ces survivants peut influencer une répartition plus régulière des différents phyla. Cette régularité de la répartition des différentes catégories de bactéries est considérée dans le calcul de l'indice Shannon ce qui peut expliquer l'indice plus élevé dans ce groupe. Ailleurs, des survivants adultes de la LLA pédiatrique (âge médian : 23 ans) présentaient une diversité microbienne inférieure à celle des contrôles sains d'après les mesures de la diversité alpha obtenues à partir d'échantillons de frottis anal [180]. De plus, la diversité alpha était négativement associée à l'obésité et était inférieure chez les individus avec une plus grande adiposité abdominale et plus de gras viscéral [188]. Malgré que la totalité des survivants avec un phénotype extrême était obèse, nous avons observé la relation contraire chez nos survivants.

Un autre élément d'intérêt est la tendance à une abondance réduite de la famille *Ruminococcaceae* et de sa classe, Clostridia, et du phylum Firmicutes chez les survivants avec phénotype extrême. Il a été montré que les survivants de la LLA partageaient les mêmes caractéristiques de la dysbiose microbienne que les personnes atteintes de maladies chroniques telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, qui se caractérisaient par une plus faible abondance entre autres de *Ruminococcaceae* [180]. De plus, les OTUs appartenant aux *Oscillospira*, *Lachnospira* et *Ruminococcus* étaient négativement associées à la masse grasse viscérale [188]. Par conséquent, la plus faible abondance de *Ruminococcaceae* pourrait favoriser une accumulation excessive de gras viscéral [180,332] et influencer indirectement l'état inflammatoire. Le butyrate est synthétisé par certains groupes bactériens tels que *F. prausnitzii* (famille : *Ruminococcaceae*) et *Clostridium XIVa* (fait parti de la classe Clostridia) [190]. Une abondance réduite des bactéries productrices de butyrate pendant ou après les traitements de cancers a été associée négativement aux biomarqueurs inflammatoires périphériques IL-6 et CRP [180]. Par conséquent, il est possible que la réduction de la famille Ruminococcaceae et de la classe Clostridia observée dans notre étude pilote puisse affecter le statut inflammatoire des survivants.

En bref, par nos travaux préliminaires, nous avons constaté des tendances de modification du microbiote intestinal entre les survivants sains et non sains. Ces résultats forts intéressants supportent la nécessité de poursuivre l'étude des mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans le développement des facteurs de risque cardiométabolique chez les survivants de la LLA. Des recherches supplémentaires avec de plus grands échantillons et plusieurs points de collecte

dans le temps seront nécessaires pour établir clairement le lien entre le phénotype de dysbiose intestinale trouvé chez les survivants du cancer et leur statut inflammatoire.

Modèle murin xénogénique

Les résultats de notre étude pilote démontrent la faisabilité d'utiliser un modèle murin xénogénique de LLA. Ce modèle pourra servir à établir la relation «cause-effet» de la LLA pédiatrique et de ses traitements dans le développement des complications cardiométaboliques. Plus précisément, ce modèle pourra servir à évaluer comment la maladie et les traitements influencent la composition et diversité du microbiote intestinal et ses métabolites dérivés, et si ces modifications causent le développement des complications cardiométaboliques, comme la dyslipidémie et la résistance à l'insuline. Alors que nos travaux ont permis de mettre le modèle animal au point, quelques aspects devront être considérés pour les études ultérieures. D'abord, il est important de sélectionner des blastes dont la cinétique du développement de la maladie soit de 90 jours ou plus. Dans notre étude, nous avons constaté que, lorsque la maladie était trop agressive, la souris décédait trop rapidement et ce malgré les traitements. La souris ne demeurait pas en rémission ou en état de «survivance» de la LLA suite aux traitements. De plus, la quasi-absence de gras mésentérique chez l'ensemble des souris greffées traitées ou non suggère que celle-ci accumule difficilement du gras viscéral. Ainsi, pour explorer pleinement la relation entre la composition et la diversité du microbiote intestinal et le développement de désordres cardiométaboliques dans ce modèle, une alimentation riche en gras et sucre devra être donnée à une partie du groupe expérimental. Finalement, nous proposons qu'un minimum de 10 souris soit inclus dans chaque groupe afin de tenir compte des variabilités métaboliques interindividuelles, comme ce qui a été fait au préalable dans notre laboratoire [556].

9.4 Forces et limites des études

La cohorte PETALE est composée presque exclusivement (>95 %) de survivants de la LLA pédiatrique de descendance européenne provenant de la province de Québec, une population dont l'effet fondateur génétique est établi [557,558]. L'origine ethnique homogène des participants confère un avantage aux études d'association en réduisant le nombre de variables confondantes [557,558].

Une deuxième force de nos études est la caractérisation biochimique et clinique détaillée des participants de la cohorte PETALE dont les résultats ont pu être utilisés pour l'ensemble des études présentées dans cette thèse.

Les efforts investis pour adapter le QFA à notre population cible sont un des points forts importants [559]. Peu de QFA adaptés aux populations canadienne-française [305,560] et européenne [561,562] permettant l'évaluation de la qualité de leur alimentation et la composition de leur diète ont été publiés au cours des dernières années. De plus, alors que les QFA validés pour les populations à risque de maladies cardiométaboliques ont été principalement développés dans les populations adultes [560,562-564], alors que notre QFA a été adapté aux adolescents et aux jeunes adultes.

L'utilisation de nombreux scores nutritionnels pour évaluer la qualité de la diète des participants et son association avec la santé cardiométabolique chez les survivants de la LLA pédiatrique représente une autre force.

L'application de plusieurs types d'analyses statistiques complémentaires a permis de mieux supporter les conclusions relatives aux différents objectifs visés. Ces analyses complémentaires nous ont permis entre autres d'assurer la validité et la reproductibilité du QFA. De plus, nous avons utilisé la modélisation d'équations structurelles, une technique d'analyse statistique multivariée, en plus de l'analyse de régression classique, ce qui a permis de tester simultanément la relation entre les différentes variables en lien avec l'endotoxémie, l'inflammation et les complications cardiométaboliques.

Les limites de nos travaux incluent le design de l'étude monocentrique et l'absence d'un groupe de participants contrôles sans antécédent de cancer. En outre, comme la population étudiée était caucasienne, nos résultats ne peuvent pas être généralisés à d'autres groupes ethniques [565]. La taille modeste de l'échantillon réduisait la probabilité d'obtenir des associations plus significatives sur le plan statistique. De plus, en raison de cette taille, nous n'avons pu stratifier en sous-groupes les données pour préciser certaines analyses (ex. sous-groupe d'aliments et risque d'HDL-C bas) et qui nous aurait permis d'interpréter nos résultats avec plus de justesse.

Compte tenu des mesures transversales, la causalité entre les différentes variables observées et les complications cardiométaboliques dans l'ensemble de nos travaux n'a pu être démontrée.

Pour assurer une utilisation adéquate du QFA validé et éviter des conclusions erronées, certaines limites au QFA doivent être considérées. Le QFA devrait être utilisé pour classer les individus en fonction de leurs apports en nutriments plutôt que pour évaluer leurs valeurs absolues. De plus il a été difficile d'obtenir des informations précises des adolescents malgré la présence d'un parent accompagnateur. Les filles et jeunes femmes qui composaient plus de la moitié de notre population avaient tendance à sous-estimer leurs apports dans le JA-3j et/ou à les surestimer dans le QFA. La fréquence et la quantité des apports en lipides étaient difficiles à saisir à l'aide des QFA, ce qui pourrait potentiellement les sous-estimer ou les surestimer. De plus, il a été difficile d'obtenir les données de supplémentation en vitamine D, les participants ne se souvenaient pas du dosage et la fréquence de la prise de supplément en vitamine D.

Nous n'avons pas étudié la fonctionnalité des HDL, mais nous avons pu déterminer leur composition lipidique et leur profil en Apo. Par contre, nous avons uniquement examiné les associations entre l'apport en nutriments et les niveaux de HDL-C sans étudier la relation des apports avec la composition des HDL.

L'étude de la composition et la diversité du microbiote intestinal a été complétée en phase exploratoire donc avec un très petit échantillon ce qui est probablement le facteur principal qui nous a empêché d'atteindre des résultats statistiquement significatifs. De plus, un seul échantillon de selles par participant a été obtenu ceci limite les analyses quant aux modulations du microbiote intestinal dans le temps. Alors que des échantillons de selles fécales ont été utilisés

pour évaluer le microbiote intestinal, il a été rapporté que le microbiome fécal est différent du microbiome associé aux muqueuses [354]. De plus, le séquençage métagénomique, la méthode la plus utilisée pour évaluer la composition et la diversité du microbiote intestinal, ne donne pas un aperçu de la répartition spatiale des microbes. L'organisation des communautés microbiennes en biofilms pourrait être un facteur important à considérer [354]. Des archées, des virus, des phages, des levures et des champignons sont également présents dans l'intestin et interagissent probablement avec la communauté bactérienne intestinale et le système immunitaire de l'hôte [190,566]. Ils peuvent influencer leurs activités et leurs fonctions, mais la plupart des rôles et interactions restent inconnus [190]. Jusqu'à présent, ils n'ont pas été étudiés dans les populations d'enfants atteints de cancer ou de survivants de cancer pédiatrique.

Le nombre restreint d'animaux dans le modèle murin a limité la détection de la dysbiose intestinale et l'estimation de l'endotoxémie et la résistance à l'insuline. Dans ce modèle animal, une seule molécule chimiothérapeutique a été étudiée (méthotrexate) alors que les traitements de la LLA pédiatrique, ayant un large spectre, sont beaucoup plus complexes. Ce modèle permet justement d'isoler l'effet des médicaments, alors que l'on ne peut le faire chez l'humain. Cependant, l'étude des effets des traitements ne devrait pas se limiter au méthotrexate. Parmi les autres traitements, il y a de fortes possibilités d'y retrouver des molécules qui altèrent le microbiote intestinal et qui pourraient contribuer au développement de complications cardiométaboliques. Les conclusions tirées des prochaines études animales devront donc être nuancées selon la réalité des traitements de la LLA pédiatrique chez l'humain.

10 Conclusion et perspectives

10.1 Conclusion

Nos travaux complétés à l'aide de la cohorte de PETALE ont mis en évidence la forte prévalence des complications cardiométaboliques chez les adolescents et les jeunes adultes survivants de la LLA pédiatrique. Ils ont aussi confirmé leur risque cardiovasculaire accru par rapport à la population générale canadienne, plus particulièrement ceux ayant été exposés à la RTC. En outre, des altérations des profils des lipoprotéine et apolipoprotéines, indicateurs d'une augmentation du risque d'athérosclérose, ont été identifiées.

Les adolescents et les jeunes adultes survivants de la LLA pédiatrique de la cohorte PETALE ont de mauvaises habitudes alimentaires qui affectent leur état nutritionnel et métabolique. Cependant malgré un faible apport en vitamine D, la prévalence de l'insuffisance ou de la carence en vitamine D n'est pas plus importante chez les survivants que dans la population générale canadienne. Une meilleure compréhension de la manière dont le régime alimentaire et les composantes alimentaires affectent cette population permettra d'élaborer des recommandations et des stratégies nutritionnelles adaptées.

Plusieurs pistes ont été suggérées quant aux mécanismes sous-jacents au développement des complications cardiométaboliques. Une hypothèse prometteuse concerne les modifications du microbiote intestinal pendant et après le traitement du cancer qui favoriseraient l'endotoxémie métabolique, la perméabilité de la paroi intestinale et l'induction de l'inflammation. La revue de la littérature a mis en lumière le nombre limité d'études explorant la dysbiose des survivants de cancer pédiatrique. Dans nos travaux exploratoires, nous avons constaté que, chez une grande portion des survivants métaboliquement non sains, il y avait une abondance réduite de familles de bactéries qui jouent un rôle protecteur par différents mécanismes contre l'endotoxémie métabolique. La quantité réduite de ces bactéries pourrait éventuellement affecter l'état inflammatoire des survivants conduisant au développement de complications cardiométaboliques.

Finalement, nous avons identifié des associations entre les biomarqueurs plasmatiques de l'inflammation viscérale et de l'endotoxémie et les complications cardiométaboliques chez les survivants de la LLA pédiatrique. Nous avons également mis en évidence la relation entre l'endotoxémie métabolique, l'inflammation et la présence de complications cardiométaboliques. L'identification de biomarqueurs et de mécanismes biologiques pourrait permettre l'élaboration de recommandations adaptées à ce groupe et ouvrir de nouvelles voies pour les stratégies de prévention afin de minimiser les séquelles à long terme, d'améliorer le suivi des patients et, en fin de compte, d'optimiser la qualité de vie de cette population à haut risque.

10.2 Perspectives

Nos travaux soulignent le rôle de la nutrition dans le développement de la dyslipidémie et des autres complications cardiométaboliques après le traitement de la LLA pédiatrique. De plus, l'obésité à la fin du traitement étant prédicteur de SM chez les participants de notre cohorte, une intervention nutritionnelle pour prévenir ou diminuer le risque de complications cardiométaboliques devrait être débutée le plus rapidement possible pendant ou après le traitement chez les enfants. Les études à venir devront déterminer la faisabilité et l'impact d'une intervention nutritionnelle sur le risque cardiométabolique, mais aussi établir le moment le plus approprié pour débiter de telles interventions.

Un programme de recherche multidisciplinaire a été développé au CHUSJ suite au projet PETALE. Il a été proposé qu'un programme d'intervention et d'éducation nutritionnelle lors des traitements des cancers pédiatriques, impliquant les patients et leur famille, permettra l'amélioration de la qualité nutritionnelle, des profils anthropométrique et métabolique ainsi que l'identification des marqueurs de stress oxydant et d'inflammation à la fin du traitement. Le programme VIE (Valorisation, Implication et Éducation) vise à changer la manière dont les enfants atteints de cancer et leur famille sont pris en charge et à favoriser leur bien-être à long terme en les outillant pour faire face aux complications à long terme inhérentes aux traitements subis.

Nous avons démontré la présence d'associations entre plusieurs biomarqueurs inflammatoires et l'obésité, la dyslipidémie et la résistance à l'insuline chez les participants de la cohorte PETALE. Les recherches futures devraient explorer les mécanismes liés directement ou indirectement à

l'inflammation chronique par exemple le vieillissement cellulaire prématurée, l'endotoxémie métabolique et la dysfonction mitochondriale et la bêta-oxydation des acides gras.

Par nos travaux préliminaires, nous avons constaté des tendances de modification du microbiote intestinal entre les survivants sains et non sains. Des recherches supplémentaires avec un plus grand nombre d'échantillons et surtout plusieurs points de collecte dans le temps sont nécessaires pour établir clairement le lien entre le phénotype de dysbiose intestinale trouvé chez les survivants du cancer et leur statut inflammatoire. Cependant, on peut postuler que le phénotype de microbiote de certains survivants est potentiellement pro-inflammatoire. Pour accroître notre compréhension de la dysbiose intestinale et l'impact sur la voie de signalisation inflammatoire dans une population de survivants du cancer, les prochaines études devraient viser l'évaluation de la relation entre le statut fonctionnel du microbiote (par exemple la production des AGCC) et les biomarqueurs périphériques d'endotoxémie et d'inflammation dans la même cohorte. De plus, le modèle murin xénogénique de LLA testé dans le cadre de cette thèse pourra être utilisé pour étudier les mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans le développement des complications cardiométaboliques. Parallèlement, de nouvelles stratégies nutritionnelles visant à moduler le microbiote intestinal et à influencer les résultats cardiométaboliques sont des questions très importantes sur lesquelles la recherche devrait se concentrer.

Finalement, nous avons pu établir le profil de la santé cardiométabolique chez des jeunes survivants à un point précis dans le temps. Il sera important de suivre cette cohorte à plus long terme pour analyser l'évolution de leur santé cardiométabolique. Une étude longitudinale permettrait de renforcer les associations observées lors de nos travaux de nature transversale.

11 Références bibliographiques

1. Nuttall, R. *Canadian cancer statistics 2017*. Canadian Cancer Society: 2017.
2. Guzzinati, S.; Virdone, S.; De Angelis, R.; Panato, C.; Buzzoni, C.; Capocaccia, R.; Francisci, S.; Gigli, A.; Zorzi, M.; Tagliabue, G., *et al.* Characteristics of people living in Italy after a cancer diagnosis in 2010 and projections to 2020. *BMC Cancer* **2018**, *18*, 169. 10.1186/s12885-018-4053-y
3. Malvezzi, M.; Bertuccio, P.; Rosso, T.; Rota, M.; Levi, F.; La Vecchia, C.; Negri, E. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women? *Ann Oncol* **2015**, *26*, 779-786. 10.1093/annonc/mdv001
4. Miller, K.D.; Nogueira, L.; Mariotto, A.B.; Rowland, J.H.; Yabroff, K.R.; Alfano, C.M.; Jemal, A.; Kramer, J.L.; Siegel, R.L. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* **2019**. 10.3322/caac.21565
5. Canada, C.C.S.N.C.I.o. Canadian Cancer Statistics 2008. Available on line: www.cancer.ca/statistics (accessed on October 5),
6. Casco, S.; Soto-Vega, E. Development of Metabolic Syndrome Associated to Cancer Therapy: Review. *Horm Cancer* **2016**, *7*, 289-295. 10.1007/s12672-016-0274-1
7. Mody, R.; Li, S.; Dover, D.C.; Sallan, S.; Leisenring, W.; Oeffinger, K.C.; Yasui, Y.; Robison, L.L.; Neglia, J.P. Twenty-five-year follow-up among survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* **2008**, *111*, 5515-5523. 10.1182/blood-2007-10-117150
8. Essig, S.; Li, Q.; Chen, Y.; Hitzler, J.; Leisenring, W.; Greenberg, M.; Sklar, C.; Hudson, M.M.; Armstrong, G.T.; Krull, K.R., *et al.* Risk of late effects of treatment in children newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukaemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* **2014**, *15*, 841-851. 10.1016/S1470-2045(14)70265-7
9. Siviero-Miachon, A.A.; Spinola-Castro, A.M.; Guerra-Junior, G. Detection of metabolic syndrome features among childhood cancer survivors: a target to prevent disease. *Vasc Health Risk Manag* **2008**, *4*, 825-836.

10. Veringa, S.J.; van Dulmen-den Broeder, E.; Kaspers, G.J.; Veening, M.A. Blood pressure and body composition in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *58*, 278-282. 10.1002/pbc.23251
11. Shankar, S.M.; Marina, N.; Hudson, M.M.; Hodgson, D.C.; Adams, M.J.; Landier, W.; Bhatia, S.; Meeske, K.; Chen, M.H.; Kinahan, K.E., *et al.* Monitoring for cardiovascular disease in survivors of childhood cancer: report from the Cardiovascular Disease Task Force of the Children's Oncology Group. *Pediatrics* **2008**, *121*, e387-396. 10.1542/peds.2007-0575
12. Jarvela, L.S.; Niinikoski, H.; Lahteenmaki, P.M.; Heinonen, O.J.; Kapanen, J.; Arola, M.; Kemppainen, J. Physical activity and fitness in adolescent and young adult long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Cancer Surviv* **2010**, *4*, 339-345. 10.1007/s11764-010-0131-0
13. Schultz, K.A.; Ness, K.K.; Whitton, J.; Recklitis, C.; Zebrack, B.; Robison, L.L.; Zeltzer, L.; Mertens, A.C. Behavioral and social outcomes in adolescent survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* **2007**, *25*, 3649-3656. 10.1200/JCO.2006.09.2486
14. van Waas, M.; Neggers, S.J.; Pieters, R.; van den Heuvel-Eibrink, M.M. Components of the metabolic syndrome in 500 adult long-term survivors of childhood cancer. *Ann Oncol* **2010**, *21*, 1121-1126. 10.1093/annonc/mdp414
15. Oudin, C.; Simeoni, M.C.; Sirvent, N.; Contet, A.; Begu-Le Coroller, A.; Bordigoni, P.; Curtillet, C.; Poiree, M.; Thuret, I.; Play, B., *et al.* Prevalence and risk factors of the metabolic syndrome in adult survivors of childhood leukemia. *Blood* **2011**, *117*, 4442-4448. 10.1182/blood-2010-09-304899
16. Armenian, S.H.; Sun, C.L.; Vase, T.; Ness, K.K.; Blum, E.; Francisco, L.; Venkataraman, K.; Samoa, R.; Wong, F.L.; Forman, S.J., *et al.* Cardiovascular risk factors in hematopoietic cell transplantation survivors: role in development of subsequent cardiovascular disease. *Blood* **2012**, *120*, 4505-4512. 10.1182/blood-2012-06-437178
17. Harake, D.; Franco, V.I.; Henkel, J.M.; Miller, T.L.; Lipshultz, S.E. Cardiotoxicity in childhood cancer survivors: strategies for prevention and management. *Future Cardiol* **2012**, *8*, 647-670. 10.2217/fca.12.44

18. Lipshultz, S.E.; Lipsitz, S.R.; Mone, S.M.; Goorin, A.M.; Sallan, S.E.; Sanders, S.P.; Orav, E.J.; Gelber, R.D.; Colan, S.D. Female sex and higher drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *N Engl J Med* **1995**, *332*, 1738-1743. 10.1056/NEJM199506293322602
19. Silverman, L.B. Balancing cure and long-term risks in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2014**, *2014*, 190-197. 10.1182/asheducation-2014.1.190
20. de Sousa Almondes, K.G.; de Oliveira, T.F.; Siviero-Miachon, A.A.; de Martino Lee, M.L.; de Carvalho Rondó, P.H.; de Melo Loureiro, A.P.; Spinola-Castro, Â.M.; Cozzolino, S.M.F. Selenium inadequacy is not associated with oxidative stress in child and adolescent acute lymphocytic leukemia survivors. *Nutrition* **2014**, *30*, 563-568.
21. Trimis, G.; Moschovi, M.; Papassotiriou, I.; Chrousos, G.; Tzortzatou-Stathopoulou, F. Early indicators of dysmetabolic syndrome in young survivors of acute lymphoblastic leukemia in childhood as a target for preventing disease. *J Pediatr Hematol Oncol* **2007**, *29*, 309-314. 10.1097/MPH.0b013e318059c249
22. Belle, F.N.; Kasteler, R.; Schindera, C.; Bochud, M.; Ammann, R.A.; von der Weid, N.X.; Kuehni, C.E.; Swiss Pediatric Oncology, G. No Evidence of Overweight in Long-Term Survivors of Childhood Cancer After Glucocorticoid Treatment. *Cancer* **2018**. 10.1002/cncr.31599
23. Oeffinger, K.C.; Buchanan, G.R.; Eshelman, D.A.; Denke, M.A.; Andrews, T.C.; Germak, J.A.; Tomlinson, G.E.; Snell, L.E.; Foster, B.M. Cardiovascular risk factors in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* **2001**, *23*, 424-430.
24. Azanan, M.S.; Abdullah, N.K.; Chua, L.L.; Lum, S.H.; Abdul Ghafar, S.S.; Kamarulzaman, A.; Kamaruzzaman, S.; Lewin, S.R.; Woo, Y.L.; Ariffin, H., *et al.* Immunity in young adult survivors of childhood leukemia is similar to the elderly rather than age-matched controls: Role of cytomegalovirus. *Eur J Immunol* **2016**, *46*, 1715-1726. 10.1002/eji.201646356

25. Yoo, S.; Nicklas, T.; Baranowski, T.; Zakeri, I.F.; Yang, S.J.; Srinivasan, S.R.; Berenson, G.S. Comparison of dietary intakes associated with metabolic syndrome risk factors in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr* **2004**, *80*, 841-848. 10.1093/ajcn/80.4.841
26. Wirfalt, E.; Hedblad, B.; Gullberg, B.; Mattisson, I.; Andren, C.; Rosander, U.; Janzon, L.; Berglund, G. Food patterns and components of the metabolic syndrome in men and women: a cross-sectional study within the Malmo Diet and Cancer cohort. *Am J Epidemiol* **2001**, *154*, 1150-1159. 10.1093/aje/154.12.1150
27. Lutsey, P.L.; Steffen, L.M.; Stevens, J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation* **2008**, *117*, 754-761. 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.716159
28. Tovar, J.; Johansson, M.; Bjorck, I. A multifunctional diet improves cardiometabolic-related biomarkers independently of weight changes: an 8-week randomized controlled intervention in healthy overweight and obese subjects. *Eur J Nutr* **2016**, *55*, 2295-2306. 10.1007/s00394-015-1039-2
29. Erlund, I.; Koli, R.; Alfthan, G.; Marniemi, J.; Puukka, P.; Mustonen, P.; Mattila, P.; Jula, A. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* **2008**, *87*, 323-331.
30. Bradbury, K.E.; Crowe, F.L.; Appleby, P.N.; Schmidt, J.A.; Travis, R.C.; Key, T.J. Serum concentrations of cholesterol, apolipoprotein A-I and apolipoprotein B in a total of 1694 meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans. *Eur J Clin Nutr* **2014**, *68*, 178-183. 10.1038/ejcn.2013.248
31. Satija, A.; Bhupathiraju, S.N.; Rimm, E.B.; Spiegelman, D.; Chiuve, S.E.; Borgi, L.; Willett, W.C.; Manson, J.E.; Sun, Q.; Hu, F.B. Plant-Based Dietary Patterns and Incidence of Type 2 Diabetes in US Men and Women: Results from Three Prospective Cohort Studies. *PLoS Med* **2016**, *13*, e1002039. 10.1371/journal.pmed.1002039
32. Steffen, L.M.; Kroenke, C.H.; Yu, X.; Pereira, M.A.; Slattery, M.L.; Van Horn, L.; Gross, M.D.; Jacobs, D.R., Jr. Associations of plant food, dairy product, and meat intakes with 15-y incidence of elevated blood pressure in young black and white adults: the Coronary Artery

- Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Am J Clin Nutr* **2005**, *82*, 1169-1177; quiz 1363-1164. 10.1093/ajcn/82.6.1169
33. la Cuesta-Zuluaga, D.; Mueller, N.T.; Álvarez-Quintero, R.; Velásquez-Mejía, E.P.; Sierra, J.A.; Corrales-Agudelo, V.; Carmona, J.A.; Abad, J.M.; Escobar, J.S. Higher fecal short-chain fatty acid levels are associated with gut microbiome dysbiosis, obesity, hypertension and cardiometabolic disease risk factors. *Nutrients* **2019**, *11*, 51.
 34. Leustean, A.M.; Ciocoiu, M.; Sava, A.; Costea, C.F.; Floria, M.; Tarniceriu, C.C.; Tanase, D.M. Implications of the Intestinal Microbiota in Diagnosing the Progression of Diabetes and the Presence of Cardiovascular Complications. *J Diabetes Res* **2018**, *2018*, 5205126. 10.1155/2018/5205126
 35. Marcoux, S.; Drouin, S.; Laverdiere, C.; Alos, N.; Andelfinger, G.U.; Bertout, L.; Curnier, D.; Friedrich, M.G.; Kritikou, E.A.; Lefebvre, G., *et al.* The PETALE study: Late adverse effects and biomarkers in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2017**, *64*. 10.1002/pbc.26361
 36. Ferreira, R.; Ohneda, K.; Yamamoto, M.; Philipsen, S. GATA1 function, a paradigm for transcription factors in hematopoiesis. *Mol Cell Biol* **2005**, *25*, 1215-1227. 10.1128/MCB.25.4.1215-1227.2005
 37. Malard, F.; Mohty, M. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* **2020**, *395*, 1146-1162. 10.1016/S0140-6736(19)33018-1
 38. Brown, P.; Inaba, H.; Annesley, C.; Beck, J.; Colace, S.; Dallas, M.; DeSantes, K.; Kelly, K.; Kitko, C.; Lacayo, N., *et al.* Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* **2020**, *18*, 81-112. 10.6004/jnccn.2020.0001
 39. Tsuganezawa, K.; Kiyokawa, N.; Matsuo, Y.; Kitamura, F.; Toyama-Sorimachi, N.; Kuida, K.; Fujimoto, J.; Karasuyama, H. Flow cytometric diagnosis of the cell lineage and developmental stage of acute lymphoblastic leukemia by novel monoclonal antibodies specific to human pre-B-cell receptor. *Blood* **1998**, *92*, 4317-4324.

40. Vrooman, L.M.; Silverman, L.B. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Prognostic Factors and Clinical Advances. *Curr Hematol Malig Rep* **2016**, *11*, 385-394. 10.1007/s11899-016-0337-y
41. Greaves, M. A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer* **2018**, *18*, 471-484. 10.1038/s41568-018-0015-6
42. Chessells, J.; Harrison, G.; Richards, S.; Bailey, C.; Hill, F.; Gibson, B.; Hann, I. Down's syndrome and acute lymphoblastic leukaemia: clinical features and response to treatment. *Archives of disease in childhood* **2001**, *85*, 321-325.
43. SIIAH, A.; John, B.M. Acute Lymphoblastic Leukemia with Treatment-Naïve Fanconi Anemia. *Indian pediatrics* **2013**, *50*.
44. Sugita, K.; Taki, T.; Hayashi, Y.; Shimaoka, H.; Kumazaki, H.; Inoue, H.; Konno, Y.; Taniwaki, M.; Kurosawa, H.; Eguchi, M. MLL-CBP fusion transcript in a therapy-related acute myeloid leukemia with the t (11; 16)(q23; p13) which developed in an acute lymphoblastic leukemia patient with Fanconi anemia. *Genes, Chromosomes and Cancer* **2000**, *27*, 264-269.
45. Mai, P.L.; Best, A.F.; Peters, J.A.; DeCastro, R.M.; Khincha, P.P.; Loud, J.T.; Bremer, R.C.; Rosenberg, P.S.; Savage, S.A. Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation carriers in the National Cancer Institute Li-Fraumeni syndrome cohort. *Cancer* **2016**, *122*, 3673-3681.
46. Bielora, B.; Fisher, T.; Waldman, D.; Lerenthal, Y.; Nissenkorn, A.; Tohami, T.; Marek, D.; Amariglio, N.; Toren, A. Acute lymphoblastic leukemia in early childhood as the presenting sign of ataxia-telangiectasia variant. *Pediatric hematology and oncology* **2013**, *30*, 574-582.
47. Ellinghaus, E.; Stanulla, M.; Richter, G.; Ellinghaus, D.; Te Kronnie, G.; Cario, G.; Cazzaniga, G.; Horstmann, M.; Grümayer, R.P.; Cavé, H. Identification of germline susceptibility loci in ETV6-RUNX1-rearranged childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* **2012**, *26*, 902-909.
48. Nakka, P.; Archer, N.P.; Xu, H.; Lupo, P.J.; Raphael, B.J.; Yang, J.J.; Ramachandran, S. Novel Gene and Network Associations Found for Acute Lymphoblastic Leukemia Using Case–

- Control and Family-Based Studies in Multiethnic Populations. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* **2017**, *26*, 1531-1539.
49. Li, Y.; Schwab, C.; Ryan, S.L.; Papaemmanuil, E.; Robinson, H.M.; Jacobs, P.; Moorman, A.V.; Dyer, S.; Borrow, J.; Griffiths, M. Constitutional and somatic rearrangement of chromosome 21 in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* **2014**, *508*, 98-102.
 50. Gutierrez-Camino, A.; Martin-Guerrero, I.; Dolzan, V.; Jazbec, J.; Carbone-Bañeres, A.; de Andoin, N.G.; Sastre, A.; Astigarraga, I.; Navajas, A.; Garcia-Orad, A. Involvement of SNPs in miR-3117 and miR-3689d2 in childhood acute lymphoblastic leukemia risk. *Oncotarget* **2018**, *9*, 22907.
 51. Hernandez, A.F.; Menendez, P. Linking Pesticide Exposure with Pediatric Leukemia: Potential Underlying Mechanisms. *Int J Mol Sci* **2016**, *17*, 461. 10.3390/ijms17040461
 52. Khalade, A.; Jaakkola, M.S.; Pukkala, E.; Jaakkola, J.J. Exposure to benzene at work and the risk of leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Environmental Health* **2010**, *9*, 1-8.
 53. Wen, Y.; Jin, R.; Chen, H. Interactions between gut microbiota and acute childhood leukemia. *Frontiers in microbiology* **2019**, *10*.
 54. Greaves, M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nature Reviews Cancer* **2006**, *6*, 193-203.
 55. Alberta, K.C.C.F.o. Childhood cancer / Types of childhood cancer. Available on line: <https://www.kidscancercare.ab.ca/childhood-cancer/all-childhood-cancers> (accessed on January 3),
 56. Dumba, M.; Jawad, N.; McHugh, K. Neuroblastoma and nephroblastoma: an overview and comparison. *Cancer Imaging* **2014**, *14*, O15.
 57. Sandlund, J.T.; Downing, J.R.; Crist, W.M. Non-Hodgkin's lymphoma in childhood. *N Engl J Med* **1996**, *334*, 1238-1248. 10.1056/NEJM199605093341906
 58. Chang, E.T.; Montgomery, S.M.; Richiardi, L.; Ehlin, A.; Ekbom, A.; Lambe, M. Number of siblings and risk of Hodgkin's lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2004**, *13*, 1236-1243.

59. Statistics, C.C.S.s.A.C.o.C. Canadian Cancer Statistics 2017. Available on line: cancer.ca/Canadian-Cancer-Statistics-2017-EN.pdf (accessed on October 5),
60. De, P.; Ellison, L.F.; Barr, R.D.; Semenciw, R.; Marrett, L.D.; Weir, H.K.; Dryer, D.; Grunfeld, E.; Steering Committee for Canadian Cancer, S. Canadian adolescents and young adults with cancer: opportunity to improve coordination and level of care. *CMAJ* **2011**, *183*, E187-194. 10.1503/CMAJ.100800
61. Canada, G.d. Le cancer chez les enfants (de 0 à 14 ans) au Canada. Available on line: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/chronic-diseases/cancer-children-canada-0-14-years.html> (accessed on 21 juin 2020),
62. Pui, C.H.; Mullighan, C.G.; Evans, W.E.; Relling, M.V. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* **2012**, *120*, 1165-1174. 10.1182/blood-2012-05-378943
63. Ellison, L.F.; Wilkins, K. An update on cancer survival. *Health Rep* **2010**, *21*, 55-60.
64. Council, N.R. *Childhood cancer survivorship: improving care and quality of life*. National Academies Press: 2003.
65. Ness, K.K.; Armenian, S.H.; Kadan-Lottick, N.; Gurney, J.G. Adverse effects of treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia: general overview and implications for long-term cardiac health. *Expert Rev Hematol* **2011**, *4*, 185-197. 10.1586/ehm.11.8
66. Hudson, M.M.; Neglia, J.P.; Woods, W.G.; Sandlund, J.T.; Pui, C.H.; Kun, L.E.; Robison, L.L.; Green, D.M. Lessons from the past: opportunities to improve childhood cancer survivor care through outcomes investigations of historical therapeutic approaches for pediatric hematological malignancies. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *58*, 334-343. 10.1002/pbc.23385
67. Jairam, V.; Roberts, K.B.; Yu, J.B. Historical trends in the use of radiation therapy for pediatric cancers: 1973-2008. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **2013**, *85*, e151-155. 10.1016/j.ijrobp.2012.10.007
68. Draznin Maltzman, J.; Bonner Millar, L. *Chemotherapy Primer: Why? What? and How?* Available on line: <https://www.oncolink.org/cancer-treatment/cancer-medications/overview/chimotherapy-primer-why-what-and-how> (accessed on 22 juin 2020),

69. Tewey, K.M.; Rowe, T.C.; Yang, L.; Halligan, B.D.; Liu, L.F. Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. *Science* **1984**, *226*, 466-468. [10.1126/science.6093249](https://doi.org/10.1126/science.6093249)
70. Inaba, H.; Pui, C.H. Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* **2010**, *11*, 1096-1106. [10.1016/S1470-2045\(10\)70114-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70114-5)
71. Pufall, M.A. Glucocorticoids and cancer. In *Glucocorticoid Signaling*, Springer: 2015; pp 315-333.
72. Egler, R.A.; Ahuja, S.P.; Matloub, Y. L-asparaginase in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* **2016**, *7*, 62.
73. Sánchez, L. Pediatric Radiation Oncology: Overview and Summary Notes. *J Cancer Prev Curr Res* **2015**, *3*, 00079.
74. Vora, A.; Andreano, A.; Pui, C.H.; Hunger, S.P.; Schrappe, M.; Moericke, A.; Biondi, A.; Escherich, G.; Silverman, L.B.; Goulden, N., *et al.* Influence of Cranial Radiotherapy on Outcome in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia Treated With Contemporary Therapy. *J Clin Oncol* **2016**, *34*, 919-926. [10.1200/JCO.2015.64.2850](https://doi.org/10.1200/JCO.2015.64.2850)
75. Pui, C.H.; Campana, D.; Pei, D.; Bowman, W.P.; Sandlund, J.T.; Kaste, S.C.; Ribeiro, R.C.; Rubnitz, J.E.; Raimondi, S.C.; Onciu, M., *et al.* Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med* **2009**, *360*, 2730-2741. [10.1056/NEJMoa0900386](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0900386)
76. Dreyer, Z.E.; Dinndorf, P.A.; Camitta, B.; Sather, H.; La, M.K.; Devidas, M.; Hilden, J.M.; Heerema, N.A.; Sanders, J.E.; McGlennen, R., *et al.* Analysis of the role of hematopoietic stem-cell transplantation in infants with acute lymphoblastic leukemia in first remission and MLL gene rearrangements: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* **2011**, *29*, 214-222. [10.1200/JCO.2009.26.8938](https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.8938)
77. Mann, G.; Attarbaschi, A.; Schrappe, M.; De Lorenzo, P.; Peters, C.; Hann, I.; De Rossi, G.; Felice, M.; Lausen, B.; Leblanc, T., *et al.* Improved outcome with hematopoietic stem cell transplantation in a poor prognostic subgroup of infants with mixed-lineage-leukemia (MLL)-rearranged acute lymphoblastic leukemia: results from the Interfant-99 Study. *Blood* **2010**, *116*, 2644-2650. [10.1182/blood-2010-03-273532](https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-273532)

78. Alshibani, E.; AlShaibani, Z.; Al-Anazi, K.A. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Acute Lymphoblastic Leukemia in the Era of Novel Therapies. *Stem Cells in Clinical Practice and Tissue Engineering* **2018**, 159.
79. Crean, D.; Jones, E. Types of chemotherapy agents and regimens. Available on line: <https://chemoth.com/types/kinaseinhibitors> (accessed on June 26 2020),
80. Crawford, L.J.; Walker, B.; Irvine, A.E. Proteasome inhibitors in cancer therapy. *J Cell Commun Signal* **2011**, 5, 101-110. 10.1007/s12079-011-0121-7
81. E., V. Immunothérapie des cancers. Available on line: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/immunotherapie-cancers> (accessed on June 26 2020),
82. Aguilar-Salinas, C.A.; Viveros-Ruiz, T. Recent advances in managing/understanding the metabolic syndrome. *F1000Res* **2019**, 8. 10.12688/f1000research.17122.1
83. Alberti, K.G.; Zimmet, P.; Shaw, J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* **2006**, 23, 469-480. 10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x
84. Grundy, S.M. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Med* **2016**, 26, 364-373. 10.1016/j.tcm.2015.10.004
85. Sarti, C.; Gallagher, J. The metabolic syndrome: prevalence, CHD risk, and treatment. *J Diabetes Complications* **2006**, 20, 121-132. 10.1016/j.jdiacomp.2005.06.014
86. Punthakee, Z.; Goldenberg, R.; Katz, P. Diabetes Canada 2018 clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada. 3. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Name: Canadian Journal of Diabetes* **2018**.
87. Bluher, M. Adipose tissue inflammation: a cause or consequence of obesity-related insulin resistance? *Clin Sci (Lond)* **2016**, 130, 1603-1614. 10.1042/CS20160005
88. Wildman, R.P.; Muntner, P.; Reynolds, K.; McGinn, A.P.; Rajpathak, S.; Wylie-Rosett, J.; Sowers, M.R. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Archives of internal medicine* **2008**, 168, 1617-1624.

89. Alberti, K.G.; Eckel, R.H.; Grundy, S.M.; Zimmet, P.Z.; Cleeman, J.I.; Donato, K.A.; Fruchart, J.C.; James, W.P.; Loria, C.M.; Smith, S.C., Jr., *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* **2009**, *120*, 1640-1645. 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644
90. Riediger, N.D.; Clara, I. Prevalence of metabolic syndrome in the Canadian adult population. *CMAJ* **2011**, *183*, E1127-1134. 10.1503/cmaj.110070
91. Costa, R.F.; Santos, N.S.; Goldraich, N.P.; Barski, T.F.; Andrade, K.S.; Krueh, L.F. Metabolic syndrome in obese adolescents: a comparison of three different diagnostic criteria. *J Pediatr (Rio J)* **2012**, *88*, 303-309. doi:10.2223/JPED.2200
92. Magge, S.N.; Goodman, E.; Armstrong, S.C.; Committee On, N.; Section On, E.; Section On, O. The Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Shifting the Focus to Cardiometabolic Risk Factor Clustering. *Pediatrics* **2017**, *140*. 10.1542/peds.2017-1603
93. Zimmet, P.; Alberti, K.G.; Kaufman, F.; Tajima, N.; Silink, M.; Arslanian, S.; Wong, G.; Bennett, P.; Shaw, J.; Caprio, S., *et al.* The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* **2007**, *8*, 299-306. 10.1111/j.1399-5448.2007.00271.x
94. Thompson, D.; Capes, S.; Denice, S.; Kader, T.; Keely, E.; Kozak, S. Lignes directrices de pratique clinique 2008 de l'Association Canadienne du Diabète pour la prévention et le traitement du diabète au Canada Canadian journal of Diabetes Septembre 2008; Vol 32: Suppl 1. S187-201.
95. Cook, S.; Weitzman, M.; Auinger, P.; Nguyen, M.; Dietz, W.H. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* **2003**, *157*, 821-827. 10.1001/archpedi.157.8.821
96. de Ferranti, S.D.; Gauvreau, K.; Ludwig, D.S.; Neufeld, E.J.; Newburger, J.W.; Rifai, N. Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: findings from the Third

- National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* **2004**, *110*, 2494-2497. 10.1161/01.CIR.0000145117.40114.C7
97. Ormazabal, V.; Nair, S.; Elfeky, O.; Aguayo, C.; Salomon, C.; Zuniga, F.A. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol* **2018**, *17*, 122. 10.1186/s12933-018-0762-4
98. Yaribeygi, H.; Farrokhi, F.R.; Butler, A.E.; Sahebkar, A. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *J Cell Physiol* **2019**, *234*, 8152-8161. 10.1002/jcp.27603
99. Benhaddou Andaloussi, A. Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa*: sites d'action cellulaires et moléculaires. **2010**.
100. Cefalu, W.T. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. *Experimental biology and medicine* **2001**, *226*, 13-26.
101. Oussaada, S.M.; van Galen, K.A.; Cooman, M.I.; Kleinendorst, L.; Hazebroek, E.J.; van Haelst, M.M.; Ter Horst, K.W.; Serlie, M.J. The pathogenesis of obesity. *Metabolism* **2019**, *92*, 26-36. 10.1016/j.metabol.2018.12.012
102. Prado, C.M.; Siervo, M.; Mire, E.; Heymsfield, S.B.; Stephan, B.C.; Broyles, S.; Smith, S.R.; Wells, J.C.; Katzmarzyk, P.T. A population-based approach to define body-composition phenotypes. *Am J Clin Nutr* **2014**, *99*, 1369-1377. 10.3945/ajcn.113.078576
103. Ussar, S.; Fujisaka, S.; Kahn, C.R. Interactions between host genetics and gut microbiome in diabetes and metabolic syndrome. *Molecular metabolism* **2016**, *5*, 795-803.
104. Kleinendorst, L.; Massink, M.P.G.; Cooman, M.I.; Savas, M.; van der Baan-Slootweg, O.H.; Roelants, R.J.; Janssen, I.C.M.; Meijers-Heijboer, H.J.; Knoers, N.; Ploos van Amstel, H.K., *et al.* Genetic obesity: next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity. *J Med Genet* **2018**, *55*, 578-586. 10.1136/jmedgenet-2018-105315
105. Alberti, G.; Zimmet, P.; Kaufman, F.; Tajima, N.; Silink, M.; Arslanian, S.; Wong, G.; Bennett, P.; Shaw, J.; Caprio, S. The IDF consensus definition of the metabolic syndrome in children and adolescents. *International Diabetes Federation* **2007**, *24*, 2-930229.
106. Bouchard, C.; Tremblay, A.; Despres, J.P.; Nadeau, A.; Lupien, P.J.; Theriault, G.; Dussault, J.; Moorjani, S.; Pinault, S.; Fournier, G. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med* **1990**, *322*, 1477-1482. 10.1056/NEJM199005243222101

107. Williams, H. Hypertension: Pathophysiology and diagnosis. *Clinical Pharmacist. Pharmaceutical Journal* **2015**, *7*, 11-14.
108. Beevers, G.; Lip, G.Y.; O'Brien, E. The pathophysiology of hypertension. *Bmj* **2001**, *322*, 912-916.
109. Kolovou, G.D.; Anagnostopoulou, K.K.; Cokkinos, D.V. Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgrad Med J* **2005**, *81*, 358-366. 10.1136/pgmj.2004.025601
110. Feingold, K.R.; Grunfeld, C. Introduction to lipids and lipoproteins. In *Endotext [Internet]*, MDText. com, Inc.: 2018.
111. Saba, A.; Oridupa, O. Lipoproteins and cardiovascular diseases. *Lipoproteins-role in health and diseases* **2012**, 197-222.
112. Renee Ruhaak, L.; van der Laarse, A.; Cobbaert, C.M. Apolipoprotein profiling as a personalized approach to the diagnosis and treatment of dyslipidaemia. *Annals of clinical biochemistry* **2019**, *56*, 338-356.
113. Parish, S.; Peto, R.; Palmer, A.; Clarke, R.; Lewington, S.; Offer, A.; Whitlock, G.; Clark, S.; Youngman, L.; Sleight, P., *et al.* The joint effects of apolipoprotein B, apolipoprotein A1, LDL cholesterol, and HDL cholesterol on risk: 3510 cases of acute myocardial infarction and 9805 controls. *Eur Heart J* **2009**, *30*, 2137-2146. 10.1093/eurheartj/ehp221
114. Walldius, G.; Jungner, I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med* **2004**, *255*, 188-205.
115. Maranhao, R.C.; Freitas, F.R. HDL metabolism and atheroprotection: predictive value of lipid transfers. *Adv Clin Chem* **2014**, *65*, 1-41.
116. Schwendeman, A.; Sviridov, D.O.; Yuan, W.; Guo, Y.; Morin, E.E.; Yuan, Y.; Stonik, J.; Freeman, L.; Ossoli, A.; Thacker, S., *et al.* The effect of phospholipid composition of reconstituted HDL on its cholesterol efflux and anti-inflammatory properties. *J Lipid Res* **2015**, *56*, 1727-1737. 10.1194/jlr.M060285
117. Gursky, O. Structural stability and functional remodeling of high-density lipoproteins. *FEBS Lett* **2015**, *589*, 2627-2639. 10.1016/j.febslet.2015.02.028

118. Guha, M.; Gao, X.; Jayaraman, S.; Gursky, O. Correlation of structural stability with functional remodeling of high-density lipoproteins: the importance of being disordered. *Biochemistry* **2008**, *47*, 11393-11397. 10.1021/bi8014746
119. Angeloni, E.; Paneni, F.; Landmesser, U.; Benedetto, U.; Melina, G.; Luscher, T.F.; Volpe, M.; Sinatra, R.; Cosentino, F. Lack of protective role of HDL-C in patients with coronary artery disease undergoing elective coronary artery bypass grafting. *Eur Heart J* **2013**, *34*, 3557-3562. 10.1093/eurheartj/eh163
120. Heinecke, J. HDL and cardiovascular-disease risk--time for a new approach? *N Engl J Med* **2011**, *364*, 170-171. 10.1056/NEJMe1012520
121. Aoki, T.; Yagi, H.; Sumino, H.; Tsunekawa, K.; Araki, O.; Kimura, T.; Nara, M.; Ogiwara, T.; Nakajima, K.; Murakami, M. Relationship between carotid artery intima-media thickness and small dense low-density lipoprotein cholesterol concentrations measured by homogenous assay in Japanese subjects. *Clin Chim Acta* **2015**, *442*, 110-114. 10.1016/j.cca.2015.01.010
122. Koba, S.; Yokota, Y.; Hirano, T.; Ito, Y.; Ban, Y.; Tsunoda, F.; Sato, T.; Shoji, M.; Suzuki, H.; Geshi, E., *et al.* Small LDL-cholesterol is superior to LDL-cholesterol for determining severe coronary atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* **2008**, *15*, 250-260.
123. Arsenault, B.J.; Lemieux, I.; Despres, J.P.; Wareham, N.J.; Luben, R.; Kastelein, J.J.; Khaw, K.T.; Boekholdt, S.M. Cholesterol levels in small LDL particles predict the risk of coronary heart disease in the EPIC-Norfolk prospective population study. *Eur Heart J* **2007**, *28*, 2770-2777. 10.1093/eurheartj/ehm390
124. Blumenthal, R.; Foody, J.; Wong, N.D. *Preventive Cardiology: A Companion to Braunwald's Heart Disease E-Book*. Elsevier Health Sciences: 2011.
125. Ebbert, J.O.; Jensen, M.D. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients* **2013**, *5*, 498-508. 10.3390/nu5020498
126. Welty, F.K.; Alfaddagh, A.; Elajami, T.K. Targeting inflammation in metabolic syndrome. *Transl Res* **2016**, *167*, 257-280. 10.1016/j.trsl.2015.06.017

127. von Ballmoos, M.C.W.; Haring, B.; Sacks, F.M. The risk of cardiovascular events with increased apolipoprotein CIII: A systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical lipidology* **2015**, *9*, 498-510.
128. Walldius, G.; Jungner, I.; Holme, I.; Aastveit, A.H.; Kolar, W.; Steiner, E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* **2001**, *358*, 2026-2033. 10.1016/S0140-6736(01)07098-2
129. Sandhu, P.K.; MUSAAD, S.M.; Remaley, A.T.; Buehler, S.S.; Strider, S.; Derzon, J.H.; Vesper, H.W.; Ranne, A.; Shaw, C.S.; Christenson, R.H. Lipoprotein Biomarkers and Risk of Cardiovascular Disease: A Laboratory Medicine Best Practices (LMBP) Systematic Review. *J Appl Lab Med* **2016**, *1*, 214-229. 10.1373/jalm.2016.021006
130. Tian, M.; Li, R.; Shan, Z.; Wang, D.W.; Jiang, J.; Cui, G. Comparison of Apolipoprotein B/A1 ratio, Framingham risk score and TC/HDL-c for predicting clinical outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Lipids Health Dis* **2019**, *18*, 202. 10.1186/s12944-019-1144-y
131. Davidson, M.H. Apolipoprotein measurements: is more widespread use clinically indicated? *Clinical Cardiology: An International Indexed and Peer-Reviewed Journal for Advances in the Treatment of Cardiovascular Disease* **2009**, *32*, 482-486.
132. Carr, M.C.; Brunzell, J.D. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**, *89*, 2601-2607. 10.1210/jc.2004-0432
133. Kei, A.A.; Filippatos, T.D.; Tsimihodimos, V.; Elisaf, M.S. A review of the role of apolipoprotein C-II in lipoprotein metabolism and cardiovascular disease. *Metabolism* **2012**, *61*, 906-921. 10.1016/j.metabol.2011.12.002
134. Gerber, Y.; Goldbourt, U.; Cohen, H.; Harats, D. Association between serum apolipoprotein CII concentration and coronary heart disease. *Preventive medicine* **2002**, *35*, 42-47.
135. Chen, M.H.; Colan, S.D.; Diller, L. Cardiovascular disease: cause of morbidity and mortality in adult survivors of childhood cancers. *Circ Res* **2011**, *108*, 619-628. 10.1161/CIRCRESAHA.110.224519

136. Gurney, J.G.; Ojha, R.P.; Ness, K.K.; Huang, S.; Sharma, S.; Robison, L.L.; Hudson, M.M.; Kaste, S.C. Abdominal aortic calcification in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: results from the St. Jude Lifetime Cohort study. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *59*, 1307-1309. 10.1002/pbc.24134
137. Mertens, A.C.; Liu, Q.; Neglia, J.P.; Wasilewski, K.; Leisenring, W.; Armstrong, G.T.; Robison, L.L.; Yasui, Y. Cause-specific late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* **2008**, *100*, 1368-1379. 10.1093/jnci/djn310
138. Chao, C.; Xu, L.; Bhatia, S.; Cooper, R.; Brar, S.; Wong, F.L.; Armenian, S.H. Cardiovascular Disease Risk Profiles in Survivors of Adolescent and Young Adult (AYA) Cancer: The Kaiser Permanente AYA Cancer Survivors Study. *J Clin Oncol* **2016**, *34*, 1626-1633. 10.1200/JCO.2015.65.5845
139. Chao, C.; Xu, L.; Bell, E.; Cooper, R.; Mueller, L. Long-term Health Outcomes in Survivors of Childhood Cancer Diagnosed Between 1990 and 2000 in a Large US Integrated Health Care System. *J Pediatr Hematol Oncol* **2016**, *38*, 123-130. 10.1097/MPH.0000000000000492
140. Nathan, P.C.; Amir, E.; Abdel-Qadir, H. Cardiac Outcomes in Survivors of Pediatric and Adult Cancers. *Can J Cardiol* **2016**, *32*, 871-880. 10.1016/j.cjca.2016.02.065
141. Kavey, R.E.; Allada, V.; Daniels, S.R.; Hayman, L.L.; McCrindle, B.W.; Newburger, J.W.; Parekh, R.S.; Steinberger, J.; American Heart Association Expert Panel on, P.; Prevention, S., *et al.* Cardiovascular risk reduction in high-risk pediatric patients: a scientific statement from the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science; the Councils on Cardiovascular Disease in the Young, Epidemiology and Prevention, Nutrition, Physical Activity and Metabolism, High Blood Pressure Research, Cardiovascular Nursing, and the Kidney in Heart Disease; and the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation* **2006**, *114*, 2710-2738. 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.179568
142. Janiszewski, P.M.; Oeffinger, K.C.; Church, T.S.; Dunn, A.L.; Eshelman, D.A.; Victor, R.G.; Brooks, S.; Turoff, A.J.; Sinclair, E.; Murray, J.C., *et al.* Abdominal obesity, liver fat, and

- muscle composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* **2007**, *92*, 3816-3821. 10.1210/jc.2006-2178
143. Oeffinger, K.C.; Mertens, A.C.; Sklar, C.A.; Yasui, Y.; Fears, T.; Stovall, M.; Vik, T.A.; Inskip, P.D.; Robison, L.L.; Childhood Cancer Survivor, S. Obesity in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* **2003**, *21*, 1359-1365. 10.1200/JCO.2003.06.131
144. Gurney, J.G.; Ness, K.K.; Sibley, S.D.; O'Leary, M.; Dengel, D.R.; Lee, J.M.; Youngren, N.M.; Glasser, S.P.; Baker, K.S. Metabolic syndrome and growth hormone deficiency in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **2006**, *107*, 1303-1312. 10.1002/cncr.22120
145. Hoffman, K.E.; Derdak, J.; Bernstein, D.; Reynolds, J.C.; Avila, N.A.; Gerber, L.; Steinberg, S.M.; Chrousos, G.; Mackall, C.L.; Mansky, P.J. Metabolic syndrome traits in long-term survivors of pediatric sarcoma. *Pediatr Blood Cancer* **2008**, *50*, 341-346. 10.1002/pbc.21363
146. Pietila, S.; Maki-pernaa, A.; Sievanen, H.; Koivisto, A.M.; Wigren, T.; Lenko, H.L. Obesity and metabolic changes are common in young childhood brain tumor survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2009**, *52*, 853-859. 10.1002/pbc.21936
147. Oeffinger, K.C.; Adams-Huet, B.; Victor, R.G.; Church, T.S.; Snell, P.G.; Dunn, A.L.; Eshelman-Kent, D.A.; Ross, R.; Janiszewski, P.M.; Turoff, A.J., *et al.* Insulin resistance and risk factors for cardiovascular disease in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* **2009**, *27*, 3698-3704. 10.1200/JCO.2008.19.7251
148. Warner, J.T.; Evans, W.D.; Webb, D.K.; Gregory, J.W. Body composition of long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia. *Med Pediatr Oncol* **2002**, *38*, 165-172.
149. Garmey, E.G.; Liu, Q.; Sklar, C.A.; Meacham, L.R.; Mertens, A.C.; Stovall, M.A.; Yasui, Y.; Robison, L.L.; Oeffinger, K.C. Longitudinal changes in obesity and body mass index among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* **2008**, *26*, 4639-4645. 10.1200/JCO.2008.16.3527
150. Malhotra, J.; Tonorezos, E.S.; Rozenberg, M.; Vega, G.L.; Sklar, C.A.; Chou, J.; Moskowitz, C.S.; Eshelman-Kent, D.A.; Janiszewski, P.; Ross, R., *et al.* Atherogenic low density

- lipoprotein phenotype in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Lipid Res* **2012**, *53*, 2747-2754. 10.1194/jlr.P029785
151. Meacham, L.R.; Chow, E.J.; Ness, K.K.; Kamdar, K.Y.; Chen, Y.; Yasui, Y.; Oeffinger, K.C.; Sklar, C.A.; Robison, L.L.; Mertens, A.C. Cardiovascular risk factors in adult survivors of pediatric cancer--a report from the childhood cancer survivor study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2010**, *19*, 170-181. 10.1158/1055-9965.EPI-09-0555
152. Nottage, K.A.; Ness, K.K.; Li, C.; Srivastava, D.; Robison, L.L.; Hudson, M.M. Metabolic syndrome and cardiovascular risk among long-term survivors of acute lymphoblastic leukaemia - From the St. Jude Lifetime Cohort. *Br J Haematol* **2014**, *165*, 364-374. 10.1111/bjh.12754
153. Levy, E.; Samoilenko, M.; Morel, S.; England, J.; Amre, D.; Bertout, L.; Drouin, S.; Laverdiere, C.; Krajcinovic, M.; Sinnett, D., *et al.* Cardiometabolic Risk Factors in Childhood, Adolescent and Young Adult Survivors of Acute Lymphoblastic Leukemia - A Petale Cohort. *Sci Rep* **2017**, *7*, 17684. 10.1038/s41598-017-17716-0
154. Neville, K.A.; Cohn, R.J.; Steinbeck, K.S.; Johnston, K.; Walker, J.L. Hyperinsulinemia, impaired glucose tolerance, and diabetes mellitus in survivors of childhood cancer: prevalence and risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* **2006**, *91*, 4401-4407. 10.1210/jc.2006-0128
155. Tonorezos, E.S.; Snell, P.G.; Moskowitz, C.S.; Eshelman-Kent, D.A.; Liu, J.E.; Chou, J.F.; Smith, S.M.; Dunn, A.L.; Church, T.S.; Oeffinger, K.C. Reduced cardiorespiratory fitness in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* **2013**, *60*, 1358-1364. 10.1002/pbc.24492
156. Chow, E.J.; Pihoker, C.; Hunt, K.; Wilkinson, K.; Friedman, D.L. Obesity and hypertension among children after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* **2007**, *110*, 2313-2320. 10.1002/cncr.23050
157. Van Gaal, L.F.; Mertens, I.L.; De Block, C.E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* **2006**, *444*, 875-880. 10.1038/nature05487

158. Westerink, N.L.; Nuver, J.; Lefrandt, J.D.; Vrieling, A.H.; Gietema, J.A.; Walenkamp, A.M. Cancer treatment induced metabolic syndrome: Improving outcome with lifestyle. *Crit Rev Oncol Hematol* **2016**, *108*, 128-136. 10.1016/j.critrevonc.2016.10.011
159. Geenen, M.M.; Bakker, P.J.; Kremer, L.C.; Kastelein, J.J.; van Leeuwen, F.E. Increased prevalence of risk factors for cardiovascular disease in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia and Wilms tumor treated with radiotherapy. *Pediatr Blood Cancer* **2010**, *55*, 690-697. 10.1002/pbc.22518
160. Aldhafiri, F.; Al-Nasser, A.; Al-Sugair, A.; Al-Mutairi, H.; Young, D.; Reilly, J.J. Obesity and metabolic syndrome in adolescent survivors of standard risk childhood acute lymphoblastic leukemia in Saudi Arabia. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *59*, 133-137. 10.1002/pbc.24012
161. Tonorezos, E.S.; Vega, G.L.; Sklar, C.A.; Chou, J.F.; Moskowitz, C.S.; Mo, Q.; Church, T.S.; Ross, R.; Janiszewski, P.M.; Oeffinger, K.C. Adipokines, body fatness, and insulin resistance among survivors of childhood leukemia. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *58*, 31-36. 10.1002/pbc.22964
162. Barbosa-Cortes, L.; Lopez-Alarcon, M.; Mejia-Arangure, J.M.; Klunder-Klunder, M.; Del Carmen Rodriguez-Zepeda, M.; Rivera-Marquez, H.; de la Vega-Martinez, A.; Martin-Trejo, J.; Shum-Luis, J.; Solis-Labastida, K., *et al.* Adipokines, insulin resistance, and adiposity as a predictors of metabolic syndrome in child survivors of lymphoma and acute lymphoblastic leukemia of a developing country. *BMC Cancer* **2017**, *17*, 125. 10.1186/s12885-017-3097-8
163. Zhang, F.F.; Rodday, A.M.; Kelly, M.J.; Must, A.; MacPherson, C.; Roberts, S.B.; Saltzman, E.; Parsons, S.K. Predictors of being overweight or obese in survivors of pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Pediatr Blood Cancer* **2014**, *61*, 1263-1269. 10.1002/pbc.24960
164. Siviero-Miachon, A.A.; Monteiro, C.M.; Pires, L.V.; Rozalem, A.C.; Silva, N.S.; Petrilli, A.S.; Spinola-Castro, A.M. Early traits of metabolic syndrome in pediatric post-cancer survivors: outcomes in adolescents and young adults treated for childhood medulloblastoma. *Arq Bras Endocrinol Metabol* **2011**, *55*, 653-660.

165. van Waas, M.; Neggers, S.J.; Raat, H.; van Rij, C.M.; Pieters, R.; van den Heuvel-Eibrink, M.M. Abdominal radiotherapy: a major determinant of metabolic syndrome in nephroblastoma and neuroblastoma survivors. *PLoS One* **2012**, *7*, e52237. 10.1371/journal.pone.0052237
166. Meacham, L.R.; Sklar, C.A.; Li, S.; Liu, Q.; Gimpel, N.; Yasui, Y.; Whitton, J.A.; Stovall, M.; Robison, L.L.; Oeffinger, K.C. Diabetes mellitus in long-term survivors of childhood cancer. Increased risk associated with radiation therapy: a report for the childhood cancer survivor study. *Arch Intern Med* **2009**, *169*, 1381-1388. 10.1001/archinternmed.2009.209
167. Sohn, Y.B.; Kim, S.J.; Park, S.W.; Kim, S.H.; Cho, S.Y.; Lee, S.H.; Yoo, K.H.; Sung, K.W.; Chung, J.H.; Koo, H.H., *et al.* The metabolic syndrome and body composition in childhood cancer survivors. *Korean J Pediatr* **2011**, *54*, 253-259. 10.3345/kjp.2011.54.6.253
168. de Vathaire, F.; El-Fayech, C.; Ben Ayed, F.F.; Haddy, N.; Guibout, C.; Winter, D.; Thomas-Teinturier, C.; Veres, C.; Jackson, A.; Pacquement, H., *et al.* Radiation dose to the pancreas and risk of diabetes mellitus in childhood cancer survivors: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* **2012**, *13*, 1002-1010. 10.1016/S1470-2045(12)70323-6
169. Shalitin, S.; Laur, E.; Lebenthal, Y.; Ash, S.; Yaniv, I.; Phillip, M. Endocrine complications and components of the metabolic syndrome in survivors of childhood malignant non-brain solid tumors. *Horm Res Paediatr* **2014**, *81*, 32-42. 10.1159/000355577
170. Gunn, H.M.; Emilsson, H.; Gabriel, M.; Maguire, A.M.; Steinbeck, K.S. Metabolic Health in Childhood Cancer Survivors: A Longitudinal Study in a Long-Term Follow-Up Clinic. *J Adolesc Young Adult Oncol* **2016**, *5*, 24-30. 10.1089/jayao.2015.0036
171. Lega, I.C.; Pole, J.D.; Austin, P.C.; Lau, C.; Nathan, P.C.; Baxter, N.N. Diabetes Risk in Childhood Cancer Survivors: A Population-Based Study. *Can J Diabetes* **2018**, *42*, 533-539. 10.1016/j.jcjd.2018.01.004
172. Felicetti, F.; D'Ascenzo, F.; Moretti, C.; Corrias, A.; Omede, P.; Marra, W.G.; Arvat, E.; Fagioli, F.; Brignardello, E.; Gaita, F. Prevalence of cardiovascular risk factors in long-term survivors of childhood cancer: 16 years follow up from a prospective registry. *Eur J Prev Cardiol* **2015**, *22*, 762-770. 10.1177/2047487314529348

173. Taskinen, M.; Saarinen-Pihkala, U.M.; Hovi, L.; Lipsanen-Nyman, M. Impaired glucose tolerance and dyslipidaemia as late effects after bone-marrow transplantation in childhood. *Lancet* **2000**, *356*, 993-997. 10.1016/S0140-6736(00)02717-3
174. Chow, E.J.; Simmons, J.H.; Roth, C.L.; Baker, K.S.; Hoffmeister, P.A.; Sanders, J.E.; Friedman, D.L. Increased cardiometabolic traits in pediatric survivors of acute lymphoblastic leukemia treated with total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant* **2010**, *16*, 1674-1681. 10.1016/j.bbmt.2010.05.016
175. Blijdorp, K.; van Waas, M.; van der Lely, A.J.; Pieters, R.; van den Heuvel-Eibrink, M.; Neggers, S. Endocrine sequelae and metabolic syndrome in adult long-term survivors of childhood acute myeloid leukemia. *Leuk Res* **2013**, *37*, 367-371. 10.1016/j.leukres.2012.12.008
176. Bizzarri, C.; Pinto, R.M.; Ciccone, S.; Brescia, L.P.; Locatelli, F.; Cappa, M. Early and progressive insulin resistance in young, non-obese cancer survivors treated with hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* **2015**, *62*, 1650-1655. 10.1002/pbc.25603
177. Friedman, D.N.; Hilden, P.; Moskowitz, C.S.; Suzuki, M.; Boulad, F.; Kernan, N.A.; Wolden, S.L.; Oeffinger, K.C.; Sklar, C.A. Cardiovascular Risk Factors in Survivors of Childhood Hematopoietic Cell Transplantation Treated with Total Body Irradiation: A Longitudinal Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* **2017**, *23*, 475-482. 10.1016/j.bbmt.2016.12.623
178. Link, K.; Moell, C.; Garwicz, S.; Cavallin-Stahl, E.; Bjork, J.; Thilen, U.; Ahren, B.; Erfurth, E.M. Growth hormone deficiency predicts cardiovascular risk in young adults treated for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**, *89*, 5003-5012. 10.1210/jc.2004-0126
179. Ariffin, H.; Azanan, M.S.; Abd Ghafar, S.S.; Oh, L.; Lau, K.H.; Thirunavakarasu, T.; Sedan, A.; Ibrahim, K.; Chan, A.; Chin, T.F., *et al.* Young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia show evidence of chronic inflammation and cellular aging. *Cancer* **2017**, *123*, 4207-4214. 10.1002/cncr.30857
180. Chua, L.L.; Rajasuriar, R.; Azanan, M.S.; Abdullah, N.K.; Tang, M.S.; Lee, S.C.; Woo, Y.L.; Lim, Y.A.; Ariffin, H.; Loke, P. Reduced microbial diversity in adult survivors of childhood

- acute lymphoblastic leukemia and microbial associations with increased immune activation. *Microbiome* **2017**, *5*, 35. 10.1186/s40168-017-0250-1
181. Chaosuwannakit, N.; D'Agostino, R., Jr.; Hamilton, C.A.; Lane, K.S.; Ntim, W.O.; Lawrence, J.; Melin, S.A.; Ellis, L.R.; Torti, F.M.; Little, W.C., *et al.* Aortic stiffness increases upon receipt of anthracycline chemotherapy. *J Clin Oncol* **2010**, *28*, 166-172. 10.1200/JCO.2009.23.8527
182. Jenei, Z.; Bardi, E.; Magyar, M.T.; Horvath, A.; Paragh, G.; Kiss, C. Anthracycline causes impaired vascular endothelial function and aortic stiffness in long term survivors of childhood cancer. *Pathol Oncol Res* **2013**, *19*, 375-383. 10.1007/s12253-012-9589-6
183. Tonorezos, E.S.; Robien, K.; Eshelman-Kent, D.; Moskowitz, C.S.; Church, T.S.; Ross, R.; Oeffinger, K.C. Contribution of diet and physical activity to metabolic parameters among survivors of childhood leukemia. *Cancer Causes Control* **2013**, *24*, 313-321. 10.1007/s10552-012-0116-6
184. Ross, J.A.; Oeffinger, K.C.; Davies, S.M.; Mertens, A.C.; Langer, E.K.; Kiffmeyer, W.R.; Sklar, C.A.; Stovall, M.; Yasui, Y.; Robison, L.L. Genetic variation in the leptin receptor gene and obesity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* **2004**, *22*, 3558-3562. 10.1200/JCO.2004.11.152
185. Robien, K.; Ness, K.K.; Klesges, L.M.; Baker, K.S.; Gurney, J.G. Poor adherence to dietary guidelines among adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* **2008**, *30*, 815-822. 10.1097/MPH.0b013e31817e4ad9
186. Ruble, K.; Davis, C.L.; Han, H.R. Endothelial health in childhood acute lymphoid leukemia survivors: pilot evaluation with peripheral artery tonometry. *J Pediatr Hematol Oncol* **2015**, *37*, 117-120. 10.1097/MPH.0000000000000122
187. Amar, J.; Chabo, C.; Waget, A.; Klopp, P.; Vachoux, C.; Bermudez-Humaran, L.G.; Smirnova, N.; Berge, M.; Sulpice, T.; Lahtinen, S., *et al.* Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med* **2011**, *3*, 559-572. 10.1002/emmm.201100159

188. Beaumont, M.; Goodrich, J.K.; Jackson, M.A.; Yet, I.; Davenport, E.R.; Vieira-Silva, S.; Debelius, J.; Pallister, T.; Mangino, M.; Raes, J., *et al.* Heritable components of the human fecal microbiome are associated with visceral fat. *Genome Biol* **2016**, *17*, 189. 10.1186/s13059-016-1052-7
189. Mazidi, M.; Rezaie, P.; Kengne, A.P.; Mobarhan, M.G.; Ferns, G.A. Gut microbiome and metabolic syndrome. *Diabetes Metab Syndr* **2016**, *10*, S150-157. 10.1016/j.dsx.2016.01.024
190. Cani, P.D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut* **2018**, *67*, 1716-1725. 10.1136/gutjnl-2018-316723
191. Buttros Dde, A.; Nahas, E.A.; Vespoli Hde, L.; Uemura, G.; de Almeida Bda, R.; Nahas-Neto, J. Risk of metabolic syndrome in postmenopausal breast cancer survivors. *Menopause* **2013**, *20*, 448-454. 10.1097/gme.0b013e318272bd4a
192. Conklin, K.A. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integr Cancer Ther* **2004**, *3*, 294-300. 10.1177/1534735404270335
193. Spahis, S.; Borys, J.M.; Levy, E. Metabolic Syndrome as a Multifaceted Risk Factor for Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal* **2017**, *26*, 445-461. 10.1089/ars.2016.6756
194. Hurrle, S.; Hsu, W.H. The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomed J* **2017**, *40*, 257-262. 10.1016/j.bj.2017.06.007
195. Francisqueti, F.V.; Chiaverini, L.C.; Santos, K.C.; Minatel, I.O.; Ronchi, C.B.; Ferron, A.J.; Ferreira, A.L.; Correa, C.R. The role of oxidative stress on the pathophysiology of metabolic syndrome. *Rev Assoc Med Bras (1992)* **2017**, *63*, 85-91. 10.1590/1806-9282.63.01.85
196. Tian, T.; Wang, Z.; Zhang, J. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. *Oxid Med Cell Longev* **2017**, *2017*, 4535194. 10.1155/2017/4535194
197. Cao, S.; Wu, H.; Wang, C.; Zhang, Q.; Jiao, L.; Lin, F.; Hu, C.H. Diquat-induced oxidative stress increases intestinal permeability, impairs mitochondrial function, and triggers mitophagy in piglets. *J Anim Sci* **2018**, *96*, 1795-1805. 10.1093/jas/sky104
198. Faber, M.; Coudray, C.; Hida, H.; Mousseau, M.; Favier, A. Lipid peroxidation products, and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy,

- including adriamycin. A preliminary study. *Biol Trace Elem Res* **1995**, *47*, 117-123. 10.1007/BF02790108
199. Lyon, D.E.; Cohen, R.; Chen, H.; Kelly, D.L.; McCain, N.L.; Starkweather, A.; Ahn, H.; Sturgill, J.; Jackson-Cook, C.K. Relationship of systemic cytokine concentrations to cognitive function over two years in women with early stage breast cancer. *J Neuroimmunol* **2016**, *301*, 74-82. 10.1016/j.jneuroim.2016.11.002
200. Cheung, Y.T.; Ng, T.; Shwe, M.; Ho, H.K.; Foo, K.M.; Cham, M.T.; Lee, J.A.; Fan, G.; Tan, Y.P.; Yong, W.S., *et al.* Association of proinflammatory cytokines and chemotherapy-associated cognitive impairment in breast cancer patients: a multi-centered, prospective, cohort study. *Ann Oncol* **2015**, *26*, 1446-1451. 10.1093/annonc/mdv206
201. Puztai, L.; Mendoza, T.R.; Reuben, J.M.; Martinez, M.M.; Willey, J.S.; Lara, J.; Syed, A.; Fritsche, H.A.; Bruera, E.; Booser, D., *et al.* Changes in plasma levels of inflammatory cytokines in response to paclitaxel chemotherapy. *Cytokine* **2004**, *25*, 94-102.
202. Williams, A.M.; Shah, R.; Shayne, M.; Huston, A.J.; Krebs, M.; Murray, N.; Thompson, B.D.; Doyle, K.; Korotkin, J.; van Wijngaarden, E., *et al.* Associations between inflammatory markers and cognitive function in breast cancer patients receiving chemotherapy. *J Neuroimmunol* **2018**, *314*, 17-23. 10.1016/j.jneuroim.2017.10.005
203. Ganz, P.A.; Bower, J.E.; Kwan, L.; Castellon, S.A.; Silverman, D.H.; Geist, C.; Breen, E.C.; Irwin, M.R.; Cole, S.W. Does tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) play a role in post-chemotherapy cerebral dysfunction? *Brain Behav Immun* **2013**, *30 Suppl*, S99-108. 10.1016/j.bbi.2012.07.015
204. Pomykala, K.L.; Ganz, P.A.; Bower, J.E.; Kwan, L.; Castellon, S.A.; Mallam, S.; Cheng, I.; Ahn, R.; Breen, E.C.; Irwin, M.R., *et al.* The association between pro-inflammatory cytokines, regional cerebral metabolism, and cognitive complaints following adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Brain Imaging Behav* **2013**, *7*, 511-523. 10.1007/s11682-013-9243-2
205. Kesler, S.; Janelins, M.; Koovakkattu, D.; Palesh, O.; Mustian, K.; Morrow, G.; Dhabhar, F.S. Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in chemotherapy-treated breast

- cancer survivors. *Brain Behav Immun* **2013**, *30 Suppl*, S109-116. 10.1016/j.bbi.2012.05.017
206. Tichelli, A.; Rovo, A.; Passweg, J.; Schwarze, C.P.; Van Lint, M.T.; Arat, M.; Socie, G.; Late Effects Working Party of the European Group for, B.; Marrow, T. Late complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* **2009**, *2*, 583-601. 10.1586/ehm.09.48
207. Arvidson, J.; Lonnerholm, G.; Tuvemo, T.; Carlson, K.; Lannering, B.; Lonnerholm, T. Prepubertal growth and growth hormone secretion in children after treatment for hematological malignancies, including autologous bone marrow transplantation. *Pediatr Hematol Oncol* **2000**, *17*, 285-297. 10.1080/088800100276271
208. Chua, C.L.; Brown, G.V.; Hamilton, J.A.; Molyneux, M.E.; Rogerson, S.J.; Boeuf, P. Soluble CD163, a product of monocyte/macrophage activation, is inversely associated with haemoglobin levels in placental malaria. *PLoS One* **2013**, *8*, e64127. 10.1371/journal.pone.0064127
209. Kashfi, K.; Israel, M.; Sweatman, T.W.; Seshadri, R.; Cook, G.A. Inhibition of mitochondrial carnitine palmitoyltransferases by adriamycin and adriamycin analogues. *Biochem Pharmacol* **1990**, *40*, 1441-1448.
210. Sayed-Ahmed, M.M.; Darweesh, A.Q.; Fatani, A.J. Carnitine deficiency and oxidative stress provoke cardiotoxicity in an ifosfamide-induced Fanconi Syndrome rat model. *Oxid Med Cell Longev* **2010**, *3*, 266-274. 10.4161/oxim.3.4.12859
211. Rosen, G.P.; Nguyen, H.T.; Shaibi, G.Q. Metabolic syndrome in pediatric cancer survivors: a mechanistic review. *Pediatr Blood Cancer* **2013**, *60*, 1922-1928. 10.1002/pbc.24703
212. Polovina, M.M.; Potpara, T.S. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders. *Postgrad Med* **2014**, *126*, 38-53. 10.3810/pgm.2014.03.2739
213. Samuel, V.T.; Shulman, G.I. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest* **2016**, *126*, 12-22. 10.1172/JCI77812
214. Ye, J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* **2013**, *7*, 14-24. 10.1007/s11684-013-0262-6

215. Urakawa, H.; Katsuki, A.; Sumida, Y.; Gabazza, E.C.; Murashima, S.; Morioka, K.; Maruyama, N.; Kitagawa, N.; Tanaka, T.; Hori, Y., *et al.* Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab* **2003**, *88*, 4673-4676. 10.1210/jc.2003-030202
216. Kang, Y.E.; Kim, J.M.; Joung, K.H.; Lee, J.H.; You, B.R.; Choi, M.J.; Ryu, M.J.; Ko, Y.B.; Lee, M.A.; Lee, J., *et al.* The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. *PLoS One* **2016**, *11*, e0154003. 10.1371/journal.pone.0154003
217. Ahima, R.S.; Lazar, M.A. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. *Mol Endocrinol* **2008**, *22*, 1023-1031. 10.1210/me.2007-0529
218. de Haas, E.C.; Oosting, S.F.; Lefrandt, J.D.; Wolffenbuttel, B.H.; Sleijfer, D.T.; Gietema, J.A. The metabolic syndrome in cancer survivors. *Lancet Oncol* **2010**, *11*, 193-203. 10.1016/S1470-2045(09)70287-6
219. Chueh, H.W.; Yoo, J.H. Metabolic syndrome induced by anticancer treatment in childhood cancer survivors. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* **2017**, *22*, 82-89. 10.6065/apem.2017.22.2.82
220. Kim, J.A.; Montagnani, M.; Koh, K.K.; Quon, M.J. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* **2006**, *113*, 1888-1904. 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.563213
221. Mostoufi-Moab, S.; Magland, J.; Isaacoff, E.J.; Sun, W.; Rajapakse, C.S.; Zemel, B.; Wehrli, F.; Shekdar, K.; Baker, J.; Long, J., *et al.* Adverse Fat Depots and Marrow Adiposity Are Associated With Skeletal Deficits and Insulin Resistance in Long-Term Survivors of Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Bone Miner Res* **2015**, *30*, 1657-1666. 10.1002/jbmr.2512
222. Boucher, J.; Kleinriders, A.; Kahn, C.R. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2014**, *6*. 10.1101/cshperspect.a009191
223. Copps, K.D.; White, M.F. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia* **2012**, *55*, 2565-2582. 10.1007/s00125-012-2644-8

224. Carow, B.; Rottenberg, M.E. SOCS3, a Major Regulator of Infection and Inflammation. *Front Immunol* **2014**, *5*, 58. 10.3389/fimmu.2014.00058
225. Zhang, J.; Gong, M. Review of the role of leptin in the regulation of male reproductive function. *Andrologia* **2018**. 10.1111/and.12965
226. Goropashnaya, A.V.; Herron, J.; Sexton, M.; Havel, P.J.; Stanhope, K.L.; Plaetke, R.; Mohatt, G.V.; Boyer, B.B. Relationships between plasma adiponectin and body fat distribution, insulin sensitivity, and plasma lipoproteins in Alaskan Yup'ik Eskimos: the Center for Alaska Native Health Research study. *Metabolism* **2009**, *58*, 22-29.
227. Lindsay, R.S.; Funahashi, T.; Hanson, R.L.; Matsuzawa, Y.; Tanaka, S.; Tataranni, P.A.; Knowler, W.C.; Krakoff, J. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *The Lancet* **2002**, *360*, 57-58.
228. Yamauchi, T.; Kamon, J.; Waki, H.; Terauchi, Y.; Kubota, N.; Hara, K.; Mori, Y.; Ide, T.; Murakami, K.; Tsuboyama-Kasaoka, N. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature medicine* **2001**, *7*, 941-946.
229. Hector, J.; Schwarzloh, B.; Goehring, J.; Strate, T.G.; Hess, U.F.; Deuretzbacher, G.; Hansen-Algenstaedt, N.; Beil, F.U.; Algenstaedt, P. TNF-alpha alters visfatin and adiponectin levels in human fat. *Horm Metab Res* **2007**, *39*, 250-255. 10.1055/s-2007-973075
230. Ha, H.H.; Park, S.Y.; Ko, W.S.; Kim, Y. Gleditsia sinensis thorns inhibit the production of NO through NF-kappaB suppression in LPS-stimulated macrophages. *J Ethnopharmacol* **2008**, *118*, 429-434. 10.1016/j.jep.2008.05.004
231. Yokota, T.; Oritani, K.; Takahashi, I.; Ishikawa, J.; Matsuyama, A.; Ouchi, N.; Kihara, S.; Funahashi, T.; Tenner, A.J.; Tomiyama, Y., *et al.* Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* **2000**, *96*, 1723-1732.
232. Combs, T.P.; Berg, A.H.; Obici, S.; Scherer, P.E.; Rossetti, L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest* **2001**, *108*, 1875-1881. 10.1172/JCI14120

233. Yoon, Y.S.; Ryu, D.; Lee, M.W.; Hong, S.; Koo, S.H. Adiponectin and thiazolidinedione targets CRTC2 to regulate hepatic gluconeogenesis. *Exp Mol Med* **2009**, *41*, 577-583. 10.3858/emm.2009.41.8.063
234. Kadowaki, T.; Yamauchi, T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocrine reviews* **2005**, *26*, 439-451.
235. Dutheil, F.; Gordon, B.A.; Naughton, G.; Crendal, E.; Courteix, D.; Chaplais, E.; Thivel, D.; Lac, G.; Benson, A.C. Cardiovascular risk of adipokines: a review. *Journal of International Medical Research* **2018**, *46*, 2082-2095.
236. Jung, H.S.; Myung, S.K.; Kim, B.S.; Seo, H.G. Metabolic syndrome in adult cancer survivors: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* **2012**, *95*, 275-282. 10.1016/j.diabres.2011.08.029
237. Saddi-Rosa, P.; Oliveira, C.S.; Giuffrida, F.M.; Reis, A.F. Visfatin, glucose metabolism and vascular disease: a review of evidence. *Diabetology & metabolic syndrome* **2010**, *2*, 21.
238. Kang, Y.S.; Cha, D.R. The role of visfatin in diabetic nephropathy. *Chonnam medical journal* **2011**, *47*, 139-143.
239. Sun, L.; Chen, S.; Gao, H.; Ren, L.; Song, G. Visfatin induces the apoptosis of endothelial progenitor cells via the induction of pro-inflammatory mediators through the NF-kappaB pathway. *Int J Mol Med* **2017**, *40*, 637-646. 10.3892/ijmm.2017.3048
240. Hosseinzadeh-Attar, M.; Golpaie, A.; Foroughi, M.; Hosseinpanah, F.; Zahediasl, S.; Azizi, F. The relationship between visfatin and serum concentrations of C-reactive protein, interleukin 6 in patients with metabolic syndrome. *Journal of endocrinological investigation* **2016**, *39*, 917-922.
241. Lopez-Bermejo, A.; Chico-Julia, B.; Fernandez-Balsells, M.; Recasens, M.; Esteve, E.; Casamitjana, R.; Ricart, W.; Fernandez-Real, J.M. Serum visfatin increases with progressive beta-cell deterioration. *Diabetes* **2006**, *55*, 2871-2875. 10.2337/db06-0259
242. Haider, D.G.; Schaller, G.; Kapiotis, S.; Maier, C.; Luger, A.; Wolzt, M. The release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin. *Diabetologia* **2006**, *49*, 1909-1914. 10.1007/s00125-006-0303-7

243. Chen, M.P.; Chung, F.M.; Chang, D.M.; Tsai, J.C.; Huang, H.F.; Shin, S.J.; Lee, Y.J. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* **2006**, *91*, 295-299. 10.1210/jc.2005-1475
244. Dogru, T.; Sonmez, A.; Tasci, I.; Bozoglu, E.; Yilmaz, M.I.; Genc, H.; Erdem, G.; Gok, M.; Bingol, N.; Kilic, S., *et al.* Plasma visfatin levels in patients with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Diabetes Res Clin Pract* **2007**, *76*, 24-29. 10.1016/j.diabres.2006.07.031
245. Takebayashi, K.; Suetsugu, M.; Wakabayashi, S.; Aso, Y.; Inukai, T. Association between plasma visfatin and vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* **2007**, *56*, 451-458.
246. Berndt, J.; Klötting, N.; Kralisch, S.; Kovacs, P.; Fasshauer, M.; Schön, M.R.; Stumvoll, M.; Blüher, M. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* **2005**, *54*, 2911-2916.
247. Lee, M.-W.; Lee, M.; Oh, K.-J. Adipose tissue-derived signatures for obesity and Type 2 diabetes: adipokines, batokines and microRNAs. *Journal of clinical medicine* **2019**, *8*, 854.
248. Farb, M.G.; Gokce, N. Visceral adiposopathy: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig* **2015**, *21*, 125-136. 10.1515/hmbci-2014-0047
249. Houston, M. The role of nutrition and nutraceutical supplements in the treatment of hypertension. *World J Cardiol* **2014**, *6*, 38-66. 10.4330/wjc.v6.i2.38
250. Soutati, A.; Mountzios, G.; Avgerinou, C.; Papaxoinis, G.; Pectasides, D.; Dimopoulos, M.A.; Papadimitriou, C. Endothelial vascular toxicity from chemotherapeutic agents: preclinical evidence and clinical implications. *Cancer Treat Rev* **2012**, *38*, 473-483. 10.1016/j.ctrv.2011.09.002
251. Jarvela, L.S.; Niinikoski, H.; Heinonen, O.J.; Lahteenmaki, P.M.; Arola, M.; Kempainen, J. Endothelial function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: effects of a home-based exercise program. *Pediatr Blood Cancer* **2013**, *60*, 1546-1551. 10.1002/pbc.24565
252. Parikh, N.I.; Keyes, M.J.; Larson, M.G.; Pou, K.M.; Hamburg, N.M.; Vita, J.A.; O'Donnell, C.J.; Vasan, R.S.; Mitchell, G.F.; Hoffmann, U., *et al.* Visceral and subcutaneous adiposity

- and brachial artery vasodilator function. *Obesity (Silver Spring)* **2009**, *17*, 2054-2059. 10.1038/oby.2009.60
253. Hashimoto, M.; Akishita, M.; Eto, M.; Kozaki, K.; Ako, J.; Sugimoto, N.; Yoshizumi, M.; Toba, K.; Ouchi, Y. The impairment of flow-mediated vasodilatation in obese men with visceral fat accumulation. *Int J Obes Relat Metab Disord* **1998**, *22*, 477-484.
254. Monti, L.D.; Barlassina, C.; Citterio, L.; Galluccio, E.; Berzuini, C.; Setola, E.; Valsecchi, G.; Lucotti, P.; Pozza, G.; Bernardinelli, L., *et al.* Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms are associated with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome. *Diabetes* **2003**, *52*, 1270-1275. 10.2337/diabetes.52.5.1270
255. Miranda, J.A.; Belo, V.A.; Souza-Costa, D.C.; Lanna, C.M.; Tanus-Santos, J.E. eNOS polymorphism associated with metabolic syndrome in children and adolescents. *Molecular and cellular biochemistry* **2013**, *372*, 155-160.
256. Le Gouill, E.; Jimenez, M.; Binnert, C.; Jayet, P.Y.; Thalmann, S.; Nicod, P.; Scherrer, U.; Vollenweider, P. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) knockout mice have defective mitochondrial beta-oxidation. *Diabetes* **2007**, *56*, 2690-2696. 10.2337/db06-1228
257. Duplain, H.; Burcelin, R.; Sartori, C.; Cook, S.; Egli, M.; Lepori, M.; Vollenweider, P.; Pedrazzini, T.; Nicod, P.; Thorens, B., *et al.* Insulin resistance, hyperlipidemia, and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* **2001**, *104*, 342-345.
258. van de Wouw, M.; Schellekens, H.; Dinan, T.G.; Cryan, J.F. Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr* **2017**, *147*, 727-745. 10.3945/jn.116.240481
259. De Silva, A.; Bloom, S.R. Gut Hormones and Appetite Control: A Focus on PYY and GLP-1 as Therapeutic Targets in Obesity. *Gut Liver* **2012**, *6*, 10-20. 10.5009/gnl.2012.6.1.10
260. Haddy, T.B.; Mosher, R.B.; Nunez, S.B.; Reaman, G.H. Growth hormone deficiency after chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia in children who have not received cranial radiation. *Pediatr Blood Cancer* **2006**, *46*, 258-261. 10.1002/pbc.20485
261. Follin, C.; Thilen, U.; Ahren, B.; Erfurth, E.M. Improvement in cardiac systolic function and reduced prevalence of metabolic syndrome after two years of growth hormone (GH)

- treatment in GH-deficient adult survivors of childhood-onset acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* **2006**, *91*, 1872-1875. 10.1210/jc.2005-2298
262. Murray, R.D.; Darzy, K.H.; Gleeson, H.K.; Shalet, S.M. GH-deficient survivors of childhood cancer: GH replacement during adult life. *J Clin Endocrinol Metab* **2002**, *87*, 129-135. 10.1210/jcem.87.1.8146
263. Basaria, S.; Muller, D.C.; Carducci, M.A.; Egan, J.; Dobs, A.S. Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. *Cancer* **2006**, *106*, 581-588. 10.1002/cncr.21642
264. Li, C.; Liu, P.; Liu, L.; Zhang, X.; Yang, P.; Sheng, H.; Bu, L.; Li, H.; Qu, S. Metabolic syndrome in hematologic malignancies survivors: a meta-analysis. *Med Oncol* **2015**, *32*, 422. 10.1007/s12032-014-0422-9
265. Roos, A.; Bakker, S.J.; Links, T.P.; Gans, R.O.; Wolffenbuttel, B.H. Thyroid function is associated with components of the metabolic syndrome in euthyroid subjects. *J Clin Endocrinol Metab* **2007**, *92*, 491-496. 10.1210/jc.2006-1718
266. Uzunlulu, M.; Yorulmaz, E.; Oguz, A. Prevalence of subclinical hypothyroidism in patients with metabolic syndrome. *Endocr J* **2007**, *54*, 71-76.
267. Sanders, J.E.; Hoffmeister, P.A.; Woolfrey, A.E.; Carpenter, P.A.; Storer, B.E.; Storb, R.F.; Appelbaum, F.R. Thyroid function following hematopoietic cell transplantation in children: 30 years' experience. *Blood* **2009**, *113*, 306-308. 10.1182/blood-2008-08-173005
268. Sklar, C.; Whitton, J.; Mertens, A.; Stovall, M.; Green, D.; Marina, N.; Greffe, B.; Wolden, S.; Robison, L. Abnormalities of the thyroid in survivors of Hodgkin's disease: data from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Endocrinol Metab* **2000**, *85*, 3227-3232. 10.1210/jcem.85.9.6808
269. Mercado, G.; Adelstein, D.J.; Saxton, J.P.; Secic, M.; Larto, M.A.; Lavertu, P. Hypothyroidism: a frequent event after radiotherapy and after radiotherapy with chemotherapy for patients with head and neck carcinoma. *Cancer* **2001**, *92*, 2892-2897. 10.1002/1097-0142(20011201)92:11<2892::aid-cncr10134>3.0.co;2-t

270. Tell, R.; Lundell, G.; Nilsson, B.; Sjodin, H.; Lewin, F.; Lewensohn, R. Long-term incidence of hypothyroidism after radiotherapy in patients with head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **2004**, *60*, 395-400. 10.1016/j.ijrobp.2004.03.020
271. de Luca, A.; Hankard, R.; Borys, J.M.; Sinnett, D.; Marcil, V.; Levy, E. Nutriepigenomics and malnutrition. *Epigenomics* **2017**, *9*, 893-917. 10.2217/epi-2016-0168
272. Wilson, C.L.; Liu, W.; Yang, J.J.; Kang, G.; Ojha, R.P.; Neale, G.A.; Srivastava, D.K.; Gurney, J.G.; Hudson, M.M.; Robison, L.L., *et al.* Genetic and clinical factors associated with obesity among adult survivors of childhood cancer: A report from the St. Jude Lifetime Cohort. *Cancer* **2015**, *121*, 2262-2270. 10.1002/cncr.29153
273. England, J.; Drouin, S.; Beaulieu, P.; St-Onge, P.; Krajcinovic, M.; Laverdiere, C.; Levy, E.; Marcil, V.; Sinnett, D. Genomic determinants of long-term cardiometabolic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *BMC Cancer* **2017**, *17*, 751. 10.1186/s12885-017-3722-6
274. Cupit-Link, M.C.; Kirkland, J.L.; Ness, K.K.; Armstrong, G.T.; Tchkonja, T.; LeBrasseur, N.K.; Armenian, S.H.; Ruddy, K.J.; Hashmi, S.K. Biology of premature ageing in survivors of cancer. *ESMO Open* **2017**, *2*, e000250. 10.1136/esmoopen-2017-000250
275. Nyce, J. Drug-induced DNA hypermethylation and drug resistance in human tumors. *Cancer Res* **1989**, *49*, 5829-5836.
276. Johnson, A.A.; Akman, K.; Calimport, S.R.; Wuttke, D.; Stolzing, A.; de Magalhaes, J.P. The role of DNA methylation in aging, rejuvenation, and age-related disease. *Rejuvenation Res* **2012**, *15*, 483-494. 10.1089/rej.2012.1324
277. Daniel, S.; Nylander, V.; Ingerslev, L.R.; Zhong, L.; Fabre, O.; Clifford, B.; Johnston, K.; Cohn, R.J.; Barres, R.; Simar, D. T cell epigenetic remodeling and accelerated epigenetic aging are linked to long-term immune alterations in childhood cancer survivors. *Clin Epigenetics* **2018**, *10*, 138. 10.1186/s13148-018-0561-5
278. Idelson, P.I.; Scalfi, L.; Valerio, G. Adherence to the Mediterranean Diet in children and adolescents: A systematic review. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **2017**, *27*, 283-299.

279. Cavicchia, P.P.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Ma, Y.; Ockene, I.S.; Hebert, J.R. A new dietary inflammatory index predicts interval changes in serum high-sensitivity C-reactive protein. *J Nutr* **2009**, *139*, 2365-2372. 10.3945/jn.109.114025
280. Castro, M.A.; Baltar, V.T.; Selem, S.S.; Marchioni, D.M.; Fisberg, R.M. Empirically derived dietary patterns: interpretability and construct validity according to different factor rotation methods. *Cad Saude Publica* **2015**, *31*, 298-310. 10.1590/0102-311x00070814
281. Cunha, D.B.; Almeida, R.M.; Pereira, R.A. A comparison of three statistical methods applied in the identification of eating patterns. *Cad Saude Publica* **2010**, *26*, 2138-2148. 10.1590/s0102-311x2010001100015
282. Simmons, J.H.; Chow, E.J.; Koehler, E.; Esbenshade, A.; Smith, L.A.; Sanders, J.; Friedman, D. Significant 25-hydroxyvitamin D deficiency in child and adolescent survivors of acute lymphoblastic leukemia: treatment with chemotherapy compared with allogeneic stem cell transplant. *Pediatr Blood Cancer* **2011**, *56*, 1114-1119. 10.1002/pbc.22949
283. Modan-Moses, D.; Pinhas-Hamiel, O.; Munitz-Shenkar, D.; Temam, V.; Kanety, H.; Toren, A. Vitamin D status in pediatric patients with a history of malignancy. *Pediatr Res* **2012**, *72*, 620-624. 10.1038/pr.2012.131
284. Dobnig, H.; Pilz, S.; Scharnagl, H.; Renner, W.; Seelhorst, U.; Wellnitz, B.; Kinkeldei, J.; Boehm, B.O.; Weihrauch, G.; Maerz, W. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* **2008**, *168*, 1340-1349. 10.1001/archinte.168.12.1340
285. Pittas, A.G.; Lau, J.; Hu, F.B.; Dawson-Hughes, B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* **2007**, *92*, 2017-2029. 10.1210/jc.2007-0298
286. Mishra, S.; Das, A.K.; Das, S. Hypovitaminosis D and Associated Cardiometabolic Risk in Women with PCOS. *J Clin Diagn Res* **2016**, *10*, BC01-04. 10.7860/JCDR/2016/19407.7771
287. Piantanida, E.; Gallo, D.; Veronesi, G.; Dozio, E.; Trotti, E.; Lai, A.; Ippolito, S.; Sabatino, J.; Tanda, M.L.; Toniolo, A., *et al.* Cardiometabolic healthy and unhealthy obesity: does vitamin D play a role? *Endocr Connect* **2017**, *6*, 943-951. 10.1530/EC-17-0304

288. Jain, P.; Gulati, S.; Toteja, G.S.; Bakhshi, S.; Seth, R.; Pandey, R.M. Serum alpha tocopherol, vitamin B12, and folate levels in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors with and without neuropathy. *J Child Neurol* **2015**, *30*, 786-788. 10.1177/0883073814535495
289. Hales, C.N.; Barker, D.J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. 1992. *Int J Epidemiol* **2013**, *42*, 1215-1222. 10.1093/ije/dyt133
290. Bruce, K.D.; Hanson, M.A. The developmental origins, mechanisms, and implications of metabolic syndrome. *J Nutr* **2010**, *140*, 648-652. 10.3945/jn.109.111179
291. Tylavsky, F.A.; Smith, K.; Surprise, H.; Garland, S.; Yan, X.; McCammon, E.; Hudson, M.M.; Pui, C.H.; Kaste, S.C. Nutritional intake of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: evidence for bone health interventional opportunities. *Pediatr Blood Cancer* **2010**, *55*, 1362-1369. 10.1002/pbc.22737
292. Landy, D.C.; Lipsitz, S.R.; Kurtz, J.M.; Hinkle, A.S.; Constine, L.S.; Adams, M.J.; Lipshultz, S.E.; Miller, T.L. Dietary quality, caloric intake, and adiposity of childhood cancer survivors and their siblings: an analysis from the cardiac risk factors in childhood cancer survivors study. *Nutr Cancer* **2013**, *65*, 547-555. 10.1080/01635581.2013.770042
293. Cohen, J.; Wakefield, C.E.; Fleming, C.A.; Gawthorne, R.; Tapsell, L.C.; Cohn, R.J. Dietary intake after treatment in child cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2012**, *58*, 752-757. 10.1002/pbc.23280
294. Zhang, F.F.; Saltzman, E.; Kelly, M.J.; Liu, S.; Must, A.; Parsons, S.K.; Roberts, S.B. Comparison of childhood cancer survivors' nutritional intake with US dietary guidelines. *Pediatr Blood Cancer* **2015**, *62*, 1461-1467. 10.1002/pbc.25521
295. Belle, F.; Wengenroth, L.; Weiss, A.; Sommer, G.; Beck Popovic, M.; Ansari, M.; Bochud, M.; Kuehni, C.; Swiss Paediatric Oncology, G. Low adherence to dietary recommendations in adult childhood cancer survivors. *Clin Nutr* **2017**, *36*, 1266-1274. 10.1016/j.clnu.2016.08.012
296. Berdan, C.A.; Tangney, C.C.; Scala, C.; Stolley, M. Childhood cancer survivors and adherence to the American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity. *J Cancer Surviv* **2014**, *8*, 671-679. 10.1007/s11764-014-0376-0

297. Kaliora, A.C.; Dedoussis, G.V. Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. *Pharmacol Res* **2007**, *56*, 99-109. 10.1016/j.phrs.2007.04.018
298. Hernáez, Á.; Castañer, O.; Fitó, M. Response to Letter Regarding Article, "Mediterranean Diet Improves High-Density Lipoprotein Function in High-Cardiovascular-Risk Individuals: A Randomized Controlled Trial". *Circulation* **2017**, *136*, 342-343.
299. Kim, D.S.; Burt, A.A.; Ranchalis, J.E.; Jarvik, L.E.; Eintracht, J.F.; Furlong, C.E.; Jarvik, G.P. Effects of dietary components on high-density lipoprotein measures in a cohort of 1,566 participants. *Nutr Metab (Lond)* **2014**, *11*, 44. 10.1186/1743-7075-11-44
300. Grosso, G.; Marventano, S.; Yang, J.; Micek, A.; Pajak, A.; Scalfi, L.; Galvano, F.; Kales, S.N. A comprehensive meta-analysis on evidence of Mediterranean diet and cardiovascular disease: Are individual components equal? *Crit Rev Food Sci Nutr* **2017**, *57*, 3218-3232. 10.1080/10408398.2015.1107021
301. Schwingshackl, L.; Missbach, B.; König, J.; Hoffmann, G. Adherence to a Mediterranean diet and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Public Health Nutr* **2015**, *18*, 1292-1299. 10.1017/S1368980014001542
302. Sofi, F.; Abbate, R.; Gensini, G.F.; Casini, A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* **2010**, *92*, 1189-1196. 10.3945/ajcn.2010.29673
303. Mitrou, P.N.; Kipnis, V.; Thiebaut, A.C.; Reedy, J.; Subar, A.F.; Wirfalt, E.; Flood, A.; Mouw, T.; Hollenbeck, A.R.; Leitzmann, M.F., *et al.* Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med* **2007**, *167*, 2461-2468. 10.1001/archinte.167.22.2461
304. Krebs-Smith, S.M.; Pannucci, T.E.; Subar, A.F.; Kirkpatrick, S.I.; Lerman, J.L.; Toozé, J.A.; Wilson, M.M.; Reedy, J. Update of the Healthy Eating Index: HEI-2015. *J Acad Nutr Diet* **2018**, *118*, 1591-1602. 10.1016/j.jand.2018.05.021
305. Goulet, J.; Nadeau, G.; Lapointe, A.; Lamarche, B.; Lemieux, S. Validity and reproducibility of an interviewer-administered food frequency questionnaire for healthy French-Canadian men and women. *Nutr J* **2004**, *3*, 13. 10.1186/1475-2891-3-13

306. Six, B.L.; Schap, T.E.; Zhu, F.M.; Mariappan, A.; Bosch, M.; Delp, E.J.; Ebert, D.S.; Kerr, D.A.; Boushey, C.J. Evidence-based development of a mobile telephone food record. *J Am Diet Assoc* **2010**, *110*, 74-79. 10.1016/j.jada.2009.10.010
307. Probst, Y.; Nguyen, D.T.; Tran, M.K.; Li, W. Dietary Assessment on a Mobile Phone Using Image Processing and Pattern Recognition Techniques: Algorithm Design and System Prototyping. *Nutrients* **2015**, *7*, 6128-6138. 10.3390/nu7085274
308. Molag, M.L.; de Vries, J.H.; Ocke, M.C.; Dagnelie, P.C.; van den Brandt, P.A.; Jansen, M.C.; van Staveren, W.A.; van't Veer, P. Design characteristics of food frequency questionnaires in relation to their validity. *Am J Epidemiol* **2007**, *166*, 1468-1478. 10.1093/aje/kwm236
309. Lakka, T.A.; Laaksonen, D.E. Physical activity in prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab* **2007**, *32*, 76-88. 10.1139/h06-113
310. Tarp, J.; Bugge, A.; Moller, N.C.; Klakk, H.; Rexen, C.T.; Grontved, A.; Wedderkopp, N. Muscle Fitness Changes During Childhood Associates With Improvements in Cardiometabolic Risk Factors: A Prospective Study. *J Phys Act Health* **2019**, *16*, 108-115. 10.1123/jpah.2017-0678
311. Ramirez-Velez, R.; Correa-Bautista, J.E.; Lobelo, F.; Izquierdo, M.; Alonso-Martinez, A.; Rodriguez-Rodriguez, F.; Cristi-Montero, C. High muscular fitness has a powerful protective cardiometabolic effect in adults: influence of weight status. *BMC Public Health* **2016**, *16*, 1012. 10.1186/s12889-016-3678-5
312. Dipietro, L.; Zhang, Y.; Mavredes, M.; Simmens, S.J.; Whiteley, J.A.; Hayman, L.L.; Faro, J.; Malin, S.K.; Winston, G.; Napolitano, M.A. Physical Activity and Cardiometabolic Risk Factor Clustering in Young Adults with Obesity. *Med Sci Sports Exerc* **2020**, *52*, 1050-1056. 10.1249/MSS.0000000000002214
313. Lemay, V.; Caru, M.; Samoilenko, M.; Drouin, S.; Alos, N.; Lefebvre, G.; Levy, E.; Lippe, S.; Marcil, V.; Sultan, S., *et al.* Prevention of Long-term Adverse Health Outcomes With Cardiorespiratory Fitness and Physical Activity in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors. *J Pediatr Hematol Oncol* **2019**. 10.1097/MPH.0000000000001426
314. Jenney, M.E.; Faragher, E.B.; Jones, P.H.; Woodcock, A. Lung function and exercise capacity in survivors of childhood leukaemia. *Med Pediatr Oncol* **1995**, *24*, 222-230.

315. Vatanen, A.; Hou, M.; Huang, T.; Soder, O.; Jahnukainen, T.; Kurimo, M.; Ojala, T.H.; Sarkola, T.; Turanlahti, M.; Saarinen-Pihkala, U.M., *et al.* Clinical and biological markers of premature aging after autologous SCT in childhood cancer. *Bone Marrow Transplant* **2017**, *52*, 600-605. 10.1038/bmt.2016.334
316. Boland, A.M.; Gibson, T.M.; Lu, L.; Kaste, S.C.; DeLany, J.P.; Partin, R.E.; Lanctot, J.Q.; Howell, C.R.; Nelson, H.H.; Chemaitilly, W., *et al.* Dietary Protein Intake and Lean Muscle Mass in Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Report From the St. Jude Lifetime Cohort Study. *Phys Ther* **2016**, *96*, 1029-1038. 10.2522/ptj.20150507
317. McNeil, N.I. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr* **1984**, *39*, 338-342. 10.1093/ajcn/39.2.338
318. Cerf-Bensussan, N.; Gaboriau-Routhiau, V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat Rev Immunol* **2010**, *10*, 735-744. 10.1038/nri2850
319. Conroy, M.E.; Shi, H.N.; Walker, W.A. The long-term health effects of neonatal microbial flora. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **2009**, *9*, 197-201. 10.1097/ACI.0b013e32832b3f1d
320. Guarner, F.; Malagelada, J.R. Gut flora in health and disease. *Lancet* **2003**, *361*, 512-519. 10.1016/S0140-6736(03)12489-0
321. Huang, Y.; Yang, W.; Liu, H.; Duan, J.; Zhang, Y.; Liu, M.; Li, H.; Hou, Z.; Wu, K.K. Effect of high-dose methotrexate chemotherapy on intestinal Bifidobacteria, Lactobacillus and Escherichia coli in children with acute lymphoblastic leukemia. *Exp Biol Med (Maywood)* **2012**, *237*, 305-311. 10.1258/ebm.2011.011297
322. Montassier, E.; Gastinne, T.; Vangay, P.; Al-Ghalith, G.A.; Bruley des Varannes, S.; Massart, S.; Moreau, P.; Potel, G.; de La Cochetiere, M.F.; Batard, E., *et al.* Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome. *Aliment Pharmacol Ther* **2015**, *42*, 515-528. 10.1111/apt.13302
323. van Vliet, M.J.; Tissing, W.J.; Dun, C.A.; Meessen, N.E.; Kamps, W.A.; de Bont, E.S.; Harmsen, H.J. Chemotherapy treatment in pediatric patients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut. *Clin Infect Dis* **2009**, *49*, 262-270. 10.1086/599346

324. Zwielehner, J.; Lassl, C.; Hippe, B.; Pointner, A.; Switzeny, O.J.; Remely, M.; Kitzweger, E.; Ruckser, R.; Haslberger, A.G. Changes in human fecal microbiota due to chemotherapy analyzed by TaqMan-PCR, 454 sequencing and PCR-DGGE fingerprinting. *PLoS One* **2011**, *6*, e28654. 10.1371/journal.pone.0028654
325. Montassier, E.; Batard, E.; Massart, S.; Gastinne, T.; Carton, T.; Caillon, J.; Le Fresne, S.; Caroff, N.; Hardouin, J.B.; Moreau, P., *et al.* 16S rRNA gene pyrosequencing reveals shift in patient faecal microbiota during high-dose chemotherapy as conditioning regimen for bone marrow transplantation. *Microb Ecol* **2014**, *67*, 690-699. 10.1007/s00248-013-0355-4
326. Lazar, V.; Ditu, L.M.; Pircalabioru, G.G.; Gheorghe, I.; Curutiu, C.; Holban, A.M.; Picu, A.; Petcu, L.; Chifiriuc, M.C. Aspects of Gut Microbiota and Immune System Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer. *Front Immunol* **2018**, *9*, 1830. 10.3389/fimmu.2018.01830
327. Arnoldini, M.; Cremer, J.; Hwa, T. Bacterial growth, flow, and mixing shape human gut microbiota density and composition. *Gut Microbes* **2018**, *9*, 559-566. 10.1080/19490976.2018.1448741
328. Tomasello, G.; Mazzola, M.; Leone, A.; Sinagra, E.; Zummo, G.; Farina, F.; Damiani, P.; Cappello, F.; Gerges Geagea, A.; Jurjus, A., *et al.* Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* **2016**, *160*, 461-466. 10.5507/bp.2016.052
329. Sausset, R.; Petit, M.A.; Gaboriau-Routhiau, V.; De Paepe, M. New insights into intestinal phages. *Mucosal Immunol* **2020**, *13*, 205-215. 10.1038/s41385-019-0250-5
330. Nam, Y.D.; Kim, H.J.; Seo, J.G.; Kang, S.W.; Bae, J.W. Impact of pelvic radiotherapy on gut microbiota of gynecological cancer patients revealed by massive pyrosequencing. *PLoS One* **2013**, *8*, e82659. 10.1371/journal.pone.0082659
331. Manichanh, C.; Varela, E.; Martinez, C.; Antolin, M.; Llopis, M.; Doré, J.; Giral, J.; Guarner, F.; Malagelada, J.-R. The gut microbiota predispose to the pathophysiology of acute postradiotherapy diarrhea. *The American journal of gastroenterology* **2008**, *103*, 1754.

332. Cozen, W.; Yu, G.; Gail, M.H.; Ridaura, V.K.; Nathwani, B.N.; Hwang, A.E.; Hamilton, A.S.; Mack, T.M.; Gordon, J.I.; Goedert, J.J. Fecal microbiota diversity in survivors of adolescent/young adult Hodgkin lymphoma: a study of twins. *Br J Cancer* **2013**, *108*, 1163-1167. 10.1038/bjc.2013.60
333. Barnea, D.; Raghunathan, N.; Friedman, D.N.; Tonorezos, E.S. Obesity and Metabolic Disease After Childhood Cancer. *Oncology (Williston Park)* **2015**, *29*, 849-855.
334. Bai, J.; Behera, M.; Bruner, D.W. The gut microbiome, symptoms, and targeted interventions in children with cancer: a systematic review. *Support Care Cancer* **2018**, *26*, 427-439. 10.1007/s00520-017-3982-3
335. Saghafian-Hedengren, S.; Soderstrom, I.; Sverremark-Ekstrom, E.; Nilsson, A. Insights into defective serological memory after acute lymphoblastic leukaemia treatment: The role of the plasma cell survival niche, memory B-cells and gut microbiota in vaccine responses. *Blood Rev* **2018**, *32*, 71-80. 10.1016/j.blre.2017.08.009
336. Dethlefsen, L.; Relman, D.A. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2011**, *108 Suppl 1*, 4554-4561. 10.1073/pnas.1000087107
337. Vivarelli, F.; Canistro, D.; Babot Marquillas, C.; Cirillo, S.; De Nicola, G.R.; Iori, R.; Biagi, G.; Pinna, C.; Gentilini, F.; Pozzo, L., *et al.* The combined effect of Sango sprout juice and caloric restriction on metabolic disorders and gut microbiota composition in an obesity model. *Int J Food Sci Nutr* **2018**, *69*, 192-204. 10.1080/09637486.2017.1350940
338. Zitvogel, L.; Daille, R.; Roberti, M.P.; Routy, B.; Kroemer, G. Anticancer effects of the microbiome and its products. *Nat Rev Microbiol* **2017**, *15*, 465-478. 10.1038/nrmicro.2017.44
339. Rajagopala, S.V.; Yooseph, S.; Harkins, D.M.; Moncera, K.J.; Zabokrtsky, K.B.; Torralba, M.G.; Tovchigrechko, A.; Highlander, S.K.; Pieper, R.; Sender, L., *et al.* Gastrointestinal microbial populations can distinguish pediatric and adolescent Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) at the time of disease diagnosis. *BMC Genomics* **2016**, *17*, 635. 10.1186/s12864-016-2965-y

340. Kong, C.; Gao, R.; Yan, X.; Huang, L.; He, J.; Li, H.; You, J.; Qin, H. Alterations in intestinal microbiota of colorectal cancer patients receiving radical surgery combined with adjuvant CapeOx therapy. *Sci China Life Sci* **2019**. 10.1007/s11427-018-9456-x
341. Fijlstra, M.; Ferdous, M.; Koning, A.M.; Rings, E.H.; Harmsen, H.J.; Tissing, W.J. Substantial decreases in the number and diversity of microbiota during chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis in a rat model. *Support Care Cancer* **2015**, *23*, 1513-1522. 10.1007/s00520-014-2487-6
342. Beutheu Youmba, S.; Belmonte, L.; Galas, L.; Boukhattala, N.; Bole-Feysot, C.; Dechelotte, P.; Coeffier, M. Methotrexate modulates tight junctions through NF-kappaB, MEK, and JNK pathways. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2012**, *54*, 463-470. 10.1097/MPG.0b013e318247240d
343. Dao, M.C.; Clement, K. Gut microbiota and obesity: Concepts relevant to clinical care. *Eur J Intern Med* **2018**, *48*, 18-24. 10.1016/j.ejim.2017.10.005
344. Gummesson, A.; Carlsson, L.M.; Storlien, L.H.; Bäckhed, F.; Lundin, P.; Löfgren, L.; Stenlöf, K.; Lam, Y.Y.; Fagerberg, B.; Carlsson, B. Intestinal permeability is associated with visceral adiposity in healthy women. *Obesity* **2011**, *19*, 2280-2282.
345. Maconi, G.; Greco, S.; Duca, P.; Ardizzone, S.; Massari, A.; Cassinotti, A.; Radice, E.; Bianchi Porro, G. Prevalence and clinical significance of sonographic evidence of mesenteric fat alterations in Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases* **2008**, *14*, 1555-1561.
346. Louis, P.; Flint, H.J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol* **2017**, *19*, 29-41. 10.1111/1462-2920.13589
347. Papanicolas, L.E.; Gordon, D.L.; Wesselingh, S.L.; Rogers, G.B. Not Just Antibiotics: Is Cancer Chemotherapy Driving Antimicrobial Resistance? *Trends Microbiol* **2018**, *26*, 393-400. 10.1016/j.tim.2017.10.009
348. Byndloss, M.X.; Olsan, E.E.; Rivera-Chavez, F.; Tiffany, C.R.; Cevallos, S.A.; Lokken, K.L.; Torres, T.P.; Byndloss, A.J.; Faber, F.; Gao, Y., *et al.* Microbiota-activated PPAR-gamma signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science* **2017**, *357*, 570-575. 10.1126/science.aam9949

349. Raso, G.M.; Simeoli, R.; Russo, R.; Iacono, A.; Santoro, A.; Paciello, O.; Ferrante, M.C.; Canani, R.B.; Calignano, A.; Meli, R. Effects of sodium butyrate and its synthetic amide derivative on liver inflammation and glucose tolerance in an animal model of steatosis induced by high fat diet. *PLoS one* **2013**, *8*.
350. Kelly, C.J.; Zheng, L.; Campbell, E.L.; Saeedi, B.; Scholz, C.C.; Bayless, A.J.; Wilson, K.E.; Glover, L.E.; Kominsky, D.J.; Magnuson, A. Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. *Cell host & microbe* **2015**, *17*, 662-671.
351. Munford, R.S. Endotoxemia—menace, marker, or mistake? *J Leukoc Biol* **2016**, *100*, 687-698. 10.1189/jlb.3RU0316-151R
352. Nishizawa, K. Low-grade endotoxemia, diet, and gut microbiota—an emphasis on the early events leading to dysfunction of the intestinal epithelial barrier. *Biomed Res Clin Pract* **2016**, *1*, 46-57.
353. Michalski, M.-C.; Vors, C.; Lecomte, M.; Laugerette, F. Dietary lipid emulsions and endotoxemia. *OCL* **2016**, *23*, D306.
354. Bhatt, A.P.; Redinbo, M.R.; Bultman, S.J. The role of the microbiome in cancer development and therapy. *CA Cancer J Clin* **2017**, *67*, 326-344. 10.3322/caac.21398
355. Boulange, C.L.; Neves, A.L.; Chilloux, J.; Nicholson, J.K.; Dumas, M.E. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med* **2016**, *8*, 42. 10.1186/s13073-016-0303-2
356. Laugerette, F.; Furet, J.P.; Debar, C.; Daira, P.; Loizon, E.; Geloën, A.; Soulage, C.O.; Simonet, C.; Lefils-Lacourtablaise, J.; Bernoud-Hubac, N., *et al.* Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2012**, *302*, E374-386. 10.1152/ajpendo.00314.2011
357. Citronberg, J.S.; Wilkens, L.R.; Lim, U.; Hullar, M.A.; White, E.; Newcomb, P.A.; Le Marchand, L.; Lampe, J.W. Reliability of plasma lipopolysaccharide-binding protein (LBP) from repeated measures in healthy adults. *Cancer Causes Control* **2016**, *27*, 1163-1166. 10.1007/s10552-016-0783-9

358. van Vliet, M.J.; Harmsen, H.J.; de Bont, E.S.; Tissing, W.J. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis. *PLoS Pathog* **2010**, *6*, e1000879. 10.1371/journal.ppat.1000879
359. Zeng, H.; Chi, H. Metabolic control of regulatory T cell development and function. *Trends Immunol* **2015**, *36*, 3-12. 10.1016/j.it.2014.08.003
360. Wu, G.D.; Chen, J.; Hoffmann, C.; Bittinger, K.; Chen, Y.Y.; Keilbaugh, S.A.; Bewtra, M.; Knights, D.; Walters, W.A.; Knight, R., *et al.* Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* **2011**, *334*, 105-108. 10.1126/science.1208344
361. Rajani, C.; Jia, W. Disruptions in gut microbial-host co-metabolism and the development of metabolic disorders. *Clin Sci (Lond)* **2018**, *132*, 791-811. 10.1042/CS20171328
362. Cotillard, A.; Kennedy, S.P.; Kong, L.C.; Prifti, E.; Pons, N.; Le Chatelier, E.; Almeida, M.; Quinquis, B.; Levenez, F.; Galleron, N., *et al.* Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* **2013**, *500*, 585-588. 10.1038/nature12480
363. Salonen, A.; Lahti, L.; Salojarvi, J.; Holtrop, G.; Korpela, K.; Duncan, S.H.; Date, P.; Farquharson, F.; Johnstone, A.M.; Lobley, G.E., *et al.* Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *ISME J* **2014**, *8*, 2218-2230. 10.1038/ismej.2014.63
364. Tap, J.; Furet, J.P.; Bensaada, M.; Philippe, C.; Roth, H.; Rabot, S.; Lakhdari, O.; Lombard, V.; Henrissat, B.; Corthier, G., *et al.* Gut microbiota richness promotes its stability upon increased dietary fibre intake in healthy adults. *Environ Microbiol* **2015**, *17*, 4954-4964. 10.1111/1462-2920.13006
365. Valdes, A.M.; Walter, J.; Segal, E.; Spector, T.D. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* **2018**, *361*, k2179. 10.1136/bmj.k2179
366. Lazar, V.; Ditu, L.M.; Pircalabioru, G.G.; Picu, A.; Petcu, L.; Cucu, N.; Chifiriuc, M.C. Gut Microbiota, Host Organism, and Diet Trialogue in Diabetes and Obesity. *Front Nutr* **2019**, *6*, 21. 10.3389/fnut.2019.00021
367. Sabico, S.; Al-Mashharawi, A.; Al-Daghri, N.M.; Wani, K.; Amer, O.E.; Hussain, D.S.; Ahmed Ansari, M.G.; Masoud, M.S.; Alokail, M.S.; McTernan, P.G. Effects of a 6-month multi-strain probiotics supplementation in endotoxemic, inflammatory and cardiometabolic status of

- T2DM patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr* **2019**, *38*, 1561-1569. 10.1016/j.clnu.2018.08.009
368. Akbari, V.; Hendijani, F. Effects of probiotic supplementation in patients with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev* **2016**, *74*, 774-784. 10.1093/nutrit/nuw039
369. Zhang, Q.; Wu, Y.; Fei, X. Effect of probiotics on glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicina (Kaunas)* **2016**, *52*, 28-34. 10.1016/j.medici.2015.11.008
370. Hendijani, F.; Akbari, V. Probiotic supplementation for management of cardiovascular risk factors in adults with type II diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr* **2018**, *37*, 532-541. 10.1016/j.clnu.2017.02.015
371. Weitkunat, K.; Stuhlmann, C.; Postel, A.; Rumberger, S.; Fankhanel, M.; Woting, A.; Petzke, K.J.; Gohlke, S.; Schulz, T.J.; Blaut, M., *et al.* Short-chain fatty acids and inulin, but not guar gum, prevent diet-induced obesity and insulin resistance through differential mechanisms in mice. *Sci Rep* **2017**, *7*, 6109. 10.1038/s41598-017-06447-x
372. Liu, F.; Prabhakar, M.; Ju, J.; Long, H.; Zhou, H.W. Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr* **2017**, *71*, 9-20. 10.1038/ejcn.2016.156
373. Hald, S.; Schioldan, A.G.; Moore, M.E.; Dige, A.; Laerke, H.N.; Agnholt, J.; Bach Knudsen, K.E.; Hermansen, K.; Marco, M.L.; Gregersen, S., *et al.* Effects of Arabinoxylan and Resistant Starch on Intestinal Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Subjects with Metabolic Syndrome: A Randomised Crossover Study. *PLoS One* **2016**, *11*, e0159223. 10.1371/journal.pone.0159223
374. Andreasen, A.S.; Larsen, N.; Pedersen-Skovsgaard, T.; Berg, R.M.; Moller, K.; Svendsen, K.D.; Jakobsen, M.; Pedersen, B.K. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *Br J Nutr* **2010**, *104*, 1831-1838. 10.1017/S0007114510002874

375. Kobyliak, N.; Falalyeyeva, T.; Mykhalchyshyn, G.; Kyriienko, D.; Komissarenko, I. Effect of alive probiotic on insulin resistance in type 2 diabetes patients: Randomized clinical trial. *Diabetes Metab Syndr* **2018**, *12*, 617-624. 10.1016/j.dsx.2018.04.015
376. Mahboobi, S.; Iraj, B.; Maghsoudi, Z.; Feizi, A.; Ghiasvand, R.; Askari, G.; Maayeshi, N. The effects of probiotic supplementation on markers of blood lipids, and blood pressure in patients with prediabetes: a randomized clinical trial. *Int J Prev Med* **2014**, *5*, 1239-1246.
377. Lewis, S.J.; Burmeister, S. A double-blind placebo-controlled study of the effects of *Lactobacillus acidophilus* on plasma lipids. *Eur J Clin Nutr* **2005**, *59*, 776-780. 10.1038/sj.ejcn.1602139
378. Yoo, J.Y.; Kim, S.S. Probiotics and Prebiotics: Present Status and Future Perspectives on Metabolic Disorders. *Nutrients* **2016**, *8*, 173. 10.3390/nu8030173
379. Parkar, S.G.; Trower, T.M.; Stevenson, D.E. Fecal microbial metabolism of polyphenols and its effects on human gut microbiota. *Anaerobe* **2013**, *23*, 12-19.
380. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. *WMJ* **1998**, *97*, 20-21, 24-25, 27-37.
381. Lambert, M.; Paradis, G.; O'Loughlin, J.; Delvin, E.E.; Hanley, J.A.; Levy, E. Insulin resistance syndrome in a representative sample of children and adolescents from Quebec, Canada. *Int J Obes Relat Metab Disord* **2004**, *28*, 833-841. 10.1038/sj.ijo.0802694
382. Friedewald, W.T.; Levy, R.I.; Fredrickson, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* **1972**, *18*, 499-502.
383. St-Pierre, A.C.; Ruel, I.L.; Cantin, B.; Dagenais, G.R.; Bernard, P.M.; Despres, J.P.; Lamarche, B. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* **2001**, *104*, 2295-2299.
384. Stan, S.; Levy, E.; Delvin, E.E.; Hanley, J.A.; Lamarche, B.; O'Loughlin, J.; Paradis, G.; Lambert, M. Distribution of LDL particle size in a population-based sample of children and adolescents and relationship with other cardiovascular risk factors. *Clin Chem* **2005**, *51*, 1192-1200. 10.1373/clinchem.2004.046771

385. Taylor, H.L.; Jacobs, D.R., Jr.; Schucker, B.; Knudsen, J.; Leon, A.S.; Debacker, G. A questionnaire for the assessment of leisure time physical activities. *J Chronic Dis* **1978**, *31*, 741-755. 10.1016/0021-9681(78)90058-9
386. PEREIRA, M. Introduction to a collection of physical activity questionnaires. *Med Sci Sports Exerc* **1997**, *29*, S5-S9.
387. Montoye, H.J. Estimation of habitual physical activity by questionnaire and interview. *Am J Clin Nutr* **1971**, *24*, 1113-1118. 10.1093/ajcn/24.9.1113
388. Abujamel, T.; Cadnum, J.L.; Jury, L.A.; Sunkesula, V.C.; Kundrapu, S.; Jump, R.L.; Stintzi, A.C.; Donskey, C.J. Defining the vulnerable period for re-establishment of *Clostridium difficile* colonization after treatment of *C. difficile* infection with oral vancomycin or metronidazole. *PLoS One* **2013**, *8*, e76269. 10.1371/journal.pone.0076269
389. Mottawea, W.; Chiang, C.-K.; Mühlbauer, M.; Starr, A.E.; Butcher, J.; Abujamel, T.; Deeke, S.A.; Brandel, A.; Zhou, H.; Shokralla, S. Altered intestinal microbiota–host mitochondria crosstalk in new onset Crohn’s disease. *Nature communications* **2016**, *7*, 1-14.
390. Steinberger, J.; Sinaiko, A.R.; Kelly, A.S.; Leisenring, W.M.; Steffen, L.M.; Goodman, P.; Mulrooney, D.A.; Dietz, A.C.; Moran, A.; Perkins, J.L., *et al.* Cardiovascular risk and insulin resistance in childhood cancer survivors. *J Pediatr* **2012**, *160*, 494-499. 10.1016/j.jpeds.2011.08.018
391. Pound, L.D.; Patrick, C.; Eberhard, C.E.; Mottawea, W.; Wang, G.S.; Abujamel, T.; Vandenbeek, R.; Stintzi, A.; Scott, F.W. Cathelicidin Antimicrobial Peptide: A Novel Regulator of Islet Function, Islet Regeneration, and Selected Gut Bacteria. *Diabetes* **2015**, *64*, 4135-4147. 10.2337/db15-0788
392. Benmoussa, A.; Diallo, I.; Salem, M.; Michel, S.; Gilbert, C.; Sevigny, J.; Provost, P. Concentrates of two subsets of extracellular vesicles from cow's milk modulate symptoms and inflammation in experimental colitis. *Sci Rep* **2019**, *9*, 14661. 10.1038/s41598-019-51092-1
393. Paulson, J.N.; Stine, O.C.; Bravo, H.C.; Pop, M. Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys. *Nat Methods* **2013**, *10*, 1200-1202. 10.1038/nmeth.2658

394. Baker, K.S.; Chow, E.J.; Goodman, P.J.; Leisenring, W.M.; Dietz, A.C.; Perkins, J.L.; Chow, L.; Sinaiko, A.; Moran, A.; Petryk, A., *et al.* Impact of treatment exposures on cardiovascular risk and insulin resistance in childhood cancer survivors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2013**, *22*, 1954-1963. 10.1158/1055-9965.EPI-13-0610
395. Dengel, D.R.; Kelly, A.S.; Zhang, L.; Hodges, J.S.; Baker, K.S.; Steinberger, J. Signs of early sub-clinical atherosclerosis in childhood cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer* **2014**, *61*, 532-537. 10.1002/pbc.24829
396. Saultier, P.; Auquier, P.; Bertrand, Y.; Vercasson, C.; Oudin, C.; Contet, A.; Plantaz, D.; Poiree, M.; Ducassou, S.; Kanold, J., *et al.* Metabolic syndrome in long-term survivors of childhood acute leukemia treated without hematopoietic stem cell transplantation: an L.E.A. study. *Haematologica* **2016**, *101*, 1603-1610. 10.3324/haematol.2016.148908
397. Kourti, M.; Tragiannidis, A.; Makedou, A.; Papageorgiou, T.; Rousso, I.; Athanassiadou, F. Metabolic syndrome in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia after the completion of chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol* **2005**, *27*, 499-501. 10.1097/01.mph.0000181428.63552.e9
398. Bryan, S.; St-Denis, M.; Wojtas, D. Canadian Health Measures Survey: clinic operations and logistics. *Health Rep* **2007**, *18 Suppl*, 53-70.
399. Tremblay, M.; Langlois, R.; Bryan, S.; Esliger, D.; Patterson, J. Canadian Health Measures Survey pre-test: design, methods, results. *Health Rep* **2007**, *18 Suppl*, 21-30.
400. Lindemulder, S.J.; Stork, L.C.; Bostrom, B.; Lu, X.; Devidas, M.; Hunger, S.; Neglia, J.P.; Kadan-Lottick, N.S. Survivors of standard risk acute lymphoblastic leukemia do not have increased risk for overweight and obesity compared to non-cancer peers: a report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* **2015**, *62*, 1035-1041. 10.1002/pbc.25411
401. Razzouk, B.I.; Rose, S.R.; Hongeng, S.; Wallace, D.; Smeltzer, M.P.; Zacher, M.; Pui, C.H.; Hudson, M.M. Obesity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia and lymphoma. *J Clin Oncol* **2007**, *25*, 1183-1189. 10.1200/JCO.2006.07.8709
402. Bayram, C.; Yarali, N.; Fettah, A.; Demirel, F.; Tavail, B.; Kara, A.; Tunc, B. Evaluation of Endocrine Late Complications in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors: A

- Report of a Single-Center Experience and Review of the Literature. *Turk J Haematol* **2017**, *34*, 40-45. 10.4274/tjh.2015.0332
403. Lipshultz, S.E.; Adams, M.J.; Colan, S.D.; Constine, L.S.; Herman, E.H.; Hsu, D.T.; Hudson, M.M.; Kremer, L.C.; Landy, D.C.; Miller, T.L., *et al.* Long-term cardiovascular toxicity in children, adolescents, and young adults who receive cancer therapy: pathophysiology, course, monitoring, management, prevention, and research directions: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* **2013**, *128*, 1927-1995. 10.1161/CIR.0b013e3182a88099
404. Kubota, M.; Nakata, R.; Adachi, S.; Watanabe, K.; Heike, T.; Takeshita, Y.; Shima, M. Plasma homocysteine, methionine and S-adenosylhomocysteine levels following high-dose methotrexate treatment in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia or Burkitt lymphoma: association with hepatotoxicity. *Leuk Lymphoma* **2014**, *55*, 1591-1595. 10.3109/10428194.2013.850684
405. Ociepa, T.; Bartnik, M.; Zielezinska, K.; Prokowska, M.; Urasinska, E.; Urasinski, T. Abnormal correlation of circulating endothelial progenitor cells and endothelin-1 concentration may contribute to the development of arterial hypertension in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *Hypertens Res* **2016**, *39*, 530-535. 10.1038/hr.2016.22
406. Mauger, J.F.; Couture, P.; Bergeron, N.; Lamarche, B. Apolipoprotein C-III isoforms: kinetics and relative implication in lipid metabolism. *J Lipid Res* **2006**, *47*, 1212-1218. 10.1194/jlr.M500455-JLR200
407. Ito, Y.; Azrolan, N.; O'Connell, A.; Walsh, A.; Breslow, J.L. Hypertriglyceridemia as a result of human apo CIII gene expression in transgenic mice. *Science* **1990**, *249*, 790-793.
408. Bobik, A. Apolipoprotein CIII and atherosclerosis: beyond effects on lipid metabolism. *Circulation* **2008**, *118*, 702-704. 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.794081
409. Alaupovic, P.; Mack, W.J.; Knight-Gibson, C.; Hodis, H.N. The role of triglyceride-rich lipoprotein families in the progression of atherosclerotic lesions as determined by sequential coronary angiography from a controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **1997**, *17*, 715-722.

410. Onat, A.; Hergenc, G.; Ayhan, E.; Ugur, M.; Can, G. Impaired anti-inflammatory function of apolipoprotein A-II concentrations predicts metabolic syndrome and diabetes at 4 years follow-up in elderly Turks. *Clin Chem Lab Med* **2009**, *47*, 1389-1394. 10.1515/CCLM.2009.310
411. Barbaras, R.; Puchois, P.; Fruchart, J.C.; Ailhaud, G. Cholesterol efflux from cultured adipose cells is mediated by LpAI particles but not by LpAI:All particles. *Biochem Biophys Res Commun* **1987**, *142*, 63-69.
412. Durbin, D.M.; Jonas, A. Lipid-free apolipoproteins A-I and A-II promote remodeling of reconstituted high density lipoproteins and alter their reactivity with lecithin:cholesterol acyltransferase. *J Lipid Res* **1999**, *40*, 2293-2302.
413. Lagrost, L.; Dengremont, C.; Athias, A.; de Geitere, C.; Fruchart, J.C.; Lallemand, C.; Gambert, P.; Castro, G. Modulation of cholesterol efflux from Fu5AH hepatoma cells by the apolipoprotein content of high density lipoprotein particles. Particles containing various proportions of apolipoproteins A-I and A-II. *J Biol Chem* **1995**, *270*, 13004-13009.
414. Lin, M.H.; Wood, J.R.; Mittelman, S.D.; Freyer, D.R. Institutional adherence to cardiovascular risk factor screening guidelines for young survivors of acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* **2015**, *37*, e253-257. 10.1097/MPH.0000000000000320
415. Cade, J.E.; Burley, V.J.; Warm, D.L.; Thompson, R.L.; Margetts, B.M. Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Nutr Res Rev* **2004**, *17*, 5-22. 10.1079/NRR200370
416. Buscemi, S.; Rosafio, G.; Vasto, S.; Massenti, F.M.; Grosso, G.; Galvano, F.; Rini, N.; Barile, A.M.; Maniaci, V.; Cosentino, L., *et al.* Validation of a food frequency questionnaire for use in Italian adults living in Sicily. *Int J Food Sci Nutr* **2015**, *66*, 426-438. 10.3109/09637486.2015.1025718
417. Shahar, D.R.; Yerushalmi, N.; Lubin, F.; Froom, P.; Shahar, A.; Kristal-Boneh, E. Seasonal variations in dietary intake affect the consistency of dietary assessment. *Eur J Epidemiol* **2001**, *17*, 129-133. 10.1023/a:1017542928978

418. Moghames, P.; Hammami, N.; Hwalla, N.; Yazbeck, N.; Shoaib, H.; Nasreddine, L.; Naja, F. Validity and reliability of a food frequency questionnaire to estimate dietary intake among Lebanese children. *Nutr J* **2016**, *15*, 4. 10.1186/s12937-015-0121-1
419. Athanasiadou, E.; Kyrkou, C.; Fotiou, M.; Tsakoumaki, F.; Dimitropoulou, A.; Polychroniadou, E.; Menexes, G.; Athanasiadis, A.P.; Biliaderis, C.G.; Michaelidou, A.M. Development and Validation of a Mediterranean Oriented Culture-Specific Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire. *Nutrients* **2016**, *8*. 10.3390/nu8090522
420. Papazian, T.; Hout, H.; Sibai, D.; Helou, N.; Younes, H.; El Osta, N.; Khabbaz, L.R. Development, reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women adherent to the Mediterranean dietary pattern. *Clin Nutr* **2016**, *35*, 1550-1556. 10.1016/j.clnu.2016.04.015
421. Tayyem, R.F.; Abu-Mweis, S.S.; Bawadi, H.A.; Agraib, L.; Bani-Hani, K. Validation of a food frequency questionnaire to assess macronutrient and micronutrient intake among Jordanians. *J Acad Nutr Diet* **2014**, *114*, 1046-1052. 10.1016/j.jand.2013.08.019
422. Rodriguez, M.M.; Mendez, H.; Torun, B.; Schroeder, D.; Stein, A.D. Validation of a semi-quantitative food-frequency questionnaire for use among adults in Guatemala. *Public Health Nutr* **2002**, *5*, 691-699. 10.1079/PHN2002333
423. Mouratidou, T.; Ford, F.; Fraser, R.B. Validation of a food-frequency questionnaire for use in pregnancy. *Public Health Nutr* **2006**, *9*, 515-522. 10.1079/phn2005876
424. Deschamps, V.; de Lauzon-Guillain, B.; Lafay, L.; Borys, J.M.; Charles, M.A.; Romon, M. Reproducibility and relative validity of a food-frequency questionnaire among French adults and adolescents. *Eur J Clin Nutr* **2009**, *63*, 282-291. 10.1038/sj.ejcn.1602914
425. Erkkola, M.; Karppinen, M.; Javanainen, J.; Rasanen, L.; Knip, M.; Virtanen, S.M. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant Finnish women. *Am J Epidemiol* **2001**, *154*, 466-476. 10.1093/aje/154.5.466
426. Henn, R.L.; Fuchs, S.C.; Moreira, L.B.; Fuchs, F.D. Development and validation of a food frequency questionnaire (FFQ-Porto Alegre) for adolescent, adult and elderly populations from Southern Brazil. *Cad Saude Publica* **2010**, *26*, 2068-2079. 10.1590/s0102-311x2010001100008

427. Jaceldo-Siegl, K.; Knutsen, S.F.; Sabaté, J.; Beeson, W.L.; Chan, J.; Herring, R.P.; Butler, T.L.; Haddad, E.; Bennett, H.; Montgomery, S. Validation of nutrient intake using an FFQ and repeated 24 h recalls in black and white subjects of the Adventist Health Study-2 (AHS-2). *Public health nutrition* **2010**, *13*, 812-819.
428. Wen-Hua, Z.; Huang, Z.-P.; Zhang, X.; Li, H.; Willett, W.; Jun-Ling, W.; Hasegawa, K.; Jun-Shi, C. Reproducibility and validity of a Chinese food frequency questionnaire. *Biomedical and Environmental Sciences* **2010**, *23*, 1-38.
429. Zhang, F.F.; Roberts, S.B.; Must, A.; Wong, W.W.; Gilhooly, C.H.; Kelly, M.J.; Parsons, S.K.; Saltzman, E. Assessing Dietary Intake in Childhood Cancer Survivors: Food Frequency Questionnaire Versus 24-Hour Diet Recalls. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2015**, *61*, 499-502. 10.1097/MPG.0000000000000826
430. Rimm, E.B.; Giovannucci, E.L.; Stampfer, M.J.; Colditz, G.A.; Litin, L.B.; Willett, W.C. Reproducibility and validity of an expanded self-administered semiquantitative food frequency questionnaire among male health professionals. *Am J Epidemiol* **1992**, *135*, 1114-1126; discussion 1127-1136. 10.1093/oxfordjournals.aje.a116211
431. Hernandez-Avila, M.; Romieu, I.; Parra, S.; Hernandez-Avila, J.; Madrigal, H.; Willett, W. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Publica Mex* **1998**, *40*, 133-140. 10.1590/s0036-36341998000200005
432. Koo, T.K.; Li, M.Y. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med* **2016**, *15*, 155-163. 10.1016/j.jcm.2016.02.012
433. Pasiakos, S.M.; Lieberman, H.R.; Fulgoni, V.L., 3rd. Higher-protein diets are associated with higher HDL cholesterol and lower BMI and waist circumference in US adults. *J Nutr* **2015**, *145*, 605-614. 10.3945/jn.114.205203
434. Andraski, A.B.; Singh, S.A.; Lee, L.H.; Higashi, H.; Smith, N.; Zhang, B.; Aikawa, M.; Sacks, F.M. Effects of Replacing Dietary Monounsaturated Fat With Carbohydrate on HDL (High-Density Lipoprotein) Protein Metabolism and Proteome Composition in Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2019**, *39*, 2411-2430. 10.1161/ATVBAHA.119.312889

435. Tangvarasittichai, S.; Pongthaisong, S.; Meemark, S.; Tangvarasittichai, O. Abdominal Obesity Associated with Elevated Serum Butyrylcholinesterase Activity, Insulin Resistance and Reduced High Density Lipoprotein-Cholesterol Levels. *Indian J Clin Biochem* **2015**, *30*, 275-280. 10.1007/s12291-014-0443-3
436. Taylor, A.E.; Ebrahim, S.; Ben-Shlomo, Y.; Martin, R.M.; Whincup, P.H.; Yarnell, J.W.; Wannamethee, S.G.; Lawlor, D.A. Comparison of the associations of body mass index and measures of central adiposity and fat mass with coronary heart disease, diabetes, and all-cause mortality: a study using data from 4 UK cohorts. *Am J Clin Nutr* **2010**, *91*, 547-556. 10.3945/ajcn.2009.28757
437. Roever, L.S.; Resende, E.S.; Diniz, A.L.; Penha-Silva, N.; Veloso, F.C.; Casella-Filho, A.; Dourado, P.M.; Chagas, A.C. Abdominal Obesity and Association With Atherosclerosis Risk Factors: The Uberlandia Heart Study. *Medicine (Baltimore)* **2016**, *95*, e1357. 10.1097/MD.0000000000001357
438. Tresaco, B.; Moreno, L.A.; Ruiz, J.R.; Ortega, F.B.; Bueno, G.; Gonzalez-Gross, M.; Warnberg, J.; Gutierrez, A.; Garcia-Fuentes, M.; Marcos, A., *et al.* Truncal and abdominal fat as determinants of high triglycerides and low HDL-cholesterol in adolescents. *Obesity (Silver Spring)* **2009**, *17*, 1086-1091. 10.1038/oby.2008.626
439. Wang, Y.; Xu, D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids Health Dis* **2017**, *16*, 132. 10.1186/s12944-017-0515-5
440. Kodama, S.; Tanaka, S.; Saito, K.; Shu, M.; Sone, Y.; Onitake, F.; Suzuki, E.; Shimano, H.; Yamamoto, S.; Kondo, K., *et al.* Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Arch Intern Med* **2007**, *167*, 999-1008. 10.1001/archinte.167.10.999
441. Aadahl, M.; Kjær, M.; Jørgensen, T. Associations between overall physical activity level and cardiovascular risk factors in an adult population. *European journal of epidemiology* **2007**, *22*, 369-378.
442. Doddamani, S.; Nikam, S.; Nikam, P.; Patil, V. HDL, Apolipoprotein AI and Lecithin cholesterol acyl transferase activity in athletes. **2014**.

443. Olchawa, B.; Kingwell, B.A.; Hoang, A.; Schneider, L.; Miyazaki, O.; Nestel, P.; Sviridov, D. Physical fitness and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **2004**, *24*, 1087-1091.
444. O'Donovan, G.; Stensel, D.; Hamer, M.; Stamatakis, E. The association between leisure-time physical activity, low HDL-cholesterol and mortality in a pooled analysis of nine population-based cohorts. *European journal of epidemiology* **2017**, *32*, 559-566.
445. Organization, W.H.; University, U.N. *Protein and amino acid requirements in human nutrition*. World Health Organization: 2007; Vol. 935.
446. Lupton, J.R.; Brooks, J.; Butte, N.; Caballero, B.; Flatt, J.; Fried, S. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. *National Academy Press: Washington, DC, USA* **2002**, *5*, 589-768.
447. Duffey, K.J.; Gordon-Larsen, P.; Steffen, L.M.; Jacobs, D.R., Jr.; Popkin, B.M. Regular consumption from fast food establishments relative to other restaurants is differentially associated with metabolic outcomes in young adults. *J Nutr* **2009**, *139*, 2113-2118. 10.3945/jn.109.109520
448. Rohrmann, S.; Overvad, K.; Bueno-de-Mesquita, H.B.; Jakobsen, M.U.; Egeberg, R.; Tjønneland, A.; Nailler, L.; Boutron-Ruault, M.C.; Clavel-Chapelon, F.; Krogh, V., *et al.* Meat consumption and mortality--results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *BMC Med* **2013**, *11*, 63. 10.1186/1741-7015-11-63
449. Chen, G.C.; Lv, D.B.; Pang, Z.; Liu, Q.F. Red and processed meat consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr* **2013**, *67*, 91-95. 10.1038/ejcn.2012.180
450. Johnston, B.C.; Zeraatkar, D.; Han, M.A.; Vernooij, R.W.M.; Valli, C.; El Dib, R.; Marshall, C.; Stover, P.J.; Fairweather-Tait, S.; Wojcik, G., *et al.* Unprocessed Red Meat and Processed Meat Consumption: Dietary Guideline Recommendations From the Nutritional Recommendations (NutriRECS) Consortium. *Ann Intern Med* **2019**, *171*, 756-764. 10.7326/M19-1621
451. Zeraatkar, D.; Johnston, B.C.; Bartoszko, J.; Cheung, K.; Bala, M.M.; Valli, C.; Rabassa, M.; Sit, D.; Milio, K.; Sadeghirad, B., *et al.* Effect of Lower Versus Higher Red Meat Intake on

- Cardiometabolic and Cancer Outcomes: A Systematic Review of Randomized Trials. *Ann Intern Med* **2019**, *171*, 721-731. 10.7326/M19-0622
452. Vernooij, R.W.M.; Zeraatkar, D.; Han, M.A.; El Dib, R.; Zworth, M.; Milio, K.; Sit, D.; Lee, Y.; Gomma, H.; Valli, C., *et al.* Patterns of Red and Processed Meat Consumption and Risk for Cardiometabolic and Cancer Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis of Cohort Studies. *Ann Intern Med* **2019**, *171*, 732-741. 10.7326/M19-1583
453. Dyer, O. No need to cut red meat, say new guidelines. British Medical Journal Publishing Group: 2019.
454. O'Connor, L.E.; Paddon-Jones, D.; Wright, A.J.; Campbell, W.W. A Mediterranean-style eating pattern with lean, unprocessed red meat has cardiometabolic benefits for adults who are overweight or obese in a randomized, crossover, controlled feeding trial. *Am J Clin Nutr* **2018**, *108*, 33-40. 10.1093/ajcn/nqy075
455. O'Connor, L.E.; Kim, J.E.; Campbell, W.W. Total red meat intake of ≥ 0.5 servings/d does not negatively influence cardiovascular disease risk factors: a systemically searched meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* **2017**, *105*, 57-69. 10.3945/ajcn.116.142521
456. Schwingshackl, L.; Hoffmann, G.; Iqbal, K.; Schwedhelm, C.; Boeing, H. Food groups and intermediate disease markers: a systematic review and network meta-analysis of randomized trials. *Am J Clin Nutr* **2018**, *108*, 576-586. 10.1093/ajcn/nqy151
457. Wallace, T.C.; McBurney, M.; Fulgoni, V.L., 3rd. Multivitamin/mineral supplement contribution to micronutrient intakes in the United States, 2007-2010. *J Am Coll Nutr* **2014**, *33*, 94-102. 10.1080/07315724.2013.846806
458. Shenkin, A. Micronutrients in health and disease. *Postgraduate medical journal* **2006**, *82*, 559-567.
459. Papp, L.V.; Lu, J.; Holmgren, A.; Khanna, K.K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants & redox signaling* **2007**, *9*, 775-806.
460. Bleys, J.; Navas-Acien, A.; Stranges, S.; Menke, A.; Miller III, E.R.; Guallar, E. Serum selenium and serum lipids in US adults. *The American journal of clinical nutrition* **2008**, *88*, 416-423.

461. Stranges, S.; Laclaustra, M.; Ji, C.; Cappuccio, F.P.; Navas-Acien, A.; Ordovas, J.M.; Rayman, M.; Guallar, E. Higher selenium status is associated with adverse blood lipid profile in British adults. *The Journal of nutrition* **2010**, *140*, 81-87.
462. Rayman, M.P.; Stranges, S.; Griffin, B.A.; Pastor-Barriuso, R.; Guallar, E. Effect of supplementation with high-selenium yeast on plasma lipids: a randomized trial. *Annals of internal medicine* **2011**, *154*, 656-665.
463. Hasani, M.; Djalalinia, S.; Sharifi, F.; Varmaghani, M.; Zarei, M.; Abdar, M.E.; Asayesh, H.; Noroozi, M.; Kasaeian, A.; Gorabi, A.M. Effect of selenium supplementation on lipid profile: a systematic review and meta-analysis. *Hormone and Metabolic Research* **2018**, *50*, 715-727.
464. Maywald, M.; Wessels, I.; Rink, L. Zinc signals and immunity. *International journal of molecular sciences* **2017**, *18*, 2222.
465. Ranasinghe, P.; Wathurapatha, W.S.; Ishara, M.H.; Jayawardana, R.; Galappatthy, P.; Katulanda, P.; Constantine, G.R. Effects of Zinc supplementation on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Metab (Lond)* **2015**, *12*, 26. 10.1186/s12986-015-0023-4
466. Bo, S.; Durazzo, M.; Gambino, R.; Berutti, C.; Milanesio, N.; Caropreso, A.; Gentile, L.; Cassader, M.; Cavallo-Perin, P.; Pagano, G. Associations of dietary and serum copper with inflammation, oxidative stress, and metabolic variables in adults. *The Journal of nutrition* **2008**, *138*, 305-310.
467. Alarcon-Corredor, O.; Guerrero, Y.; de Fernández Ramírez, M.; D'Jesús, I.; Burguera, M.; Burguera, J.; Di, M.B.; Garcia, M.; Alarcon, A. Effect of copper supplementation on lipid profile of Venezuelan hyperlipemic patients. *Archivos latinoamericanos de nutricion* **2004**, *54*, 413-418.
468. Rojas-Sobarzo, L.; Olivares, M.; Brito, A.; Suazo, M.; Araya, M.; Pizarro, F. Copper supplementation at 8 mg neither affects circulating lipids nor liver function in apparently healthy Chilean men. *Biological trace element research* **2013**, *156*, 1-4.
469. Shin, W.Y.; Kim, J.H. Low riboflavin intake is associated with cardiometabolic risks in Korean women. *Asia Pac J Clin Nutr* **2019**, *28*, 285-299. 10.6133/apjcn.201906_28(2).0011

470. Minto, C.; Vecchio, M.G.; Lamprecht, M.; Gregori, D. Definition of a tolerable upper intake level of niacin: a systematic review and meta-analysis of the dose-dependent effects of nicotinamide and nicotinic acid supplementation. *Nutr Rev* **2017**, *75*, 471-490. 10.1093/nutrit/nux011
471. Guyton, J.R. Niacin in cardiovascular prevention: mechanisms, efficacy, and safety. *Curr Opin Lipidol* **2007**, *18*, 415-420. 10.1097/MOL.0b013e3282364add
472. Mahalle, N.; Garg, M.K.; Naik, S.S.; Kulkarni, M.V. Association of dietary factors with severity of coronary artery disease. *Clin Nutr ESPEN* **2016**, *15*, 75-79. 10.1016/j.clnesp.2016.06.004
473. Del Valle, H.B.; Yaktine, A.L.; Taylor, C.L.; Ross, A.C. *Dietary reference intakes for calcium and vitamin D*. National Academies Press: 2011.
474. Anderson, L.N.; Cotterchio, M.; Vieth, R.; Knight, J.A. Vitamin D and calcium intakes and breast cancer risk in pre- and postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition* **2010**, *91*, 1699-1707.
475. Weiler, H.A.; Leslie, W.D.; Krahn, J.; Steiman, P.W.; Metge, C.J. Canadian Aboriginal women have a higher prevalence of vitamin D deficiency than non-Aboriginal women despite similar dietary vitamin D intakes. *J Nutr* **2007**, *137*, 461-465. 10.1093/jn/137.2.461
476. Zhou, W.; Langsetmo, L.; Berger, C.; Poliquin, S.; Kreiger, N.; Barr, S.; Kaiser, S.; Josse, R.; Prior, J.; Towheed, T. Longitudinal changes in calcium and vitamin D intakes and relationship to bone mineral density in a prospective population-based study: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos). *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* **2013**, *13*, 470.
477. Mark, S.; Gray-Donald, K.; Delvin, E.E.; O'Loughlin, J.; Paradis, G.; Levy, E.; Lambert, M. Low vitamin D status in a representative sample of youth from Quebec, Canada. *Clin Chem* **2008**, *54*, 1283-1289. 10.1373/clinchem.2008.104158
478. Langlois, K.; Greene-Finestone, L.; Little, J.; Hidioglou, N.; Whiting, S. Vitamin D status of Canadians as measured in the 2007 to 2009 Canadian Health Measures Survey. *Health Rep* **2010**, *21*, 47-55.

479. Ross, A.C. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D. *Public health nutrition* **2011**, *14*, 938-939.
480. Holick, M.F.; Binkley, N.C.; Bischoff-Ferrari, H.A.; Gordon, C.M.; Hanley, D.A.; Heaney, R.P.; Murad, M.H.; Weaver, C.M.; Endocrine, S. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* **2011**, *96*, 1911-1930. 10.1210/jc.2011-0385
481. Glendenning, P.; Inderjeeth, C.A. Screening for vitamin D deficiency: defining vitamin D deficiency, target thresholds of treatment and estimating the benefits of treatment. *Pathology* **2012**, *44*, 160-165. 10.1097/PAT.0b013e32834e8df6
482. Ding, C.; Parameswaran, V.; Blizzard, L.; Burgess, J.; Jones, G. Not a simple fat-soluble vitamin: changes in serum 25-(OH) D levels are predicted by adiposity and adipocytokines in older adults. *Journal of internal medicine* **2010**, *268*, 501-510.
483. Jorde, R.; Sneve, M.; Emaus, N.; Figenschau, Y.; Grimnes, G. Cross-sectional and longitudinal relation between serum 25-hydroxyvitamin D and body mass index: the Tromsø study. *European journal of nutrition* **2010**, *49*, 401-407.
484. Mai, X.-M.; Chen, Y.; Camargo Jr, C.A.; Langhammer, A. Cross-sectional and prospective cohort study of serum 25-hydroxyvitamin D level and obesity in adults: the HUNT study. *American journal of epidemiology* **2012**, *175*, 1029-1036.
485. Hannemann, A.; Thuesen, B.H.; Friedrich, N.; Volzke, H.; Steveling, A.; Ittermann, T.; Hegenscheid, K.; Nauck, M.; Linneberg, A.; Wallaschofski, H. Adiposity measures and vitamin D concentrations in Northeast Germany and Denmark. *Nutr Metab (Lond)* **2015**, *12*, 24. 10.1186/s12986-015-0019-0
486. Jessri, M.; Nishi, S.K.; L'Abbe, M.R. Assessing the nutritional quality of diets of Canadian children and adolescents using the 2014 Health Canada Surveillance Tool Tier System. *BMC Public Health* **2016**, *16*, 381. 10.1186/s12889-016-3038-5
487. Turcotte, L.M.; Whitton, J.A.; Friedman, D.L.; Hammond, S.; Armstrong, G.T.; Leisenring, W.; Robison, L.L.; Neglia, J.P. Risk of Subsequent Neoplasms During the Fifth and Sixth Decades of Life in the Childhood Cancer Survivor Study Cohort. *J Clin Oncol* **2015**, *33*, 3568-3575. 10.1200/JCO.2015.60.9487

488. Shivappa, N.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Hebert, J.R. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr* **2014**, *17*, 1689-1696. 10.1017/S1368980013002115
489. Shivappa, N.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Ma, Y.; Ockene, I.S.; Tabung, F.; Hebert, J.R. A population-based dietary inflammatory index predicts levels of C-reactive protein in the Seasonal Variation of Blood Cholesterol Study (SEASONS). *Public Health Nutr* **2014**, *17*, 1825-1833. 10.1017/S1368980013002565
490. Mazidi, M.; Shivappa, N.; Wirth, M.D.; Hebert, J.R.; Mikhailidis, D.P.; Kengne, A.P.; Banach, M. Dietary inflammatory index and cardiometabolic risk in US adults. *Atherosclerosis* **2018**, *276*, 23-27. 10.1016/j.atherosclerosis.2018.02.020
491. Hernaez, A.; Fernandez-Castillejo, S.; Farras, M.; Catalan, U.; Subirana, I.; Montes, R.; Sola, R.; Munoz-Aguayo, D.; Gelabert-Gorgues, A.; Diaz-Gil, O., *et al.* Olive oil polyphenols enhance high-density lipoprotein function in humans: a randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2014**, *34*, 2115-2119. 10.1161/ATVBAHA.114.303374
492. Tanaka, N.; Ishida, T.; Nagao, M.; Mori, T.; Monguchi, T.; Sasaki, M.; Mori, K.; Kondo, K.; Nakajima, H.; Honjo, T., *et al.* Administration of high dose eicosapentaenoic acid enhances anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein in Japanese patients with dyslipidemia. *Atherosclerosis* **2014**, *237*, 577-583. 10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.011
493. Castro, M.A.; Baltar, V.T.; Marchioni, D.M.; Fisberg, R.M. Examining associations between dietary patterns and metabolic CVD risk factors: a novel use of structural equation modelling. *British Journal of Nutrition* **2016**, *115*, 1586-1597.
494. Mistretta, A.; Marventano, S.; Antoci, M.; Cagnetti, A.; Giogianni, G.; Nolfo, F.; Rametta, S.; Pecora, G.; Marranzano, M. Mediterranean diet adherence and body composition among Southern Italian adolescents. *Obesity research & clinical practice* **2017**, *11*, 215-226.
495. Jakicic, J.M. The effect of physical activity on body weight. *Obesity* **2009**, *17*, S34-S38.
496. Beccuti, G.; Pannain, S. Sleep and obesity. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* **2011**, *14*, 402.

497. Rampersaud, E.; Mitchell, B.D.; Pollin, T.I.; Fu, M.; Shen, H.; O'Connell, J.R.; Ducharme, J.L.; Hines, S.; Sack, P.; Naglieri, R. Physical activity and the association of common FTO gene variants with body mass index and obesity. *Archives of internal medicine* **2008**, *168*, 1791-1797.
498. Shivappa, N.; Hebert, J.R.; Marcos, A.; Diaz, L.E.; Gomez, S.; Nova, E.; Michels, N.; Arouca, A.; González-Gil, E.; Frederic, G. Association between dietary inflammatory index and inflammatory markers in the HELENA study. *Molecular nutrition & food research* **2017**, *61*, 1600707.
499. Shivappa, N.; Godos, J.; Hébert, J.R.; Wirth, M.D.; Piuri, G.; Speciani, A.F.; Grosso, G. Dietary inflammatory index and cardiovascular risk and mortality—A meta-analysis. *Nutrients* **2018**, *10*, 200.
500. Vlassara, H. Advanced glycation in health and disease: role of the modern environment. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2005**, *1043*, 452-460.
501. Vlassara, H.; Striker, G. Glycotoxins in the diet promote diabetes and diabetic complications. *Current diabetes reports* **2007**, *7*, 235-241.
502. Sahin-Efe, A.; Katsikeris, F.; Mantzoros, C.S. Advances in adipokines. *Metabolism-Clinical and Experimental* **2012**, *61*, 1659-1665.
503. Katsiki, N.; Mantzoros, C.; Mikhailidis, D.P. Adiponectin, lipids and atherosclerosis. *Current opinion in lipidology* **2017**, *28*, 347-354.
504. Ganji, V.; Kafai, M.R.; McCarthy, E. Serum leptin concentrations are not related to dietary patterns but are related to sex, age, body mass index, serum triacylglycerol, serum insulin, and plasma glucose in the US population. *Nutrition & metabolism* **2009**, *6*, 3.
505. Mozaffarian, D.; Pischon, T.; Hankinson, S.E.; Rifai, N.; Joshipura, K.; Willett, W.C.; Rimm, E.B. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *The American journal of clinical nutrition* **2004**, *79*, 606-612.
506. Bailey, M.A.; Holscher, H.D. Microbiome-Mediated Effects of the Mediterranean Diet on Inflammation. *Adv Nutr* **2018**, *9*, 193-206. 10.1093/advances/nmy013

507. Lee, B.-C.; Lee, J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* **2014**, *1842*, 446-462.
508. Srikanthan, K.; Feyh, A.; Visweshwar, H.; Shapiro, J.I.; Sodhi, K. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population. *International journal of medical sciences* **2016**, *13*, 25.
509. Reinehr, T.; Stoffel-Wagner, B.; Roth, C.L.; Andler, W. High-sensitive C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and cardiovascular risk factors before and after weight loss in obese children. *Metabolism* **2005**, *54*, 1155-1161.
510. Berberoğlu, M. Evaluation of the Correlation Between Serum Tumor Necrosis Factor α and Relative Body Mass Index (RBMI) in Childhood. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* **2001**, *14*, 543-548.
511. Moon, Y.-S.; Kim, D.-H.; Song, D.-K. Serum tumor necrosis factor- α levels and components of the metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism* **2004**, *53*, 863-867.
512. Kolb-Bachofen, V. A review on the biological properties of C-reactive protein. *Immunobiology* **1991**, *183*, 133-145.
513. Pearson, T.A.; Mensah, G.A.; Alexander, R.W.; Anderson, J.L.; Cannon III, R.O.; Criqui, M.; Fadl, Y.Y.; Fortmann, S.P.; Hong, Y.; Myers, G.L. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *circulation* **2003**, *107*, 499-511.
514. Sadurska, E.; Zaucha-Prazmo, A.; Brodzisz, A.; Kowalczyk, J.; Ben-Skowronek, I. Premature atherosclerosis after treatment for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Ann Agric Environ Med* **2018**, *25*, 71-76. 10.5604/12321966.1230680
515. Giordano, P.; Muggeo, P.; Delvecchio, M.; Carbonara, S.; Romano, A.; Altomare, M.; Ricci, G.; Valente, F.; Zito, A.; Scicchitano, P. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk factors in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *International journal of cardiology* **2017**, *228*, 621-627.

516. Latoch, E.; Muszynska-Roslan, K.; Panas, A.; Panasiuk, A.; Sawicka-Zukowska, M.; Zelazowska-Rutkowska, B.; Zabrocka, E.; Krawczuk-Rybak, M. Adipokines and insulin resistance in young adult survivors of childhood cancer. *International journal of endocrinology* **2016**, 2016.
517. Esbenshade, A.J.; Simmons, J.H.; Koyama, T.; Lindell, R.B.; Friedman, D.L. Obesity and insulin resistance in pediatric acute lymphoblastic leukemia worsens during maintenance therapy. *Pediatric blood & cancer* **2013**, 60, 1287-1291.
518. Jahnukainen, K.; Heikkinen, R.; Henriksson, M.; Andersson, S.; Ivaska, K.K.; Puukko-Viertomies, L.-R.; Mäkitie, O. Increased body adiposity and serum leptin concentrations in very long-term adult male survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hormone research in paediatrics* **2015**, 84, 108-115.
519. Beauloye, V.; Steffens, M.; Zech, F.; Vermynen, C.; Maiter, D. Characterization of insulin resistance in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia and non-Hodgkin lymphoma. *Clinical endocrinology* **2013**, 78, 790-798.
520. Medina-Bravo, P.; Meza-Santibáñez, R.; Rosas-Fernández, P.; Galván-Duarte, R.; Saucedo-García, R.; Velázquez-López, L.; Torres-Tamayo, M. Decrease in serum adiponectin levels associated with visceral fat accumulation independent of pubertal stage in children and adolescents. *Archives of medical research* **2011**, 42, 115-121.
521. Asayama, K.; Hayashibe, H.; Dobashi, K.; Uchida, N.; Nakane, T.; Kodera, K.; Shirahata, A.; Taniyama, M. Decrease in serum adiponectin level due to obesity and visceral fat accumulation in children. *Obesity research* **2003**, 11, 1072-1079.
522. Sanip, Z.; Ariffin, F.D.; Al-Tahami, B.A.M.; Sulaiman, W.A.W.; Rasool, A.H.G. Obesity indices and metabolic markers are related to hs-CRP and adiponectin levels in overweight and obese females. *Obesity research & clinical practice* **2013**, 7, e315-e320.
523. Marsche, G.; Zelzer, S.; Meinitzer, A.; Kern, S.; Meissl, S.; Pregartner, G.; Weghuber, D.; Almer, G.; Mangge, H. Adiponectin predicts high-density lipoprotein cholesterol efflux capacity in adults irrespective of body mass index and fat distribution. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2017**, 102, 4117-4123.

524. Schneider, J.G.; Von Eynatten, M.; Schiekofer, S.; Nawroth, P.P.; Dugi, K.A. Low plasma adiponectin levels are associated with increased hepatic lipase activity in vivo. *Diabetes care* **2005**, *28*, 2181-2186.
525. Follin, C.; Gabery, S.; Petersén, Å.; Sundgren, P.C.; Björkman-Burtcher, I.; Lätt, J.; Mannfolk, P.; Erfurth, E.M. Associations between metabolic risk factors and the hypothalamic volume in childhood leukemia survivors treated with cranial radiotherapy. *PLoS One* **2016**, *11*, e0147575.
526. Fukuhara, A.; Matsuda, M.; Nishizawa, M.; Segawa, K.; Tanaka, M.; Kishimoto, K.; Matsuki, Y.; Murakami, M.; Ichisaka, T.; Murakami, H. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* **2005**, *307*, 426-430.
527. Skoczen, S.; Tomasik, P.J.; Gozdzik, J.; Fijorek, K.; Krasowska-Kwiecien, A.; Wiecha, O.; Czogala, W.; Dluzniewska, A.; Sztefko, K.; Starzyk, J. Visfatin concentrations in children with leukemia before and after stem cell transplantation. *Experimental hematology* **2014**, *42*, 252-260.
528. Siviero-Miachon, A.A.; Spinola-Castro, A.M.; de Martino Lee, M.L.; Calixto, A.R.; Geloneze, B.; Lazaretti-Castro, M.; Guerra-Junior, G. Visfatin is a positive predictor of bone mineral density in young survivors of acute lymphocytic leukemia. *Journal of bone and mineral metabolism* **2017**, *35*, 73-82.
529. Brouwer, C.A.; Postma, A.; Hooimeijer, H.L.; Smit, A.J.; Vonk, J.M.; van Roon, A.M.; van den Berg, M.P.; Dolsma, W.V.; Lefrandt, J.D.; Bink-Boelkens, M.T., *et al.* Endothelial damage in long-term survivors of childhood cancer. *J Clin Oncol* **2013**, *31*, 3906-3913. 10.1200/JCO.2012.46.6086
530. Sun, L.; Yu, Z.; Ye, X.; Zou, S.; Li, H.; Yu, D.; Wu, H.; Chen, Y.; Dore, J.; Clement, K., *et al.* A marker of endotoxemia is associated with obesity and related metabolic disorders in apparently healthy Chinese. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 1925-1932. 10.2337/dc10-0340
531. Trøseid, M.; Nestvold, T.K.; Rudi, K.; Thoresen, H.; Nielsen, E.W.; Lappegård, K.T. Plasma lipopolysaccharide is closely associated with glycemic control and abdominal obesity: evidence from bariatric surgery. *Diabetes Care* **2013**, *36*, 3627-3632.

532. Liang, H.; Hussey, S.E.; Sanchez-Avila, A.; Tantiwong, P.; Musi, N. Effect of lipopolysaccharide on inflammation and insulin action in human muscle. *PloS one* **2013**, *8*, e63983.
533. Jayashree, B.; Bibin, Y.; Prabhu, D.; Shanthirani, C.; Gokulakrishnan, K.; Lakshmi, B.; Mohan, V.; Balasubramanyam, M. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Molecular and cellular biochemistry* **2014**, *388*, 203-210.
534. Creely, S.J.; McTernan, P.G.; Kusminski, C.M.; Fisher, f.M.; Da Silva, N.; Khanolkar, M.; Evans, M.; Harte, A.; Kumar, S. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **2007**, *292*, E740-E747.
535. Munford, R.S. Detoxifying endotoxin: time, place and person. *J Endotoxin Res* **2005**, *11*, 69-84. 10.1179/096805105X35161
536. Lu, Y.C.; Yeh, W.C.; Ohashi, P.S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine* **2008**, *42*, 145-151. 10.1016/j.cyto.2008.01.006
537. Kim, J.J.; Sears, D.D. TLR4 and Insulin Resistance. *Gastroenterol Res Pract* **2010**, *2010*. 10.1155/2010/212563
538. Gonzalez-Quintela, A.; Alonso, M.; Campos, J.; Vizcaino, L.; Loidi, L.; Gude, F. Determinants of serum concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the adult population: the role of obesity. *PloS one* **2013**, *8*, e54600.
539. Lassenius, M.I.; Pietiläinen, K.H.; Kaartinen, K.; Pussinen, P.J.; Syrjänen, J.; Forsblom, C.; Pörsti, I.; Rissanen, A.; Kaprio, J.; Mustonen, J. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. *Diabetes care* **2011**, *34*, 1809-1815.
540. Saghafi-Asl, M.; Amiri, P.; Naghizadeh, M.; Ghavami, S.M.; Karamzad, N. Association of endotoxaemia with serum free fatty acids in metabolically healthy and unhealthy abdominally obese individuals: a case–control study in northwest of Iran. *BMJ open* **2017**, *7*, e015910.

541. Liu, X.; Lu, L.; Yao, P.; Ma, Y.; Wang, F.; Jin, Q.; Ye, X.; Li, H.; Hu, F.B.; Sun, L., *et al.* Lipopolysaccharide binding protein, obesity status and incidence of metabolic syndrome: a prospective study among middle-aged and older Chinese. *Diabetologia* **2014**, *57*, 1834-1841. 10.1007/s00125-014-3288-7
542. Tilves, C.M.; Zmuda, J.M.; Kuipers, A.L.; Nestlerode, C.S.; Evans, R.W.; Bunker, C.H.; Patrick, A.L.; Miljkovic, I. Association of Lipopolysaccharide-Binding Protein With Aging-Related Adiposity Change and Prediabetes Among African Ancestry Men. *Diabetes Care* **2016**, *39*, 385-391. 10.2337/dc15-1777
543. Kim, K.E.; Cho, Y.S.; Baek, K.S.; Li, L.; Baek, K.-H.; Kim, J.H.; Kim, H.-S.; Sheen, Y.H. Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels as a biomarker of obesity-related insulin resistance in adolescents. *Korean journal of pediatrics* **2016**, *59*, 231.
544. Moreno-Navarrete, J.; Ortega, F.; Serino, M.; Luche, E.; Waget, A.; Pardo, G.; Salvador, J.; Ricart, W.; Frühbeck, G.; Burcelin, R. Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *International journal of obesity* **2012**, *36*, 1442-1449.
545. Holvoet, P.; Lee, D.-H.; Steffes, M.; Gross, M.; Jacobs, D.R. Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome. *Jama* **2008**, *299*, 2287-2293.
546. Trpkovic, A.; Resanovic, I.; Stanimirovic, J.; Radak, D.; Mousa, S.A.; Cenic-Milosevic, D.; Jevremovic, D.; Isenovic, E.R. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* **2015**, *52*, 70-85.
547. Kilic, I.D.; Findikoglu, G.; Alihanoglu, Y.I.; Yildiz, B.S.; Uslu, S.; Rota, S.; Evrengul, H. Circulating adhesion molecules and arterial stiffness. *Cardiovasc J Afr* **2015**, *26*, 21-24. 10.5830/CVJA-2014-060
548. Sulicka, J.; Surdacki, A.; Mikolajczyk, T.; Strach, M.; Gryglewska, B.; Cwiklinska, M.; Balwierz, W.; Guzik, T.; Grodzicki, T.K. Elevated markers of inflammation and endothelial activation and increased counts of intermediate monocytes in adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Immunobiology* **2013**, *218*, 810-816. 10.1016/j.imbio.2012.09.003

549. Luc, G.; Arveiler, D.; Evans, A.; Amouyel, P.; Ferrieres, J.; Bard, J.M.; Elkhilil, L.; Fruchart, J.C.; Ducimetiere, P.; Group, P.S. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* **2003**, *170*, 169-176. 10.1016/s0021-9150(03)00280-6
550. Malik, I.; Danesh, J.; Whincup, P.; Bhatia, V.; Papacosta, O.; Walker, M.; Lennon, L.; Thomson, A.; Haskard, D. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* **2001**, *358*, 971-976. 10.1016/S0140-6736(01)06104-9
551. Shai, I.; Pischon, T.; Hu, F.B.; Ascherio, A.; Rifai, N.; Rimm, E.B. Soluble intercellular adhesion molecules, soluble vascular cell adhesion molecules, and risk of coronary heart disease. *Obesity (Silver Spring)* **2006**, *14*, 2099-2106. 10.1038/oby.2006.245
552. Pontiroli, A.E.; Pizzocri, P.; Koprivec, D.; Vedani, P.; Marchi, M.; Arcelloni, C.; Paroni, R.; Esposito, K.; Giugliano, D. Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol* **2004**, *150*, 195-200. 10.1530/eje.0.1500195
553. Zanni, M.V.; Stanley, T.L.; Makimura, H.; Chen, C.Y.; Grinspoon, S.K. Effects of TNF-alpha antagonism on E-selectin in obese subjects with metabolic dysregulation. *Clin Endocrinol (Oxf)* **2010**, *73*, 48-54. 10.1111/j.1365-2265.2009.03741.x
554. Meigs, J.B.; Hu, F.B.; Rifai, N.; Manson, J.E. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *Jama* **2004**, *291*, 1978-1986.
555. Kojima, C.; Kubota, M.; Nagai, A.; Adachi, S.; Watanabe, K.; Nakahata, T. Adipocytokines in childhood cancer survivors and correlation with metabolic syndrome components. *Pediatr Int* **2013**, *55*, 438-442. 10.1111/ped.12087
556. Anhe, F.F.; Roy, D.; Pilon, G.; Dudonne, S.; Matamoros, S.; Varin, T.V.; Garofalo, C.; Moine, Q.; Desjardins, Y.; Levy, E., *et al.* A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut* **2015**, *64*, 872-883. 10.1136/gutjnl-2014-307142

557. Krajinovic, M.; Labuda, D.; Richer, C.; Karimi, S.; Sinnett, D. Susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 genetic polymorphisms. *Blood* **1999**, *93*, 1496-1501.
558. Sinnett, D.; Krajinovic, M.; Labuda, D. Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* **2000**, *38*, 447-462.
10.3109/10428190009059264
559. Lombard, M.J.; Steyn, N.P.; Charlton, K.E.; Senekal, M. Application and interpretation of multiple statistical tests to evaluate validity of dietary intake assessment methods. *Nutr J* **2015**, *14*, 40. 10.1186/s12937-015-0027-y
560. Cantin, J.; Lacroix, S.; Latour, É.; Lambert, J.; Lalongé, J.; Faraj, M.; Nigam, A. Validation of a Mediterranean food frequency questionnaire for the population of Québec. *Canadian Journal of Cardiology* **2014**, *30*, S310.
561. Schröder, H.; Covas, M.; Marrugat, J.; Vila, J.; Pena, A.; Alcantara, M.; Masia, R. Use of a three-day estimated food record, a 72-hour recall and a food-frequency questionnaire for dietary assessment in a Mediterranean Spanish population. *Clinical Nutrition* **2001**, *20*, 429-437.
562. Fernández-Ballart, J.D.; Piñol, J.L.; Zazpe, I.; Corella, D.; Carrasco, P.; Toledo, E.; Perez-Bauer, M.; Martínez-González, M.Á.; Salas-Salvadó, J.; Martín-Moreno, J.M. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *British journal of nutrition* **2010**, *103*, 1808-1816.
563. Satia, J.A.; Watters, J.L.; Galanko, J.A. Validation of an antioxidant nutrient questionnaire in whites and African Americans. *Journal of the American Dietetic Association* **2009**, *109*, 502-508. e506.
564. Sauvageot, N.; Guillaume, M.; Albert, A. Validation of the food frequency questionnaire used to assess the association between dietary habits and cardiovascular risk factors in the NESCAV study. *Journal of Food Science* **2013**, *3*.
565. Stepanikova, I.; Oates, G.R.; Bateman, L.B. Does one size fit all? The role of body mass index and waist circumference in systemic inflammation in midlife by race and gender. *Ethnicity & health* **2017**, *22*, 169-183.

566. Richard, M.L.; Sokol, H. The gut mycobiota: insights into analysis, environmental interactions and role in gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **2019**, *16*, 331-345. [10.1038/s41575-019-0121-2](https://doi.org/10.1038/s41575-019-0121-2)

12 Annexe

12.1 Questionnaire de fréquence alimentaire



Université 
de Montréal

QUESTIONNAIRE DE FRÉQUENCE ALIMENTAIRE

Projet PETALE:

*Prévenir les effets tardifs des traitements de la leucémie aigüe lymphoblastique
chez l'enfant*

No de sujet : _____

Date : _____

	À quelle fréquence?			Portion standard	Autres portions
	Remplir UNE seule colonne				
	Par jour	Par semaine	Par mois		Préciser unité de mesure
BREUVAGES					
Lait <ul style="list-style-type: none"> Entier, 2%, 1%, écrémé Enrichi calcium Au chocolat → poudre ajoutée ou lait au chocolat 				1 tasse (250 ml) <i>Sauf lait ajouté au café</i>	
Chocolat chaud, cacao + lait / eau <ul style="list-style-type: none"> Écrémé, 1%, 2%, entier 				1 tasse	
Boisson d'amandes <ul style="list-style-type: none"> Enrichie en calcium + vit D / non enrichie Sucrée / non sucrée 				1 tasse	
Boisson de soya enrichie de vitamine D et calcium <ul style="list-style-type: none"> sucrée / non sucrée 				1 tasse	
Lait de poule				1 tasse	
Lait frappé / smoothie <ul style="list-style-type: none"> Fait avec yogourt/ lait/jus/ crème glacée 				1 tasse	
Jus de pomme				1 tasse	
Jus d'orange <ul style="list-style-type: none"> Enrichi en calcium Enrichi en vitamine C 				1 tasse	
Jus / cocktail de canneberges				1 tasse	
Jus de pamplemousse				1 tasse	
Jus d'ananas				1 tasse	

Jus de fruits mélangés (sans sucre ajouté)				1 tasse	
Punch aux fruits / limonade				1 tasse	
Jus de tomates ou de légumes (ex: V8, Garden Cocktail)				1 tasse	
▪ Régulier / Faible en sodium					
Jus de légumes et fruits (style V8)				1 tasse	
Boisson gazeuse (Coca-cola, 7up, etc.)				1 canette (355 ml)	
▪ Régulier / diète					
Boisson énergisante				1 canette (255 ml)	
Gatorade / Eau vitaminée				1 tasse	
Thé, tisanes				1 tasse	
▪ Chaud ou glacé					
Café				1 tasse	
▪ Chaud ou glacé sucré					
Lait ajouté au thé et café				1 c. à table (15 ml)	
▪ Crème, 3.25%, 2%, 1%, écrémé					
Vin rouge				150 ml	
▪ Blanc / rosé					
Bières				340 ml	
Spiritueux				45 ml	
Eau				1 tasse	
• Plate/ minérale/ Perrier/ etc.					
ŒUFS/PRODUITS LAITIERS					
Œuf				1 unité	
▪ Frit, brouillé, omelette, dur					
Œuf McMuffin (maison / resto)				1 unité	

Fromage à pâte dure (cheddar, feta, mozzarella, etc.)				30 g	
▪ Régulier / léger					
Fromage à pâte molle (brie, camembert, etc.)				30 g	
▪ Régulier / léger					
Fromage à la crème				1 c. à table (15 ml)	
▪ Régulier / léger					
Fromage cottage				½ tasse	
▪ 1%, 2%, 4% m.g.					
Ricotta				½ tasse	
Fromage bleu				30 g	
Fromage fondu				1 c. à table (15 ml)	
▪ Régulier / léger					
Fromage fondu en tranches				1 tranche	
▪ Régulier / léger					
Yogourt				1 tasse	
▪ Écrémé /1-2% / > 2%					
▪ Grec					
▪ Aromatisé ou nature					
Yogourt à boire				1 contenant (200 ml)	
Petit Danone				1 contenant (60 ml)	

LÉGUMES ET LÉGUMINEUSES

Asperges				½ tasse ou 3 à 6 tiges	
Avocat				½ moyen	
Brocoli				½ tasse	
Carottes				½ tasse	
Céleri				½ tasse	
Champignons (crus ou cuits)				½ tasse	
Chou, choux de Bruxelles, salade de choux				½ tasse	
Chou-fleur				½ tasse	
Concombre				½ tasse	
Courge d'été, zucchini, aubergine				½ tasse	
Courge d'hiver, poivrée, spaghetti...				½ tasse	
Fèves au lard				½ tasse	
Fèves de soya (germées, édamame)				½ tasse	
Haricots (verts, jaunes) pois mange-tout				½ tasse	
Laitue, salade				1 tasse	
Épinards, roquette				½ tasse	
Légumes mélangés congelés ou en conserve				½ tasse	
Lentilles ou haricots séchés <ul style="list-style-type: none"> ▪ Haricots rouges ▪ Haricots blancs ▪ Pois chiches (hummous) 				½ tasse	
Maïs				½ tasse	
Navet				½ tasse	

Oignon ou poireaux				½ tasse	
Patates douces				½ tasse	
Poivrons doux (verts, rouges jaunes)				½ tasse	
Piments jalapeno ou chili				¼ tasse	
Pois verts				½ tasse	
Pommes de terre <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bouillie / au four / grillée ▪ Purée avec lait / beurre 				1 entière ou ½ tasse	
Radis				½ tasse	
Tomates fraîches				1 moyenne ou 4 tranches	
Sauté aux légumes				1 tasse	
FRUITS					
Abricots				2 fruits moyens	
Ananas				¼ du fruit	
Banane				1 fruit moyen	
Cerises				½ tasse	
Citron ou lime				1 fruit	
Kiwi				1 fruit moyen	
Petits fruits : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Fraises ▪ Bleuets ▪ Framboises ▪ Mûres 				½ tasse	
Mangue				½ fruit	
Melon d'eau (gros)				1 tasse ou ⅓ d'une tranche épaisse	

Melon de miel (gros)				1 tasse ou 1/8 du fruit	
Cantaloup				1/3 du fruit ou 1 tasse	
Clémentine				1 fruit	
Orange				1 fruit	
Pamplemousse				1/2 fruit moyen	
Papaye				1/4 du fruit	
Pêche, nectarine				1 fruit moyen ou 1/2 tasse	
Poire				1 fruit moyen ou 1/2 tasse	
Pomme ou compote de pommes				1 fruit moyen ou 1/2 tasse	
Prune				1 fruit moyen	
Raisins				1/2 tasse	
Raisins secs, canneberges séchées				1/4 tasse ou un petit sac	
Salade de fruits (sirop, léger)				1/2 tasse	
PAINS ET CÉRÉALES					
Pain :				1 tranche	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanc / blé entier ▪ Enrichi de fibres 					
Petits pains, baguette				1 pain ou 5 cm	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanc / blé entier 					
Bagel, pita :				1 unité	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanc / blé entier 					
Tortilla :				1 unité	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanc / blé entier 					

Gaufres/Crêpes/Pains dorés				1 unité	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sarrasin ▪ Blanc / blé entier 					
Croissant				1 unité	
Muffins				1 unité	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Maison / du commerce 					
Craquelins				5 craquelins	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Soda /grignotines 					
Galette de riz (nature, saveur ajoutée)				1 galette	
Gruau				1 tasse ou 1 sachet	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Instantané (saveur ajoutée) 					
Céréales à déjeuner enrichies				1 tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sucrées, non sucrées 					
Céréales à déjeuner à grains entiers				1 tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sucrées, non sucrées 					
Céréales au son / granola				1 tasse	
Pâtes alimentaires, couscous, quinoa				1 tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanc / blé entier ▪ Enrichi en fibres ▪ Aux œufs 					
Sauce pour les pâtes :				½ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tomates ▪ Crème ▪ Fromage ▪ Viande 					
Macaroni au fromage				1 tasse	
Lasagne avec :				1 tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sauce tomate ▪ Sauce à la viande 					
Riz, riz sauvage :				1 tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Entier / blanc ▪ Minute / à la vapeur / bouilli 					

NOIX ET GRAINES					
Amandes				¼ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Natures, rôties et/ou salées 					
Arachides				¼ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Natures, rôties et/ou salées 					
Autres noix (Brésil, pistaches, Grenoble, Acajou, mélangées)				¼ tasse	
Graines				¼ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Natures, rôties et/ou salées 					
Beurre d'arachides				1 c. à table	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 100% naturel ou hydrogéné <ul style="list-style-type: none"> ▪ Régulier ou léger 				(15 ml)	
Beurre d'amandes				1 c. à table	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 100% naturel ou hydrogéné ▪ Régulier ou léger 				(15 ml)	
Germe de blé/huile de germe de blé				1 c. à table	
				(15 ml)	
VIANDES ET POISSONS					
Poulet, dinde, canard, oie				75 g ou ½ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ BBQ, rôti, frit, pané ▪ Hamburger maison ▪ Casserole au poulet 					
Croquettes de poulet				6 morceaux	
Bœuf				75 g ou ½ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Haché, steak, braisé ▪ Hamburger maison ▪ Mijoté (sauce tomate ou autre) 					
Veau				75 g ou ½ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Haché, rôti, braisé ▪ Escalope panée ▪ Hamburger maison ▪ Mijoté (sauce tomate ou autre) 					
Porc				75 g ou ½ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Côtelettes, BBQ, émincé, filet, haché, pané, frit, rôti ▪ Hamburger 					

Cheval				75 g	
Agneau				75 g	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Haché, rôti, braisé, ▪ Mijoté avec sauce 					
Saucisse (boucher, merguez)				1 unité	
Charcuteries				30 g ou 1 unité	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Saucisse fumée / hot dog ▪ Salami, pepperoni 					
Viande froide (dinde, jambon, baloney, etc.)				1 tranche (30 g)	
Viande salée ou séchée				30 g	
Abats (foie, rognons, etc.)				75 g	
Tofu				1 tasse	
Creton, tête fromagée, pâté de foie, terrine, végépâté				30 ml	
Poisson frais, chair de poisson				75 g	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Saumon, thon, poisson blanc ▪ Vapeur, au four, poché 					
Poisson enrobé de pâte				6 morceaux ou 1 galette	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bâtonnets de poisson ▪ Crevettes panées ▪ Croquettes (fish cake) 					
Saumon en boîte avec arêtes				½ tasse ou 1 petite conserve	
Thon en boîte (eau / huile)				½ tasse ou 1 petite conserve	
Sardines sans peau				2 sardines	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dans l'eau ou huile 					
Maquereau				75 g	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ En boîte 					
				20 g	

Saumon fumé				1 tranche	
Crevettes				½ tasse	
▪ En boîte, fraîches					
Mollusques, crustacés (palourdes, pétoncles, huîtres, etc.)				½ tasse	
▪ Bouillis, vapeur, sautés					
METS PRÉPARÉS					
Soupe aux tomates (boîte, maison)				1 tasse	
▪ En crème					
▪ Non en crème					
Soupe aux légumes				1 tasse	
▪ Conserve / maison					
Soupe aux haricots (petits haricots blancs, pois cassés, lentilles etc.)				1 tasse	
▪ Conserve / maison					
Autres soupes en boîte				1 tasse	
▪ En crème (champignons, poulet)					
▪ Non en crème (poulet et nouilles)					
Pâté chinois				1 tasse	
Quiche				1/6	
Pâté au poulet				1/6	
Chili con carne				1 tasse	
Sushi				1 unité	
FAST FOOD					
Pizza				1 tranche moyenne	
▪ Toute garnie / végétarienne / fromage/pepperoni+fromage / etc.					
Hamburger				1 unité	
▪ Avec fromage					

Hamburger poulet				1 unité	
▪ Grillé/ pané					
Hamburger poisson				1 unité	
▪ Grillé/ pané					
Hamburger végétarien				1 unité	
Poutine				1 tasse	
Hot-dog				1 unité	
Pogo				1 unité	
Club sandwich				1 unité	
Hot chicken				1 unité	
Aile de poulet				1 unité	
Frites				10 unités ou 1 tasse	
Chips, nachos				1 tasse	
Sauce au fromage				¼ tasse	
Salsa				¼ tasse	
Pop-corn				1 tasse	
▪ Régulier / léger					
▪ Maison (avec huile ou air)					
▪ Beurre ajouté					
MATIÈRES GRASSES					
Beurre				5 ml	
Margarine :				5 ml	
▪ Non hydrogénée / hydrogénée					
▪ Légère / régulière					
▪ Canola, huile d'olive					
Huile d'olive et olives				15 ml 5 olives	

Huiles végétales (canola, tournesol, arachides, etc.)				15 ml	
Mayonnaise, vinaigrette				15 ml	
▪ Régulière / légère					
Crème (cuisson)				15 ml	
▪ 10%, 15%, 35%					
Cuisson des viandes, m.g. :				15 ml	
• Beurre / huile					
Cuisson des légumes, m.g.				15 ml	
▪ Beurre / huile					
Graisse, lard				5 ml	
Bacon				1 tranche	
Sauces (brune, BBQ)				15 ml	
Sauce Béchamel				½ tasse	
DESSERTS ET COLLATIONS					
Crème ou lait glacé				½ tasse	
Yogourt glacé ou sorbet				½ tasse	
Pouding				½ tasse	
▪ À base de lait / soya					
▪ Chocolat / autre					
Gâteau, beigne, brioche, danoise, tarte				1 morceau ou 1 unité ou 1/6	
Tarte à la crème pâtissière				1/6	
Biscuits				2 unités	
▪ Crème / secs					
▪ Chocolat / autres					
Chocolat				5 chocolats ou 1 barre (50 g)	
▪ Bonbon / barre					
▪ Au lait / 70% cacao / blanc					
Sucreries :				5 ml	
▪ Sucre /cassonade					
▪ Sirop d'érable / sirop de table					

<ul style="list-style-type: none"> ▪ Miel, mélasse ▪ Succédané (Splenda) 					
Confiture, Nutella, caramel				5 ml	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Régulier / léger 					
Bonbons				5 unités	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Durs / gélatine / poudre 					
Barre granola				1 unité	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Enrobée, chocolat ▪ Multigrains / avec noix 					
Suppléments				1 barre ou 1 contenant ou 15 ml	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Barre: Nutribar, Slimfast ▪ Liquide: Boost, Ensure ▪ Poudre: protéine 					
DIVERS					
Sel ajouté				1ml	
Ketchup				15 ml	
Sauce tomates (trempette)				½ tasse	
Noix de coco				½ tasse	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sucré / non sucré ▪ Crème / lait de coco ▪ Eau de coco 					

QUESTIONS SUPPLÉMENTAIRES

Est-ce qu'il y a un aliment que vous consommez régulièrement qui aurait été oublié ?

Au cours de la dernière année, avez-vous changé vos habitudes alimentaires ? OUI NON

Si oui, lesquelles ?

En bref, au cours du dernier mois, à quelle fréquence avez-vous consommé aliments de chacun de ces groupes?

Fréquence	Légumes (sans pommes de terre, salade ou légumineuses)	Fruits (sans les jus)	Produits céréaliers	Produits laitiers	Viandes et substituts
Jamais ou moins d'une fois par semaine					
1-2 fois par semaine					
3-4 fois par semaine					
5-6 fois par semaine					
1 fois par jour					
2 fois par jour					
3 fois par jour					
4 fois par jour					
5 fois par jour ou plus					

Tour de taille : _____

Étiez-vous bien à jeun ce matin?

OUI

NON

Justifications :

En quoi a consisté votre repas du soir hier?

HEURE

ALIMENT

PORTION

SUPPLÉMENTS NUTRITIONNELS

Indiquez la prise de suppléments alimentaires (vitamines, minéraux, herbes, etc.).

Suppléments: _____

_____ Composition/quantité: _____

_____ Heure: _____

_____ Marque de _____ commerce: _____

Suppléments: _____

_____ Composition/quantité: _____

_____ Heure: _____

_____ Marque de _____ commerce: _____

Suppléments: _____

_____ Composition/quantité: _____

_____ Heure: _____

_____ Marque de _____ commerce: _____

NOTES:

Complété par :	le :
-----------------------	-------------