

STRESZCZENIE

Wstęp

Hormon wzrostu (GH) jest jednym z najważniejszych hormonów anabolicznych promujących proces wzrastania człowieka. GH działa lipolitycznie, wpływa na metabolizm węglowodanów, białek i przyrost masy kostnej. Somatotropinowa niedoczynność przysadki (SNP) występuje u około 3% niskorosłych dzieci. Objawia się nie tylko zaburzeniami procesów wzrastania prowadząc w konsekwencji do niskiego wzrostu ostatecznego, ale również powikłaniami metabolicznymi wynikającymi z przewagi tłuszczowej nad beztłuszczową masą ciała. Zaburzony skład masy ciała prowadzi do objawów zespołu metabolicznego w tym do dyslipidemii, insulinooporności, a w konsekwencji do rozwoju miażdżycy i zwiększonego ryzyka rozwoju chorób układu sercowo – naczyniowego i incydentów mózgowo - naczyniowych. Wiadomo, że nieleczony niedobór GH skutkuje rozwojem zespołu metabolicznego, w którym istotną rolę odgrywa przewlekły stan zapalny o niewielkim nasileniu prowadzący między innymi do rozwoju miażdżycy. Tkanka tłuszczowa odgrywa ważną rolę w wielu procesach związanych z przemianami energetycznymi organizmu, jest także zaangażowana w funkcjonowanie układu immunologicznego, dokrewnego, nerwowego i innych. Jest źródłem wielu bioaktywnych substancji, w tym adipokin, licznych cytokin i chemokin oraz iryzyny. Zaburzenia w ich produkcji powodują nieprawidłowości metaboliczne oraz modulują reakcje immunologiczne. Iryzyna to adipomiokina, która wpływa na „brunatnienie” białej tkanki tłuszczowej oraz spełnia istotną rolę w ekspresji białka UCP1 zwiększając termogenezę co prowadzi do redukcji masy ciała. Ilość badań dotyczących stężenia cytokin pro- i przeciwzapalnych oraz iryzyny u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu, jak również ich zmian pod wpływem leczenia rhGH jest ograniczona.

Cele pracy

- Ocena wpływu niedoboru GH oraz terapii rhGH na stężenie wybranych cytokin: TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 oraz iryzyny u dzieci w wieku przedpokwitaniowym z SNP oraz korelacji ich stężenia ze składem masy ciała, wybranymi parametrami antropometrycznymi oraz parametrami gospodarki węglowodanowej i lipidowej
- Ocena wpływu terapii rhGH na gospodarkę węglowodanową i lipidową
- Analiza otrzymanych wyników w aspekcie ich potencjalnej wartości diagnostycznej i prognostycznej

Pacjenci i metody

Do badania włączono 55 dzieci. Grupa badana liczyła 30 niskorosłych dzieci z idiopatyczną SNP. Wszyscy badani byli w wieku przedpokwitaniowym z prawidłową masą ciała, prawidłową urodzeniową masą i długością ciała i zostali zakwalifikowani do leczenia rhGH w dawkach typowych zgodnie z Programem Lekowym NFZ leczenia niskorosłych dzieci z SNP. Grupę kontrolną stanowiło 25 zdrowych dzieci bez niedoboru wzrostu podobnych do dzieci z grupy badanej pod względem płci, wieku i masy ciała. U wszystkich badanych oznaczono w surowicy metodą ELISA stężenie iryzyny, TNF- α oraz interleukin: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 i IL-10 – w grupie SNP dwukrotnie (przed i po 6 miesiącach terapii rhGH). W grupie pacjentów z SNP przed rozpoczęciem leczenia i po 6 miesiącach terapii rhGH wykonano dodatkowo: badanie składu masy ciała (metodą antropometryczną i metodą bioimpedancji przy użyciu aparatu Maltron BF-905), doustny test obciążenia glukozą z oceną stężenia glukozy i insuliny (0, 60, 120 min), badanie profilu lipidowego z oznaczeniem cholesterolu całkowitego, frakcji HDL i LDL oraz triglicerydów. Obliczono następujące wskaźniki insulinowrażliwości i insulinooporności: IRI/G, HOMA, QUICKI, Matsudy, Belfiore, TG/HDL. Zbadano również stężenie IGF-1 przed i po 3 miesiącach leczenia rhGH zgodnie z Programem Lekowym NFZ. Analizowano zmiany stężeń cytokin i iryzyny, parametrów antropometrycznych, gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Oceniano także zmiany w stężeniu cytokin i iryzyny, zmiany parametrów antropometrycznych, gospodarki węglowodanowej i lipidowej w odniesieniu do stopnia niedoboru wzrostu przed rozpoczęciem terapii, w zależności od zawartości tkanki tłuszczowej przed rozpoczęciem leczenia oraz w stosunku do uzyskanej poprawy wzrostu. Stąd grupę SNP podzielono na podgrupy: 1) na podstawie stopnia niedoboru wzrostu, z uwzględnieniem średniego wzrostu rodziców (hSDS – mpSDS), wyrażonego medianą SDS wysokości przed rozpoczęciem terapii (podgrupa A poniżej mediany SDS wysokości ciała vs. podgrupa B powyżej mediany SDS wysokości ciała), 2) na podstawie zawartości tkanki tłuszczowej (MAFA) w badaniu antropometrycznym wyrażonej medianą MAFA przed rozpoczęciem leczenia (podgrupa A1 z MAFA poniżej mediany vs. podgrupa B1 z MAFA powyżej mediany) oraz 3) na podstawie przyrostu wzrostu po 6 miesiącach terapii wyrażonego medianą zmiany (Δ) SDS wysokości ciała (podgrupa A2 poniżej mediany Δ SDS wzrostu vs. podgrupa B2 powyżej mediany Δ SDS wzrostu). Projekt uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w 2014 roku (uchwała nr 163/KBE/2014 z dn. 30.09.2014). Badania były

finansowane ze środków projektu badawczego na działalność statutową Wydziału Lekarskiego i Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

Wyniki

Nie wykazano istotnych różnic w stężeniu badanych interleukin, TNF- α oraz iryzyny w grupie SNP przed i po 6 miesiącach leczenia rhGH w porównaniu do grupy kontrolnej.

W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH stwierdzono istotny wzrost stężenia TNF- α (33,1 pg/mL vs. 20,3 pg/mL, $p < 0,01$). Nie wykazano istotnych różnic w stężeniu badanych interleukin, TNF- α oraz iryzyny w grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH w porównaniu do grupy kontrolnej.

W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH stwierdzono istotne zwiększenie wysokości ciała (-2,28 SDS vs. -2,59 SDS, $p < 0,00001$) oraz wykazano istotny spadek tłuszczowej masy ciała mierzonej zarówno metodą antropometryczną (83,03 % vs. 107,68 %, $p < 0,00001$) jak i metodą bioimpedancji (5,23 % vs. 7,57 %, $p < 0,00001$) oraz wzrost beztłuszczowej masy ciała; wynik był istotny statystycznie w badaniu metodą bioimpedancji (94,73 % vs. 92,83 %, $p < 0,001$).

W grupie SNP stwierdzono istotny wzrost stężenia IGF- 1 po 3 miesiącach terapii (227 ng/mL vs. 107 ng/mL, $p < 0,0001$).

Po 6 miesiącach terapii rhGH wykazano istotny wzrost stężenia insuliny na czczo i w 60 minucie OGTT oraz pogorszenie się wskaźników insulinooporności i insulinowrażliwości (IRI/G, HOMA-IR, QUICKI, Matsudy). Ponadto, po 6 miesiącach leczenia istotnie wzrosło stężenie cholesterolu całkowitego ($185 \pm 23,5$ mg/dL vs. $177 \pm 21,1$ mg/dL, $p < 0,05$).

W grupie SNP przed leczeniem i po 6 miesiącach terapii rhGH stwierdzono dodatnią korelację między stężeniem IL-2 i IL-4 (odpowiednio: $r = 0,59$; $r = 0,50$, $p < 0,01$) oraz między IL-1 β i IL-4 (odpowiednio: $r = 0,39$; $r = 0,37$, $p < 0,05$). Wykazano dodatnią korelację między stężeniem IL-4 przed leczeniem GH a stężeniem IL-1 β i IL-2 po 6 miesiącach terapii (odpowiednio: $r = 0,37$; $r = 0,40$, $p < 0,05$). Stężenie interleukin, TNF- α oraz iryzyny po 6 miesiącach terapii rhGH pozostawało w istotnym związku z ich wyjściowym stężeniem; im niższe (lub wyższe) było stężenie wyjściowe przed rozpoczęciem terapii tym większy (lub mniejszy) był przyrost po 6 miesiącach leczenia.

W grupie SNP przed i po 6 miesiącach terapii rhGH wykazano ujemną korelację stężenia TNF- α z wiekiem wzrostowym, wysokością i masą ciała. Po 6 miesiącach leczenia stwierdzono ujemną korelację stężenia TNF- α z tłuszczową masą ciała oraz dodatnią

korelację z beztłuszczową masą ciała (odpowiednio: $r = -0,47$; $r = 0,47$, $p < 0,01$). Stężenie IL-1 β korelowało dodatnio z tłuszczową masą ciała przed leczeniem rhGH ($r = 0,38$, $p < 0,05$). Wykazano dodatnią korelację pomiędzy przyrostem stężenia (Δ) IL-2 a SDS masy ciała do wieku kalendarzowego przed rozpoczęciem terapii rhGH ($r = 0,34$, $p < 0,05$). Stężenie IL-4 dodatnio korelowało z wiekiem kalendarzowym i wzrostowym, wysokością i masą ciała oraz z odsetkiem tłuszczowej masy ciała, natomiast ujemnie z beztłuszczową masą ciała – korelacje istotne statystycznie uzyskano w grupie SNP przed rozpoczęciem leczenia rhGH (odpowiednio: $r = 0,44$; $0,40$; $0,41$; $0,40$; $0,48$; $-0,42$, $p < 0,05$). Przyrost stężenia (Δ) IL-4 ujemnie korelował z wyjściowym wiekiem wzrostowym, wysokością i masą ciała oraz z tłuszczową masą ciała (odpowiednio: $r = -0,41$; $r = -0,40$; $r = -0,40$; $r = -0,51$, $p < 0,01$), zaś dodatnio z beztłuszczową masą ciała ($r = 0,48$, $p < 0,01$). W grupie kontrolnej wykazano dodatnią korelację stężenia IL-4 z masą ciała i BMI. Przyrost stężenia (Δ) IL-6 korelował dodatnio z przyrostem tłuszczowej masy ciała ($r = 0,64$, $p < 0,01$) oraz ujemnie z przyrostem beztłuszczowej masy ciała ($r = -0,56$, $p < 0,01$). Wykazano, że im większy był przed leczeniem odsetek beztłuszczowej masy ciała oraz mniejszy odsetek tłuszczowej masy ciała tym większy był przyrost stężenia (Δ) IL-6. Stężenie IL-10 dodatnio korelowało z beztłuszczową masą ciała przed i po 6 miesiącach leczenia. Stwierdzono ujemną korelację stężenia iryzyny z SDS wysokości ciała przed rozpoczęciem leczenia rhGH ($r = -0,39$, $p < 0,05$). Przyrost stężenia (Δ) iryzyny dodatnio korelował z przyrostem (Δ) tłuszczowej masy ciała ($r = 0,37$, $p < 0,05$).

Stwierdzono istotne dodatnie korelacje między stężeniem IL-2 oraz między stężeniem IL-4 przed leczeniem a przyrostem stężenia (Δ) IGF-1 po 3 miesiącach terapii rhGH (odpowiednio: $r = 0,39$, $p < 0,05$; $r = 0,47$, $p < 0,01$). Wykazano ujemną korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-4 z przyrostem stężenia (Δ) IGF-1 oraz z poziomem IGF-1 po 3 miesiącach leczenia (odpowiednio: $r = -0,38$, $p < 0,05$; $r = -0,37$, $p < 0,05$).

W analizie korelacji badanych cytokin oraz iryzyny z parametrami gospodarki węglowodanowej i lipidowej wykazano w grupie SNP przed leczeniem istotną dodatnią korelację stężenia IL-2 z insulinemią w 120 min testu OGTT ($r = 0,43$, $p < 0,05$) oraz ujemną korelację ze wskaźnikiem Matsudy ($r = -0,41$, $p < 0,05$). Stwierdzono ujemną korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-2 ze zmianą wartości (Δ) wskaźnika Matsudy ($r = -0,40$, $p < 0,05$). Wykazano dodatnią korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-2 z przyrostem stężenia (Δ) cholesterolu całkowitego ($r = 0,38$, $p < 0,05$) oraz z przyrostem stężenia (Δ) frakcji LDL cholesterolu ($r = 0,38$, $p < 0,05$). W grupie SNP przed leczeniem wykazano istotną ujemną korelację stężenia IL-4 ze wskaźnikiem Matsudy ($r = -0,42$, $p < 0,05$). Stwierdzono ujemną

korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-4 z insulinemią w 60 min testu OGTT wykonanego przed rozpoczęciem leczenia rhGH ($r = -0,38$, $p < 0,05$) oraz dodatnią korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-4 ze wskaźnikiem Matsudy wyliczonym dla grupy przed leczeniem rhGH ($r = 0,42$, $p < 0,05$). Wykazano ujemną korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-4 z przyrostem stężenia (Δ) frakcji HDL cholesterolu ($r = -0,36$, $p < 0,05$). W grupie SNP przed leczeniem stwierdzono istotną ujemną korelację stężenia IL-6 ze stężeniem cholesterolu całkowitego ($r = -0,40$, $p < 0,05$). Wykazano, że przyrost stężenia (Δ) IL-6 koreluje dodatnio z przyrostem stężenia (Δ) insuliny na czczo ($r = 0,37$, $p < 0,05$) oraz ze zmianą (Δ) wartości wskaźnika IRI/G ($r = 0,39$, $p < 0,05$), natomiast ujemnie ze zmianą (Δ) wartości wskaźnika QUICKI ($r = -0,44$, $p < 0,05$). W grupie SNP przed leczeniem wykazano dodatnią korelację stężenia IL-10 ze stężeniem insuliny w 120 min testu OGTT ($r = 0,39$, $p < 0,05$) oraz ze wskaźnikiem TG/HDL ($r = 0,38$, $p < 0,05$), zaś ujemną korelację ze stężeniem frakcji HDL cholesterolu ($r = -0,48$, $p < 0,01$). Po 6 miesiącach terapii stwierdzono dodatnią korelację przyrostu stężenia (Δ) IL-10 z przyrostem (Δ) insulinemii na czczo ($r = 0,43$, $p < 0,05$) oraz ze zmianą (Δ) wskaźnika IRI/G ($r = 0,48$, $p < 0,05$). Stwierdzono istotną dodatnią korelację przyrostu (Δ) stężenia IL-10 ze stężeniem frakcji HDL cholesterolu przed leczeniem rhGH ($r = 0,43$, $p < 0,05$). Po 6 miesiącach leczenia rhGH stwierdzono dodatnią korelację stężenia iryzyny ze stężeniem insuliny w 120 min testu OGTT ($r = 0,40$, $p < 0,05$) oraz ujemną korelację ze wskaźnikiem Matsudy ($r = -0,41$, $p < 0,05$). Przyrost stężenia (Δ) iryzyny korelował ujemnie z przyrostem (Δ) glikemii na czczo ($r = -0,41$, $p < 0,05$) oraz dodatnio z przyrostem (Δ) glikemii w 60 min testu OGTT ($r = 0,40$, $p < 0,05$). Równocześnie wykazano, iż przyrost stężenia (Δ) iryzyny koreluje dodatnio z przyrostem stężenia (Δ) frakcji HDL cholesterolu ($r = 0,44$, $p < 0,05$).

W kolejnym etapie pracy grupę SNP podzielono na podgrupy w oparciu o:

- stopień niedoboru wzrostu, z uwzględnieniem średniego wzrostu rodziców (hSDS – mpSDS), wyrażonego medianą SDS wysokości przed rozpoczęciem terapii (podgrupa A poniżej mediany SDS wysokości ciała vs. podgrupa B powyżej mediany SDS wysokości ciała).
- zawartość tkanki tłuszczowej (MAFA) w badaniu antropometrycznym wyrażonej medianą MAFA przed rozpoczęciem leczenia (podgrupa A1 z MAFA poniżej mediany vs. podgrupa B1 z MAFA powyżej mediany).
- przyrost wysokości ciała po 6 miesiącach terapii wyrażonego medianą zmiany SDS wysokości ciała (podgrupa A2 poniżej mediany Δ SDS wzrostu vs. podgrupa B2 powyżej mediany Δ SDS wzrostu).

Na podstawie analizy dyskryminacji metodą krokową wykazano, że cechami różnicującymi podgrupę A od B było między innymi stężenie IL-1 β oraz iryzyny, natomiast stężenie IL-4 było czynnikiem różnicującym podgrupę A1 od B1. Wyższe stężenie IL- β oraz iryzyny stwierdzono w podgrupie niższych dzieci (podgrupa A) przed rozpoczęciem leczenia (średnia IL-1 β w podgrupie A: 6,88 pg/mL vs. średnia IL-1 β w podgrupie B: 5,08 pg/mL, $p < 0,05$; średnia iryzyny w podgrupie A: 10,54 ng/mL vs. średnia iryzyny w podgrupie B: 8,69 ng/mL, $p < 0,01$). Wyższe stężenie IL-4 stwierdzono w podgrupie pacjentów z większą zawartością tkanki tłuszczowej (podgrupa B1) przed rozpoczęciem leczenia (średnia IL-4 w podgrupie A1: 2,17 pg/mL vs. średnia IL-4 w podgrupie B1: 3,78 pg/mL, $p = 0,06$).

Wnioski

1. Nie wykazano istotnych różnic w stężeniu w surowicy badanych cytokin: TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 oraz iryzyny między grupą SNP przed rozpoczęciem leczenia a grupą kontrolną. Stwierdzono istotnie wyższe stężenie iryzyny i IL-1 β u dzieci z większym niedoborem wysokości ciała w grupie SNP przed leczeniem rhGH.
2. Leczenie rhGH przez okres 6 miesięcy nie wpłynęło istotnie na stężenie badanych interleukin przeciwzapalnych (IL-4, IL-10) i prozapalnych (IL-1 β , IL-2, IL-6), natomiast spowodowało istotny wzrost stężenia TNF- α .
3. Przyrost stężenia (Δ) TNF- α w trakcie leczenia rhGH korelował dodatnio z odsetkiem beztłuszczowej masy ciała a ujemnie z odsetkiem tłuszczowej masy ciała.
4. Stężenie w surowicy badanych cytokin pro- i przeciwzapalnych nie wydaje się być użytecznym biomarkerem do monitorowania wpływu leczenia hormonem wzrostu, jednak wyższe stężenie IL-2 i IL-4 przed leczeniem korelowało dodatnio z przyrostem stężenia (Δ) IGF-1 po 3 miesiącach terapii rhGH.
5. Niedobór GH oraz 6-miesięczne leczenie rhGH nie wpłynęło na stężenie iryzyny u dzieci z SNP w wieku przedpokwitaniowym, natomiast przyrost stężenia (Δ) iryzyny korelował dodatnio z przyrostem tłuszczowej masy ciała.
6. Nie zaobserwowano istotnego wpływu leczenia rhGH i stężenia badanych cytokin na parametry gospodarki węglowodanowej i tłuszczowej. Jedynie przyrost stężenia (Δ) iryzyny korelował ujemnie z przyrostem (Δ) glikemii na czczo oraz dodatnio z przyrostem stężenia (Δ) frakcji HDL cholesterolu.

SŁOWA KLUCZOWE

somatotropinowa niedoczynność przysadki, tkanka tłuszczowa, skład masy ciała, TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, iryzyna