

Streszczenie

Ocena wybranych czynników prozapalnych i aterogennych u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki

Wstęp. Niedobór hormonu wzrostu (GHD) u dzieci, występujący z częstością od 1:4000 do 1:10000, wiąże się nie tylko z niskorosłością, ale także zaburzeniami metabolicznymi, których konsekwencje zdrowotne ujawniają się w życiu dorosłym. Niekorzystny wpływ długotrwałego deficytu hormonu wzrostu (GH) na układ sercowo-naczyniowy, wynika zarówno z zaburzeń lipidowych, jak i ze zwiększonego uwalniania cytokin prozapalnych i czynników aterogenezy oraz nasilonego stresu oksydacyjnego. Zaburzenia te prowadzą do dysfunkcji śródbłonna naczyniowego i przedwczesnej miażdżycy. Dowiedziono, że proces formowania się blaszki miażdżycowej rozpoczyna się już w okresie rozwojowym. Głównym celem leczenia rekombinowanym ludzkim hormonem wzrostu (rhGH) u dzieci jest osiągnięcie prawidłowej wysokości ciała w wieku dorosłym. Terapia rhGH niesie z sobą także korzystne efekty metaboliczne, m.in. zwiększa gęstość mineralną kości, masę i siłę mięśnia sercowego, wpływa na spadek masy tkanki tłuszczowej i wzrost beztłuszczowej masy ciała oraz poprawia profil lipidowy.

Jednym z najlepiej poznanych markerów zapalnych, używanych do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego jest wysokoczułe białko C-reaktywne (hsCRP) oraz interleukina 6 (IL-6). Doniesienia naukowe ostatnich lat pokazują, że w etiopatogenezie miażdżycy dużą rolę odgrywają także metaloproteiny macierzy pozakomórkowej (MMPs), zwłaszcza MMP-9 i MMP-2 należące do grupy żelatynaz. MMPs są enzymami proteolitycznymi, które uczestniczą w wielu procesach fizjologicznych, jak angiogeneza czy morfogeneza tkanek, jak również w procesach chorobowych, m.in. w przebudowie ścian naczyń krwionośnych, aterogenezie i destabilizacji blaszki miażdżycowej. Aktywność proteolityczna MMPs zależy m.in. od hamującego wpływu endogennych inhibitorów tkankowych (TIMPs). Zaburzona równowaga w układzie MMPs – TIMPs może nasilać destrukcję śródbłonna i tym samym przyspieszać rozwój zmian miażdżycowych.

Cele pracy. Nadrzędnym celem pracy była ocena wybranych markerów zapalnych (hsCRP, IL-6) i czynników aterogenezy (MMP-9, MMP-2, TIMP-2) u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki (SNP) przed rozpoczęciem terapii rhGH oraz w trakcie pierwszego roku jej trwania.

Material i metody. Do badania włączono 75 dzieci (29 dziewcząt i 46 chłopców) w wieku od 4 do 14 lat ($\bar{x} = 8,36 \pm 3,1$) z rozpoznaną SNP, zakwalifikowanych do terapii rhGH przez Zespół Koordynacyjny ds. Stosowania Hormonu Wzrostu oraz 23 zdrowych, normostenicznych dzieci (11 chłopców i 12 dziewczynek) w wieku od 3,2 do 12,3 lat ($\bar{x} = 7,59 \pm 2,3$), które stanowiły grupę kontrolną. Wszyscy uczestnicy badania byli w stanie eutyreozy, bez istotnych rodzinnych zaburzeń gospodarki lipidowej w wywiadzie oraz bez chorób towarzyszących wpływających na gospodarkę lipidową. Dzieci uczestniczące w badaniu otrzymywały preparat rhGH w dawce 0,023 mg/kg m.c./dzień. Badanie miało charakter obserwacyjny. Krew na badanie pobierano 3-krotnie: przed rozpoczęciem terapii rhGH, po 6 i po 12 miesiącach leczenia. W grupie kontrolnej pobranie krwi na badania oraz pomiary auksologiczne dokonano raz. U wszystkich pacjentów oznaczono stężenie: hsCRP, IL-6, MMP-9, MMP-2, TIMP-2, IGF-1, IGFBP-3, 25(OH)Witamina D3, lipidogram (cholesterol całkowity – TC, frakcje HDL, LDL, trójglicerydy – TG), a także hormony tarczycy (TSH, fT4) oraz odsetek HbA1C. Podczas każdej wizyty kontrolnej dokonywano pomiaru: wysokości ciała przy użyciu stadiometru Harpendena z dokładnością do 1 mm oraz masy ciała przy pomocy wagi elektronicznej z dokładnością do 0,1 kg. Pomiary auksologiczne odnoszono do polskich siatek centylowych dzieci warszawskich wg Palczewskiej i Niedźwieckiej. Wysokość i masę ciała wyrażono wartością odchylenia standardowego dla wieku i płci (odpowiednio: HSDS oraz WtSDS). Obliczono współczynnik BMI oraz jego odchylenie standardowe dla wieku i płci zarówno względem wieku kalendarzowego jak i wieku wzrostowego. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Od rodziców/prawnych opiekunów dzieci uzyskano świadomą pisemną zgodę zarówno na leczenie hormonem wzrostu jak i na udział w badaniu.

Wyniki. Średnie stężenie hsCRP u dzieci z SNP zakwalifikowanych do terapii rhGH było znacznie wyższe niż w grupie kontrolnej i stopniowo obniżało się w trakcie leczenia hormonem wzrostu. Przed terapią rhGH oraz po 6 miesiącach jej trwania stężenie IL-6 było wyższe u dzieci z SNP niż w grupie kontrolnej, ale różnice te nie były istotne statystycznie. U dzieci z GHD w trakcie terapii rhGH stężenie IL-6 obniżało się osiągając po roku leczenia wartości zbliżone do grupy kontrolnej. Odnotowano znacznie wyższe stężenie MMP-2 oraz wyższy stosunek stężeń MMP-2/TIMP-2 u dzieci z SNP niż w grupie kontrolnej, zarówno przed leczeniem jak i po 6. i 12. miesiącach terapii rhGH. W trakcie terapii rhGH nie zaobserwowano istotnych zmian w stężeniu MMP-2. W grupie kontrolnej odnotowano

wyższe stężenie TIMP-2 w porównaniu do dzieci z SNP przed leczeniem rhGH. Średnie stężenie MMP-9 było wyższe w grupie kontrolnej w porównaniu do dzieci z SNP zarówno przed terapią rhGH jak i po jej wdrożeniu, w czasie rocznej obserwacji. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic badanych markerów (hsCRP, IL-6, MMP-2, MMP-9 i TIMP-2) pomiędzy dziećmi z częściowym i całkowitym niedoborem GH.

U dzieci z GHD przed leczeniem i po 6 miesiącach terapii rhGH zaobserwowano znamienne wyższe stężenie TC niż w grupie kontrolnej. W trakcie terapii rhGH stężenie TC obniżało się, ale po 12. miesiącach nadal było wyższe niż w grupie kontrolnej. Stężenie HDL w grupie z SNP było wyższe niż w grupie kontrolnej. Po 6. miesiącach terapii rhGH u dzieci z SNP wykazano przejściowy wzrost stężenia TG, który był istotnie wyższy niż u dzieci zdrowych.

U dzieci z SNP przed rozpoczęciem leczenia rhGH, odnotowano istotną dodatnią korelacją między stężeniem hsCRP a WtSDS, BMI oraz BMI SDS w odniesieniu do wieku kalendarzowego i wieku wzrostowego. Stężenie hsCRP dodatnio korelowało ze stężeniem TG, a poziom IL-6 z BMI SDS względem wieku kalendarzowego u dzieci z GHD przed terapią rhGH. Po 6 miesiącach terapii rhGH, stężenie MMP-2 dodatnio korelowało z HbA1C, a ujemnie ze stężeniem 25OHWiD₃.

Wnioski.

1. Wyższe stężenie hsCRP u dzieci z SNP w porównaniu do grupy kontrolnej potwierdza większe nasilenie procesów zapalnych w stanie niedoboru GH.
2. Stopniowe obniżanie się stężenia hsCRP i IL-6 w trakcie terapii rhGH dowodzi, że GH bierze udział w wyciszaniu procesu zapalnego.
3. Dzieci z niedoborem GH mają większe nasilenie procesów aterogenezy niż ich zdrowi rówieśnicy, na co wskazuje wykryte u nich wyższe stężenie MMP-2, wyższy stosunek MMP-2/TIMP2 oraz wyższe stężenie cholesterolu całkowitego i trójglicerydów.
4. Terapia rhGH może korzystnie wpływać na redukcję ryzyka sercowo-naczyniowego u dzieci poprzez redukcję procesów zapalnych i aterogenezy oraz bezpośrednie lipolityczne działanie GH.
5. Należy rekomendować włączenie badania lipidogramu do programu powszechnych badań przesiewowych u dzieci i młodzieży celem wczesnego wykrycia dyslipidemii i podjęcia odpowiednich działań prewencyjnych.

Słowa kluczowe: metaloproteinazy, markery zapalne, miażdżycy, niedobór hormonu wzrostu, lipidogram.

Abstract

Evaluation of selected proinflammatory and atherogenic factors in children with somatotropin hypopituitarism

Introduction. Growth hormone deficiency (GHD) in children, occurring with a frequency of 1:4000 to 1:10000, is associated not only with short stature but also with metabolic disorders, the health consequences of which become apparent in adulthood. The adverse effects of long-term GHD on the cardiovascular system, result from both lipid abnormalities and increased release of proinflammatory cytokines and atherogenesis factors and increased oxidative stress. These abnormalities lead to vascular endothelial dysfunction and premature atherosclerosis. It has been proven that the process of atherosclerotic plaque formation begins already in the developmental period. The main purpose of treatment with recombinant human growth hormone (rhGH) in children is to achieve normal body height in adulthood. In addition, rhGH therapy has beneficial metabolic effects, including increased bone mineral density, heart muscle mass and strength, decreased body fat mass and increased lean body mass, and improved lipid profile.

One of the most well-known inflammatory markers used to assess cardiovascular risk is high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) and interleukin 6 (IL-6). Recent scientific reports indicated that extracellular matrix metalloproteinases (MMPs), especially MMP-9 and MMP-2 that belong to the group of gelatinases, also play an important role in the pathogenesis of atherosclerosis. MMPs are proteolytic enzymes that are involved in many physiological processes, such as angiogenesis and tissue morphogenesis, as well as in disease processes, including blood vessel wall remodeling, atherogenesis, and atherosclerotic plaque destabilization. Proteolytic activity of MMPs depends on inhibitory effect of endogenous tissue inhibitors of MMPs (TIMPs). Disturbed balance in the MMPs-TIMPs system may enhance endothelial destruction and thus promote the progression of atherosclerotic lesions.

Study aims. The primary aim of the study was to evaluate selected inflammatory markers (hsCRP, IL-6) and atherogenesis factors (MMP-9, MMP-2, TIMP-2) in children with somatotropin hypopituitarism (SNP) before and during the first-year of rhGH therapy.

Material and methods. A total of 75 children (29 girls and 46 boys) aged 4 to 14 years ($\bar{x} = 8.36 \pm 3.1$) with a diagnosed SNP who were qualified for rhGH therapy by the National

Coordination Team for Growth Hormone Application and 23 healthy, normosthenic children (11 boys and 12 girls) aged 3.2 to 12.3 years ($\bar{x} = 7.59 \pm 2.3$) who constituted the control group were enrolled in the study. All study participants were at a euthyroid state with no significant family history of lipid abnormalities and no concomitant diseases affecting lipid metabolism. Children participating in the study received rhGH at a dose of 0.023 mg/kg b.w./day. The study had an observational design. Blood was collected 3 times: before the beginning of rhGH therapy, as well as after 6 and 12 months of treatment. In the control group blood sampling and auxologic measurements were performed once. In all patients the following concentrations were determined: hsCRP, IL-6, MMP-9, MMP-2, TIMP-2, IGF-1, IGFBP-3, 25(OH)Vitamin D3, lipidogram (total cholesterol, HDL, LDL fractions, triglycerides), as well as thyroid hormones (TSH, fT4) and HbA1C percentage. During each control visit, body height was measured using Harpenden stadiometer with 1 mm accuracy and body weight was measured using electronic balance with 0.1 kg accuracy. Auxologic measurements were related to Polish centile grids of Warsaw children according to Palczewska and Niedźwiecka. Height and weight were expressed by standard deviation values for age and sex (height SDS – HSDS and weight SDS – WtSDS, respectively). BMI and its standard deviation for age and sex were calculated for both calendar age and growth age. The study was approved by the Bioethics Committee of the Wrocław Medical University. Written informed consent was obtained from the parents/legal guardians of the children both for the rhGH treatment and for the participation in the study.

Results. The mean concentration of hsCRP in children with SNP qualified for rhGH therapy was significantly higher than in the control group and gradually decreased during rhGH treatment. Before and after 6 months of rhGH therapy, IL-6 levels were higher in children with SNP than in controls, but these differences were not statistically significant. In children with GHD during rhGH therapy, the IL-6 concentrations decreased and after one year of treatment reached values similar to those in the control group. Significantly higher concentrations of MMP-2 and a higher MMP-2/TIMP-2 ratio were observed in children with SNP than in controls, both before, after 6 and 12 months of rhGH treatment. No significant changes in MMP-2 levels were observed during rhGH therapy. Higher TIMP-2 levels were observed in the control group compared to children with SNP before rhGH treatment. Mean MMP-9 concentrations were higher in the control group compared to children with SNP both before and after rhGH therapy at one-year follow-up. There were no statistically significant

differences in the markers tested (hsCRP, IL-6, MMP-2, MMP-9 and TIMP-2) between children with partial and complete GHD.

Children with GHD before and after 6 months of rhGH therapy had significantly higher total cholesterol (TC) levels than the control group. TC levels decreased during rhGH therapy, but after 12 months of rhGH treatment, TC levels were still higher than in the control group. The HDL concentration in the SNP group was higher than that in the control group. After 6 months of rhGH therapy, a transient increase in triglyceride (TG) levels was observed in children with SNP, which was significantly higher than in healthy children.

In children with SNP before rhGH therapy, there was a significant positive correlation between hsCRP levels and WtSDS, BMI, and BMI SDS in relation to calendar age and growth age. The concentration of hsCRP positively correlated with TG levels and IL-6 levels with BMI SDS in relation to calendar age in children with GHD before rhGH therapy. After 6 months of rhGH therapy, MMP-2 levels positively correlated with HbA1C, and negatively with 25OHWiD3.

Conclusions.

1. The higher concentration of hsCRP in children with SNP compared to the control group confirms the greater intensity of inflammatory processes in the GHD state.
2. Gradual decrease of hsCRP and IL-6 concentration during rhGH therapy proves that GH contributes to the suppression of inflammatory process.
3. Children with GHD have more severe atherogenesis than their healthy peers, as demonstrated by higher MMP-2 levels, higher MMP-2/TIMP2 ratio and higher TC and TG levels.
4. Treatment with rhGH in children may have a beneficial effect on cardiovascular risk reduction by decreasing inflammatory processes and atherogenesis and by direct lipolytic action of GH.
5. Lipidogram testing should be recommended for inclusion in the program of public screening of children and adolescents for early detection of dyslipidemia and taking appropriate preventive measures.

Key words: metalloproteinases, inflammatory markers, atherosclerosis, growth hormone deficiency, lipidogram.