

Streszczenie

Wstęp: Somatotropinowa niedoczynność przysadki (SNP) może występować jako jedna ze składowych tzw. wielohormonalnej niedoczynności przysadki (WNP) lub jako postać izolowana. Wrodzona SNP występuje z częstością 1/3 500 – 1/10 000 urodzeń, postać nabyta szacowana jest na ok. 1/3 przypadków niedoboru hormonu wzrostu u dzieci i młodzieży, a jej częstość zależy m.in. od efektywności leczenia chorób rozrostowych i przeżycia dzieci z „uszkodzeniami” ośrodkowego układu nerwowego, szczególnie dzieci urodzonych z bardzo małą masą ciała. Leczeniem z wyboru jest terapia preparatem rhGH, a niepodjęcie leczenia może być przyczyną niskorosłości.

Kość jest tkanką biorącą aktywny udział w procesach metabolicznych. Stanowi pewnego rodzaju magazyn dla wapnia, fosforu i magnezu, odgrywa ważną rolę w regulacji stężeń tych elektrolitów. W kości przez całe życie zachodzą procesy przebudowy zwane remodelingiem, za pomocą których osiągnięta jest prawidłowa masa kostna, wielkość oraz kształt szkieletu. Wytworzony przez komórki szpiku RANKL (ligand receptora aktywującego jądrowy czynnik NF-kB) reagujący na swój receptor RANK stymuluje osteoklastogenezę (powstanie tzw. komórek kościogubnych), podczas gdy osteoprotegeryna (OPG) działa odwrotnie (hamuje osteoklastogenezę). Dzięki obserwacji tych trzech cząsteczek należących do rodziny TNF możemy określić aktywność poszczególnych szlaków osteogenezy w danym momencie.

Celem pracy była ocena szlaku RANKL/RANK/OPG w metabolizmie układu kostnego u dzieci z SNP leczonych preparatem rhGH oraz jego wpływ na tempo wzrastania w pierwszym roku terapii.

Pacjenci, materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 70 dzieci (29 dziewcząt i 41 chłopców) w okresie przedpokwitaniowym (I° dojrzewania wg skali Tannera) z SNP zakwalifikowanych przez Zespół Koordynacyjny ds. Stosowania Hormonu Wzrostu do terapii rhGH. Kryteria wykluczenia stanowiły współistnienie chorób dodatkowych mogących wpływać na gospodarkę wapniowo-fosforanową oraz organiczna przyczyna niedoboru wzrostu. Wszystkie dzieci otrzymywały preparat rhGH w dawce 0,023 mg/kg m.c./dzień. Badanie składało się z 3 wizyt: w momencie rozpoczęcia terapii rhGH, w 6 i w 12 miesiącu leczenia. U wszystkich dzieci z SNP 3-krotnie badano stężenia: RANKL, RANK, OPG, OC, IL-6, 25(OH)D3, 1,25(OH)₂D3, IGF-1, IGFBP-3, PTH, fosfatazy alkalicznej, TSH, fT4 oraz jonogram. Podczas każdej wizyty dokonywano pomiarów antropometrycznych wysokości ciała (wys., z użyciem stadiometru typu Harpenden z dokładnością do 0,1 cm) i masy ciała (m.c., za pomocą wagi lekarskiej z dokładnością do 0,05kg), obliczano BMI (wskaźnik masy ciała, body

mass index). Każdorazowo obliczano tempo wzrastania (height velocity, HV), odnosząc je do tabeli tempa wzrastania opracowanych przez Pradera i wsp., a pomiary auksologiczne do siatek centylowych dzieci warszawskich. Coroczna analiza wieku kostnego zgodnie z zaleceniami Programu Terapeutycznego została oceniona za pomocą metody Greulich-Pyle (GP).

Grupa kontrolna składała się z 22 zdrowych normostenicznych dzieci (12 dziewczynek i 10 chłopców) dobranych pod względem wieku i płci do grupy badanej, bez zaburzeń wzrastania, gospodarki wapniowo-fosforanowej, chorób autoimmunologicznych bądź innych schorzeń wpływających na proces wzrastania. W tej grupie kontrolnej wyżej wymienione badania laboratoryjne i pomiary auksologiczne dokonywano jeden raz.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu oraz rodziców/ opiekunów prawnych dziecka.

Wyniki:

Średnie stężenia składowych szlaku RANKL/RANK/OPG w krwi obwodowej u dzieci z SNP zmieniały się wraz z czasem trwania terapii rhGH. Stężenie RANKL u dzieci z SNP przed wdrożeniem terapii i po 12 miesiącach leczenia były nieznacznie niższe od wartości obserwowanych u dzieci zdrowych, natomiast w 6 miesiącu leczenia u dzieci zanotowano spadek stężenia RANKL, co spowodowało, że było ono istotnie statystycznie niższe niż u dzieci zdrowych. U dzieci z badanej grupy stężenie RANK początkowo było wyższe niż u dzieci zdrowych. W trakcie leczenia obserwowano stopniowy spadek stężenia RANK, które w 12 miesiącu terapii było porównywalne do stężenia u dzieci z grupy kontrolnej. Średnie stężenia OPG u dzieci z SNP podczas całorocznej obserwacji były istotnie statystycznie wyższe niż u dzieci zdrowych. Istotnie statystycznie wzrost stężenia OPG odnotowano u dzieci z SNP w 6 miesiącu terapii rhGH. Na początku obserwacji stężenie OC w obu grupach było porównywalne, w pierwszym półroczu terapii rhGH zanotowano wzrost stężenia OC u dzieci z SNP, co sprawiło, że stężenie to było istotnie statystycznie wyższe niż u dzieci z grupy kontrolnej. Stężenie IL-6 w czasie obserwacji nie uległo zmianie i było porównywalne ze stężeniem u dzieci zdrowych.

Średnie stężenia 25(OH)D3 u dzieci z SNP przed leczeniem i po 12 miesiącach terapii były porównywalne. U 44 pacjentów (62,8%) stężenie witaminy D3 przed leczeniem było niższe od rekomendowanego, natomiast po roku obserwacji u 64 (91,4%) pacjentów stężenie 25(OH)D3 było optymalne lub suboptymalne. W trakcie obserwacji u dzieci z SNP obserwowano istotny statystyczny wzrost stężeń: 1,25(OH)₂D3, IGF-1, IGFBP-3. Analiza biochemicznych markerów gospodarki wapniowo-fosforanowej wykazała istotną statystycznie różnicę stężenia wapnia oraz fosfatazy alkalicznej pomiędzy grupą dzieci z SNP, a grupą dzieci zdrowych ale

tylko w badaniu początkowym. Stężenie Ca było wyższe, a stężenie fosfatazy alkalicznej niższe u dzieci z SNP w porównaniu do wymienionych parametrów u dzieci zdrowych. U dzieci leczonych rhGH odnotowano znaczną poprawę tempa wzrastania (HV i HVSDS), zwłaszcza w pierwszym półroczu, co dodatkowo korelowało ze stężeniem IGF-1 i IGFBP-3. Analiza wyników badań dzieci leczonych rhGH ujawniła, że stężenie witaminy D3 może mieć wpływ na efekt prowadzonej terapii. Po roku obserwacji wysokość ciała dzieci, u których stężenie 25(OH)D3 wynosiło poniżej 30 ng/ml była istotnie niższa w porównaniu z dziećmi u których stężenie tej witaminy było optymalne, pomimo porównywalnego Ht SDS w momencie rozpoczęcia terapii rhGH. Odnotowano również pozytywną korelację pomiędzy stężeniem RANKL, tempem wzrastania w 6 i 12 miesiącu terapii rhGH oraz korelację pomiędzy RANKL a HV SDS podczas 3 wizyty. Stężenie OC korelowano z HV i HV SDS w 12 miesiącu leczenia.

Wnioski:

1. Stężenia składowych szlaku RANKL/RANK/OPG we krwi obwodowej u dzieci z SNP ulegają zmianie wraz z czasem trwania terapii rhGH.
2. Podczas leczenia istotnie statystycznie wzrosło stężenie OPG, która uznawana jest jako marker kościotworzenia.
3. Stężenie 25(OH)witaminy D3 może mieć wpływa na efekt terapii rhGH – optymalne stężenie 25(OH)D3 podczas leczenia poprawia tempo wzrastania wyrażone w cm/rok jak i za pomocą SDS.

Słowa kluczowe: szlak RANKL/RANK/OPG, SNP, tempo wzrastania, 25(OH)D3

Summary

Objective: Growth hormone deficiency (GHD) can occur as either one of the clinical symptoms of polihypopituitarism or it can be observed as an isolated symptom. GHD can be present from birth – congenital which occurs at a rate of 1/3500 – 1 / 10000 births or it can be acquired later in life – this form is estimated at about 1/3 of cases of lack of growth hormone in children and adolescents and the frequency of occurrence depends on a result of treatment of infection, trauma, radiation therapy, or tumor growth within the brain. The treatment of choice is recombinant human growth hormone therapy (rhGH).

Bone is a tissue that engages in the metabolic processes. It is a kind of a storage for calcium, phosphorus and magnesium, and it plays an important role in regulating the concentration of these electrolytes. Throughout life we can observe in a bone the rebuilding processes called bone remodeling, thanks to these processes the correct bone mass, size and shape of the skeleton are achieved. RANKL (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand), secreted from stromal cells, in reaction with special receptor (RANK receptor), stimulates osteoclastogenesis (formation of so-called lossing bone cells), whereas osteoprotegerin (OPG) a decoy receptor for RANKL, inhibits RANKL/RANK signaling (inhibits osteoclastogenesis). By observing these three molecules belonging to the TNF family, we can determine the activity of individual osteogenesis pathways at a given moment

The aim of the study was to evaluate the role of RANKL/RANK/OPG in children with growth hormone deficiency that qualified for recombinant growth hormone therapy and its impact on the pace of growth in the first year of the therapy.

Patients, material, and methods: A total of 70 pediatric patients (29 girls and 41 boys) with GHD in the pre-pubertal period (1st. according to the Tanner stages) were qualified for rhGH therapy. The criteria for exclusion included the coexistence of other diseases that could affect the calcium-phosphate economy and the organic cause of growth deficiency. All children received rhGH at a dose of (0.023 mg / kg m.c./per day) during a study time.

The study consisted of 3 visits: at the beginning of rhGH therapy, in 6th and 12th month of the treatment. All children with GHD underwent the following lab tests 3 times: RANKL, RANK, OPG, OC, IL-6, 25 (OH) D3, 1.25 (OH) 2D3, IGF-1, IGFBP-3, PTH, alkaline phosphatase, TSH, fT4 and ionogram. During each visit, anthropometric measurements were taken: body height (Ht using a Harpenden`s stadiometer with accuracy to 0.1 cm) and body weight (Wt, with a medical scale with accuracy to 0,05 kg) and BMI was calculated (body mass index). Each time a height velocity (HV) was calculated and a reference was made to the growth rate table

developed by Prader et al. and the auxetic measurements were compared to the centiles charts of the Warsaw children. Annual analysis of bone age according to the recommendations of the Therapeutic Program was assessed using the Greulich-Pyle (GP) method.

The control group consisted of 22 healthy normostene children (12 girls and 10 boys) selected according to age and sex of the study group, without growth problems, calcium-phosphate management issues, autoimmune diseases or other diseases affecting the growth process. In this control group the laboratory tests and auxetic measurements were made once.

The Bioethics Committee of the Medical University of Wrocław issued a positive opinion on performing the study, also the consents of patients' parents / legal guardians were obtained.

Results: The average RANKL concentrations in periferal blood of children with GHD were changing during the time of the study. Before treatment and after 12th months of treatment the RANKL concentration levels were slightly lower compared to group of healthy children. In the 6th month of the treatment a significant decrease in concentration of RANKL was noted.

At the begining of the observation the RANK level in group of children with GHD was higher than in healthy children, then we observed decrease of RANK and at 12th month of therapy, RANK was similar in both groups.

Average OPG levels in children with GHD during full-term follow-up were statistically significantly higher than in healthy control group. Statistically significant increase level of OPG was reported at 6th month of rhGH therapy.

Moreover at beginning of the study, the concentration of OC in both groups was comparable, in the first half-year of rhGH therapy OC concentration in children with GHD increased, which made the concentration significantly higher than in children in the control group. The IL-6 concentration at the time of follow-up remained unchanged and was comparable to that of healthy children.

The average concentration of 25(OH)D3 in children with GHD before the study and after 12 months was comparable. In 44 patients (62,8%) vitamin D3 concentration before the study was lower than recommended while after a year of observation in 64 patients (91,4%) the concentration of 25(OH)D3 was optimal or suboptimal. During the study it was observed that the levels of the following indicators in children have increased: 1,25(OH)₂D3, IGF-1, IGFBP-3. Analysis of biochemical markers of calcium-phosphate economy showed that statistically significant difference in calcium and alkaline phosphatase concentration between children with GHD and the healthy children but only at the beginning of the study. Calcium concentration was higher and level of alkaline phosphatase was lower in children with GHD compared to the parameters of healthy children.

Children treated with rhGH experienced a significant improvement in the height velocity (HV and HVSDS), especially in the first half of the year, which correlated positively with IGF-1 and IGFBP-3 concentration.

The analysis of the results of the study performed on the children treated with rhGH revealed that vitamin D3 concentration may have a positive effect on the growth therapy. After a year of observation the height of children whose 25(OH)D3 concentration was below 30 ng/ml was slightly lower compared to the children whose concentration of this vitamin was optimal despite comparable level of Ht SDS at the beginning of rhGH therapy. Also, it has been observed that there is a positive correlation between RANKL concentration, the height velocity in 6th and 12th month of rhGH therapy and correlation between RANKL and HV SDS during third visit. OC concentration correlated with HV in the 12th month of the treatment.

Conclusion:

1. RANKL/RANK/OPG concentration in periferal blood of children with GHD are changing during the therapy with rhGH.
2. During the study the OPG concentration has increased significantly and that level is used as a marker of ossification (osteogenesis).
3. The concentration of 25(OH)vitamin D3 may affect on rhGH therapy - the optimal level of 25(OH)D3 during treatment improves the growth height velocity expressed in cm / year and with SDS.

Key words: RANKL/RANK/OPG, GHD, HV, 25(OH)D3