Zależności między tkanką tłuszczową, leptyną a wybranymi wskaźnikami metabolizmu kostnego u dziewcząt

The interrelationships between adipose tissue, leptin and selected bone metabolism markers in girls

¹Beata Kulik-Rechberger, ²Barbara Możejko-Pastewka, ¹Maria Trojanowska-Szostek

¹Zakład Propedeutyki Pediatrii i Katedry Pediatrii UM w Lublinie

²AstraZeneca Pharma, Poland

Adres do korespondencji:

Beata Kulik-Rechberger, Zakład Propedeutyki Pediatrii Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
ul. Chodźki 2, 20-093 Lublin, brechberger@interia.pl

Słowa kluczowe: tkanka tłuszczowa, leptyna, wskaźniki metabolizmu kostnego, dziewczęta

Key words: adipose tissue, leptin, bone metabolism markers, girls

STRESZCZENIE/ABSTRACT

Rola leptyny w metabolizmie kostnym nie jest dokładnie zbadana. Celem niniejszej pracy jest określenie zależności między stopniem odżywienia i stężeniem leptyny a stężeniami: wskaźnika biosyntezy kolagenu (PINP), rozpadu kolagenu typu I (sCTX) oraz frakcji kostnej fosfatazy alkalicznej (BALP) u dziewcząt w okresie pokwitania. **Material i metody.** Zbadano 88 dziewcząt. Określono ich masę, wysokość ciała, obwód ramienia oraz grubości fałdów skórno-tłuszczowych. Pobrano krew celem oznaczenia tych parametrów w surowicy. Dziewczęta obserwowano do czasu wystąpienia *menarche*, po czym podzielono je na grupy: I – dziewczęta, które w czasie badania pierwszego były rok lub więcej przed *menarche* (n=24), II – dziewczęta które były mniej niż rok przed *menarche* (n=36), III – dziewczęta po *menarche* (n=28). **Wyniki.** Średnia masa ciała i BMI dziewcząt z grupy I były mniejsze niż dziewcząt z grupy II, a dziewcząt z grupy III większe niż dziewcząt z grup I i II. Dziewczęta mniej dojrzałe biologicznie miały też mniejsze zasoby podskórnej tkanki tłuszczowej i obwody ramienia niż te bardziej dojrzałe. Zarówno w grupie I, jak i II stężenie PINP i sCTX oraz BALP były wyższe niż w grupie III, ale wartości tych parametrów w grupie I i II nie różniły się istotnie. Stwierdzono wysokie dodatnie korelacje między stężeniem leptyny a obwodem ramienia, sumą grubości fałdów skórno-tłuszczowych oraz BMI. Stężenia PINP i sCTX korelowały ujemnie z obwodem ramienia (odpowiednio: $r=-0,278$, $r=-0,214$) oraz BMI (odpowiednio: $r=-0,261$, $r=-0,254$). Korelacji między stężeniami leptyny a PINP, sCTX czy BALP nie było. **Wniosek.** Nie potwierdzono bezpośredniej zależności między stężeniem leptyny i stężeniami wskaźników określających metabolizm kostny. Endokrynol. Ped. 12/2013;2(43):27-32.

The role of leptin in bone metabolism is not completely cleared up. The aim of our study was to determined relationships between nutritional state, leptin and markers of collagen biosynthesis (PINP), collagen degradation (sCTX) and

bone alkaline phosphatase (BALP) in girls during puberty. **Material and methods.** Eighty eight girl were investigated. Body weight, height, arm circumference and skin fold thicknesses were measured. Blood samples were taken to assessed biochemical parameters. Girls were observed up to the time of *menarche* and than divided into three groups: I – one or more then one year before *menarche* (24), II –less than one year before *menarche* (36), III – after *menarche* (n=28). **Results.** The mean body weight and BMI of girls from group I were lower them from group II, and from group III higher that from groups I and II. Girls less mature had also smaller arm circumference and subcutaneous adipose tissue than more mature girls. In group I and II serum concentration of PINP i sCTX and BALP were higher than in group III but there were no differences between group I and II. There were high positive correlations between concentrations of leptin and arm circumference sum of skin-fold thicknesses and BMI. Concentrations of PINP and sCTX correlated negatively with arm circumference (respectively: $r=-0,278$, $r=-0,214$) as well as with BMI ($r=-0,261$ and $r=-0,254$). There were no correlations between leptin concentration and PINP, sCTX or BALP. **Conclusion.** Direct relationship between concentrations of leptin and bone metabolism markers was not confirmed. *Pediatr. Endocrinol.* 12/2013;2(43):27-32.

Wstęp

Jak wskazują badania z ostatnich dziesięcioleci, tkanka tłuszczowa jest miejscem syntezy wielu biologicznie czynnych białek zwanych adipokinami lub adipocytokinami. Wśród nich są adiponektyna, leptyna, rezystyna, wisfatyna i omentyna. Niektóre z badań *in vitro* wykazały, że adiponektyna, leptyna, rezystyna i wisfatyna pobudzają proliferację ludzkich osteoblastów, co sugeruje udział tych cytokin w procesie kościotworzenia [1]. Badania *in vitro* wykazały również, że leptyna wpływa na komórki stromalne ludzkiego szpiku, zwiększając różnicowanie osteoblastów i blokując różnicowanie adipocytów. Badania kliniczne dotyczące roli leptyny w metabolizmie kostnym nie dają jednoznacznych wyników. Niektórzy wskazują na wielokierunkowy charakter działania leptyny. Wykazano zarówno negatywne, jak i pozytywne korelacje pomiędzy stężeniem leptyny a gęstością mineralną kości u dorosłych [2].

Nie ma też jednoznacznych wyników badań dotyczących działania leptyny w układzie kostnym dzieci i młodzieży. Na związek pomiędzy tkanką tłuszczową, leptyną i masą kostną wskazują wyniki obserwacji otyłych dzieci w okresie przedpokwitaniowym i w okresie pokwitania. Z badań Kleina i wsp. (Klein, Larmore, de Lancey1988) wynika, że dzieci te mają wyższe stężenia leptyny we krwi, bardziej zaawansowany wiek kostny i większą gęstość mineralną kości niż dzieci szczupłe. Są też badania, które wykazały, że leptyna nie zwiększa mineralizacji kości osób młodych [3].

Celem naszej pracy jest określenie zależności między stopniem odżywienia i stężeniem leptyny a stężeniami: propeptydu N-końcowego prokolagenu typu I (PINP – wskaźnik biosyntezy kolagenu),

C- końcowego telopeptydu kolagenu typu I (sCTX – wskaźnik rozpadu kolagenu typu I) oraz frakcji kostnej fosfatazy alkalicznej (BALP) u dziewcząt w okresie pokwitania.

Materiał i metody

Badaniami objęto grupę 88 dziewcząt w wieku od 11,8 do 13,7 lat. Oceniano ich stan zdrowia, przeprowadzono pomiary antropometryczne, określając wysokość ciała, masę ciała, obwód ramienia. Obliczano BMI. Oceniano stopień rozwoju podskórnej tkanki tłuszczowej, stosując metodę cyrklową przy użyciu fałdomierza typu Harpenden. Pomiary dokonywane były na brzuchu, na ramieniu i pod łopatką. Pobierano krew celem oznaczenia stężenia leptyny oraz PINP, BALP oraz sCTX w surowicy. Podczas badania dziewczęta zgłaszały wiek wystąpienia *menarche*. Te, które nie osiągnęły *menarche* przed datą badania, zgłaszały czas jej wystąpienia pielęgniarkie szkolnej lub telefonicznie lekarzowi przeprowadzającemu badania. Kiedy wszystkie dziewczęta osiągnęły *menarche*, podzielono je retrospektywnie na trzy grupy, biorąc pod uwagę ich wiek ginekologiczny w czasie pobierania badań. Z definicji wiek ten liczy się od czasu wystąpienia pierwszej miesiączki. U dziewcząt będących przed *menarche* umownie przyjęto, że jest to „czas ujemny” liczony do *menarche*. Zatem utworzono grupę I – dziewcząt, które w czasie badania pierwszego były rok lub więcej przed *menarche* (n=24), grupę II – dziewcząt będących mniej niż rok przed *menarche* (n=36) oraz grupę III – dziewcząt, które podczas badania były po *menarche* (n=28).

Stężenie leptyny mierzone było za pomocą zestawu Human Leptin RIA Kit, firmy Linco Research Inc., St. Charles, USA. Stężenie PINP oznaczano

metodą radioimmunologiczną (RIA) przy pomocy zestawu firmy Orion Diagnostica, Finland, stężenie sCTX stosując zestaw Serum CrossLaps ELISA, firmy Nordic Herlev, Denmark, a stężenie BALP stosując Ostase BAP EIA, Immunodiagnostic System (IDS Inc. Fountain Hills, Arizona). Wszystkie oznaczenia wykonywane były zgodnie z protokołem podanym przez producentów zestawów.

Metody statystyczne. Normalność rozkładów badanych zmiennych sprawdzono testem Shapiro-Wilka. Do oceny różnic między badanymi grupami zastosowano test U Manna-Whitneya. Korelacje między zmiennymi mierzalnymi (ilościowymi) badano wykorzystując współczynnik korelacji liniowej r Pearsona. Przyjęto poziom istotności $p=0,05$. Analizy statystyczne przeprowadzono w oparciu o oprogramowanie komputerowe STATISTICA v. 6.0 (StatSoft, Polska).

Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.

Wyniki

Analizując wiek ginekologiczny badanych, stwierdzono, że najstarsza dziewczynka była 2,28 lat po *menarche*, a najmłodsza 2,58 lat przed *menarche*. Dziewczęta z poszczególnych grup nie różniły się pod względem wieku kalendarzowego, ale wiek ginekologiczny oraz wiek, w którym wystąpiła pierwsza miesiączka, były znamienne statystycznie różne. Dziewczęta z grupy I osiągnęły *menarche* w wieku średnio $14,1 \pm 0,57$ lat, z podgrupy II w wieku $12,99 \pm 0,46$ lat.

Zgodnie z oczekiwaniami stwierdzono, że dziewczęta, które były mniej niż rok przed *menarche* (grupa II), miały większą masę ciała i wskaźnik masy ciała (BMI) niż dziewczęta będące więcej niż rok przed *menarche* – grupa I (Tabela I). Dziewczęta z grupy I i II miały podobną wysokość, ale były niższe od dziewcząt z grupy III. Średnia masa ciała i BMI dziewcząt z grupy I były mniejsze niż dziewcząt z grupy II.

Tabela I. Porównanie średnich wartości cech somatycznych dziewcząt będących rok i więcej przed *menarche* (I), mniej niż rok przed *menarche* (II) oraz po *menarche* (III)

Table I. Value of somatic traits (M) in girls: $\geq$ year before *menarche* (I), < year before *menarche* (II) and after *menarche* (III)

	Średnia (SD)			Wartość p		
	I [n=24]	II [n=36]	III [n=28]	I vs II	I vs III	II vs III
Wysokość ciała (cm)	153,01 (6,05)	155,48 (6,52)	159,14 (5,6)	NS	0,001	0,028
Masa ciała (kg)	39,04 (6,03)	44,94 (7,99)	50,56 (7,53)	0,008	0,000	0,001
BMI (kg/m ²)	16,61 (1,91)	18,57 (3,01)	19,91 (2,27)	0,008	0,000	0,008
Obwód ramienia, badanie I (cm)	21,08 (2,05)	22,64 (2,43)	23,76 (1,99)	0,012	0,000	0,025
Suma fałdów sk. – tłuszczowych (mm)	27,27 (11,93)	38,65 (19,44)	39,01 (16,48)	0,004	0,001	NS
PINP (μg/L)	889,73 (471,41)	847,69 (335,98)	549,30 (255,20)	NS	0,001	0,000
sCTX (ng/mL)	2,69 (0,71)	2,84 (0,66)	2,13 (0,58)	NS	0,006	0,000
BALP (μg/L)	97,0 (54,2)	93,1 (37,1)	66,14 (25,23)	NS	0,039	0,002
Leptyna (ng/mL)	9,58 (6,61)	13,38 (9,09)	13,00 (6,69)	0,042	0,039	NS

cząt z grupy II, a dziewcząt z grupy III większe niż dziewcząt z grup I i II (tab. I).

Analizując wielkości obwodu ramienia oraz sumy grubości fałdów skórno-tłuszczowych, stwierdzono, że u dziewcząt będących więcej niż rok przed menarche (grupa I) były one mniejsze niż u dziewcząt bardziej dojrzałych biologicznie z grupy II i u dziewcząt z grupy III (po menarche). Różnice tych cech między dziewczętami będącymi mniej niż rok przed menarche (grupa II) i po menarche były mniejsze. Dziewczęta z grupy II miały podobną sumę grubości fałdów skórno-tłuszczowych jak dziewczęta z grupy III, ale mniejszy obwód ramienia. Analizując parametry biochemiczne metabolizmu kostnego stwierdzono, że zarówno w grupie I, jak i II stężenie PINP i sCTX oraz BALP były wyższe niż w grupie III, ale wartości tych parametrów w grupie I i II nie różniły się istotnie.

Stwierdzono wysokie dodatnie korelacje między stężeniem leptyny a obwodem ramienia, sumą grubości fałdów skórno-tłuszczowych oraz BMI. Stężenia PINP i sCTX korelowały ujemnie z obwodem ramienia (odpowiednio: $r=-0,278$, $r=-0,214$) oraz BMI (odpowiednio: $r=-0,261$, $r=-0,254$). Korelacji między cechami określającymi stopień rozwoju tkanki tłuszczowej a stężeniem BALP nie stwierdzono (Tab. II).

Dyskusja

Badania kliniczne dowodzą, że na rozwój kości ma wpływ stan odżywienia. Dziewczęta z wyższym wskaźnikiem BMI, będące przed menarche wzrastają szybciej niż ich rówieśniczki z niższym BMI [4]. Od stanu odżywienia zależy również metabolizm kostny. Ostrowska i wsp. obserwowali statystycznie niższe stężenie markerów obrotu kostne-

go, takich jak osteokalcyna i sCTX w grupie dziewcząt z jadłowstrętem psychicznym będących w wieku 13-18 lat, w porównaniu do grupy kontrolnej [5]. Badania własne dotyczyły dziewcząt, których masa ciała i BMI były w granicach normy dla wieku. Zgodnie z oczekiwaniami stwierdzono, że masa ciała, obwód ramienia oraz suma grubości fałdów skórno-tłuszczowych pod łopatką, na brzuchu i na ramieniu oraz BMI, były większe u dziewcząt po menarche. Stwierdzono wysoce dodatnie korelacje między cechami świadczącymi o stanie odżywienia a stężeniem leptyny co potwierdza, że cytokina ta może być jednym ze wskaźników odżywienia [6]. Porównując stężenia leptyny w zależności od wieku ginekologicznego, okazało się, że u dziewcząt będących więcej niż rok przed menarche stężenie leptyny było statystycznie istotnie niższe niż u dziewcząt będących mniej niż rok przed menarche czy będących po menarche. Zważywszy na udokumentowaną rolę leptyny w procesie pokwitania można sądzić, że jej wzrastające stężenie jest czynnikiem stymulującym ten proces. W badaniach własnych nie stwierdzono korelacji między wskaźnikami stanu odżywienia a stężeniem kostnej frakcji fosfatazy alkalicznej. Stężenie PINP ujemnie korelowało z masą ciała, obwodem ramienia i BMI, a stężenie sCTX ujemnie korelowało z obwodem ramienia i BMI. Wyniki te sugerują, że dzieci z wyższymi wskaźnikami stanu odżywienia mają mniej nasilony metabolizm kolagenu typu I, który jest dominującym białkiem występującym w kościach. Może to oznaczać, że dzieci z większymi zasobami tkanki tłuszczowej mają zwolniony zarówno proces kościotworzenia, jak i proces resorpcji kostnej. Bezpośrednich zależności między stężeniem leptyny i stężeniami parametrów oceniających metabolizm kostny nie stwierdzono. Być może, to

Tabela II. Korelacje między parametrami biochemicznymi a cechami określającymi stan odżywienia dziewcząt w okresie pokwitania [n=88]

Table II. Corelation between biochemic parameters and traits of nutrition state in girls

	PINP	CTX	BALP	Leptyna
Obwód ramienia	$r=-0,278$ $p=0,009$	$r=-0,214$ $p=0,045$	NS	$r=0,745$ $p=0,000$
Suma fałdów skórno-tłuszcz.	NS	NS	NS	$r=0,815$ $p=0,0001$
BMI	$r=-0,261$ $p=0,014$	$r=-0,254$ $p=0,017$	NS	$r=0,739$ $p=0,000$
Leptyna	NS	NS	NS	—

intensywne zmiany hormonalne i somatyczne charakterystyczne dla tego okresu sprawiły, że zależności między stanem odżywienia a wskaźnikami metabolizmu kostnego były ujemne lub nie uwidoczniły się. Zaznaczyć też należy, że obiektem naszych badań były dzieci z masą ciała w zakresie normy. Dimitri i wsp. [7] badali dzieci w wieku 5–16 lat. Wśród nich były zarówno dzieci otyłe, jak i szczupłe. Zgodnie z oczekiwaniami autorzy stwierdzili, że stężenie leptyny u otyłych było wyższe niż u szczupłych. Tymczasem stężenie osteoprotegeryny (mającej protekcyjny wpływ na kości) było niższe i odwrotnie proporcjonalne do stężenia wolnej leptyny i całkowitej trzewnej tkanki tłuszczowej. Dzieci otyłe miały też wyższe stężenie karboksykonicowego telopeptydu kolagenu typu I (ICTP). Jego stężenie podobnie jak stężenie PINP dodatnio korelowało ze stężeniem leptyny. Na tej podstawie autorzy wysunęli wniosek, że dzieci otyłe mają bardziej nasilony proces resorpcji kostnej niż proces kościotworzenia, co najbardziej uwidoczniło się u dzieci ze złamaniami kostnymi w przeszłości. Korzystnego działania leptyny na układ kostny nie potwierdzają również wyniki badań prowadzonych przez Klentrou i wsp. [8]. Celem tych badań było wyjaśnienie, czy dojrzałość biologiczna, skład ciała, aktywność fizyczna i nawyki dietetyczne mają związek z biochemicznymi wskaźnikami przemian kostnych. Badano stężenia osteokalcyny, frakcji kostnej fosfatazy alkalicznej i wskaźników rozpadu kolagenu typu I oraz grubość warstwy korowej kości metodą ultradźwiękową (Quantity ultrasound, QUS). Stwierdzono, że otyłość i stężenie leptyny to ujemne czynniki predykcyjne dla parametru SOS (Speed of Sound, SOS [m/s]). Wpływ leptyny na wskaźniki biochemiczne przemian kostnych u dzieci badany był również przez Bini i wsp. [9] u dzieci z nadwagą w wieku 6–13 lat. Dzieci otyłe miały wyższe stężenia leptyny, IGF-1, IGFBP-3 i niższe stężenie osteokalcyny niż dzieci o prawidłowej masie ciała. Zmniejszenie masy ciała wiązało się ze znaczącym obniżeniem stężenia leptyny i IGFBP-3 w surowicy, zwiększeniem stężenia osteokalcyny

i PICP, przy utrzymującym się na tym samym poziomie stężeniu ICTP. Stosując analizę wieloczynnikową, z uwzględnieniem BMI i płci, znaleziono znaczącą ujemną korelację między stężeniem leptyny a stężeniami PICP i IGF-1. Nie było korelacji między stężeniem leptyny a stężeniami osteokalcyny, ICTP i IGFBP-3. Wyniki tej pracy wskazują na wpływ leptyny na wzrastanie i przemiany kostne, ale nie potwierdzają, że otyłość i wysokie stężenia leptyny są korzystne dla kości. Z badań Roemmich i wsp. [10] wynika, że u dzieci i nastolatków z prawidłową masą ciała stężenie leptyny w surowicy nie koreluje z zawartością składników mineralnych kości (BMC) oraz z mineralną gęstością kości (BMD), niezależnie od wieku, masy tłuszczowej, masy beztłuszczowej oraz stężenia w surowicy estrogenów i insulinopodobnego czynnika wzrostu typu -1. Zależności między tkanką tłuszczową a jakością kości wydają się zależeć od lokalizacji tkanki tłuszczowej [11]. Stwierdzono bowiem, że u latynoskich dzieci wielkość zasobów trzewnej tkanki tłuszczowej jest odwrotnie proporcjonalna do składu mineralnego kości (BMC) i to niezależnie od wieku, stopnia dojrzałości biologicznej i masy ciała. U dziewcząt opisywano ujemne korelacje pomiędzy podskórną tkanką tłuszczową a BMC, trzewną tkanką tłuszczową, a BMC oraz pomiędzy stężeniem leptyny a BMC. Z przytoczonych wyżej badań wynika, że nadmiar tkanki tłuszczowej, a co za tym idzie wysokie stężenia leptyny wiążą się z gorszą jakością kości. Chociaż badane przez nas dziewczęta w większości nie miały nadwagi, to także stwierdziliśmy ujemne zależności pomiędzy niektórymi somatycznymi wskaźnikami stanu odżywienia a wybranymi wskaźnikami metabolizmu kostnego. Zależności pomiędzy stężeniem leptyny a badanymi wskaźnikami metabolizmu kostnego nie było, na co mógł mieć wpływ dobór populacji. Brak korelacji może też wskazywać na złożoność procesów zachodzących w układzie kostnym. Wyjaśnienie roli leptyny w metabolizmie kostnym może mieć duże znaczenie w prewencji, a być może leczeniu niedoborów masy kostnej u dzieci i dorosłych.

PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

- [1] Wu S.S., Liang Q.H., Liu Y. et al.: Omentin-1 stimulates human osteoblast proliferation through PI3K/akt signal pathway. *Int. J. Endocrinol.*, 2013, 368970.
- [2] Hołcecki M., Więcek A.: Relationship between body fat mass and bone metabolism. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2010;120(9), 361-367.
- [3] Roemmich J.N., Clark P.A., Mantzoros Ch.S. et al.: Relationship of leptin to bone mineralization in children and adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003;88(2), 599-604.
- [4] Cheng G., Buyken A.E., Shi L. et al.: Beyond overweight: nutrition as an important lifestyle factor influencing timing of puberty. *Nut. Rev.*, 2012;70(3), 133-152.
- [5] Ostrowska Z., Ziora K., Kos-Kudła B. et al.: Melatonin, the RANKL/RANK/OPG system and bone metabolism in girls with anorexia nervosa. *Endokryn. Pol.*, 2010;61, 117-123.
- [6] Kulik-Rechberger B., Rechberger T., Jakimiuk A.J.: Leptin correlates with the skinfold thickness in prepubertal and pubertal girls. *Acta. Paediatr.*, 1999;88(1), 103-104.
- [7] Dimitri P., Wales J.K., Bishop N.: Adipokins, bone-derived factors and bone turnover in obese children; evidence for altered fat-bone signaling resulting in bone mass. *Bone*, 2011;48(2), 189-196.
- [8] Klentrou P., Ludwa I.A., Falk B.: Factors associated with bone turnovers and speed of sounds in early and late – pubertal females. *App. Physiol. Nutr. Metab.*, 2011;36(5), 707-714
- [9] Bini V., Igli Baroncelli G., Pabi F. et al.: Relationships of serum leptin levels with biochemical marker of bone turnover and with growth factors in normal weight and overweight children. *Horm. Res.*, 2004;61(4), 170-175.
- [10] Roemmich J.N., Clark P.A., Mantzoros Ch.S. et al.: Relationship of leptin to bone mineralization in children and adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003;88(2), 599-604.
- [11] Afghani A., Goran M.: The interrelationships between abdominal adiposity, leptin and bone mineral content in overweight Latino children. *Horm. Res.*, 2009;72, 82-87.