

## Ocena stężeń oreksyny A w surowicy krwi u dzieci z niedoborem wzrostu

### *Evaluation of secretion orexin A in blood serum of children with growth deficiency*

Magdalena Bosak-Prus, Anna Noczyńska, Agnieszka Zubkiewicz-Kucharska

Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

**Adres do korespondencji:** Anna Noczyńska, 50-368 Wrocław, ul. T. Chalubińskiego 2A, tel. 71 7703117, fax 71 3280682, anna.noczyńska@umed.wroc.pl

**Słowa kluczowe:** niedobór wzrostu, hormon wzrostu, oreksyna A, zaburzenia metaboliczne

**Key words:** growth deficiency, growth hormone, orexin A, metabolic disturbances

#### STRESZCZENIE/ABSTRACT

Głównymi stymulatorami wzrastania są: hormon wzrostu (GH), neurohormony podwzgórzowe, hormony tarczycy, glikemia, dostępność wolnych kwasów tłuszczowych i aminokwasów, a w okresie pokwitania także steroidy płciowe. W roku 1998 odkryto nowe peptydy, które nazwano oreksynami/hipokretynami. Włókna oreksynowe rozmieszczone w obszarach podwzgórza kontrolują proces uwalniania hormonów przysadkowych, a także oś GH-IGF-1. **Cel pracy.** 1. Ocena stężeń oreksyny A (OxA) w surowicy krwi u dzieci niskorosłych oraz u dzieci z prawidłowym wzrostem i masą ciała w okresie przedpokwitaniowym. 2. Ustalenie korelacji pomiędzy stężeniami OxA w surowicy krwi u dzieci niskorosłych a stopniem niedoboru wzrostu, tempem wzrastania, BMI, stężeniami glikemii na czczo, IGF-1, oraz stosunkiem IGFBP-3/OxA. **Material i metody.** Badaniem objęto 65 dzieci (23 dziewcząt i 42 chłopców) z niedoborem wzrostu (< 3 centyla) w wieku 3–13 lat. Grupę kontrolną stanowiło 17 dzieci bez cech pokwitania, u których wzrost i masa ciała mieściły się w przedziale 25–75 centyla. Pacjentów podzielono na trzy grupy, a kryterium podziału było stężenie GH w profilu nocnym oraz w testach stymulacji. Do grupy I zakwalifikowano dzieci z prawidłowym GH w profilu nocnym ( $\geq 10$  ng/ml), do grupy II dzieci z całkowitym niedoborem GH ( $\text{GH} \leq 5$  ng/ml), a do grupy III dzieci z częściowym niedoborem GH (GH w przedziale 5,1–9,9 ng/ml). Grupę IV stanowiły dzieci zdrowe. **Wyniki badań.** Średnie stężenie OxA było najwyższe w grupie I, a najniższe w grupie III, ale różnica nie była istotnie statystyczna. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy stężeń oreksyny A pomiędzy poszczególnymi grupami niskorosłych dzieci jak również pomiędzy grupą dziećmi niskorosłych a grupą kontrolną. Wykazano różnicę na granicy istotności statystycznej pomiędzy stężeniem OxA a stopniem niedoboru wzrostu ( $p = 0,0509$ ). U dzieci, u których SD wzrostu było  $\leq -2,5$ , stężenie OxA było wyższe w porównaniu do grupy dzieci z SD wzrostu  $> -2,5$ . Wykazano różnicę na granicy istotności statystycznej pomiędzy tempem wzrastania a stosunkiem IGFBP-3/OxA ( $p = 0,0659$ ). U dzieci rosnących  $> 5$  cm/rok stosunek IGFBP-3/OxA był niższy w porównaniu z dziećmi rosnącymi  $< 5$  cm/rok (3,26 vs 3,94). W grupie I wykazano dodatnią, istotnie statystyczną korelację średniego stężenia OxA z odchyleniem standardowym stężenia IGF-1 ( $r = 0,63$ ;  $p = 0,002$ ), a w grupie III dodatnią, na granicy istotności statystycznej, korelację między glikemią na czczo a poziomem OxA ( $r = 0,39$ ;  $p = 0,099$ ). Nie wykazano istotnie statystycznej zależności pomiędzy stężeniem OxA a BMI. **Wnioski.** 1. U dzieci, u których wydzielanie GH było prawidłowe, stężenia OxA były największe, ale bez

różnicy istotnie statystycznej. 2. Stwierdzono tendencję do ujemnej zależności pomiędzy tempem wzrastania a stężeniem IGFBP-3/OxA oraz pomiędzy stężeniem OxA a stopniem niedoboru wzrostu. Endokrynol. Ped. 13/2014;3(48):9-16.

The major height-affecting factors are as follows: growth hormone (GH) and hypothalamic neurohormones, thyroid gland hormones, glycaemia, free fatty acids and amino acids availability, and sex steroids availability in the puberty period. In 1998, new peptides, called orexins/hypocretins, were discovered. Orexin fibers, located in the hypothalamus area, control the process of pituitary hormones release and GH-IGF-1 axis function. **The aim of this paper** was an assessment of orexin A (OxA) profile in pre-pubertal short stature children and in children with normal height and body weight. This work was also aiming to determine the association between OxA concentrations and BMI, bone age, fasting glycaemia levels, IGF-1 level and IGF-1/OxA ratio. **Material and methods.** Tests were conducted in 65 pre-pubertal short stature (<3rd percentile) children (23 girls and 42 boys) aged 3 to 13 years. The control group was composed of 17 pre-pubertal children with height and body weight at 25th-75th percentile. Patients were divided into three groups according to GH concentration in the night profile and stimulation tests. Group I – children with normal nocturnal GH level ( $\geq 10$  ng/ml). Group II – children with complete GH deficiency (GH  $\leq 5$  ng/ml). Group III – children with partial GH deficiency (GH level range: 5.1-9.9 ng/ml). Group IV – normal control. **Results.** The highest mean OxA level was observed in group I, and the lowest concentration was measured in group III; however the above mentioned difference was insignificant. Difference between OxA concentration and height deficiency level was at the level of significance ( $p=0.0509$ ). In children with height SD  $\leq -2.5$ , OxA concentration was higher in comparison with a group of children with height SD  $> -2.5$ . Difference between height velocity and IGFBP-3/OxA ratio was at the level of significance ( $p=0.0659$ ). In children with height velocity  $>5$  cm/year, the IGFBP-3/OxA ratio was lower than in children with height velocity  $<5$  cm/year (3.26 vs. 3.94). In group I, a positively significant correlation between mean OxA level and IGF-1 SD ( $r=0.63$ ;  $p=0.002$ ) was observed. In group III, a positive correlation, at the level of statistical significance, between fasting glycaemia level and OxA concentration ( $r=0.39$ ;  $p=0.099$ ) was stated. No significant correlation between OxA level and BMI was observed. **Conclusions.** 1. In children with normal nocturnal GH secretion, a positive correlation between OxA level and IGF-1 SD was stated. 2. A trend to negative correlation between height velocity and IGFBP-3/OxA ratio, as well as between OxA concentration and growth deficiency level, was observed. *Pediatr. Endocrinol.* 13/2014;3(48):9-16.

## Wstęp

Szacuje się, że w Polsce, podobnie jak w wielu innych, krajach ok. 3% populacji dzieci w wieku rozwojowym wymaga diagnostyki z powodu niskorosłości. U około 20% niedobór wzrostu ma podłoże hormonalne, natomiast w pozostałej grupie przyczynami niskorosłości mogą być czynniki genetyczne, metaboliczne, choroby przewlekłe i układowe oraz czynniki jatrogenne [1-4]. Proces wzrastania regulują działające systemowo oraz lokalnie czynniki genetyczne, epigenetyczne, hormonalne, immunologiczne oraz środowiskowe, które są ze sobą nierozzerwalnie powiązane [1,3-7]. W życiu pozapłodowym głównym czynnikiem wpływającym na wzrost jest hormon wzrostu (GH), którego anaboliczne oddziaływanie na tkanki docelowe odbywa się poprzez insulinopodobne czynniki wzrostu. Główną rolę odgrywa czynnik wzrostowy typu I (IGF-1) jak również białka wiążące, w szczególności białko typu 3 (IGFBP3) [4,8]. Na mechanizm kierujący wzrastaniem wpływają również neurohormony podwzgórzowe: czynnik uwalniający GH – somatoliberyna (GHRH) oraz czynnik hamujący – somatostatyna, a także hormony tarczycy, gliko-

mia, dostępność wolnych kwasów tłuszczowych i aminokwasów, a w okresie pokwitania także steroidy płciowe. [1,4,6-8].

W roku 1998 odkryto nowe peptydy, które nazwano oreksynami/hipokretynami [9,10]. Sieć aksonów oreksynowych jest bardzo rozległa, dociera do kory mózgowej, hipokampa, przegrody, wzgórza i prawie wszystkich części podwzgórza, pnia mózgu i rdzenia kręgowego oraz cholinergicznym neuronów mostu. Włókna oreksynowe docierają do miejsc wytwarzania neuroprzekaźników, takich jak: dopamina, noradrenalina, serotonina, czy też neuronów cholinergicznym odpowiedzialnych między innymi za sen [11-13]. Obecność OxA stwierdzono również w narządach obwodowych i gruczołach wydzielania wewnętrznego, takich jak: szyszynka, przysadka mózgowa, siatkówka oka, przewód pokarmowy, trzustka, nadnercza, jądra. Dzięki występowaniu oreksyny w tak wielu lokalizacjach zyskały one nazwę hormonów osi nerwowo-jelitowej [12,13]. Działanie oreksyn nie ogranicza się wyłącznie do funkcji neurotransmitera i/lub neuromodulatora, ale wykazują one również działanie charakterystyczne dla hormonów. Oreksyny (A i B) regulują łaknienie (wzrost apetytu), rytm snu i czu-

wania oraz wpływają na uwalnianie hormonów tropowych przysadki. Wykazano, że neurony oreksynowe tworzące tzw. sieć mózgowo-jelitową gromadzą informacje o stanie narządów odpowiedzialnych za przetwarzanie spożytego pokarmu, biorą udział w krótkoterminowej regulacji homeostazy energetycznej i są istotnym elementem złożonego mechanizmu regulacji pobierania i wydatkowania energii [11]. Stężenie oreksyny zmniejsza się wraz z wiekiem, dlatego jej wpływ na łaknienie jest najsilniej zaznaczone u młodych osób [13,14]. Przeprowadzone dotychczas badania nie dały jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o wpływ oreksyn na wydzielanie GH. Włókna oreksynowe docierają do jąder okołokomorowego oraz łukowatego, w których zlokalizowane są receptory zarówno dla somatostatyny, somatoliberyny, jak również dla oreksyny 1 [15,16]. Włókna oreksynowe rozmieszczone w obszarach podwzgórza kontrolują proces uwalniania hormonów przysadkowych, a także oś GH-IGF-1. Fakt, iż neurony oreksynowe znajdują się w jądrze łukowatym w sąsiedztwie olbrzymiej liczby neuronów somatoliberyny (GH-RH), pozwala przypuszczać, że oreksyny hamują wydzielanie endogennej GH-RH, blokując tym samym sekrecję GH i odpowiedź GH na ghrelinę. Układ oreksynowy wykazuje zwiększoną aktywność w ciągu dnia, promując stan czuwania. Badania nad oreksynami stanowią bazę do poszukiwania nowych metod terapii zaburzeń hormonalnych, szczególnie tych, które związane są z niedostateczną syntezą GH [11,17–20].

**Cel pracy:** 1. Ocena sekrecji oreksyny A w surowicy krwi u dzieci niskorosłych oraz u dzieci z prawidłowym wzrostem i masą ciała w okresie przedpokwitaniowym ( I w skali Tannera). 2. Ustalenie korelacji pomiędzy stężeniami OxA w surowicy krwi u dzieci niskorosłych a stopniem niedoboru wzrostu, tempem wzrastania, BMI, stężeniem glikemii na czczo, stężeniem IGF-1 oraz stosunkiem IGFBP-3/ OxA

## Materiał

Badaniami objęto 65 dzieci (23 dziewcząt i 42 chłopców) w wieku 3 do 13 lat w okresie przedpokwitaniowym (I wg Tannera), diagnozowanych z powodu niskorosłości (wzrost < 3 centyla) w Klinice Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego UM we Wrocławiu w latach 2009–2011. Grupę kontrolną stanowiło 17 dzieci (5 dziewcząt i 12 chłopców), u których wzrost i masa były

w przedziale 25–75 centyla, bez cech pokwitania, nieobciążonych chorobą przewlekłą. W każdym przypadku uzyskano zgodę rodziców na przeprowadzenie u dziecka badań. Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

Pacjentów niskorosłych podzielono na trzy grupy. Kryterium podziału stanowił poziom GH w profilu nocnym i w testach stymulacji. Do grupy I zakwalifikowano dzieci, u których przynajmniej jedno oznaczenie GH w profilu nocnym było  $\geq 10$  ng/ml (norma). U tych dzieci nie wykonywano testów stymulacyjnych. Do grupy II – dzieci, u których stężenia GH w profilu nocnym oraz testach stymulacji GH były  $\leq 5$  ng/ml (całkowity niedobór GH).

Do grupy III – dzieci, u których maksymalne stężenia GH w profilu nocnym oraz w testach stymulacji było w przedziale 5,1–9,9 ng/ml (częściowy niedobór GH). Grupę IV stanowiły dzieci zdrowe.

## Metody badań

Badania obejmowały:

- wywiad osobniczy dotyczący dotychczasowego rozwoju dziecka,
- badanie przedmiotowe z oceną stopnia dojrzałości płciowej (wg skali Tannera),
- pomiary antropometryczne: każde dziecko było ważone (waga elektroniczna) w warunkach standardowych, bez obuwi i tylko w białym z dokładnością do 0,1 kg, oraz mierzone (stadiometr Harpendera) z dokładnością  $\pm 0,1$  cm. Dzieci były mierzone 3-krotnie (0–po 3 i 6 miesiącach). Oceniano tempo wzrastania [cm/rok] (HV, height velocity) oraz odchylenie standardowe wysokości dziecka (HtSD, height standard deviation) wg wzoru:  $HtSD = (\text{wysokość ciała dziecka} - \text{wysokość ciała odpowiadająca 50 centylowi dla wieku i płci dziecka}) / \frac{1}{2} (50 \text{ centyl} - 3 \text{ centyl wzrostu dla wieku i płci dziecka})$ .

Do oceny wzrostu posłużono się obowiązującymi w Polsce siatkami centylowymi wg Pałczewskiej [21]. Niedobór wzrostu rozpoznano wówczas, kiedy uzyskana wartość w cm była < 3 centyla na siatkach centylowych dla płci i wieku. Każdemu dziecku wykonano Rtg dłoni niedominującej celem oceny wieku szkieletowego. Oceny dojrzałości układu kostnego dokonywano w oparciu o metodę Greulich-Pyle'a (G-P), polegającą na dokładnej analizie rozwoju kości nadgarstka, paliczków, główek kości śródreżca, a także przynasad bliższych kości promieniowej i łokciowej

**Tabela I.** Charakterystyka badanych dzieci  
**Table I.** Characteristics of study groups

	Dziewczynki	Chłopcy
Grupa I N = 22 dzieci Średnio 8,3 lat (3,6–13,0 lat)	N = 5 dzieci Średnio 7,1 lat (3,6–9,2 lat)	N = 17 dzieci Średnio 8,1 lat (4,5–13,0 lat)
Grupa II N = 22 dzieci Średnio 8,0 lat (4,5–12,11 lat)	N = 9 dzieci Średnio 6,6 lat (4,5–12,11 lat)	N = 13 dzieci Średnio 8,3 lat (5,4–11,2 lat)
Grupa III N = 21 dzieci Średnio 7,1 lat (4,3–10,5 lat)	N = 9 dzieci Średnio 7,8 lat (4,3–10,5 lat)	N = 12 dzieci Średnio 7,5 lat (5,3–9,6 lat)
Gr. IV – kontrolna N = 17 dzieci Średnio 5,8 lat (3–11,5 lat)	N = 5 dzieci Średnio 4,5 lat (3,0–6,2 lat)	N = 12 dzieci Średnio 6,6 lat (4,8–11,5 lat)

i porównaniu ich ze zdjęciami wzorcowymi zamieszczonymi w atlasie [22].

Krew do badania oreksyny A pobierano z żyły łokciowej, według obowiązujących zasad aseptyki, do probówek zawierających EDTA, a następnie odwirowywano (1600 rpm) przez 15 minut w tem. +4 st. C. Uzyskaną surowicę zabezpieczano w temperaturze - 70°C do momentu wykonania oznaczenia. U dzieci zdrowych krew do badania pobierano na czczo przy okazji wykonywania innych badań biochemicznych.

Wszystkim pacjentom niskorosłym wykonano profil wydzielania GH po zaśnięciu (badanie w 0 oraz w 60, 90, 120, 150 i 180 minucie po zaśnięciu), a dzieciom, u których wynik GH w teście po zaśnięciu był < 10,0 ng/ml, wykonano dwa testy stymulacyjne • po podaniu glukagonu s.c. w dawce 0,03 mg/m<sup>2</sup> w którym wydzielania GH oceniano w 0', 90', 120', 150', 180' • po podaniu klonidyny p.o. w dawce 0,150 mg/m<sup>2</sup> w którym wydzielania GH oceniano w 0', 30', 60', 90', 120'.

Dzieciom z niedoborem wzrostu oznaczono w surowicy krwi stężenia: oreksyny A (OxA), IGF-1, IGFBP-3 oraz stężenie glukozy na czczo.

W celu wykluczenia chorób endokrynologicznych oznaczono stężenia: TSH, FT4, ATPO, FSH, LH, PRL, poziomy kortyzolu o godz. 7.00 i 19.00, a w celu wykluczenia choroby trzewnej oznaczono stężenie transglutaminazy tkankowej w klasie IgA i IgG.

Oreksynę A (OxA) oznaczano metodą immunoenzymatyczną (EIA) przy użyciu zestawu EIA Kit firmy Phoenix Pharmaceuticals (Phoenix Pharmaceuticals, USA, Niemcy).

Insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1) oznaczono metodą radioimmunologiczną, a wynik odniesiono do norm przyjętych dla wieku rozwojowego. Białko 3 wiążące IGF-1 (IGFBP-3) oznaczano metodą immunochemiluminescencyjną, a stężenie glukozy metodą enzymatyczną.

Hormon wzrostu (GH) oznaczano metodą immunochemiluminescencyjną, przyjmując wartość > 10 ng/ml za stężenie prawidłowe. Pobranie krwi oraz opracowanie materiału było zgodne z zasadami dobrej praktyki lekarskiej.

#### **Analiza statystyczna**

Wyniki uzyskanych badań poddano opracowaniu statystycznemu. Dla wszystkich grup zostały wyli-

czony: liczba przypadków (N), wartości średnie (X), mediany (M), zakres (min-max), dolny i górny kwartył (25Q-75Q) i odchylenia standardowe (SD) badanych parametrów ciągłych. Weryfikację hipotezy o równości średnich poszczególnych prób przeprowadzono metodą analizy wariancji ANOVA lub dla grup o niejednorodnej wariancji lub o małej liczbie przypadków testem nieparametrycznym sumy rang Kruskala-Wallisa (jednorodność wariancji sprawdzano testem Bartletta). Dla wybranych par parametrów przeprowadzono analizę korelacji, wyliczając współczynnik korelacji Pearsona. Istotność statystyczną przyjęto dla wartości  $p \leq 0,05$ , natomiast w przedziale  $0,05 < p < 0,1$  przyjęto istnienie tendencji. Analizę statystyczną przeprowadzono wykorzystując komputerowe pakiety programów statystycznych EPIINFO Ver. 3.5.2 (z dnia 17-12-2010).

## Wyniki badań

Średnie stężenie oreksyny A było największe w grupie I, a najmniejsze w grupie III (tabela III). Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stę-

żeń oreksyny A pomiędzy poszczególnymi grupami niskorosłych dzieci jak również pomiędzy grupami dziećmi niskorosłych a grupą kontrolną. Wykazano różnicę na granicy istotności statystycznej pomiędzy stężeniem oreksyny A a stopniem niedoboru wzrostu u dziecka ( $p=0,0509$ ). U dzieci, u których SD wzrostu było  $\leq -2,5$ , stężenie OxA było wyższe w porównaniu do grupy dzieci z SD wzrostu  $> -2,5$ . Wykazano różnicę na granicy istotności statystycznej pomiędzy tempem wzrastania a stosunkiem IGFBP-3/ oreksyna A ( $p=0,0659$ ). U dzieci rosących  $> 5$  cm/rok stosunek IGFBP-3/ OxA był niższy w porównaniu z dziećmi rosącymi  $< 5$  cm/rok (3,26 vs 3,94). W grupie dzieci z prawidłowym wydzielaniem GH w godzinach nocnych (grupa I) wykazano dodatnią, istotnie statystyczną korelację średniego stężenia oreksyny A z odchyleniem standardowym stężenia IGF-1 ( $r=0,63$ ;  $p=0,002$ ). W grupie dzieci niskorosłych z częściowym wydzielaniem GH w testach stymulacji (grupa III) stwierdzono dodatnią, na granicy istotności statystycznej, korelację między glikemią na czczo a poziomem oreksyny A ( $r=0,39$ ;  $p=0,099$ ). U dzieci niskorosłych (grupy

**Tabela II.** Średnie stężenie hormonu wzrostu w surowicy krwi w badanych grupach  
**Table II.** Mean growth hormone concentration in the blood serum in studied groups

Grupa	GH ng/ml							
	X	N	SD	MIN	MAX	25Q	M	75Q
I	7,17	22	4,37	0,00	17,20	3,50	6,25	9,52
II	3,96	22	2,91	0,12	4,47	1,26	3,49	3,09
III	7,66	21	5,89	0,65	9,20	2,17	6,01	9,10

**Tabela III.** Średnie stężenie oreksyny A w surowicy krwi w badanych grupach  
**Table III.** Mean orexin A concentration in the blood serum in studied groups

	Oreksyna A (ng/ml)	SD	MIN	MAX	25Q	Mediana	75Q
Grupa I (22 dzieci)	0,946	0,289	0,601	1,581	0,731	0,852	1,207
Grupa II (22 dzieci)	0,905	0,144	0,736	1,331	0,795	0,881	0,952
Grupa III (21 dzieci)	0,84	0,77	0,47	4,13	0,75	0,84	0,94
Grupa kontrolna (19 dzieci)	0,888	0,155	0,597	1,335	0,801	0,880	0,975

I-III) nie wykazano różnicy istotnie statystycznej pomiędzy stężeniem oreksyny A a wskaźnikiem masy ciała BMI ( $p=0,089$  vs  $0,078$  vs  $0,083$ ).

## Dyskusja

Postęp nauk medycznych, rozwój nowych metod diagnostycznych i technik molekularnych przyczyniły się do coraz lepszego poznania mechanizmów oddziałujących na proces wzrastania, a tym samym dały szansę pacjentom niskorosłym na skuteczną terapię oraz osiągnięcie prawidłowego wzrostu końcowego [9,12,23,24].

Ujawniono wiele potencjalnych zaburzeń na drodze przekazu sygnału wzrostowego, mogących upośledzać proces wzrastania. Niektóre z nich są dobrze zbadane i poznane, jednak istnieje szereg niezidentyfikowanych dotąd czynników decydujących o wzroście ostatecznym. Należą do nich między innymi zaburzenia sekrecji oreksyny, a zwłaszcza OxA. Wykazano, że OxA bierze udział w mechanizmach regulujących fizjologiczne wydzielanie GH oraz w regulacji bilansu energetycznego organizmu [15,16,25–27]. Od czasu odkrycia neuronów oreksynowych w jądrach łukowatym i okołokomorowym, kontrolujących wydzielanie GH przez przysadkę, wykazano, że oreksyny, a zwłaszcza OxA, wpływają na oś somatotropową. Wyniki badań doświadczalnych nie pozwoliły na uzyskanie jednoznacznej odpowiedzi, czy działanie to ma charakter hamujący, czy promujący wydzielanie GH [28,29]. Badania *in vitro* z użyciem somatotropów owcy i świni, przeprowadzone w pierwszych latach po odkryciu oreksyn, wskazywały na ich stymulujący wpływ na sekrecję GH, tymczasem badania prowadzone na szczurach nie potwierdziły wcześniejszych wyników. Badacze wykazali, że oreksyny hamują wydzielanie endogennej somatoliberyny, czego efektem może być obniżenie sekrecji GH oraz IGF-1. Mogłoby to dowodzić hamującego wpływu oreksyny A na podstawowe wydzielanie GH [10,30–32]. W prezentowanej pracy największe stężenie OxA stwierdzono w grupie dzieci niskorosłych, u których wydzielanie GH podczas snu było prawidłowe (grupa I), a najniższe w grupie pacjentów z częściowym niedoborem GH (grupa III), ale różnica ta nie była statystycznie istotna zarówno w odniesieniu do średniego stężenia OxA w poszczególnych grupach niskorosłych dzieci, jak również do grupy kontrolnej. Wykazano natomiast różnicę na granicy istotności statystycznej pomiędzy stężeniem OxA a stopniem niedoboru wzrostu

u dziecka ( $p=0,0509$ ). U dzieci z SD wzrostu  $\leq -2,5$  stężenie OxA było większe niż u dzieci z SD wzrostu  $> -2,5$ , co mogłoby wskazywać na hamujący wpływ oreksyny na proces wzrastania.

Badania przeprowadzone na somatotropach owcy wykazały, że jednoczesowe podanie somatoliberyny i OxA stymuluje sekrecję GH [16]. Efekt synergistycznego działania OxA i GHRH na wydzielanie GH następuje prawdopodobnie poprzez zwiększenie przepływu jonów Ca przez kanały wapniowe typu L [33]. Prezentowane wyniki własnych badań są zgodne z wynikami opublikowanymi przez López i wsp. Autorzy obserwowali znaczny spadek mRNA somatoliberyny w jądrze przykomorowym oraz wzrost stężenia somatostatyny w jądrze okołokomorowym u szczurów po podaniu OxA [34]. Wyniki powyższego eksperymentu pozwalają przypuszczać, iż oreksyna A hamuje indukowane snem wydzielanie GH na poziomie podwzgórza, głównie poprzez aktywację neuronów somatostatynergicznym oraz obniżanie napięcia endogennej GHRH. Mogłoby to potwierdzać hamujący wpływ oreksyny A na wydzielanie GH. Na wyciągnięcie podobnych wniosków pozwala analiza wyników badań przedstawionych przez Jawiarczyk i wsp. Autorzy badań wykazali, że w grupie pacjentów z akromegalią występuje tendencja do ujemnej zależności między stężeniem GH i oreksyną A [23]. W naszej pracy stwierdzono różnicę na granicy istotności statystycznej pomiędzy tempem wzrastania a wskaźnikiem IGFBP-3/oreksyna A ( $p=0,0659$ ). U dzieci rosnących  $> 5$  cm rok stosunek ten był niższy w porównaniu do dzieci rosnących  $< 5$  cm/rok. Wyniki te również dowodzą, że oreksyna może wpływać hamująco na oś somatotropinową, czego efektem może być słabsze tempo wzrastania u dzieci [26,33].

W prezentowanej pracy w grupie dzieci z prawidłowym wydzielaniem hormonu wzrostu podczas snu (grupa I) wykazano dodatnie i istotne statystycznie korelacje średniego stężenia oreksyny A z odchyleniem standardowym stężenia IGF-1 ( $p=0,002$ ). Im wyższy poziom oreksyny A, tym większa była wartość odchylenia standardowego IGF-1, a zatem tym większe jego stężenie u badanego dziecka. Wykazane korelacje nasuwają pytanie, czy i w jakim stopniu oreksyna A reguluje syntezę insulinopodobnego czynnika wzrostu, skoro stężenie IGF-1 w osoczu jest regulowane głównie przez hormon wzrostu [1,2,4,33]. Wielu autorów dowiodło, że na stężenie IGF-1 znaczący wpływ ma stan odżywienia. Badania wskazują na istotny udział oreksyny A w regulacji łaknienia, szczególnie na jej udział

w krótkoterminowej kontroli przyjmowania pokarmu [35–37]. Wpływ ten jest najsilniej zaznaczony u młodych osobników, co w doświadczeniach na szczurach wykazali Takano i Kanai [36]. Wyniki powyższych badań mogą przyczynić się do wyjaśnienia wspomnianej dodatniej zależności pomiędzy stężeniem oreksyny A a IGF-1 u dzieci z prawidłowym profilem wydzielania hormonu wzrostu podczas snu (grupa I). Lokalizacja neuronów oreksygenicznych oraz ich wzajemna zależność z NPY (Neuropeptid Y) i leptyną mogą wskazywać na istotny wpływ oreksyny A na regulację łaknienia oraz na gospodarkę węglowodanową w organizmie człowieka [38,39].

W dostępnej literaturze brak doniesień, które pozwoliłyby ocenić, czy i jak rozległy jest wpływ oreksyny A na metabolizm glukozy. W prezentowanej pracy w grupie dzieci niskorosłych z częściowym niedoborem GH (grupa III) obserwowano tendencję do dodatniej zależności pomiędzy glikemią na czczo a stężeniem oreksyny A ( $p=0,099$ ). Wynik ten nasuwa pytanie, czy oreksyna może wpływać

na stymulację apetytu oraz przyczyniać się do nadmiernego pobierania pokarmu, a w konsekwencji prowadzić do otyłości? Badania Beck i wsp. nie potwierdziły tych doniesień, ponieważ nawet długostrawnie podawanie OxA nie prowadziło do otyłości, w przeciwieństwie do przewlekłej podaży NPY [38]. W prezentowanych badaniach również nie wykazano różnicy istotnie statystycznej pomiędzy stężeniem OxA a wskaźnikiem masy ciała – BMI. Podsumowując, należy podkreślić, że celem ustalenia wpływu OxA na proces uwalniania GH, indukowanie tempa wzrastania oraz na masę ciała i rozwój dzieci konieczne jest prowadzenie dalszych badań.

## Wnioski

1. U dzieci u których wydzielanie GH było prawidłowe, stężenia OxA były największe, ale bez różnicy istotnie statystycznej. 2. Stwierdzono tendencję do ujemnej zależności pomiędzy tempem wzrastania a stosunkiem IGFBP-3/OxA oraz pomiędzy stężeniem OxA a stopniem niedoboru wzrostu.

## PIŚMIENICTWO/REFERENCES

- [1] Romer Tomasz E.: Zaburzenia wzrastania i dojrzewania płciowego. 2011, 1-27.
- [2] Bluet-Pajot M.T., Epelbaum J., Gourdj D. et al.: Hypothalamic and hypophyseal regulation of growth hormone secretion. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 1998;18, 101-123.
- [3] Pniewska-Siark B., Bobeff I., Hilczer M., Lewiński A.: Granice ingerencji endokrynologa w przebieg zaburzeń wzrastania i dojrzewania u dzieci. *Klin. Pediatr.*, 2011;19, 1, 41-44.
- [4] Ayuk J., Sheppard M.C.: Growth hormone and its disorders. *Postgrad. Med. J.*, 2006 Jan;82(963), 24-30.
- [5] Otto- Buczkowska E.: Endokrynologia Wieków Rozwojowego – co nowego? 2008;146, 120-134.
- [6] Primus E. Mullis: Genetics of Isolated Growth Hormone Deficiency. *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.*, 2010 June. 2(2), 52-62.
- [7] Krysiak R., Gdula-Dymek A., Bednarska-Czerwińska A., Okopień B.: Growth hormone therapy in children and adults. *Pharmacol. Rep.*, 2007 Sep-Oct;59(5), 500-516.
- [8] Hilczer M., Smyczyńska J., Lewiński A.: Hormonalnie uwarunkowany niedobór wzrostu u dzieci. *Endokrynologia Wieków Rozwojowego*, 2001;vol 9, no 2, 250-256.
- [9] Small C.J., Goubillon M.L. et al.: Central orexin A has site specific effects on luteinizing hormone release in female rats. *Endocrinology*, 2003;144, 3225-3236.
- [10] Russel S.H., Small C.J., Dakin C.L. et al.: The central effects of orexin A in the hypothalamic- pituitary adrenal axis *in vivo* and *in vitro* in male rats. *J. Neuroendocrinology*, 2001;13, 561-566.
- [11] Kirchgessner A.L.: Orexins in the brain-gut axis. *Endocr. Rev.*, 2002;23, 1-15.
- [12] Kukkonen J.P., Holmqvist T. et al.: Functions of the orexigenic/hypocretinergic system. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 2002;283, C1567-91.
- [13] Berezińska M., Zawilska J.B.: Hipokretyny – rola w regulacji rytmu sen – czuwanie i patogenezie narkolepsji. *Postępy Hig. Med. Dośw. (online)*, 2007;61, 1-12.
- [14] Martynska L., Wolinska-Witort E. et al.: The physiological role of orexins. *Neuroendocrinol. Lett.*, 2005;4, 289-92.
- [15] Chen C., Xu R.: The *in vitro* regulation of growth hormone secretion by orexins. *Endocrine*, 2003;22, 57-66.
- [16] Xu R., Wang Q., Yan M. et al.: Orexin-A augments voltage-gated Ca<sup>2+</sup> currents and synergistically increases growth hormone (GH) secretion with GH-releasing hormone in primary cultured ovine somatotropes. *Endocrinology*, 2002;143, 4609-4619.
- [17] Obal F., Fang, J., Taishi P. et al.: Deficiency of growth hormone-releasing hormone signaling is associated with sleep alterations in the dwarf rat. *J. Neurosci.*, 2001;21, 2912-2918.
- [18] Peyron C., Tighe D.K., Van Den Pol A.N. et al.: Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.*, 1998;18, 9996-10015.

- [19] Van Den Pol A.N.: Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. *J. Neurosci.*, 1999;19, 3171-3182.
- [20] Spinazzi R., Andreis P.G., Rossi G.P., Nussdorfer G.G.: Orexins in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Pharmacol Rev.*, 2006;58, 46-57.
- [21] Palczewska I., Niedźwiedzka Z.: Wskaźniki rozwoju somatycznego dzieci i młodzieży warszawskiej *Med. Wieku Rozwoj.*, 2001;5(1-2, supl).
- [22] Greulich W.W., Pyle S.I.: Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford, California, Stanford University Press, 1993.
- [23] Jawiarczyk A., Bolanowski M.: Znaczenie oreksyny A w zaburzeniach metabolicznych w akromegalii. *Endokrynologia Polska*, 2012;63(6), 463-469.
- [24] Jawiarczyk A., Bolanowski M.: Oreksyny – neuropeptydy o działaniu plejotropowym. *Via Medica*, 2010, 147-153.
- [25] Campbell R.E., Grove K.L. et al.: Gonadotropin-releasing hormone neurons coexpress orexin 1 receptor immunoreactivity and receive direct contacts by orexin fibers. *Endocrinology*, 2003;144, 1542-48.
- [26] Taylor M.M., Samson W.K.: The other side of the orexins: endocrine and metabolic actions. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003;284, E13-E17.
- [27] Seoane L.M., Tovar S.A. et al.: Orexin A suppresses in vivo GH secretion. *Eur. J. Endocrinol.*, 2004;150, 731-6.
- [28] Barb C.R., Matteri. R.L.: Orexin-B modulates luteinizing hormone and growth hormone secretion from porcine pituitary cells in culture. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 2005;28, 331-337.
- [29] Sakurai T., Amemiya A., Ishii M. et al.: Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, 1998;92, 573-585.
- [30] Ferguson A.V., Samson W.K.: The orexin/hypocretin system: a critical regulator of neuroendocrine and autonomic function. *Front Neuroendocrinol.*, 2003;24, 141-150.
- [31] Martynska L., Polkowska J., Wolinska-Witort E. et al.: Orexin A and its role in the regulation of the hypothalamo-pituitary axes in the rat. *Reprod. Biol.*, 2006;6 (Suppl. 2), 29.
- [32] Haynes A.C., Jackson B., Overend P. et al.: Effects of single and chronic intracerebroventricular administration of the orexins on feeding in the rat. *Peptides.*, 1999, 20.
- [33] Backberg M., Hervieu G., Wilson S., Meister B.: Orexin receptor-1 (OX-R1) immunoreactivity in chemically identified neurons of the hypothalamus: focus on orexin targets involved in control of food and water intake. *Eur. J. Neurosci.*: 2002;15, 315-328.
- [34] Molik E., Zięba D.A., Misztal T. et al.: The role of orexin A in the control of prolactin and growth hormone secretions in sheep – *in vitro* study. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2008;9; 91, 1009-1105.
- [35] Lopez M., Seoane L.M., Tovar S.: Orexin-A regulates growth hormone-releasing hormone mRNA content in a nucleus-specific manner and somatostatin mRNA content in a growth hormone-dependent fashion in the rat hypothalamus. *Eur. J. Neurosci.*, 2004;19(8), 2080-2088.
- [36] Yamanaka A., Sakurai T., Katsumoto T., Yanagisawa M. & Goto K.: Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but has no effect on body weight. *Brain Res.*, 1999;849, 248-252.
- [37] Takano S., Kanai S. et al. Orexin-A does not stimulate food intake in old rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.*, 2004;28, G1182-7.
- [38] Wortley K.E., Chang G.Q. et al.: Peptides that regulate food intake: orexin gene expression is increased during states of hypertriglyceridemia. *Am. J. Regul. Comp. Physiol.*, 2003;284, R1454-65.
- [39] Beck B., Richy S.: Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y: divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999;258, 119-122.