

Stężenie metaloproteinaz (MMPs) u dzieci z somatotropinową niedo- czynnością przysadki

Metalloproteinases (MMPs) concentration in children with growth hormone deficiency

Agnieszka Gorlo, Anna Noczyńska, Monika Seifert, Jolanta Bieniasz,
Agnieszka Zubkiewicz-Kucharska

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

Słowa kluczowe

metaloproteinazy, miażdżyca, somatotropinowa niedoczynność przysadki

Key words

metalloproteinases, atherosclerosis, growth hormone deficiency

Streszczenie

Niedobór hormonu wzrostu może wiązać się z przedwczesnym rozwojem miażdżycy i chorób układu sercowo-naczyniowego. Kluczową rolę w patogenezie miażdżycy odgrywa proces zapalny śródbłonka naczyń. Ostatnie doniesienia naukowe wskazują na udział niektórych metaloproteinaz w rozwoju procesu miażdżycowego. **Cel pracy.** Ocena stężenia metaloproteinazy 2 i 9 (MMP-2 i MMP-9), inhibitora metaloproteinazy 2 (TIMP-2) oraz wybranych markerów zapalnych (IL-6, hsCRP) u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki przed rozpoczęciem leczenia hormonem wzrostu. **Materiał i metody.** Badaniem objęto 49 dzieci (19 dziewczynek i 29 chłopców) w wieku od 4,3 do 14,5 lat ($x=8,3\pm 3,0$) ze zdiagnozowanym niedoborem hormonu wzrostu, zakwalifikowanych do leczenia substytucyjnego rhGH, oraz 23 zdrowych dzieci (12 dziewczynek i 11 chłopców) w wieku od 3,2 do 12,3 lat ($x=7,6\pm 2,3$). U wszystkich pacjentów oznaczono stężenia: MMP-2, MMP-9, TIMP-2, IL-6, hs-CRP oraz oceniono parametry antropometryczne (wzrost, masę ciała i BMI). **Wyniki.** U pacjentów z SNP stwierdzono większe stężenie MMP-2 w porównaniu z grupą kontrolną ($303,1\pm 75,2$ vs $244,6\pm 44,3$ ng/ml, $p<0,001$) oraz wyższy wskaźnik MMP-2/TIMP-2 ($2,99\pm 0,81$ vs $2,24\pm 0,61$, $p<0,001$), a także mniejsze stężenia MMP-9 ($206,8\pm 114,6$ vs $335\pm 135,4$ ng/ml, $p<0,0001$) i TIMP-2 ($102,4\pm 13,3$ vs $112,0\pm 13,4$ ng/ml, $p<0,0001$). Stężenia pozosta-

Abstract

Growth hormone deficiency (GHD) can be associated with premature atherosclerosis and cardiovascular disease. The vascular endothelial inflammatory process plays a key role in the pathogenesis of atherosclerosis. Recent scientific reports has proved that matrix metalloproteinases participate in the development of atherosclerotic process. **The aim of study was to** evaluate the activity of MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 and chosen markers of inflammation (IL-6, hsCRP) in children with GHD naïve to rhGH. **Material and methods.** The study involved 49 children (19 girls and 29 boys) aged 4,3 to 14,5 years ($x=8,3\pm 3,0$) with diagnosed GHD qualified for rhGH substitution treatment and 23 healthy children (12 girls and 11 boys) aged 3,2 to 12,3 lat ($x=7,6\pm 2,3$). MMP-2, MMP-9, TIMP-2, IL-6, hs-CRP serum levels and the anthropometric parameter (height, weight, BMI) were measured in all patients. **Results.** Patients with GHD had higher concentration of MMP-2 than the control healthy group ($303,1\pm 75,2$ vs $244,6\pm 44,3$ ng/ml, $p<0,001$), as well as higher MMP-2/TIMP-2 ratio ($2,99\pm 0,81$ vs $2,24\pm 0,61$, $p<0,001$) and lower levels of MMP-9 ($206,8\pm 114,6$ vs $335\pm 135,4$ ng/ml, $p<0,0001$) and TIMP-2 ($102,4\pm 13,3$ vs $112,0\pm 13,4$ ng/ml, $p<0,0001$). Levels of all other studied markers of inflammation and lipids were comparable. A correlation of MMP-9 concentration with body mass and BMI SDS of examined children was noticed

łych badanych parametrów zapalnych oraz lipidogram były porównywalne w obu grupach. Wykazano korelację stężenia MMP-9 z masą ciała i BMI SDS badanych dzieci ($r=0,4397$, $p<0,0001$ i $r=0,4397$, $p<0,0001$). **Wnioski.** Większe stężenie MMP-2 oraz wskaźnik MMP-2/TIMP-2 wskazują na bardziej nasilone procesy zapalne u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu w porównaniu do dzieci zdrowych.

Pediatr. Endocrinol. 2018.17.1.62.19-26.
© Copyright by PTEiDD 2018

Wstęp

Znaczący niedobór wysokości ciała dziecka definiowany jest jako wysokość ciała poniżej 3 centyla dla płci i wieku [1]. Niedobór hormonu wzrostu (somatotropinowa niedoczynność przysadki, SNP) jest rzadką przyczyną niskorosłości, występującą z częstością od 1:4000 do 1:10000, zwykle o nieustalonych przyczynach etiologicznych (tzw. idiopatyczny niedobór hormonu wzrostu) [2]. Od wielu lat dzieci z SNP są kwalifikowane do leczenia substytucyjnego rekombinowanym ludzkim hormonem wzrostu (rhGH), zgodnie z programem lekowym [3]. Głównym celem terapii substytucyjnej rhGH jest poprawa tempa wzrastania oraz osiągnięcie prawidłowej wysokości ciała w wieku dorosłym [4]. Chociaż w populacji pediatrycznej hormon wzrostu kojarzony jest przede wszystkim z procesami wzrastania, to jego niedobór może wiązać się z przedwczesnym rozwojem miażdżycy i chorób układu sercowo-naczyniowego [5]. W badaniach dowiedziono korzystny wpływ leczenia hormonem wzrostu u osób dorosłych z SNP na parametry gospodarki tłuszczowej i węglowodanowej, a szczególnie na poprawę profilu metabolicznego i redukcję ryzyka sercowo-naczyniowego [5,6]. Obserwacje dotyczące wpływu leczenia rhGH u dzieci na rozwój miażdżycy są nieliczne, ale także wskazują na korzystny wpływ na ryzyko sercowo-naczyniowe. Noiszewska i wsp. m.in. wykazali poprawę elastyczności naczyń w trakcie substytucyjnej terapii rhGH u młodocianych pacjentów z somatotropinową niedoczynnością przysadki [7].

Obecnie wiadomo, że kluczową rolę w patogenezie miażdżycy odgrywa proces zapalny toczący się w śródbłonku naczyń, co zostało potwierdzone nie tylko w badaniach eksperymentalnych na myszach [8], ale także u pacjentów dorosłych oraz w populacji rozwojowej. W badaniach wła-

($r=0,4397$, $p<0,0001$ i $r=0,4397$, $p<0,0001$). **Conclusions.** Higher levels of MMP-2 and MMP-2/TIMP-2 ratio indicates higher activity of inflammatory processes in patients with GHD in comparison to healthy children.

Endokrynol. Ped. 2018.17.1.62.19-26.
© Copyright by PTEiDD 2018

snych wykazaliśmy zwiększoną ekspresję molekuł adhezyjnych ICAM-1 i VCAM-1 oraz aktywację śródbłonka naczyniowego (e-selektyna) u otyłych nastolatków. Największe nasilenie procesu zapalnego obserwowano u dzieci z insulinoopornością i hiperinsulinemią [9]. Nadal jednak poszukiwane są wczesne markery procesu zapalnego, a szczególnie takie, które miałyby znaczenie prognostyczne wobec zdarzeń sercowo-naczyniowych.

W ostatnich latach pojawiają się dowody na udział niektórych metaloproteinaz w rozwoju wszystkich etapów procesu miażdżycowego [10]. Metaloproteinazy (MMPs) są enzymami proteolitycznymi macierzy zewnątrzkomórkowej, które uczestniczą zarówno w procesach fizjologicznych, takich jak embriogeneza, angiogeneza czy apoptoza, jak i w patogenezie wielu chorób [11]. Aktywność proteolityczna MMPs zależy od aktywności endogennych inhibitorów tkankowych (*tissue inhibitors of metalloproteinases*, TIMPs) specyficznych dla poszczególnych typów MMPs. Zwiększenie aktywności niektórych MMPs we krwi obwodowej oraz zachwianie równowagi w układzie MMPs/TIMPs prowadzi do nasilonej proteolizy, destrukcji śródbłonka oraz zaburzeń stabilności płytki miażdżycowej. Zaburzenia te mogą stanowić ważny czynnik prognostyczny chorób układu sercowo-naczyniowego [12].

MMP-2 oraz MMP-9 należą do grupy żelatynaz. Są one charakterystyczne głównie dla układu naczyniowego i mięśnia sercowego. Wzrost stężenia MMP-2 i MMP-9 zaobserwowano m.in. u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym i niedokrwieniem mózgu [13,14].

Istnieją dowody, że rozwój blaszki miażdżycowej zaczyna się już we wczesnym dzieciństwie [15]. Nasuwa się zatem pytanie, czy pacjenci z SNP już w wieku rozwojowym są w większym stopniu narażeni na zwiększone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych i czy w związku z tym terapia sub-

stytucyjna rhGH prowadzi do redukcji tego ryzyka. Szczepańska i wsp. wykazali, że dzieci z SNP mają znamienne wyższe stężenia MMP-2 i TIMP-2 w porównaniu z grupą kontrolną [16]. U osób dorosłych z SNP stwierdzono podwyższone stężenie cytokin prozapalnych: interleukiny 6 (IL-6) i czynnika martwicy nowotworów (TNF- α), odpowiedzialnych za eskalację odpowiedzi zapalnej w komórkach śródbłonna [17]. Podwyższone stężenia markerów zapalenia i fibrynozy, takich jak: białka C-reaktywnego, fibrynogenu, inhibitora tkankowego aktywatora plazminogenu, homocysteiny oraz białka PAPP-A, u dorosłych pacjentów z niedoborem hormonu wzrostu ulegają częściowemu obniżeniu w trakcie terapii rhGH [18]. Randeva i wsp. również obserwowali istotne zmniejszenie się stężenia MMP2, MMP9 oraz czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) w czasie leczenia rhGH osób dorosłych z SNP [19].

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężeń metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-2 i MMP-9), tkankowego inhibitora metaloproteinazy 2 (TIMP-2) oraz wybranych markerów stanu zapalnego (IL-6, ultraczułe CRP) u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki, zakwalifikowanych do leczenia substytucyjnego rhGH, przed włączeniem terapii.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 49 dzieci (19 dziewczynek i 30 chłopców) w wieku od 4,3 do 14,5 lat ($x=8,3\pm 3,0$) z somatotropinową niedoczynnością przysadki, leczonych w latach 2013–2016 w Klinice Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego UM we Wrocławiu. Pacjenci byli zakwalifikowani do terapii rhGH przez Zespół Koordynacyjny ds. Stosowania Hormonu Wzrostu zgodnie z obowiązującymi kryteriami włączenia [3].

Grupę kontrolną stanowiło 23 dzieci (12 dziewczynek i 11 chłopców) w wieku od 3,2 do 12,3 lat ($x = 7,6 \pm 2,3$) z prawidłowym wzrostem i masą ciała. Grupa badana i grupa kontrolna nie różniły się pod względem rozkładu płci i wieku.

U każdego pacjenta dokonano pomiaru wysokości ciała za pomocą stadiometru Harpendena z dokładnością do 1 mm oraz masy ciała przy pomocy elektronicznej wagi z dokładnością do 0,1 kg.

Wysokość ciała i masę ciała wyrażono wartością wskaźnika odchylenia standardowego (odpowiednio: *height SDS*, *HtSDS* oraz *weight SDS*, *WtSDS*) dla wieku i płci. Obliczono współczynnik BMI (*body mass index*) oraz jego odchylenie standardowe dla wieku i płci (BMI-SDS), w tym także dla wieku wzrostowego. Pomiary auksologiczne odnoszono do siatek centylowych dzieci warszawskich [20].

Krew w grupie badanej pobierano przed włączeniem terapii hormonem wzrostu. U dzieci z SNP oraz w grupie kontrolnej oznaczono następujące parametry biochemiczne: HbA1c, cholesterol całkowity (TCH), cholesterol LDL (LDL-CH), cholesterol HDL (HDL-CH), trójglicerydy (TG) i IGF-1 oraz metaloproteinazę-9 (MMP-9), metaloproteinazę-2 (MMP-2), tkankowy inhibitor metaloproteinazy-2 (TIMP-2), interleukinę 6 (IL-6) i wysokoczułe białko C-reaktywne (*high-sensitivity C-reactive protein*, hsCRP). Parametry gospodarki lipidowej (cholesterol całkowity, frakcja LDL i HDL, TG), odsetek hemoglobiny glikowanej (HbA1c) oraz insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1) oznaczono w laboratorium szpitalnym przy użyciu standardowych metod laboratoryjnych. Stężenie IGF-1 wyrażono wskaźnikiem IGF-1-SDS w odniesieniu do wieku kalendarzowego.

Stężenia: MMP-2, MMP-9, TIMP-2, IL-6 i wysokoczułe białko C-reaktywne zostały oznaczone za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA przy użyciu komercyjnych zestawów (R&D System).

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Od opiekunów prawnych dzieci uzyskano świadomą pisemną zgodę na wykonanie badań.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy programu Statistica 12 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Jako miar statystycznych opisujących wyniki używano: średniej arytmetycznej (\bar{x}), mediany (Me), odchylenia standardowego (SD) oraz rozstępu kwartylowego (QR). Podano ponadto wartości minimalne (Min) i maksymalne (Max) oznaczanych parametrów w badanych grupach.

Zgodność rozkładu analizowanej próby z rozkładem normalnym sprawdzano testem W Shapiro-Wilka. Jeśli rozkład porównywanych prób nie różnił się istotnie od rozkładu normalnego o statystycznie jednakowej wariancji, do oceny różnic używano testu t Studenta. W przypadku, gdy założenia wymagane do przeprowadzenia testu t Studenta nie były spełnione, zastosowano test U Man-

na-Whitneya. W opisie współzależności badanych parametrów wykorzystano współczynnik korelacji Pearsona lub Spearmana.

Różnicę uznawano za istotną statystycznie przy $p < 0,05$.

Wyniki

Charakterystykę wskaźników antropometrycznych badanych grup przedstawiono w tabeli I.

Stężenia zarówno metaloproteinazy 9 (MMP-9), jak i tkankowego inhibitora metaloproteinazy-2 (TIMP-2) były istotnie mniejsze w grupie dzieci z SNP w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenie metaloproteinazy 2 (MMP-2) było istotnie większe w grupie dzieci z SNP. Stężenia markerów zapalnych IL-6 oraz hsCRP były porównywalne w obu grupach i korespondujące z profilem lipidowym.

Wskaźnik odchylenia standardowego IGF-1-SDS w odniesieniu do wieku kalendarzowego był istotnie ($p < 0,02$) mniejszy w grupie dzieci z SNP w porównaniu do grupy kontrolnej ($-1,5 \pm 0,7$ vs $-1,0 \pm 0,8$). Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabeli II.

Stężenie MMP-9 u dzieci z częściowym niedoborem hormonu wzrostu było istotnie ($p < 0,05$)

większe niż u dzieci z całkowitym niedoborem wzrostu ($220,3 \pm 118,2$ ng/ml vs $127,7 \pm 35,1$ ng/ml), ale mniejsze niż u dzieci zdrowych ($335,7 \pm 135,4$, $p < 0,001$). Stężenia pozostałych badanych parametrów nie różniły się w zależności od stopnia niedoboru GH.

W grupie dzieci z SNP zaobserwowano odwrotną korelację stężenia MMP-2 i MMP-9 ($r = -0,3015$, $p < 0,05$), IL-6 ($r = -0,3582$, $p < 0,05$) oraz hsCRP ($r = -0,3848$, $p < 0,01$), a także zależność MMP-9 i hsCRP ($r = 0,3919$, $p < 0,01$) oraz IL-6 i hsCRP ($r = 0,4935$, $p = 0,001$). W grupie kontrolnej natomiast nie odnotowano istotnej zależności MMP-2 z badanymi parametrami, zaś stężenia zarówno MMP-9, jak i TIMP-2 korelowały z poziomem hsCRP (odpowiednio: $r = 0,4527$, $p < 0,05$; $r = -0,4645$, $p < 0,05$).

Macierz korelacji badanych parametrów i masy ciała wszystkich dzieci podano w tabeli III. U pacjentów z SNP nie odnotowano korelacji badanych parametrów z masą ciała jak i BMI (wyrażonym zarówno w wartościach bezwzględnych, jak i w odniesieniu populacyjnym). W grupie kontrolnej natomiast stężenie IL-6 korelowało z WtSDS ($r = 0,4780$, $p < 0,05$), jak i BMI ($r = 0,4613$, $p < 0,05$) oraz BMI SDS (określonym dla wieku wzrostowego) ($r = 0,4607$, $p < 0,05$).

Tabela I. Wskaźniki antropometryczne pacjentów z niedoborem hormonu wzrostu (SNP) i grupy kontrolnej
Table I. Anthropometrics of the patients with growth hormone deficiency (GHD) and the control group

| Zmienna | Pacjenci z SNP <i>Patients with GHD</i> <i>n=49</i> | | | Grupa kontrolna <i>Control group</i> <i>n=23</i> | | | p |
|------------------------------------|---|---------------|--------------|--|---------------|-------------|-------------|
| | Średnia±SD | Mediana (QR) | Min-Max | Średnia±SD | Mediana (QR) | Min-Max | |
| Wiek (lata) | 8,3±3,0 | 7,9 (4,7) | 4,3–14,5 | 7,6±2,3 | 7,2 (3,3) | 3,2–12,3 | $p > 0,05$ |
| Masa ciała (kg) | 21,7±7,3 | 18,8 (10,4) | 12,7–38,7 | 29,9±11,6 | 29,4 (17,9) | 15,0–56,0 | $p < 0,01$ |
| WtSDS | -1,9±1,1 | -2,0 (1,3) | -4,0–1,8 | 1,6±1,75 | 1,35 (3,7) | -0,9–4,5 | $p < 0,001$ |
| Wys. ciała (Ht) [m] | 1,152±0,144 | 1,145 (0,231) | 0,905–1,455 | 1,283±0,156 | 1,271 (0,243) | 0,96–1,57 | $p < 0,001$ |
| HtSDS | -3,0±0,7 | -2,80 (0,71) | -4,9– (-1,8) | 0,37±0,97 | 0,40 (1,41) | -1,34–2,41 | $p < 0,001$ |
| BMI (kg/m ²) | 15,9±2,1 | 15,5 (2,3) | 11,9–22,5 | 17,4±2,9 | 16,9 (5,5,1) | 12,84–22,65 | $p < 0,05$ |
| BMI-SDS | -0,3±1,6 | -0,6 (1,5) | -3,7–6,7 | 0,88±1,85 | 1,0 (3,5) | -2,33–3,91 | $p < 0,01$ |
| BMI-SDS względem wieku wzrostowego | 0,05±1,75 | -0,3 (1,9) | -3,8–6,4 | 0,72±1,75 | 1,0 (2,8) | -2,3–3,9 | $p > 0,05$ |

Tabela II. Stężenie MMP-9, MMP-2, TIMP-2, IL-6, hs-CRP, cholesterolu całkowitego, LDL, HDL, trójglicerydów, IGF-1 i odsetek HbA1c w grupie pacjentów z niedoborem hormonu wzrostu (SNP) i w grupie kontrolnej

Table II. MMP-9, MMP-2, TIMP-2, IL-6, hs-CRP, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerides concentrations, IGF-1 and HbA1c in patients with growth hormone deficiency (GHD) before treatment and the control group

| Zmienna | Pacjenci z SNP Patients with GHD n=49 | | | Grupa kontrolna Control group n=23 | | | p |
|-------------------|---|------------------|-----------------|--|------------------|-------------|----------|
| | Średnia±SD | Mediana (QR) | Min-Max | Średnia±SD | Mediana (QR) | Min-Max | |
| MMP-9 (ng/ml) | 206,8±114,6 | 165,8 (135,1) | 74,5–529,6 | 335,7±135,4 | 317,2 (215,4) | 159,8–641,0 | p<0,0001 |
| MMP-2 (ng/ml) | 303,1±75,2 | 289,2 (86,5) | 167,5– 578,4 | 244,6±44,3 | 248,6 (61,9) | 146,8–320,5 | p<0,001 |
| TIMP-2 (ng/ml) | 102,4±13,3 | 100,0 (13,9) | 75,1–148,4 | 112,0±13,4 | 114,4 (20,4) | 71,7–130,0 | p<0,0001 |
| MMP-2/ TIMP-2 | 2,99±0,81 | 2,76 (1,02) | 1,82–5,30 | 2,24±0,61 | 2,19 (0,81) | 1,24–4,03 | p<0,001 |
| IL-6 (pg/ml) | 1,5±1,6 | 1,0 (0,8) | 0,5–9,2 | 1,1±0,4 | 1,1 (0,6) | 0,55–2,16 | p>0,05 |
| hs-CRP (mg/l) | 1,0±1,6 | 0,5 (1,3) | 0,0–9,9 | 0,4±0,6 | 0,2 (0,3) | 0,04–2,64 | p>0,05 |
| TCH (mg/dl) | 170,9±24,7 | 166,5 (30,5) | 129,0– 243,0 | 160,0±27,2 | 154,0 (47,0) | 119,0–223,0 | p>0,05 |
| LDL-CH (mg/dl) | 101,4±22,6 | 104,0 (34,0) | 71,0–152,0 | 93,9±20,2 | 91,5 (35,0) | 61,0–129,0 | p>0,05 |
| HDL-CH (mg/dl) | 54,5±10,1 | 54,0 (13,0) | 37,0–79,0 | 50,2±8,0 | 52,5 (6,0) | 31,0–62,0 | p>0,05 |
| TG (mg/dl) | 88,0±44,9 | 78,0 (30,0) | 40,0–258,0 | 76,8±33,9 | 67,0 (48,0) | 36,0–158,0 | p>0,05 |
| IGF-1 (ng/ml) | 136,6±88,1 | 112,5 (101,9) | 20,7–461,0 | 152,6±74,9 | 149,0 (110,1) | 30,0–318,0 | p>0,05 |
| IGF-1-SDS | -1,5±0,7 | -1,5 (0,9) | -3,0–0,6 | -1,0±0,8 | -0,9 (1,1) | -2,3–0,9 | p<0,05 |
| HbA1c (%) | 5,3±0,3 | 5,3 (0,5) | 4,5–6,0 | 5,3±0,3 | 5,3 (0,4) | 4,7–5,9 | p>0,05 |

Zarówno w grupie dzieci z SNP, jak i kontrolnej nie stwierdzono zależności stężeń badanych parametrów i witaminy D3.

Dyskusja

W badaniach z ostatnich lat wielokrotnie potwierdzano, że przewlekły subkliniczny stan zapalny, towarzyszący dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, odgrywa istotną rolę w patogenezie miażdżycy. Markerami tego procesu, a jednocześnie niezależnymi predyktorami chorób sercowo-naczyniowych, są między innymi interleukina 6 i wysokoczułe białko c-reaktywne [21]. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej są enzy-

mami proteolitycznymi zaangażowanymi w przebudowę macierzy pozakomórkowej. Ich stężenie rośnie w odpowiedzi na stan zapalny. Zwiększona aktywność MMPs została wykazana m.in. w chorobach sercowo-naczyniowych, takich jak choroba niedokrwienna serca, a także w udarze niedokrwiennym mózgu. MMPs uważany jest za jeden z kluczowych czynników prowadzących do powstawania blaszki miażdżycowej [22,23]. Uznany czynnikiem ryzyka rozwoju arterosklerozy jest niedobór hormonu wzrostu. Badania wykazały, że wdrożenie terapii hormonem wzrostu u osób dorosłych zmniejszało ryzyko zachorowania na choroby sercowo-naczyniowych poprzez obniżanie się stężenia markerów zapalenia, w tym także MMPs [19].

Tabela III. Korelacje MMP-2, MMP-9, TIMP-2, IL-6 i hsCRP z masą ciała i BMI badanych dzieci (łącznie dla grupy SNP i kontrolnej, N=68)

Table III. Correlations of MMP-2, MMP-9, TIMP-2, IL-6 and hsCRP with body mass and BMI in studied children (together GHD and control groups, N=68)

| Zmienna | Korelacje | | | | |
|------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | MMP-2 | MMP-9 | TIMP-2 | IL-6 | hsCRP |
| Masa ciała | -0,2873 p<0,05 | 0,1454 p>0,05 | -0,0331 p>0,05 | -0,0887 p>0,05 | 0,0417 p>0,05 |
| WtSDS | -0,3722 p<0,05 | 0,4397 p<0,0001 | 0,1503 p>0,05 | -0,0362 p>0,05 | 0,0370 p>0,05 |
| BMI | -0,2938 p<0,05 | 0,1915 p>0,05 | -0,0484 p>0,05 | 0,0092 p>0,05 | 0,3037 p<0,05 |
| BMI SDS (dla wieku kalendarzowego) | -0,2961 p<0,05 | 0,2837 p<0,05 | 0,0725 p>0,05 | 0,0528 p>0,05 | 0,3453 p<0,05 |
| BMI SDS (dla wieku wzrostowego) | -0,2801 p<0,05 | 0,1791 p>0,05 | 0,0314 p>0,05 | 0,0040 p>0,05 | 0,3791 p=0,001 |

Błazka miażdżycowa rozwija się już we wczesnym dzieciństwie. U pacjentów otyłych, ale także u chorych z dysfunkcjami wpływającymi na gospodarkę lipidową i węglowodanową, a więc u pacjentów z SNP, można spodziewać się większego nasilenia arterosklerozy. Za wskaźniki tego procesu uznaje się stężenie m.in. cytokin zapalnych, molekuł adhezyjnych czy badanych metaloproteinaz [24].

U badanych przez nas dzieci z niedoborem hormonu wzrostu, zakwalifikowanych do terapii rhGH, stwierdzono istotnie większe stężenie metaloproteinazy 2 w porównaniu do grupy dzieci zdrowych. Wynik ten jest zgodny z obserwacjami Szczepańskiej i wsp. poczynionymi w grupie dzieci, jak i Randeva i wsp. realizowanymi u pacjentów dorosłych [16,19]. Większe stężenie MMP-2 wskazywałoby na większą aktywację procesów zapalnych u pacjentów z somatotropinową niedoczynnością przysadki już w okresie przedpokwitaniowym.

Z drugiej strony stężenia MMP-9 jak i TIMP-2 u dzieci z SNP były mniejsze w porównaniu do grupy kontrolnej. Dodatkowo wykazano odwrotną zależność stężenia nie tylko MMP-9 i MMP-2, ale także MMP-2 z IL-6, a także korelację stężeń hsCRP z MMP-9 i IL-6 oraz odwrotną korelację hsCRP i MMP-2. Te dane wskazywałyby na mniej nasilony stan zapalny u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu w porównaniu do zdrowych rówieśników. Wyniki te są sprzeczne z cytowanymi już wynikami

prac Szczepańskiej i wsp. i Randevy i wsp. [16,19]. Badania Florys i wsp. wykonane u dzieci oraz Prystupy i wsp. obejmujące osoby dorosłe wskazują na związek MMPs, zwłaszcza MMP-9, z masą ciała i BMI [25,26]. W badanej grupie zarówno BMI, jak i BMI-SDS (względem wieku kalendarzowego) dzieci z SNP było istotnie mniejsze w porównaniu do grupy kontrolnej. Porównywalne pomiędzy grupami były jedynie BMI w odniesieniu do wieku wzrostowego. Podobnie jak w cytowanych badaniach, aktywność MMP-9 u badanych przez nas dzieci dodatkowo korelowała z masą ciała i BMI. W naszej opinii mniejsze stężenie MMP-9 mogło wynikać właśnie z mniejszej masy ciała pacjentów z niedoborem hormonu wzrostu w porównaniu do dzieci zdrowych.

Ekspresja metaloproteinaz (MMPs) jest regulowana przez odpowiednie tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs), np. TIMP-2 łącząc się z aktywną i nieaktywną postacią MMP-2 przyczynia się do aktywacji pro-MMP-2 [27]. Brak równowagi między MMPs i TIMPs może prowadzić do niekontrolowanej degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, obserwowanej w wielu stanach patologicznych, także w miażdżycy. Wyższą wartość MMPs/TIMPs, która wskazuje na bardziej nasilony proces zapalny, stwierdzano m.in. u otyłych dzieci, u których korelowała ona z grubością błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej (*carotid artery intima media thickness*, ca-IMT) [28]. W badanej przez nas grupie dzieci z niedoborem hormonu wzrostu

wskaźnik MMP-2/TIMP-2 również był wyższy niż w grupie kontrolnej. Wydaje się więc, że pomimo mniejszych bezwzględnych stężeń czynników zapalnych, takich jak MMP-9, możemy przyjąć, że u pacjentów z somatotropinową niedoczynnością przysadki już w wieku rozwojowym występuje większe nasilenie procesów prowadzących do rozwoju miażdżycy.

Niejednoznaczne wyniki uzyskane w naszym badaniu mogą także wynikać z różnej aktywności fizycznej badanych dzieci. Wykazywano, że stężenie metaloproteinaz zmienia się pod wpływem wysiłku fizycznego: trening wytrzymałościowy trwający od 5 do 12 tygodni może zwiększać aktywność MMP-2 i -9 zarówno u ludzi, jak i w modelach zwierzęcych, natomiast trening tlenowy w dłuższej perspektywie czasowej zmniejsza stężenia metaloproteinaz. Przeciwnie, bezpośrednio

po sesji ćwiczeń aerobowych stężenie MMPs rośnie, a po treningu wytrzymałościowym – obniża się [29]. Nie mamy danych na temat aktywności fizycznej ocenianej przez nas grupy, co jest pewnym ograniczeniem badania, podobnie nie możemy odnieść otrzymanych wyników do zawartości tkanki tłuszczowej i mięśniowej pacjentów.

Wnioski

Wyższe stężenie MMP-2 oraz wyższy wskaźnik MMP-2/TIMP-2 mogą wskazywać na większą aktywność procesów zapalnych u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu w porównaniu do dzieci zdrowych.

Stężenie MMP-9 zależy od masy ciała badanych dzieci.

Piśmiennictwo / References

1. Majcher A., Witkowska-Sędek E., Bielecka-Jasiocha J., Pyrzak B.: Przyczyny niedoboru wysokości ciała dzieci a wysokość ciała rodziców. *Med. Wieku Rozw.*, 2012;XVI, 2, 89-95.
2. Oczkowska U.: Definicja i przyczyny niskorosłości oraz kryteria diagnostyczne niedoboru hormonu wzrostu. *Endokrynol. Ped.*, 2009;9, 6-12.
3. <http://www.mz.gov.pl/leki/refundacja/programy-lekowe/> (Załącznik B.19. – leczenie niskorosłych dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki)
4. Hilczer M.: Ocena czynników prognostycznych skuteczności leczenia hormonem wzrostu u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki. *Clin. Exp. Med. Lett.*, 2006;47, 7-44.
5. Bollerslev J., Ueland T., Jorgensen A. et al.: Positive effects of a physiological dose of GH on markers of atherogenesis: a placebo-controlled study in patients with adult onset GH deficiency. *Society of the European Journal of Endocrinology*, 2006;4, 537-543.
6. Pastuszak A.W., Shun Lai W., Khera M., Lipshultz L.I.: Systemic Effects of Growth Hormone in Growth Hormone Deficient Adults: A Meta-Analysis of 48 Prospective Studies. *Open Journal of Urology*, 2012;3, 87-103.
7. Noiszewska K., Krentowska A., Skoneczny A., Mazur A., Bossowski A.: Analiza wstępna wybranych parametrów ciśnienia centralnego u młodocianych pacjentów z somatotropinową niedoczynnością przysadki. *Endokrynol. Ped.*, 2016;15 (54), 9-15.
8. Jawień J., Jawień M.: Pathophysiology of atherosclerosis based on research on apoE-knockout mice and their usefulness in checking new antiatherosclerotic agents. *Acta Angiol.*, 2009;15;1, 1-9.
9. Zubkiewicz-Kucharska A., Chrzanowska J., Nocoń-Bohusz J., Noczyńska A.: Badania zaburzeń czynności śródbłonna i procesów zapalnych u otyłych nastolatków z zespołem metabolicznym. *Endokrynol. Pediatr.*, 2012;1, 53-59.
10. Fic P., Zakrocka I., Kurzepa J., Stepulak A.: Matrix metalloproteinases and atherosclerosis. *Post. Hig. Med. Dośw.* (online), 2011;65, 16-27.
11. Lipka D., Boratyński J.: Metalloproteinases. Structure and function, *Post. Hig. Med. Dośw.* (online), 2008;62, 328-336.
12. Arpino V., Brock M., Gill S.: The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *J. Art.*, 2015: 44-46, 247-254 (online) dx.doi.org/10.1016/j.matbio.2015.03.005
13. Kai H., Ikeda H., Yasukawa H. et al.: Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and 9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998;32, 368-372.
14. Mun-Bryce S., Rosenberg G.A.: Matrix metalloproteinases in cerebrovascular disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1998;18, 1163-1172.
15. Kavery R.E., Daniels S.R, Lauren R.M. et al.: American Heart Association guidelines for primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Circulation*, 2003;107, 1562-1566.
16. Szczepańska-Kostro J., Kowalewski M., Urban M. et al.: Ocena stężeń metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 2 (MMP-2), metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 9 (MMP-9) i tkankowego inhibitora metaloproteinazy 2 (TIMP-2) u dzieci i młodzieży z niedoborem hormonu wzrostu. *Endokrynol. Diabetol. Chor. Przemiany Materii Wieku Rozw.*, 2006;12, 257-260.
17. Lanes R.: Cardiovascular risk in growth hormone deficiency. Beneficial effects of growth hormone replacement therapy. *Endocrinol. Metab. Clin.*, 2016;45, 405-418.
18. De Leonibus C., De Marco S., Stevens A., Clayton P. et al: Growth hormone deficiency in prepubertal children: Predictive Markers of Cardiovascular Disease. *Horm. Res. Peadiatr.*, 2016;85, 363-371.
19. Randevara H.S., Lewandowski K.C., Komorowski J., Murray R.D. et al.: Growth hormone replacement decreases plasma levels of matrix metalloproteinases (2 and 9) and vascular endothelial growth factor in growth hormone-deficient individuals. *Circulation*, 2004: 2405-2410.
20. Palczewska I., Niedźwiedzka Z.: Wskaźniki rozwoju somatycznego

- dzieci i młodzieży warszawskiej. *Med. Wieku Rozw.*, 2001:5 (1-2, supl).
21. Bielecka-Dąbrowska A., Wierzbička M., Goch J. H.: Cytokiny prozapalne w chorobach układu krążenia jako potencjalny cel terapeutyczny. *Wiadomości Lekarskie*, 2007:9-10, 433-438.
22. Wysocka A., Giziński S., Lechowski R.: Metaloproteinazy macierzy – ich struktura oraz znaczenie. *Życie Weterynaryjne*, 2014:89(3), 223-227.
23. Rogowicz A., Zozulińska D., Wierusz-Wysocka B.: Znaczenie metaloproteinaz i ich inhibitorów w procesie naczyniowych powikłań cukrzycy – możliwości terapeutyczne. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 2007:117 (3), 103-108.
24. Jawień J.: Nowe immunologiczne spojrzenie na patogenezę miażdżycy. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 2008:118 (3), 1-5.
25. Florys B., Urban M., Głowińska B., Peczyńska J., Krasowska I.: Stężenie metaloproteinaz 2 i 9 w surowicy krwi u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1. *Endokrynol. Ped.*, 2006:3(16), 27-34.
26. Prystupa A., Kancik E., Dyczko M., Dzida G. et al.: Metaloproteinazy macierzy MMP-2 i MMP-9 w surowicy pacjentów z cukrzycą typu 2. *Family Medicine & Primary Care Review*, 2011:13, 2, 229-232.
27. Arpino V., Brock M., Gill S.E.: The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol.*, 2015:44-46, 247-254.
28. Andrade C., Bosco A., Sandrim V., Silva F.: MMP-9 Levels and IMT of Carotid Arteries are Elevated in Obese Children and Adolescents Compared to Non-Obese. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2017:108(3), 198-203.
29. Jaoude J., Koh Y.: Matrix metalloproteinases in exercise and obesity. *Vasc. Health Risk Manag.*, 2016:12, 287-295.