

Ocena stężenia leptyny oraz rozpuszczalnej frakcji receptora dla niej u dzieci i młodzieży z chorobą Leśniowskiego-Crohna

Evaluation of concentration of leptin and soluble receptor bound fraction of leptin in children and youth with Crohn's disease

Sylwia Murawska¹, Renata Kuczyńska¹, Grażyna Mierzwa¹, Arleta Kulwas², Danuta Rość², Piotr Landowski³, Barbara Kamińska³, Mieczysława Czerwionka-Szaflarska¹

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra i Zakład Patofizjologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

³Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Onkologii Dziecięcej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Przegląd Gastroenterologiczny 2009; 4 (5): 262–272

Słowa kluczowe: leptyna, OB-Re, choroba Leśniowskiego-Crohna.

Key words: leptin, OB-Re, Crohn's disease.

Adres do korespondencji: lek. med. Sylwia Murawska, Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel. +48 52 585 48 50, faks +48 52 585 48 60, e-mail: klped@cm.umk.pl

Streszczenie

Wprowadzenie: Leptyna jest hormonem, który m.in. promuje ujemny bilans energetyczny oraz działa prozapalnie. Uważa się, że rozpuszczalna frakcja receptora dla leptyny (OB-Re) pełni istotną funkcję w regulacji stężenia hormonu we krwi. Chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChLC) zalicza się do nieswoistych zapaleń jelit, których istotnym powikłaniem jest niedożywienie.

Cel: Ocena stężenia leptyny oraz OB-Re we krwi dzieci i młodzieży z ChLC.

Materiał i metody: Badaniem objęto 57 dzieci i młodzieży obojga płci, w tym 27 z ChLC (grupa badana) oraz 30 zdrowych (grupa porównawcza). Oznaczono stężenie leptyny i OB-Re w surowicy oraz obliczono wskaźnik masy ciała (*body mass index* – BMI). U pacjentów z ChLC oceniono aktywność procesu zapalnego.

Wyniki: Stężenie leptyny (ng/ml) było mniejsze w grupie badanej (cała grupa – 5,10 vs 14,28, $p = 0,0005$, dziewczęta – 6,26 vs 15,52, $p = 0,003$, chłopcy – 3,74 vs 9,42, $p = 0,45$). Stężenie OB-Re (ng/ml) było podobne w obu grupach, jedynie u chłopców z ChLC nieistotnie zmniejszone (12,83 vs 20,25, $p = 0,07$). U pacjentów z ChLC stężenia leptyny i OB-Re odwrotnie korelują w analizie dla całej grupy oraz dziewcząt. Aktywność procesu chorobowego nie wpływa na stężenie OB-Re. U pacjentów z ChLC wartość BMI pozytywnie koreluje ze stężeniem leptyny u dziewcząt ($p = 0,049$), ujemnie ze stężeniem OB-Re w analizie dla całej grupy ($p = 0,0001$) oraz chłopców ($p = 0,02$).

Abstract

Introduction: Leptin is a hormone that promotes negative energy balance and acts proinflammatorily. It is thought that the soluble receptor bound fraction of leptin (OB-Re) performs a vital function in the regulation of hormone concentration in blood. Crohn's disease (CD) belongs to a group of inflammatory bowel diseases whose significant complication is malnutrition.

Aim: To estimate leptin and OB-Re concentration in the blood of children and youth with CD.

Material and methods: The study examined 57 children and youth of both sexes, including 27 CD patients (study group) and 30 healthy subjects (comparative group). Leptin and OB-Re concentrations in the blood serum were determined and body mass index (BMI) was calculated. The morbid process activity in CD patients was assessed.

Results: Leptin concentration [ng/ml] was lower in the study group (all group – 5.10 vs. 14.28, $p = 0.0005$, girls – 6.26 vs. 15.52, $p = 0.003$, boys – 3.74 vs. 9.42, $p = 0.45$). OB-Re concentration [ng/ml] was parallel in both groups, and only for boys with CD was insignificantly lower (12.83 vs. 20.25, $p = 0.07$). Leptin and OB-Re concentrations correlated in an analysis excluding sex distinguishing factors as well as for girls. The morbid process activity did not influence OB-Re concentration. For CD patients BMI positively correlated with leptin concentration in girls ($p = 0.049$) and negatively with OB-Re concentration in an analysis for the whole group ($p = 0.0001$) and for boys ($p = 0.02$) with CD.

Wnioski:

1. Stężenie leptyny zmniejszyło się w przebiegu ChLC.
2. U pacjentów z tym schorzeniem stężenie OB-Re ujemnie koreluje z BMI oraz stężeniem leptyny, co może wskazywać na jego protekcyjne i regulacyjne działanie w stosunku do hormonu.
3. Stopień odżywienia jest ważniejszym niż aktywność procesu zapalnego czynnikiem regulującym stężenie leptyny we krwi u pacjentów z ChLC.
4. Konieczne są dalsze badania oceniające wpływ tej choroby na stężenie leptyny i OB-Re u dzieci i młodzieży.

Wprowadzenie

Leptyna jest opisanym w 1994 r. hormonem peptydowym, typowo utworzonym przez łańcuch 166 lub 167 aminokwasów. W warunkach fizjologicznych podstawowym miejscem syntezy hormonu są adipocyty białej tkanki tłuszczowej, a jego stężenie we krwi jest wprost proporcjonalne do wartości wskaźnika masy ciała (*body mass index* – BMI). Leptyna, niosąc informację o dodatnim bilansie energetycznym, aktywuje procesy mające na celu redukcję zapasów energii, m.in. poprzez zwiększenie wydatku energetycznego oraz zmniejszenie łaknienia. Hormon ma strukturę przestrzenną analogiczną do budowy długołańcuchowych helikalnych cytokin i jest aktywny immunologicznie. Działa prozapalnie i przesuwa równowagę odpowiedzi Th1/Th2 w kierunku Th1. Moduluje ponadto czynność układów endokrynologicznego, pokarmowego i nerwowego oraz wpływa na proliferację i przeżycie komórek [1–8].

Punktem uchwytu dla leptyny jest receptor (*obese-receptor* – OB-R) należący do I klasy receptorów cytokinowych. Występuje on w 5 formach oznaczonych kolejnymi literami alfabetu (OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, OB-Rd, OB-Re), gdzie OB-Ra–OB-Rd są receptorami błonowymi, natomiast OB-Re receptorem rozpuszczalnym lub wydzielniczym, tj. niezwiązanym z błonami czy cytoplazmą komórek. Uważa się, że OB-Re może odgrywać istotną rolę w regulacji stężenia leptyny w surowicy. Udowodniono, że w stanach, w których na skutek zmniejszenia ilości tkanki tłuszczowej zmniejsza się stężenie hormonu, ekspresja genu kodującego OB-Re ulega wzmożeniu. To z kolei prowadzi do zwiększenia stężenia leptyny we krwi, niewynikającego jednak z nasilenia ekspresji genu kodującego hormon [9–11].

Chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChLC) zalicza się do nieswoistych zapaleń jelit (NZJ), które stanowią grupę przewlekłych zapalnych schorzeń przewodu pokarmowego, związanych z nieprawidłową odpowiedzią immunologiczną u osób genetycznie predysponowanych. Uważa się, że etiologia choroby jest złożona, a składają się na nią czynniki: genetyczne, immunologiczne i środowiskowe. Proces zapalny obejmuje wszystkie war-

Conclusions:

1. Leptin concentration is lower in CD patients.
2. OB-Re concentration negatively correlates with BMI and leptin concentration in CD patients what can indicate for its protective and regulative meaning in relation to hormone.
3. Nutritional status is more important activity regulative factor for leptin blood concentration in CD patients than morbid process activity.
4. Further studies on the influence of CD on leptin and OB-Re concentrations are necessary.

stwy ściany przewodu pokarmowego i może lokalizować się w dowolnym jego odcinku. Choroba może manifestować się objawami jelitowymi, takimi jak: bóle brzucha, wzdęcia czy nieprawidłowe wypróżnienia, lub pozajelitowymi. Do najczęstszych powikłań choroby w wieku dziecięcym należą opóźnienie wzrastania, dojrzewania oraz niedożywienie [12–16].

Biorąc pod uwagę fakt, że leptyna moduluje odpowiedź immunologiczną, przesuując równowagę Th w kierunku Th1, sprzyjając tym samym nasilaniu się występujących w przebiegu ChLC zaburzeń czynności układu limfatycznego, nasuwa się pytanie, jakie jest miejsce hormonu w patogenezie tego typu zapalenia przewodu pokarmowego. Czy możliwe jest, że w zasadzie niekorzystny fakt pogorszenia się stanu odżywienia w przebiegu choroby może w globalnym efekcie mieć pozytywny wydźwięk ze względu na zmniejszenie stężenia syntetyzowanej głównie przez tkankę tłuszczową leptyny? Interesująca jest również możliwość pełnienia w stosunku do stężenia hormonu regulatorowej funkcji przez OB-Re, a tym samym znaczenie receptora w patomechanizmie i przebiegu choroby.

Cel

Celem pracy była ocena stężenia leptyny oraz OB-Re we krwi dzieci i młodzieży z chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Materiał i metody

Badaniem objęto 57 dzieci i młodzieży obojga płci, w tym 27 z ChLC (grupa badana) oraz 30 zdrowych (grupa porównawcza).

Około godziny 8.00, po 8 godz. snu nocnego, od pacjenta będącego na czczo pobierano krew żylną w celu uzyskania surowicy do oznaczeń stężenia leptyny i OB-Re. Oznaczenia wykonano za pomocą odpowiednich testów ELISA (Human Leptin Elisa Kit, Millipore; Human Leptin Receptor Elisa, BioVendor Laboratory Medicine, Inc) w Katedrze i Zakładzie Patofizjologii *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy.

U dzieci i młodzieży z ChLC oznaczano OB oraz stężenie hemoglobiny i albumin, obliczano również wartość wskaźnika aktywności tego schorzenia (*Pediatric Crohn's Disease Activity Index* – PCDAI) w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego [16].

Po zabezpieczeniu krwi włączone do badania dzieci i młodzież mierzono i ważono. Następnie na podstawie uzyskanych danych obliczano BMI [16] wg następującego wzoru:

$$\text{BMI} = \frac{\text{masa ciała [kg]}}{(\text{wysokość ciała [m]})^2}$$

Otrzymane wyniki odnoszono do siatek centylowych dla populacji dzieci i młodzieży warszawskiej opracowanych przez Palczewską i Niedźwiecką [17].

Dane demograficzne, antropometryczne oraz wyniki oznaczeń laboratoryjnych gromadzono w skonstruowanych na potrzeby badania kwestionariuszach osobowych.

Do wykonania obliczeń statystycznych oraz wykresów wykorzystano programy Microsoft Excel 2000 oraz Statistica 8.0.

Wyniki

Pacjenci z ChLC nie różnili się w sposób istotny statystycznie od zdrowych dzieci i młodzieży pod względem wieku (14,2 ±2,67 vs 13,8 ±2,88, $p = 0,54$), środowiska życia ($p = 0,78$) oraz bezwzględnej wartości BMI (18,7 ±2,69 vs 20,0 ±2,92, $p = 0,08$). Wyrażony w latach wiek dziewcząt mieścił się granicach 13–17 lat w grupie

badanej oraz 7–17,5 roku w grupie porównawczej, natomiast u chłopców odpowiednio 11–17,5 roku i 11–17 lat. Udział dziewcząt w grupie porównawczej był większy niż w badanej, jednak różnica nie osiągała poziomu istotnego statystycznie ($p = 0,06$). W analizie uwzględniającej odrębność płci również nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupą badaną a porównawczą w zakresie bezwzględnej wartości BMI (dziewczęta 18,06 ±2,28 vs 19,84 ±2,99, $p = 0,07$, chłopcy: 19,38 ±2,80 vs 20,57 ±2,62, $p = 0,34$). Odniesiona do siatek centylowych wartość BMI była natomiast istotnie statystycznie mniejsza u chorych dzieci i młodzieży, co wykazano w analizie nieuwzględniającej odrębności płci ($p = 0,01$) oraz dla dziewcząt ($p = 0,006$). Uzyskane wyniki przedstawiono w tabelach I i II oraz na rycinie 1.

Wartość PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego mieściła się w szerokim przedziale 0,0–57,5. Wykluczono normalny rozkład zmiennej ($p < 0,05$ w teście Shapiro-Wilka) zarówno w analizie dla całej grupy, jak i w odrębnych analizach dla dziewcząt i chłopców, w związku z czym wyniki przedstawiono w postaci mediany oraz wartości minimalnej i maksymalnej. Nie stwierdzono, aby rozkłady zmiennej dla dziewcząt i chłopców różniły się w sposób istotny statystycznie (3,75 vs 12,5, $p = 1,0$).

Rozkład wyników oznaczeń stężenia leptyny oraz OB-Re oceniono, wykorzystując do tego celu test Shapiro-Wilka. Wynik testu pozwolił na odrzucenie hipotezy o normalności rozkładu zmiennych, wobec czego wyniki przedstawiono w postaci kwartyli (*quartile* – Q),

Tabela I. Wyniki analizy porównawczej wartości parametrów demograficznych oraz bezwzględnej wartości BMI charakteryzujących grupę badaną i porównawczą oraz wartości PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego dla grupy badanej

Table I. The results of comparative analysis of demographic factors and absolute value of BMI characterising the study group and the comparative group, and value of PCDAI (Ryżka and Woynarowski modification) for the study group

Parametr	Grupa badana	Grupa porównawcza	Wartość p	
dziewczęta/chłopcy [n/n]	13/14	22/8	0,093 ¹ ; 0,06 ²	
wiek [średnia ± SD]	14,2 ±2,67	13,8 ±2,88	0,54 ³	
miasto/wieś [n/n]	20/7	21/9	0,96 ¹ ; 0,78 ²	
BMI [średnia ± SD]	cała grupa	18,7 ±2,69	20,0 ±2,92	0,08 ⁴
	dziewczęta	18,06 ±2,28	19,84 ±2,99	0,07 ⁴
	chłopcy	19,38 ±2,80	20,57 ±2,62	0,34 ⁴
PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego [mediana (min.–maks.)]	cała grupa	12,5 (0,0–57,5)	–	dziewczęta z ChLC vs chłopcy z ChLC $p = 1,0^3$
	dziewczęta	3,75 (0,0–42,5)	–	
	chłopcy	12,5 (0,0–57,5)	–	

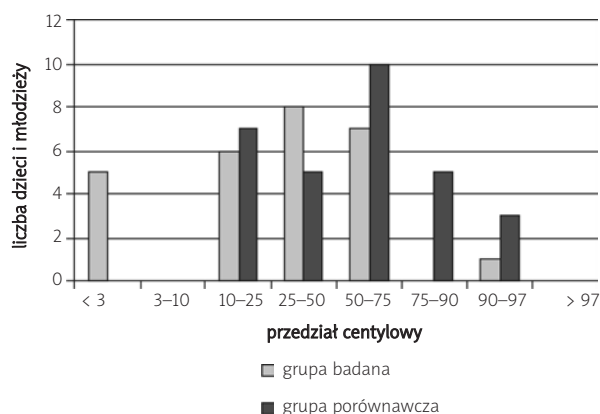
¹test χ^2 z poprawką Yatesa, ²dokładny test Fishera, ³test Manna-Whitneya, ⁴test t-Studenta

Tabela II. Wyniki analizy porównawczej wartości BMI odniesionej do siatek centylowych grupy badanej z grupą porównawczą. Przedstawiono analizę nieuwzględniającą odrębności płci oraz osobną dla dziewcząt i chłopców (test Manna-Whitneya)

Table II. The results of comparative analysis of related to centile ranks BMI value between the study group and the comparative group (Mann-Whitney test)

BMI	Suma rang (1)	Suma rang (2)	U	Z	Wartość p
cała grupa	622,5	1030,5	244,5	-2,57	0,010*
dziewczęta	153,5	476,5	62,5	-2,74	0,006*
chłopcy	146,0	107,0	41,0	-1,02	0,31

*różnica istotna statystycznie



Ryc. 1. Rozkład liczby dzieci i młodzieży w przedziałach centylowych w zależności od wartości BMI, z uwzględnieniem podziału na grupę badaną i porównawczą, z pominięciem podziału na dziewczęta i chłopców (rozkłady różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,01$)

Fig. 1. The distribution of the number of children and youth in percentile range depending on BMI, including division into the study group and the comparative group and excluding division into girls and boys (distribution differs statistically significantly: $p = 0.01$)

gdzie Q1 odpowiada 25. centylowi, Q2 50. centylowi, czyli medianie, Q3 75. centylowi (tab. III, IV).

W przypadku stężenia leptyny wyrażonego w ng/ml wartość mediany była mniejsza w grupie badanej niż porównawczej. Istotność statystyczną różnicy stwierdzono jedynie w analizie bez uwzględniania odrębności płci (5,1 vs 14,28, $p = 0,0005$) oraz dla dziewcząt (6,26 vs 15,52, $p = 0,003$). Mediana stężenia leptyny u chłopców z ChLC wynosiła 3,74, a u zdrowych dzieci i młodzieży 9,42 ($p = 0,45$) (tab. III, IV, ryc. 2.-4.).

Stężenie OB-Re było podobne w obu grupach, co wykazano w analizie dla całej grupy (17,41 vs 19,54, $p = 0,24$) oraz dziewcząt (19,78 vs 18,89, $p = 0,77$).

Tabela III. Wyniki analizy porównawczej z pominięciem podziału na dziewczęta i chłopców, stężenia leptyny oraz OB-Re (Q1 = 25. centyl, Q2 = 50. centyl, czyli mediane, Q3 = 75. centyl) między grupą badaną a porównawczą (test Manna-Whitneya)

Table III. The results of comparative analysis between leptin concentration and OB-Re concentration (Q1 = 25. centile, Q2 = 50 centile/median, Q3 = 75 centile), between the study group and the comparative group, excluding division into girls and boys (Mann-Whitney test)

Grupa	Q	Stężenie leptyny [ng/ml]	Stężenie OB-Re [ng/ml]
badana	Q1	2,80	11,85
	Q2	5,10	17,41
	Q3	8,57	25,16
porównawcza	Q1	7,69	17,92
	Q2	14,28	19,54
	Q3	19,44	25,91
wartość p		0,0005*	0,24

*różnica istotna statystycznie

U chłopców z ChLC stężenie OB-Re było mniejsze niż u zdrowych dzieci i młodzieży, jednak różnica nie osiągała poziomu istotnego statystycznie (12,83 vs 20,25, $p = 0,07$) (tab. III, IV, ryc. 5.-7.).

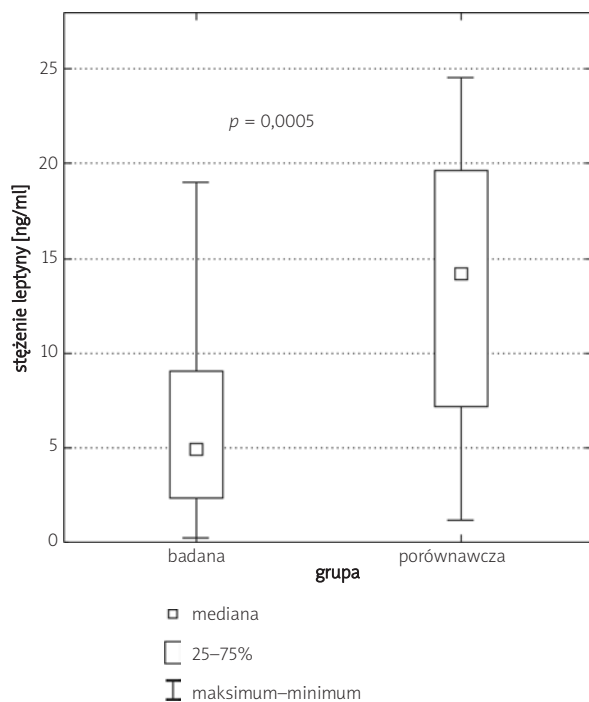
Zbadano zależność stężenia leptyny od stężenia OB-Re w obu grupach, również z uwzględnieniem odrębności płci. Stwierdzono istotną statystycznie, ujemną korelację między oznaczonymi stężeniami u pacjentów z ChLC w analizie nieuwzględniającej odrębności płci oraz u dziewcząt (tab. V, ryc. 8., 9.).

W grupie zdrowych dzieci i młodzieży odnotowano istotną statystycznie, pozytywną korelację stężenia leptyny z bezwzględną wartością BMI oraz wartością tego

Tabela IV. Wynik analizy porównawczej z uwzględnieniem podziału na dziewczęta i chłopców, stężeń leptyny oraz OB-Re (Q1 = 25. centyl, Q2 = 50. centyl, czyli mediana, Q3 = 75. centyl) między grupą badaną a porównawczą oraz między dziewczętami a chłopcami w poszczególnych grupach (test Manna-Whitneya)
Table IV. The results of comparative analysis of leptin concentration and OB-Re concentration (Q1 = 25 centile, Q2 = 50 centile/median, Q3 = 75 centile), between the study group and the comparative group, and between girls and boys in different groups (Mann-Whitney test)

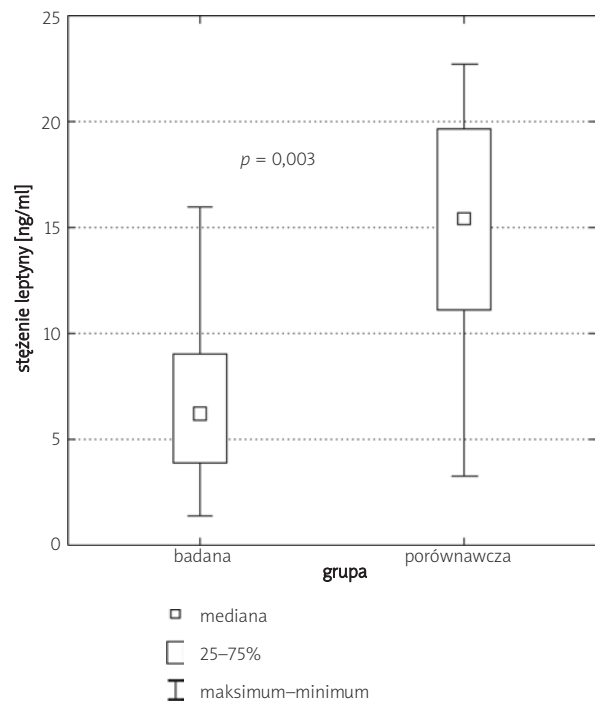
Grupa	Q	Dziewczęta		Chłopcy		Wartość p	
		stężenie leptyny [ng/ml]	stężenie OB-Re [ng/ml]	stężenie leptyny [ng/ml]	stężenie OB-Re [ng/ml]	stężenie leptyny	stężenie OB-Re
badana	Q1	3,88	16,93	2,59	10,89	0,438	0,058
	Q2	6,26	19,78	3,74	12,83		
	Q3	9,03	25,79	7,78	19,33		
porównawcza	Q1	11,32	17,10	1,83	18,92	0,122	0,386
	Q2	15,52	18,89	9,42	20,25		
	Q3	19,64	25,18	15,55	30,31		
wartość p		0,003*	0,77	0,45	0,07		

*różnica istotna statystycznie



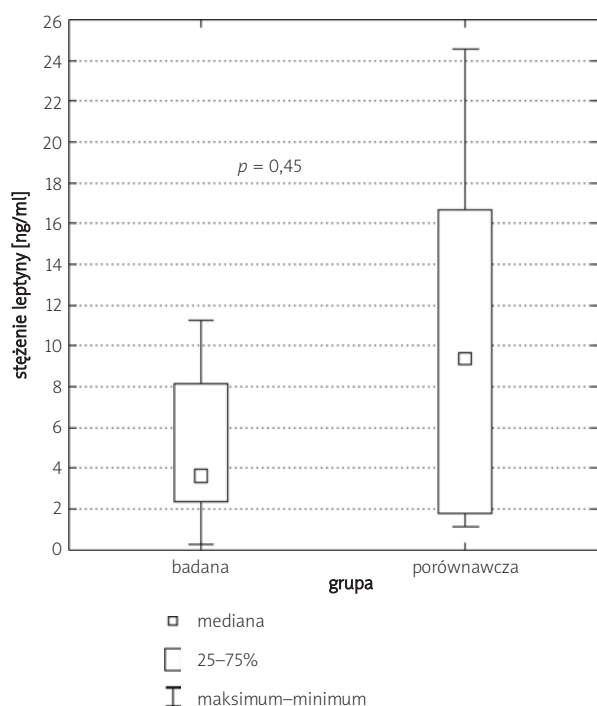
Ryc. 2. Wynik analizy rozkładu stężenia leptyny u dzieci i młodzieży z grupy badanej oraz porównawczej, z pominięciem podziału na dziewczęta i chłopców (rozkłady różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,0005$)

Fig. 2. The results of distribution analysis of leptin concentration in children and youth from the study group and the comparative group, excluding division into girls and boys (distribution differs statistically significantly: $p = 0.0005$)



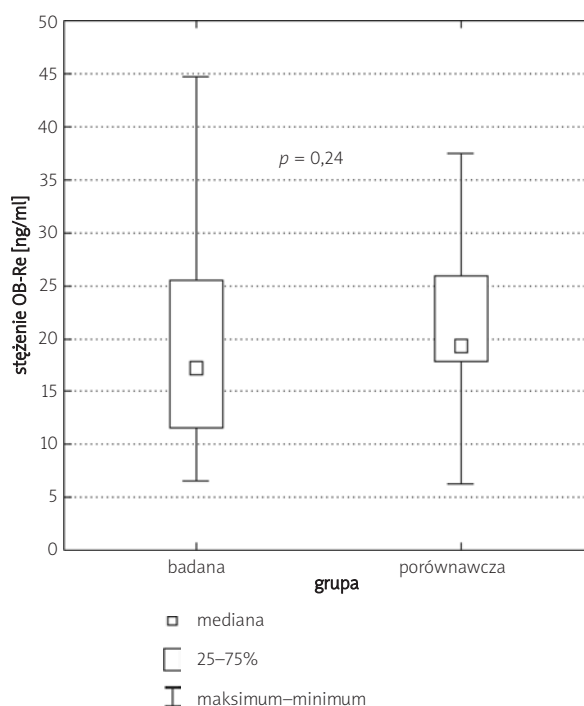
Ryc. 3. Wynik analizy rozkładu stężenia leptyny u dziewcząt z grupy badanej oraz porównawczej (rozkłady różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,003$)

Fig. 3. The results of distribution analysis of girls' leptin concentration in the study group and the comparative group (distributions differ statistically significantly: $p = 0.003$)



Ryc. 4. Wynik analizy rozkładu stężenia leptyny u chłopców z grupy badanej oraz porównawczej (rozkłady nie różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,45$)

Fig. 4. The results of distribution analysis of boys' leptin concentration in the study group and the comparative group (distributions do not differ statistically significantly: $p = 0.45$)



Ryc. 5. Wynik analizy rozkładu stężenia OB-Re u dzieci i młodzieży z grupy badanej oraz porównawczej, z pominięciem podziału na dziewczęta i chłopców (rozkłady nie różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,24$)

Fig. 5. The results of distribution analysis of OB-Re concentration in children and youth from the study group and the comparative group, excluding division into girls and boys (distributions do not differ statistically significantly: $p = 0.24$)

Tabela V. Wyniki analizy korelacji stężenia leptyny ze stężeniem OB-Re w obu grupach. Przedstawiono analizy nieuwzględniające odrębności płci oraz osobne dla dziewcząt i chłopców (współczynnik korelacji rangowej Spearmana)

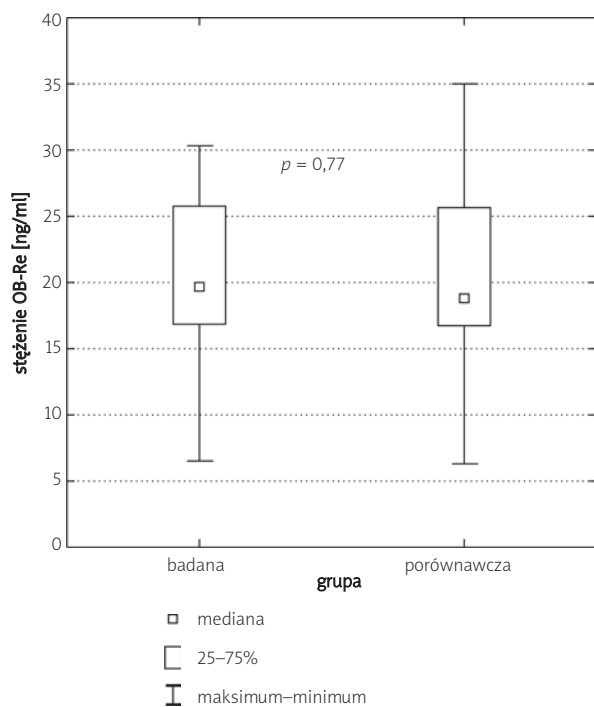
Table V. The results of correlation analysis between concentration of leptin and concentration of OB-Re in both groups. The table presents p -value for analyses excluding sex distinguishing factors and separately for girls and boys (Spearman's rank correlation)

Grupa	Grupa badana			Grupa porównawcza		
	Rs	$t(N-2)$	wartość p	Rs	$t(N-2)$	wartość p
cała	-0,396	-2,156	0,040*	-0,157	-0,843	0,406
dziewczęta	-0,709	-3,333	0,007*	-0,346	-1,650	0,115
chłopcy	-0,292	-1,059	0,311	0,262	0,667	0,531

*zależność istotna statystycznie

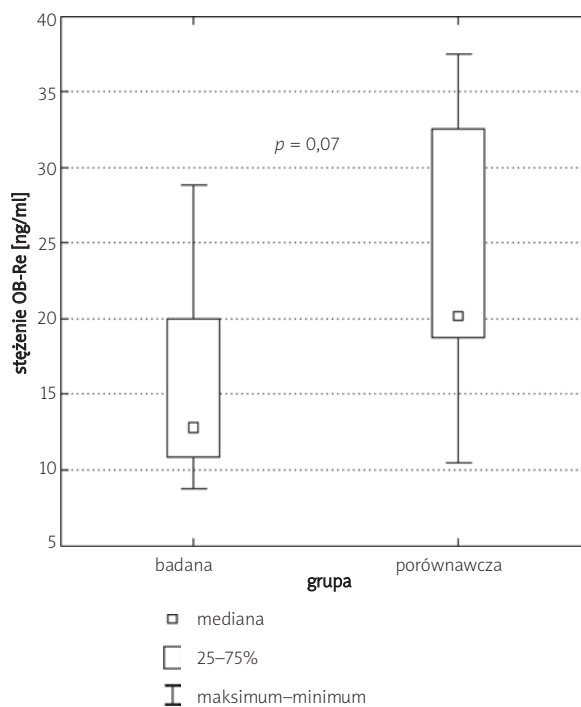
wskaźnika odniesioną do siatek centylowych w analizie nieuwzględniającej odrębności płci ($p = 0,021$ i $p = 0,041$) oraz dla dziewcząt ($p = 0,0002$ i $p = 0,006$). W badanej grupie jedynie u dziewcząt wykazano nie-

zbyt nasiloną, ale istotną statystycznie, pozytywną korelację stężenia leptyny z bezwzględną wartością BMI ($p = 0,049$). Stężenie leptyny ujemnie korelowało z wiekiem u chłopców ($p = 0,04$), natomiast u dziewcząt wy-



Ryc. 6. Wynik analizy rozkładu stężenia OB-Re u dziewcząt z grupy badanej oraz porównawczej (rozkłady nie różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,77$)

Fig. 6. The results of distribution analysis of girls' OB-Re concentration in the study group and the comparative group (distributions do not differ statistically significantly: $p = 0.77$)



Ryc. 7. Wynik analizy rozkładu stężenia OB-Re u chłopców z grupy badanej oraz porównawczej (rozkłady nie różnią się w sposób istotny statystycznie: $p = 0,07$)

Fig. 7. The results of distribution analysis of boys' OB-Re concentration in the study group and the comparative group (distributions do not differ statistically significantly: $p = 0.07$)

kazano tendencję do jego narastania, zależność ta jednak nie osiągnęła poziomu znamiennej statystycznie ($p = 0,094$).

Wraz ze zwiększeniem wartości PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego zmniejszyło się stężenie leptyny. Korelacja osiągnęła poziom bliski istotnemu statystycznie dla dziewcząt ($p = 0,058$). U chłopców nie stwierdzono żadnych zależności między badanymi parametrami (tab. VI).

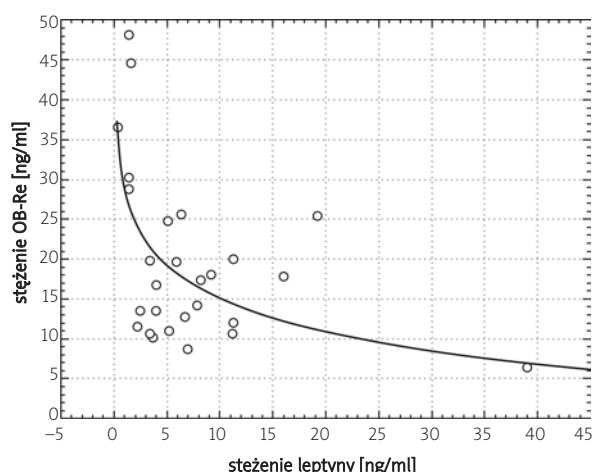
W grupie osób z ChLC stężenie OB-Re w sposób istotny statystycznie ujemnie korelowało z bezwzględną wartością BMI ($p = 0,0001$) oraz wartością tego wskaźnika odniesioną do siatek centylowych ($p = 0,02$). Dokonując odrębnych analiz dla pacjentów obu płci, stwierdzono, że zależność ta była zaznaczona jedynie u chłopców, osiągając poziom istotny statystycznie w odniesieniu do bezwzględnej wartości BMI ($p = 0,00008$) oraz zbliżony do znamiennej dla wartości BMI odniesionej do siatek centylowych ($p = 0,07$).

U zdrowych dzieci i młodzieży stężenie OB-Re nie korelowało z BMI. Nie odnotowano występowania korelacji między stężeniem OB-Re a wiekiem w obu grupach oraz wartością PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego u pacjentów z ChLC (tab. VI).

Wartość PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego ujemnie korelowała z bezwzględną wartością BMI oraz wartością tego wskaźnika odniesioną do siatek centylowych (tab. VII).

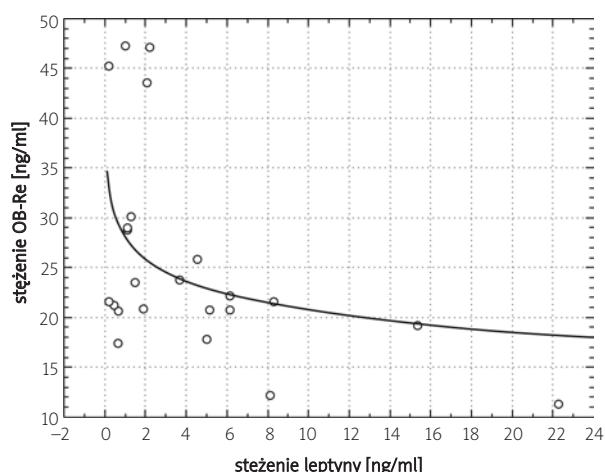
Omówienie

W badaniach własnych wykazano, że stężenie leptyny jest w sposób istotny statystycznie mniejsze u pacjentów z ChLC w odniesieniu do zdrowych dzieci i młodzieży w wieku okołopokwitaniowym. Ze względu na fakt, że hormon uczestniczy w modulacji czynności wielu układów, w tym immunologicznego, oraz reguluje metabolizm organizmu, a jego sekrecja podlega złożonym i nie do końca poznanym mechanizmom, moż-



Ryc. 8. Wynik analizy korelacji nieuwzględniającej odrębności płci stężenia leptyny ze stężeniem OB-Re u dzieci i młodzieży z ChLC ($p = 0,04$)

Fig. 8. The results of correlation analysis between leptin concentration and OB-Re concentration in children and youth with CD, excluding sex distinguishing factors ($p = 0.04$)



Ryc. 9. Wynik analizy korelacji stężenia leptyny ze stężeniem OB-Re u dziewcząt z ChLC ($p = 0,007$)

Fig. 9. The results of correlation analysis between leptin concentration and OB-Re concentration in girls with CD ($p = 0.007$)

Tabela VI. Wyniki analizy korelacji stężeń leptyny i OB-Re z bezwzględną wartością BMI oraz wartością tego wskaźnika odniesioną do siatek centylowych, wiekiem i aktywnością procesu zapalnego wyrażoną wartością PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego. W tabeli przedstawiono wartości p dla analiz nieuwzględniających odrębności płci oraz osobnych dla dziewcząt i chłopców (współczynnik korelacji rangowej Spearmana)

Table VI. The results of correlation analysis between concentration of leptin and OB-Re and absolute value of BMI and related to centile ranks BMI value, age, morbid process activity expressed by PCDAI (Ryżka and Woynarowski modification). The table presents p -value for analyses excluding sex distinguishing factors and separately for girls and boys (Spearman's rank correlation)

Parametr		Grupa badana		Grupa porównawcza	
		stężenie leptyny [ng/ml]	stężenie OB-Re [ng/ml]	stężenie leptyny [ng/ml]	stężenie OB-Re [ng/ml]
bezwzględna wartość BMI	cała grupa	0,092 ²	0,0001* ¹	0,021* ²	0,213
	dziewczęta	0,049* ²	0,209	0,0002* ²	0,317
	chłopcy	0,274	0,00008* ¹	0,352	0,420
wartość BMI odniesiona do siatek centylowych	cała grupa	0,128	0,02* ¹	0,041* ²	0,369
	dziewczęta	0,15	0,31	0,006* ²	0,369
	chłopcy	0,26	0,07 ¹	0,70	0,66
wiek	cała grupa	0,698	0,657	0,473	0,214
	dziewczęta	0,094 ²	0,454	0,213	0,200
	chłopcy	0,04* ¹	0,482	0,493	0,867
PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego	cała grupa	0,08 ¹	0,18		
	dziewczęta	0,058 ¹	0,527		
	chłopcy	0,159	0,62		

*korelacja istotna statystycznie, ¹korelacja ujemna, ²korelacja dodatnia

Tabela VII. Wynik analizy korelacji PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego z bezwzględną wartością BMI oraz wartością tego wskaźnika odniesioną do siatek centylowych. W tabeli przedstawiono wartości *p* dla analiz nieuwzględniających odrębności płci oraz osobnych dla dziewcząt i chłopców (współczynnik korelacji rangowej Spearmana)

Table VII. The results of correlation analysis between PCDAI (Ryżka and Woynarowski modification) and absolute value of BMI and BMI related to centile ranks. The table presents *p*-value for analyses excluding sex distinguishing factors and separately for girls and boys (Spearman's rank correlation)

Parametr		Bezwzględna wartość BMI	Wartość BMI odniesiona do siatek centylowych
wartość <i>p</i>	wskaźnik aktywności ChLC w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego	cała grupa	0,126
		dziewczęta	0,054 ¹
		chłopcy	0,7
			0,09 ¹
			0,032* ¹
			0,96

*korelacja istotna statystycznie, ¹korelacja ujemna

na przypuszczać, że stwierdzona prawidłowość ma złożone podłoże. W świetle aktualnej wiedzy istotnymi czynnikami mogącymi wpływać na zmianę stężenia hormonu we krwi dzieci i młodzieży z ChLC jest aktywność procesu zapalnego, niższy niż u zdrowych osób stopień odżywiania oraz dojrzałości płciowej [1–8].

Stężenie hormonu zmniejszało się wraz z narastaniem aktywności procesu zapalnego. Korelacja ta była zaznaczona przede wszystkim u dziewcząt, dla których osiągała poziom ($p = 0,058$) bardzo zbliżony do określonego umownie jako istotny statystycznie. Można wysunąć hipotezę, że gdyby grupa dziewcząt była liczniejsza lub bardziej jednorodna, zależność stałaby się znamienne. Przemawiają za tym również wyniki pracy Hoppina i wsp. [18], którzy – badając zależność stężenia leptyny od aktywności procesu zapalnego w większej grupie dzieci i młodzieży z ChLC ($n = 66$, w tym 25 dziewcząt) – wykazali istotną statystycznie ujemną korelację między wartościami obu parametrów.

Podłoża omawianej zależności nie można upatrywać w bezpośrednim wpływie układu immunologicznego na produkcję i wydzielanie hormonu, m.in. dlatego, że jedną z podstawowych cytokin prozapalnych w ChLC jest czynnik martwicy nowotworu α (*tumor necrosis factor α* – TNF- α), którego produkcja wiąże się z syntezą leptyny wzajemnym dodatnim sprzężeniem zwrotnym [19]. Paul i wsp. [20] udowodnili ponadto, że synteza leptyny w tkance tłuszczowej jamy brzusznej znacznie wzrasta w przebiegu ChLC. Wobec przytoczonych faktów należałoby się raczej spodziewać zwiększenia stężenia leptyny wraz ze zwiększeniem aktywności choroby. Niewykluczone, że sytuacja taka miałaby miejsce, gdyby w przebiegu choroby nie dochodziło do pogorszenia stopnia odżywienia pacjentów.

W badaniu własnym wykazano, że wartość BMI jest mniejsza u pacjentów z ChLC niż u zdrowych dzieci

i młodzieży, a różnica osiąga poziom istotny statystycznie dla wartości BMI odniesionych do siatek centylowych. Wyniki analiz uwzględniających odrębność płci badanych osób wskazują, że zależność ta występuje wyłącznie u dziewcząt. U nich też stwierdzono ujemną korelację nasilenia aktywności procesu zapalnego z wartością BMI. W przebiegu choroby, wraz z nasilaniem się jej aktywności, dochodzi więc do zmniejszania się ilości tkanki tłuszczowej, która jest podstawowym miejscem syntezy hormonu. W takiej sytuacji nawet dodatkowa stymulacja w postaci zapalenia nie jest w stanie spowodować zwiększenia stężenia hormonu we krwi.

Do takich samych wniosków na podstawie otrzymanych wyników doszli Hoppin i wsp. [18] w przytoczonym już wcześniej badaniu. Bardziej szczegółowa analiza pozwoliła członkom zespołu stwierdzić, że to BMI oraz płeć były podstawowymi predyktorami stężenia leptyny w surowicy. Jest to również zgodne z wynikami pracy Franchimonta i wsp. [21], którzy wykazali, że leczenie infliksymabem wiążącym TNF- α indukuje remisję ChLC, powoduje u pacjentów zwiększenie masy ciała oraz stężenia leptyny we krwi.

Brak korelacji wartości BMI ze stężeniem leptyny u chłopców z obu grup, nieobecność zależności stopnia odżywiania od aktywności procesu zapalnego u chłopców z ChLC należy najprawdopodobniej wiązać z odmiennymi endokrynologicznymi między płciami, podobnie jak pozytywną korelację między stopniem odżywiania a stężeniem leptyny u zdrowych dziewcząt, mniej wyraźną z powodu choroby u dziewcząt z grupy badanej.

Hormony płciowe modulują sekrecję leptyny bezpośrednio oraz pośrednio, w odmienny sposób kształtując zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie dziewcząt i chłopców. Estrogeny stymulują powstawanie tkanki

tłuszczowej, natomiast testosteron redukuje jej ilość, promując rozwój tkanki mięśniowej [22, 23]. Wobec powyższego należałoby się spodziewać, że w okresie dojrzewania zauważalna będzie pozytywna korelacja stężenia leptyny z wiekiem u dziewcząt i ujemna u chłopców. Potwierdzają to wyniki badań własnych w grupie pacjentów z ChLC, u których zależność osiągnęła poziom istotny statystycznie u chłopców ($p = 0,04$) oraz była zauważalna, ale nie znamienne, u dziewcząt ($p = 0,094$). Można przypuszczać, że gdyby liczba dziewcząt z ChLC była większa, p osiągnęłoby wartości mniejsze niż 0,05. Nie stwierdzono powyższych korelacji w grupie zdrowych dzieci i młodzieży, co należy najprawdopodobniej wiązać z większym stopniem dojrzałości płciowej w tej grupie oraz stosunkowo niewielką rozpiętością wieku w obu grupach.

Opóźnienie dojrzewania płciowego jest jednym z ważniejszych powikłań NZJ. Zdrowe dzieci i młodzież wcześniej wchodzi w skok przedpokwitaniowy i w momencie włączania ich do badania przebyły już okres najbardziej intensywnego wzrastania oraz zwiększania się sekrecji hormonów płciowych i leptyny [22, 24, 25]. Tłumaczy to nieobecność istotnych, zależnych od wieku zmian w stężeniu leptyny w tej grupie.

Mniejsze nasilenie korelacji stężenia leptyny z wiekiem u dziewcząt niż chłopców wynika częściowo z faktu, że dziewczęta wcześniej niż chłopcy zaczynają dojrzewać. Za normę czasową dojrzewania płciowego u dziewcząt przyjmuje się 8–16 lat i 10–17 lat u chłopców, przy czym 2 lata krańcowe w podanych zakresach to pograniczne normy stanowiące strefę obserwacyjną [24]. Opóźnienie dojrzewania płciowego spowodowane chorobą nie ma wpływu na ogólną prawidłowość wcześniejszego dojrzewania dziewcząt. Wobec powyższego należy stwierdzić, że chłopcy byli w fazie bardziej intensywnych zmian ogólnoustrojowych niż dziewczęta z ChLC, co wpłynęło na znamienność wykazanych korelacji.

Leptyna w surowicy występuje w czynnej biologicznie postaci wolnej oraz nieaktywnej, tj. związanej z OB-Re. Wiązanie z OB-Re jest odwracalne, a hormon po uwolnieniu ponownie wywiera działanie biologiczne [26–28]. W badaniach własnych wykazano, że stężenie OB-Re zwiększa się wraz ze zmniejszaniem stężenia leptyny. Stwierdzono to w analizie dla całej grupy oraz dziewcząt z ChLC. Otrzymane wyniki mogą potwierdzać teorię, zgodnie z którą wiązanie hormonu przez receptor jest działaniem protekcyjnym w stosunku do leptyny. Potwierdzają to wyniki badań innych zespołów badawczych, według których zwiększona produkcja OB-Re skutkuje zwiększeniem stężenia hormonu, niewynikającym jednak z nasilenia ekspresji jego genów [10, 11]. Można przypuszczać, że unieczynnianie przez OB-Re anorektogennie działającego hormonu sprzyja

dotatkowo regeneracji tkanki tłuszczowej będącej głównym miejscem syntezy hormonu.

W badaniach wykonanych w populacji niemowlęcej Koo i wsp. [29] wykazali, że stosunek stężenia OB-Re do stężenia leptyny zmniejsza się wraz z wiekiem i jest największy w okresie najintensywniejszego wzrostu dziecka. Wskazuje to na regulowanie aktywności hormonu przez OB-Re. Czasowe unieczynnienie anorektogennie i prozapalnie działającego hormonu powinno być procesem korzystnym w przebiegu ChLC, szczególnie w okresach zwiększonej aktywności choroby. Należałoby się więc spodziewać zwiększenia stężenia OB-Re wynikającego z faktu występowania tej choroby i narastania aktywności procesu zapalnego. Takich zależności jednak nie stwierdzono w badaniach własnych. Dopiero analiza korelacji stężenia OB-Re z BMI uwiidoczniała istotne statystycznie zwiększanie się stężenia OB-Re wraz ze zmniejszaniem się wartości BMI w analizie dla całej grupy oraz chłopców. Może to zaskakiwać, szczególnie wobec faktów, że pacjenci obu płci nie różnili się znamienne pod względem stopnia odżywienia, a stężenie leptyny zmniejszało się wraz z redukcją wartości BMI oraz zwiększaniem się PCDAI w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego wyłącznie u dziewcząt, wobec czego to właśnie w tej grupie osób należałoby się spodziewać znamiennych zależności między stężeniem OB-Re a BMI.

Wytlumaczeniem powyższych zależności najprawdopodobniej jest odmienne modulowanie przez hormony płciowe budowy ciała oraz syntezy leptyny i OB-Re u dziewcząt i chłopców [22, 25]. W badaniach własnych stężenie leptyny było mniejsze u chłopców z ChLC, chociaż w sposób nieznamienny statystycznie. Hoppin i wsp. [18], badając liczniejszą grupę chorych, otrzymali wyniki istotne statystycznie w tym zakresie. Możliwe, że synteza OB-Re, podobnie jak i synteza leptyny, uwarunkowana jest wieloczynnikowo, a stężenie leptyny staje się podstawowym modulatorem dopiero po osiągnięciu pewnego krytycznego stężenia zależnego od budowy ciała. Tłumaczyłoby to niestwierdzenie korelacji tego typu u zdrowych dzieci i młodzieży, chociaż można się ich spodziewać u zdrowych dziewcząt. Wyniki takie otrzymali Quinton i wsp. [25], którzy wykazali zwiększanie się stężenia leptyny oraz zmniejszanie się OB-Re wraz z wiekiem, przy czym wartości obu badanych parametrów ujemnie ze sobą korelowały [25]. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że rozpiętość wieku w analizowanej grupie była znacznie większa (5,3–81 lat) niż w badaniach własnych.

Wnioski

- 1) Stężenie leptyny zmniejsza się w przebiegu ChLC.
- 2) U pacjentów z tym schorzeniem stężenie OB-Re

ujemnie koreluje z BMI oraz stężeniem leptyny, co może wskazywać na jego protekcyjne i regulacyjne działanie w stosunku do hormonu.

- 3) Stopień odżywienia jest ważniejszym niż aktywność procesu zapalnego czynnikiem regulującym stężenie leptyny we krwi u pacjentów z ChLC.
- 4) Konieczne są dalsze badania oceniające wpływ tej choroby na stężenie leptyny i OB-Re u dzieci i młodzieży.

Grant na badania własne BW82/2005 przyznany przez Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Piśmiennictwo

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-32.
2. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature* 1997; 387: 206-9.
3. Farooqi IS, Materese G, Lord GM, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002; 110: 1093-103.
4. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-Reducing Effects of the Plasma Protein Encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269: 543-6.
5. Lord GM, Matarese G, Howard JK, et al. Leptin inhibits the anti-CD3-driven proliferation of peripheral T cells but enhances the production of proinflammatory cytokines. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 330-8.
6. Buyse M, Sitarman SV, Liu X, et al. Luminal leptin enhances CD147/MCT-1-mediated uptake of butyrate in the human intestinal cell line Caco2-BBE. *J Biol Chem* 2002; 277: 28182-90.
7. Sitarman S, Liu X, Charrier L, et al. Source of novel proinflammatory cytokine involved in inflammatory bowel disease. *FASEB J* 2004; 18: 696-8.
8. Hardwick JC, Van Den Brick GR, Offerhaus GJ, et al. Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2001; 121: 79-90.
9. Dolezalova R, Lacinova Z, Dolinkova M, et al. Changes of endocrine function of adipose tissue in anorexia nervosa: comparison of circulating levels versus subcutaneous mRNA expression. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67: 674-8.
10. Huang L, Wang Z, Li C. Modulation of circulating leptin levels by its soluble receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 6343-9.
11. Lahlou N, Issad T, Lebouc Y, et al. Mutations in the human leptin and leptin receptor genes as models of serum leptin regulation. *Diabetes* 2002; 51: 1980-5.
12. de Mesquita MB, Civitelli F, Levine A. Epidemiology, genes and inflammatory bowel diseases in childhood. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 3-11.
13. Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 514-21.
14. Muszyński J. Nieswoiste zapalenia jelit. *Przew Lek* 2002; 4: 22-30.
15. Mierzwa G, Bała G, Czerwionka-Szaflarska M. Zmiany endoskopowe i ich ocena histopatologiczna u dzieci z przewlekłym zapaleniem jelita grubego. *Pediatr Współc* 1999; 1: 35-9.
16. Ryżko J. Nieswoiste zapalenia jelit u dzieci. W: *Gastroenterologia praktyczna*. Socha J (red.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1999; 171-83.
17. Palczewska I, Niedźwiedzka Z. Wskaźniki rozwoju somatycznego dzieci i młodzieży warszawskiej. *Med Wieku Rozwoj* 2001; 5 (suppl 2): 17-118.
18. Hoppin A, Kaplan LM, Zurakowski D, et al. Serum leptin in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 26: 500-5.
19. Lord GM, Matarese G, Howard JK, et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverse starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394: 897-901.
20. Paul G, Schöffler A, Neumeier M, et al. Profiling adipocytokine secretion from creeping fat in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 471-7.
21. Franchimont D, Roland S, Gustot T, et al. Impact of Infliximab on Serum Leptin Levels in Patients with Crohn's Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3510-6.
22. Garnett SP, Höglér W, Blades B, et al. Relationship between hormones and body composition, including bone, in prepubertal children. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 966-72.
23. Guerra B, Fuentes T, Delgado-Guerra S, et al. Gender dimorphism in skeletal muscle leptin receptors, serum leptin and insulin sensitivity. *PLoS ONE* 2008; 3: e3466.
24. Krawczyński M. Ocena rozwoju dziecka w ambulatoryjnej praktyce pediatrycznej. *Przew Lek* 2001; 4: 57-63.
25. Quinton ND, Smith RF, Clayton PE, et al. Leptin binding activity changes with age: the link between leptin and puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2336-41.
26. Lammert A, Kiess W, Bottner A, et al. Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 982-8.
27. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J Clin Invest* 1996; 98: 1277-83.
28. Huang L, Wang Z, Li C. Modulation of circulating leptin levels by its soluble receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 6343-9.
29. Koo WW, Hammami M, Hockman EM. Developmental variations in plasma leptin, leptin soluble receptor and their molar ratio in healthy infants. *Nutr J* 2007; 6: 11.