

Aleksandra Chęcińska

Oddział położniczo-ginekologiczny; Szpital Świętej Rodziny, Poznań

Zuzanna Chęcińska-Maciejewska

Katedra Żywności i Żywienia; Uniwersytet Kaliski im. Prezydenta S. Wojciechowskiego, Kalisz

Małgorzata Wojciechowska

Katedra Zdrowia Matki i Dziecka, Zakład Praktycznej Nauki Położnictwa;

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Poznań

Andrzej Ciborek

Studenckie Koło Naukowe; Uniwersytet Kaliski im. Prezydenta S. Wojciechowskiego, Kalisz

Paweł Kołodziejski

Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Ewa Pruszyńska-Oszmałek

Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Hanna Krauss

Instytut Badań Prewencyjnych; Uniwersytet Kaliski im. Prezydenta S. Wojciechowskiego, Kalisz

Magdalena Gibas-Dorna

Instytut Nauk o Zdrowiu; Uniwersytet Zielonogórski, Zielona Góra

**ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY PĘPOWINOWYM STĘŻENIEM
HORMONÓW REGULUJĄCYCH ROZWÓJ PŁODU,
A PARAMETRAMI ANTROPOMETRYCZNYMI
U NOWORODKÓW Z DUŻĄ I NISKĄ MASĄ
URODZENIOWĄ**

**THE ASSOCIATION BETWEEN CORD BLOOD
HORMONES REGULATING FETAL DEVELOPMENT AND
ANTHROPOMETRIC MEASUREMENTS OF NEWBORNS**

Wstęp

Spośród najważniejszych czynników determinujących wzrastanie płodu, a także regulację jego metabolizmu i zachowania równowagi energetycznej, wymienia się czynniki genetyczne i epigenetyczne, warunki socjo-ekonomiczne oraz sposób żywienia i stan ogólny zdrowia ciężarnych. Czynniki te w sposób bezpośredni wpływają na masę ciała noworodka, którą w oparciu o standardy wyznaczone przez Światową Organizację Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) określa się jako prawidłową, jeśli mieści się ona w przedziale 2500-4000g. W warunkach polskich kryteria określające prawidłową masę ciała noworodka (ang. *normal body weight*, NBW) są zbliżone. Dla noworodków płci żeńskiej średnia prawidłowa masa ciała wynosi ok. 3317 ± 509 g, a dla noworodków płci męskiej ok. 3453 ± 540 g [1]. Zarówno noworodki z niską masą urodzeniową poniżej 2500 g (z ang. *low birth weight*, LBW), jak i z dużą masą urodzeniową tj. powyżej 4000 g (ang. *high birth weight*, HBW) są obciążone ryzykiem nieprawidłowego rozwoju oraz wystąpienia chorób o podłożu metabolicznym.

Prawidłowe wzrastanie w okresie życia wewnątrzmacicznego, jak i programowanie dalszego rozwoju płodu, wymaga dostarczenia do krążenia płodowego odpowiedniej ilości tlenu i składników odżywczych oraz odpowiednio skoordynowanego działania endokrynnych czynników wzrostowych i regulatorowych, do których należą m.in.: hormon wzrostu (ang. *growth hormone*, GH), insulinopodobne czynniki wzrostu, w tym IGF-1 (ang. *insulin-like growth factor 1*, IGF-1), czy insulina [2]. Hormony te wpływają na wydzielanie leptyny, która w warunkach fizjologicznych wykazuje ośrodkowe działanie anoreksygeniczne (hamujące łaknienie) oraz greliny, o działaniu przeciwnym, oreksygenicznym [3]. Oba te hormony charakteryzuje szereg interakcji z insuliną, IGF, czy GH. Dla przykładu, leptyna hamuje sekrecję insuliny i poprawia wrażliwość tkankową na jej działanie, z kolei grelina silnie pobudza wydzielanie hormonu wzrostu, a w konsekwencji IGF [4]. Mając powyższe na uwadze poszukiwanie zależności pomiędzy czynnikami regulatorowymi, które mogą spełniać rolę predykcyjną odnośnie dalszego wzrastania, a parametrami antropometrycznymi zmierzonymi tuż po urodzeniu, wydaje się być w pełni uzasadnione. W niniejszej pracy zbadano zależności pomiędzy wybranymi parametrami antropometrycznymi, a surowiczym stężeniem GH, IGF-1, białka wiążącego IGF (ang. *insulin-like growth factor binding protein*, IGF-BP3), insuliny, leptyny i greliny acylowanej mierzonych we krwi pępowinowej tuż po urodzeniu u dzieci z prawidłową, niską i dużą masą urodzeniową.

Materiał i metodyka

Badanie przeprowadzono w Ginekologiczno-Położniczym Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu po uzyskaniu pozytywnej opinii Komisji Bioetycznej działającej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu oraz wyrażeniu przez ciężarne/rodzące świadomej pisemnej zgody na udział w badaniu.

POPULACJA BADANA, POBRANIE MATERIAŁU

Do badania zakwalifikowano 321 zdrowych noworodków urodzonych siłami natury między 38, a 42 tygodniem ciąży przez zdrowe kobiety w przedziale wiekowym 18-36 lat, które nie wykazywały komplikacji podczas trwania ciąży i porodu. 32 dzieci wykluczono z badania ze względu na niekompletne dane odnoszące się do pomiarów antropometrycznych przeprowadzanych na sali porodowej i/lub z powodu braku pobrania krwi do pomiarów stężeń ocenianych hormonów. 13 rodzających zrezygnowało z badania w dniu porodu. Do analizy wykorzystano wyniki uzyskane od 276 noworodków. Populację badaną podzielono na 3 grupy w zależności od urodzeniowej masy ciała:

1. noworodki z prawidłową masą ciała mieszczącą się w przedziale między 2500 g a 4000 g (NBW, $n = 65$), która stanowiła grupę kontrolną,
2. noworodki z niską urodzeniową masą ciała tj. niższą niż 2500 g (LBW, $n = 72$)
3. noworodki z dużą urodzeniową masą ciała (makrosomia) tj. powyżej 4000 g (HBW, $n = 139$).

Mieszaną (tętniczo-żylną) krew pępowinową pobierano przed zakończeniem III okresu porodu, bezpośrednio po urodzeniu, zaklemowaniu i odpięciu noworodka. Następnie krew odwirowano z prędkością 3500 obrotów/min przez 15 min w temperaturze 4°C. Surowicę krwi pozyskano w czasie krótszym niż 4 godziny od momentu pobrania krwi. Próbkę zamrażano i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń.

Na sali porodowej oceniono również cechy somatyczne noworodków, mierząc obwód głowy, klatki piersiowej, brzucha, ramienia, uda, a także masę ciała.

OZNACZENIA SUROWICZYCH STĘŻEŃ HORMONÓW

W surowicy krwi przy użyciu testów immunoenzymatycznych oznaczano:

1. stężenie leptyny z wykorzystaniem zestawu DRG Leptin (Sandwich) ELISA Kit (nr katalogowy EIA-2395), DRG Instruments GmbH, Germany; czułość analityczna testu = 1.76 $\mu\text{IU/ml}$;
2. stężenie insuliny z wykorzystaniem zestawu DRG Insulin ELISA Kit (nr katalogowy EIA-2935), DRG Instruments GmbH, Germany; czułość analityczna testu = 1.76 $\mu\text{IU/ml}$;
3. stężenie hormonu wzrostu z wykorzystaniem zestawu DRG hGh ELISA Kit (nr katalogowy EIA-1787), DRG Instruments GmbH, Germany; czułość analityczna testu = 0.5 ng/mL;
4. stężenie insulinopodobnego czynnika wzrostu IGF-1 z wykorzystaniem zestawu DRG IGF-1 600 ELISA kit (nr katalogowy EIA 4140), DRG Instruments GmbH, Germany; czułość analityczna testu = 9.75 ng/mL;
5. stężenie białka wiążącego IGF-1 – IGF-BP3 z wykorzystaniem zestawu DRG IGF-BP3 ELISA kit (nr katalogowy EIA-5049), DRG Instruments GmbH, Germany; czułość analityczna testu = 80 pg/ml

Surowicze stężenie greliny acylowanej oznaczano przy pomocy metody radioimmunologicznej RIA z wykorzystaniem Ghrelin (Active) Radioimmunoassay (RIA) Kit (nr katalogowy GHRA-88HK), LINCO Research, St. Charles MO, USA; czułość analityczna testu = 7,8 pg/ml.

Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki opracowano przy pomocy programu Statistica 10 firmy StatSoft. Celem sprawdzenia istotności różnic pomiędzy grupami użyto zarówno testu t-studenta jak i testu Manna-Whitneya. Dla porównań stężeń badanych hormonów pomiędzy badanymi grupami użyto jednoczynnikowej analizy wariancji z testem post hoc Tukey'a HSD. Korelacje między badanymi parametrami niemającymi rozkładu normalnego oceniono według współczynnika korelacji rang Spearmana. Przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0,05$. Do oceny korelacji zmiennych mających rozkład zgodny z normalnym, użyto współczynnika korelacji liniowej r Pearsona. Do porównania poszczególnych parametrów względem masy urodzeniowej użyto testu Kruskala-Wallisa.

Wyniki

Charakterystyki opisowe poszczególnych badanych grup przedstawiono w tabelach 1-3.

Tabela 1. Charakterystyka opisowa noworodków z prawidłową urodzeniową masą ciała mieszczącą się w przedziale między 2500 g a 4000 g (NBW, $n = 65$).

Zmienna	Noworodki z prawidłową masą ciała ($n = 65$)			
	N ważne	Średnia	Minimum	Maksimum
Masa ciała	65	3379,81	1720,00	4540,00
Obwód głowy	65	34,26	30,00	38,00
Obwód klatki piersiowej	65	33,53	26,00	40,00
Obwód brzucha	65	32,73	23,00	41,00
Obwód uda	65	15,52	11,00	20,00
Obwód ramienia	65	12,14	7,00	16,00
Grelina	65	28,08	8,52	82,20
Leptyna	65	13,02	0,13	34,41
Insulina	65	8,30	1,51	28,20
Hormon wzrostu	65	17,25	2,20	42,40
IGF-1	65	46,45	5,61	107,40
IGF-BP3	65	1847,92	747,50	15244,00

Tabela 2. Charakterystyka opisowa noworodków z niską urodzeniową masą ciała tj. poniżej 2500 g (LBW, n = 72).

Zmienna	Noworodki z niską masą ciała (LBW, n = 72)			
	N ważne	Średnia	Minimum	Maksimum
Masa ciała	72	2162,22	1720,00	2490,00
Obwód głowy	72	31,11	30,00	32,00
Obwód klatki piersiowej	72	28,89	26,00	33,00
Obwód brzucha	72	28,22	23,00	32,00
Obwód uda	72	12,67	11,00	14,00
Obwód ramienia	72	10,11	7,00	12,00
Grelina	72	20,40	8,90	41,88
Leptyna	72	7,95	1,31	25,45
Insulina	72	4,70	1,51	7,30
Hormon wzrostu	72	17,98	10,90	37,20
IGF-1	72	37,37	6,20	81,20
IGF-BP3	72	1694,97	828,80	4349,13

Tabela 3. Charakterystyka opisowa noworodków z dużą urodzeniową masą ciała tj. powyżej 4000 g (HBW, n = 139).

Zmienna	Noworodki z dużą masą ciała (HBW, n = 139)			
	N ważne	Średnia	Minimum	Maksimum
Masa ciała	139	4215,00	4040,00	4540,00
Obwód głowy	139	36,05	35,00	38,00
Obwód klatki piersiowej	139	36,30	34,00	40,00
Obwód brzucha	139	35,85	33,00	41,00
Obwód uda	139	17,12	12,00	20,00
Obwód ramienia	139	13,52	12,00	16,00
Grelina	139	34,96	18,61	80,91
Leptyna	139	19,88	4,57	34,41
Insulina	139	10,49	1,86	28,20
Hormon wzrostu	139	12,62	2,20	41,80
IGF-1	139	55,29	5,61	107,40
IGF-BP3	139	2411,29	974,50	15244,00

Porównując surowicze stężenia badanych hormonów oraz białka IGF-BP3 wykazano, że istnieją istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą NBW, a badanymi grupami LBW i HBW (tabela 4). przedstawia szczegółową analizę porównawczą z wykorzystaniem jednozynnikowej analizy wariancji z testem post hoc Tukey'a HSD.

Tabela 4. Analiza porównawcza surowiczych stężeń hormonów oraz IGF-BP3 pomiędzy badanymi grupami.

Parametr badany	Grupa badana			Wartość p		
	NBW (n = 65)	LBW (n = 72)	HBW (n = 139)	NBW vs. LBW	NBW vs. HBW	LBW vs. HBW
Grelina	28,08	34,96	26,40	0,050	NS	0,003
Leptyna	13,02	7,95	19,88	0,045	0,020	0,001
Insulina	8,30	4,70	10,49	0,002	0,038	0,001
GH	17,25	17,98	12,62	NS	0,050	0,050
IGF-1	46,45	37,37	55,29	0,020	0,050	0,003
IGF-BP3	1847,92	1694,97	2411,29	0,010	0,005	0,003

NS (ang. *non specific*) – brak istotności statystycznej.NBW (ang. *normal body weight*) – grupa noworodków o prawidłowej urodzeniowej masie ciała,LBW (ang. *low body weight*) – grupa noworodków o niskiej urodzeniowej masie ciała,HBW (ang. *high body weight*) grupa noworodków o dużej masie ciała.

KORELACJE MIĘDZY PARAMETRAMI ANTROPOMETRYCZNYMI, A STĘŻENIEM BADANYCH HORMONÓW ORAZ BIAŁKA IGF-BP3.

W grupie LBW spośród istotnych statystycznie zależności wykazano dodatnie korelacje pomiędzy: wielkością masy urodzeniowej a stężeniem leptyny ($r_s = 0,80$; $p = 0,01$); obwodem głowy a stężeniem greliny acylowanej ($r_s = 0,82$; $p = 0,01$); stężeniem insuliny a obwodem klatki piersiowej ($r = 0,95$; $p = 0,04$). Zaobserwowano również istotne statystycznie ujemne korelacje między: obwodem brzucha a stężeniem GH ($r_s = -0,69$; $p = 0,03$), jak i między obwodem ramienia a stężeniem GH ($r_s = -0,76$; $p = 0,02$). Wszystkie badane zależności w grupie LBW przedstawia tabela 5.

Tabela 5. Korelacje między parametrami antropometrycznymi, a pępowinowymi stężeniami badanych czynników w grupie noworodków LBW o masie urodzeniowej poniżej 2500g.

	Noworodki z niską masą ciała (LBW, n = 72)					
	Masa ciała	Obwód głowy	Obwód kl. piersiowej	Obwód brzucha	Obwód ramienia	Obwód uda
Grelina	-0,33	0,82*	-0,18	-0,06	0,12	0,32
Leptyna	0,80*	-0,19	0,34	0,36	0,30	0,22
Insulina	0,47	0,43	0,95****	0,46	-0,03	0,08
GH	-0,06	0,11	-0,25	-0,69***	-0,76**	0,26
IGF-1	0,05	-0,6	-0,21	-0,13	-0,18	-0,07
IGF-BP3	0,04	-0,01	0,06	0,24	-0,02	0,08

W tabeli przedstawiono wartości współczynnika Rang Spearmana oraz, zaznaczone kursywą, wartości współczynnika korelacji liniowej r Pearsona. * $p < 0,01$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,03$; **** $p < 0,05$

W grupie HBW nie zaobserwowano żadnych istotnych statystycznie korelacji.

Tabela 6. Korelacje między parametrami antropometrycznymi, a pępowinowymi stężeniami badanych czynników w grupie noworodków HBW o masie urodzeniowej powyżej 4000g.

	Noworodki z dużą masą ciała (HBW, n = 139)					
	Masa ciała	Obwód głowy	Obwód kl. piersiowej	Obwód brzucha	Obwód ramienia	Obwód uda
Grelina	0,07	-0,35	-0,07	-0,19	0,00	0,09
Leptyna	0,12	0,11	0,14	-0,10	0,04	0,14
Insulina	0,03	-0,21	0,01	-0,02	0,11	0,07
GH	-0,25	-0,37	-0,24	-0,18	-0,14	-0,28
IGF-1	0,28	-0,03	-0,01	-0,06	0,03	0,11
IGF-BP3	0,06	-0,19	-0,39	-0,19	-0,03	-0,33

W tabeli przedstawiono wartości współczynnika Rang Spearmana oraz, zaznaczone kursywą wartości współczynnika korelacji liniowej *r* Pearsona.

Dyskusja

Badania ostatnich lat próbują zdefiniować czynniki wpływające na regulację mechanizmów związanych z procesami wzrastania płodu. Do najważniejszych czynników regulatorowych pobudzających rozwój somatyczny bez wątpienia należą hormony, których działanie anaboliczne towarzyszy regulacjom metabolicznym, a także zachowaniu równowagi energetycznej rozwijającego się organizmu. Coraz częściej podnosi się znaczenie hormonów bezpośrednio uczestniczących w neuroendokrynnym mechanizmie kontroli głodu i sytości, których działanie w tym zakresie odbywa się centralnie, na poziomie podwzgórza. W ten sposób grelina jako hormon oreksygeniczny tj. pobudzający łaknienie oraz leptyna, która w stężeniach fizjologicznych wykazuje działanie przeciwstawne, przekazują do ośrodków głodu i sytości informacje o stanie odżywienia i poziomie zmagazynowanej w organizmie energii [5]. Niemniej jednak wzajemne interakcje pomiędzy wspomnianymi czynnikami (zarówno pochodzenia matczynego, jak i płodowego) w zakresie rozwoju somatycznego płodu nie zostały jeszcze do końca poznane. Według wielu obserwacji klinicznych i eksperymentalnych grelina (zwłaszcza jej postać acylowana, którą uznaje się za bardziej aktywną) oprócz silnego efektu pobudzającego wydzielanie hormonu wzrostu, wpływa na metabolizm węglowodanowy i lipidowy poprzez kreowanie dodatniego bilansu energetycznego [6]. Łożyskowa ekspresja greliny jak i jej obecność we krwi ciężarnych oraz pępowinowej wskazują na jej potencjał w pobudzaniu nie tylko ciążowego przyrostu masy ciała, ale też wewnątrzmacicznego wzrastania płodu [7, 8, 9, 10]. W badaniach na modelu zwierzęcym (szczury) zaobserwowano, że przewlekłe podawanie greliny ciężarnym samicom zwiększa masę urodzeniową płodów, natomiast ciężarne samice traktowane przeciwciałami przeciwko grelinie rodzą potomstwo z niską masą urodzeniową [11]. Coraz częściej podnosi się udział greliny w procesie kompensacji przyrostu masy ciała po urodzeniu (tzw. *catch-up growth*) u dzieci z niską masą urodzeniową [12, 13]. W prezentowanej przez nas pracy znamienne wydaje się być fakt braku korelacji pomiędzy stężeniem greliny we krwi pępowinowej, a an-

tropometrycznymi parametrami urodzeniowymi w grupie noworodków HBW, co można wiązać z udziałem tego hormonu w zjawisku catch up growth, które dotyczy dzieci z niską masą urodzeniową (LBW) i, jak opisano w literaturze, jest szczególnie wyraźne w życiu pozapłodowym. Noworodki o małej masie urodzeniowej w stosunku do wieku płodowego charakteryzuje wysoki poziom greliny we krwi pępowinowej, a także późniejszy większy przyrost masy ciała w porównaniu z dziećmi o dużej i prawidłowej masie urodzeniowej, u których stężenia greliny są niższe [14]. Uzyskane przez nas wyniki odnoszące się do stężeń pępowinowych greliny wyraźnie potwierdzają istotne różnice pomiędzy badanymi grupami. U noworodków z grupy LBW uzyskano znacznie wyższe stężenia greliny w porównaniu z pozostałymi badanymi grupami, przy czym największa różnica dotyczyła porównania LBW vs. HBW ($p = 0,003$). Sugeruje się, że grelina może uczestniczyć w adaptacji płodu do niedożywionego środowiska wewnątrzmacicznego, na co wskazują m.in. badania Farquhar i wsp. Autorzy ci opisali zwiększony poziom greliny u noworodków urodzonych przez matki, które paliły papierosy będąc w ciąży [15], co niewątpliwie jest jednym z głównych czynników ograniczających prawidłowe wzrastanie płodu [16]. W naszym badaniu u dzieci z grupy LBW zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy pępowinowym stężeniem greliny, a obwodem głowy noworodka ($r_s = 0,82$; $p < 0,01$). Wpisuje się to w doniesienia o pobudzającym działaniu greliny na rozwój kości [17], a także może sugerować potencjalny wpływ greliny na przyspieszenie rozwoju mózgu, zważywszy na fakt obecności receptorów dla greliny w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i jej pobudzający efekt na proliferację komórek prekursorowych dla neuronów centralnego układu nerwowego [18].

Podobnie jak grelina, leptyna – hormon wydzielany głównie przez białą tkankę tłuszczową – odpowiada za regulację łaknienia na poziomie centralnego układu nerwowego. W odpowiedzi na dodatni bilans energetyczny leptyna uruchamia kaskadę sygnałów na poziomie podwzgórza hamując uwalnianie neuropeptydów oreksygeniczných i pobudzając uwalnianie neuropeptydów anoreksygeniczných, a jej sekrecja ściśle odzwierciedla zasoby zgromadzonej przez organizm energii [19; 20]. Obecność leptyny w różnicujących się preadipocytach na wczesnych etapach rozwoju zarodka ludzkiego wskazuje na jej znaczenie w rozwoju somatycznym i regulacjach metabolicznych w życiu wewnątrzmacicznym [21]. W badaniach immunohistochemicznych zaobserwowano również ekspresję leptyny oraz mRNA dla leptyny zarówno w komórkach syncytiotrofoblastu (od strony matczynej), jak i w komórkach endotelialnych naczyń kosmków (od strony płodowej) wykazując tym samym, że łożysko może być dodatkowym źródłem leptyny matczynej i płodowej [22]. Uwzględniając powyższe, zaobserwowane przez nas najwyższe stężenia leptyny w grupie noworodków HBW i najniższe w grupie LBW, jak również dodatnia zależność między pępowinowym stężeniem leptyny a urodzeniową masą ciała w grupie LBW ($r_s = -0,80$, $p < 0,01$) oraz w grupie NBW (wyniki nie ujęte w tabelach, $r_s = -0,45$, $p < 0,05$) pozostają w zgodzie z doniesieniami światowymi, w których opisano, że leptyna wykazuje silny związek z urodzeniową masą ciała oraz może uczestniczyć w kształtowaniu procesów metabolicznych [20]. O ile w warunkach prawidłowych leptyna

ujawnia działanie insulinopodobne hamując glikogenezę (poprawia też insulinowrażliwość, a także moduluje wydzielanie samej insuliny), a w zakresie gospodarki lipidowej hamuje lipogenezę i pobudza lipolizę, o tyle hiperleptynemia związana z nadmierną masą ciała staje się podstawą do rozwoju leptynooporności i zaburzenia fizjologicznego wydzielania i funkcji leptyny [23, 24]. Być może właśnie z tego powodu nie zaobserwowaliśmy żadnych istotnych statystycznie korelacji pomiędzy surowiczym stężeniem leptyny, a urodzeniową masą ciała u noworodków z grupy HBW.

Jak wynika z doniesień światowych, na etapie życia wewnątrzmacicznego wpływ przysadkowego GH płodu na wzrastanie jest niewielki. Istotną rolę może natomiast odgrywać GH tkankowy, którego wydzielanie również pozostaje pod kontrolą greliny, działającej przez zlokalizowane w tkankach receptory, jak i GH wydzielany przez łożysko [25, 26]. W badaniach na ciężarnych, u których przezłożyskowy transfer składników odżywczych i tlenu do płodu był znacznie ograniczony z powodu niedożywienia i/lub anemii matek, stwierdzono istotne zwiększenie stężenia GH we krwi pępowinowej jako wyraz kompensacyjnego wytwarzania czynników wzrostowych w sytuacji zagrożenia niedotlenieniem i niedożywieniem płodu [27]. W oparciu o nasze wyniki nie stwierdzono znaczących różnic w pępowinowym stężeniu GH pomiędzy noworodkami NBW a LBW, natomiast u noworodków LBW zaobserwowano istotne statystycznie ujemne zależności między stężeniem GH, a parametrami antropometrycznymi (obwód brzucha i obwód ramienia; odpowiednio: $r_s = -0,69$, $p < 0,03$ i $r_s = -0,76$, $p < 0,02$) przy braku takich zależności w pozostałych grupach badanych (NBW i HBW), co może sugerować adaptacyjną w stosunku do niskiej masy ciała aktywność komórek wydzielających GH do krążenia płodowego.

Jednym z najbardziej istotnych mechanizmów regulatorowych biorących udział w rozwoju somatycznym płodu jest aktywność insulinopodobnych czynników wzrostu, w tym IGF-1, które wykazują właściwości mitogenne indukując wzrost i proliferację komórek, jak i ich udział w efektywnym dostarczaniu składników odżywczych przez łożysko [26]. W naszych badaniach zaobserwowaliśmy największe pępowinowe stężenie IGF w grupie noworodków HBW i najmniejsze w grupie LBW, a uzyskane różnice osiągnęły istotność statystyczną porównując wszystkie badane grupy (dla NBW vs. LBW $p = 0,020$; dla NBW vs. HBW $p = 0,050$; dla LBW vs. HBW $p = 0,003$). Nie odnotowaliśmy natomiast żadnych istotnych korelacji między pępowinowym stężeniem IGF-1, a zmierzonymi parametrami antropometrycznymi. Obserwacja ta częściowo wpisuje się w doniesienia nt. genetycznie uwarunkowanych mechanizmów odpowiedzialnych za surowicze pępowinowe stężenie IGF-1, w odróżnieniu od stężeń IGF-2, które oprócz tła genetycznego zależą również od innych czynników pochodzenia matczynego [28]. Aktywność biologiczna czynników wzrostowych, podobnie jak innych hormonów, w dużej mierze zależy od stopnia związania ich z białkami transportowymi. Frakcja związana jest frakcją nieaktywną. W przypadku czynników wzrostowych, w tym IGF-1, im więcej białek transportowych znajduje się w krążeniu (tu: IGF-BP3), tym mniejszej aktywności pobudzającej wzrastanie

należy się spodziewać. W ten sposób organizm może ograniczać np. niekontrolowane pobudzenie proliferacji komórkowej, które zwiększa ryzyko kancerogenezy [29], albo prowadzi do nadmiernego przyrostu masy ciała. Analizując surowicze stężenia IGF-1 oraz IGF-BP3 w badanych grupach noworodków stwierdziliśmy istotnie niższe stężenia IGF-BP3 w grupie LBW w porównaniu z pozostałymi grupami (dla NBW vs. LBW $p = 0,010$; dla NBW vs. HBW $p = 0,005$; dla LBW vs. HBW $p = 0,003$). Takie wartości mogą wskazywać na zwiększanie aktywności biologicznej IGF-1 zgodnie z potrzebami organizmu, tj. u dzieci z niską masą urodzeniową.

Oprócz ww. hormonów istotną rolę w somatycznym rozwoju płodu odgrywa insulina, która swoje działanie anaboliczne opiera głównie na pobudzaniu transportu dokońcowego składników odżywczych. Ponadto, insulina współdziała i wchodzi w interakcje z pozostałymi czynnikami modulując ich wydzielanie i proliferację komórkową, a jako „hormon obfitości” stymuluje magazynowanie tłuszczu oraz tworzenie depozytów glikogenu potrzebnych dla rozwijającego się organizmu. Wykazano, że u noworodków z makrosomią urodzonych przez matki, u których rozpoznano cukrzycę ciężarnych, surowicze stężenie insuliny jest zwiększone w odpowiedzi na wysoki poziom glukozy pochodzącej z krążenia matczynego. Wiąże się to z kolei z anabolicznym działaniem insuliny i zwiększeniem masy urodzeniowej noworodków. W naszym badaniu, mimo że u matek nie stwierdzono cech cukrzycy, noworodki z grupy HBW wykazywały najwyższe i istotnie większe od pozostałych grup prawidłowe stężenie insuliny, natomiast w grupie LBW wartości te były istotnie niższe porównując z pozostałymi grupami noworodków (dla NBW vs. LBW $p = 0,002$; dla NBW vs. HBW $p = 0,038$; dla LBW vs. HBW $p = 0,001$). Wysokim stężeniom insuliny odpowiadały wysokie stężenia leptyny, której sekrecja pozostaje pod pobudzającym wpływem insuliny [23, 24]. Podobnie jak w przypadku pozostałych badanych hormonów oraz IGF-BP3, odnotowano istotną statystycznie dodatnią zależność pomiędzy prawidłowym stężeniem insuliny, a jednym z parametrów antropometrycznych (obwód klatki piersiowej) w grupie LBW ($r = 0,95$; $p < 0,05$). Warto też wspomnieć, że mimo braku wyraźnej istotności statystycznej siła związku między badanymi parametrami (tu: surowicze stężenie insuliny i urodzeniowa masa ciała w grupie NBW oraz w grupie LBW) mieściła się w przedziale słaba – przeciętna (dla NBW $r = 0,28$; dla LBW $r = 0,47$), a wartość p była zbliżona do poziomu istotności statystycznej (dla NBW $p = 0,065$; dla LBW $p = 0,054$). Brak wyraźnych korelacji pomiędzy stężeniem insuliny, a parametrami antropometrycznymi w grupie HBW przy najwyższym (w porównaniu z pozostałymi grupami) stężeniu insuliny, wskazywać może na cechy insulinooporności, której często towarzyszy leptynooporność. Dokładna analiza tych zależności wymaga jednak dalszych badań z uwzględnieniem większej grupy badawczej wraz z oceną stężenia glukozy, insulinowrażliwości, hormonów i czynników wzrostowych zarówno we krwi prawidłowej, jak i matczynej, tym bardziej, że nawet niewielkie podwyższenie stężenia glukozy u matki może wywierać wpływ na wzrastanie płodu [74].

Wnioski

Pępowinowe stężenia uznanych czynników regulujących wzrastanie płodu, do których należą: insulina, leptyna, grelina i GH, korelują z urodzeniowymi parametrami antropometrycznymi noworodków. U noworodków z niską urodzeniową masą ciała (poniżej 2500g) obserwuje się adaptacyjne zmiany w pępowinowych stężeniach hormonów regulujących łaknienie, co prawdopodobnie ma związek z próbą kompensacji niedoborów składników odżywczych. Noworodki z makrosomią, tj. z urodzeniową masą ciała przekraczającą 4000g, charakteryzują się wzmożonym uwalnianiem insuliny i leptyny. Oprócz działania typowych czynników wzrostowych (insuliny, GH, IGF-1), sugeruje się udział leptyny i greliny w rozwoju somatycznym płodów.

BIBLIOGRAFIA

1. Genowska A, Strukcinskiene B, Bochenko-Łuczyńska J, Motkowski R, Jamiółkowski J, Abramowicz P, Konstantynowicz J. Reference Values for Birth Weight in Relation to Gestational Age in Poland and Comparison with the Global Percentile Standards. *J Clin Med*. 2023 Sep 3;12(17):5736. doi: 10.3390/jcm12175736.
2. Sedaghat K, Zahediasl S, Ghasemi A. Intrauterine programming. *Iran J Basic Med Sci*. 2015 Mar;18(3):212-20.
3. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev*. 2007 Jan;8(1):21-34. doi: 10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x.
4. Chabot F, Caron A, Laplante M, St-Pierre DH. Interrelationships between ghrelin, insulin and glucose homeostasis: Physiological relevance. *World J Diabetes*. 2014 Jun 15;5(3):328-41. doi: 10.4239/wjd.v5.i3.328.
5. Warchoła M, Krauss H, Wojciechowska M, Opala T, Pięta B, Żukiewicz-Sobczak W, Kupisz J, Grochowalska A. The role of ghrelin, leptin and insulin in foetal development. *Ann Agric Environ Med*. 2014;21(2):349-352. doi: 10.5604/1232-1966.1108603.
6. Sato T, Ida T, Shiimura Y, Matsui K, Oishi K, Kojima M. Insights Into the Regulation of Offspring Growth by Maternally Derived Ghrelin. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Feb 18;13:852636. doi: 10.3389/fendo.2022.852636.

7. Chanoine JP, Yeung LP, Wong AC, Birmingham CL. Immunoreactive ghrelin in human cord blood: relation to anthropometry, leptin, and growth hormone. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Sep;35(3):282-6. Doi: 10.1097/00005176-200209000-00009.
8. Cortelazzi D, Cappiello V, Morpurgo PS, Ronzoni S, Nobile De Santis MS, Cetin I, Beck-Peccoz P, Spada A. Circulating levels of ghrelin in human fetuses. *Eur J Endocrinol.* 2003 Aug;149(2):111-6. doi: 10.1530/eje.0.1490111.
9. Budak E, Fernández Sánchez M, Bellver J, Cerveró A, Simón C, Pellicer A. Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system. *Fertil Steril.* 2006 Jun;85(6):1563-81. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.09.065.
10. Ohkawa N, Shoji H, Kitamura T, Suganuma H, Yoshikawa N, Suzuki M, Lee T, Hisata K, Shimizu T. IGF-I, leptin and active ghrelin levels in very low birth weight infants during the first 8 weeks of life. *Acta Paediatr.* 2010 Jan;99(1):37-41. doi: 10.1111/j.1651-2227.2009.01516.x.
11. Nakahara K, Nakagawa M, Baba Y, Sato M, Toshinai K, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Miyazato M, Kaiya H, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N. Maternal ghrelin plays an important role in rat fetal development during pregnancy. *Endocrinology.* 2006 Mar;147(3):1333-42. doi: 10.1210/en.2005-0708.
12. Stawerska R, Szałapska M, Hilczek M, Lewiński A. Ghrelin, insulin-like growth factor I and adipocytokines concentrations in born small for gestational age prepubertal children after the catch-up growth. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2016 Aug 1;29(8):939-45. doi: 10.1515/jpem-2015-0463.
13. Gohlke BC, Huber A, Hecher K, Fimmers R, Bartmann P, Roth CL. Fetal insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, and ghrelin in association with birth weight and postnatal growth in monozygotic twins with discordant growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Apr;90(4):2270-4. doi: 10.1210/jc.2004-1192.
14. Fidancı K, Meral C, Süleymanoğlu S, Pirgon Ö, Karademir F, Aydınöz S, Özkaya H, Gültepe M, Göçmen İ. Ghrelin levels and postnatal growth in healthy infants 0-3 months of age. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2010;2(1):34-8. doi: 10.4274/jcrpe.v2i1.34.
15. Farquhar J, Heiman M, Wong AC, Wach R, Chessex P, Chanoine JP. Elevated umbilical cord ghrelin concentrations in small for gestational age neonates. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Sep;88(9):4324-7. doi: 10.1210/jc.2003-030265.
16. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018 Oct;52:3-12. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.04.003.
17. Fukushima N, Hanada R, Teranishi H, Fukue Y, Tachibana T, Ishikawa H, Takeda S, Takeuchi Y, Fukumoto S, Kangawa K, Nagata K, Kojima M. Ghrelin directly regulates bone formation. *J Bone Miner Res.* 2005 May;20(5):790-8. doi: 10.1359/JBMR.041237.
18. Johansson I, Destefanis S, Aberg ND, Aberg MA, Blomgren K, Zhu C, Ghè C, Granata R, Ghigo E, Muccioli G, Eriksson PS, Isgaard J. Proliferative and protective effects of growth hormone secretagogues on adult rat hippocampal progenitor cells. *Endocrinology.* 2008 May;149(5):2191-9. doi: 10.1210/en.2007-0733.

19. LeDuc CA, Skowronski AA, Rosenbaum M. The Role of Leptin in the Development of Energy Homeostatic Systems and the Maintenance of Body Weight. *Front Physiol.* 2021 Dec 10;12:789519. doi: 10.3389/fphys.2021.789519.
20. Fonseca VM, Sichieri R, Moreira ME, Moura AS. Early postnatal growth in preterm infants and cord blood leptin. *J Perinatol.* 2004 Dec;24(12):751-6. doi: 10.1038/sj.jp.7211188.
21. Atanassova P, Popova L. Leptin expression during the differentiation of subcutaneous adipose cells of human embryos in situ. *Cells Tissues Organs.* 2000;166(1):15-9. doi: 10.1159/000016704.
22. Lea RG, Howe D, Hannah LT, Bonneau O, Hunter L, Hoggard N. Placental leptin in normal, diabetic and fetal growth-retarded pregnancies. *Mol Hum Reprod.* 2000 Aug;6(8):763-9. doi: 10.1093/molehr/6.8.763
23. Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, Essack M, Arya S, Stewart AJ, Gojobori T, Isenovic ER. Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 May 18;12:585887. doi: 10.3389/fendo.2021.585887.
24. Perakakis N, Farr OM, Mantzoros CS. Leptin in Leanness and Obesity: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2021 Feb 16;77(6):745-760. doi: 10.1016/j.jacc.2020.11.069.
25. Bauer MK, Harding JE, Bassett NS, Breier BH, Oliver MH, Gallaher BH, Evans PC, Woodall SM, Gluckman PD. Fetal growth and placental function. *Mol Cell Endocrinol.* 1998 May 25;140(1-2):115-20. doi: 10.1016/s0303-7207(98)00039-2.
26. Murphy VE, Smith R, Giles WB, Clifton VL. Endocrine regulation of human fetal growth: the role of the mother, placenta, and fetus. *Endocr Rev.* 2006 Apr;27(2):141-69. doi: 10.1210/er.2005-0011.
27. Mahajan SD, Singh S, Shah P, Gupta N, Kochupillai N. Effect of maternal malnutrition and anemia on the endocrine regulation of fetal growth. *Endocr Res.* 2004 May;30(2):189-203. doi: 10.1081/erc-200027380.
28. Verhaeghe J, Loos R, Vlietinck R, Herck EV, van Bree R, Schutter AM. C-peptide, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor binding protein-1 in cord serum of twins: genetic versus environmental regulation. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Nov;175(5):1180-8. doi: 10.1016/s0002-9378(96)70025-x.
29. Stasik Z. IGF-1 and IGFBP-3 in cancer patients. *Journal of Laboratory Diagnostics.* 2018;54(4):267-274. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.7766>.
30. Hoegsberg B, Gruppuso PA, Coustan DR. Hyperinsulinemia in macrosomic infants of nondiabetic mothers. *Diabetes Care.* 1993 Jan;16(1):32-6. doi: 10.2337/diacare.16.1.32.

STRESZCZENIE

Wstęp: Średnia prawidłowa masa ciała zdrowych noworodków urodzonych w Polsce wynosi nieco ponad 3500g, przy czym zakres referencyjny mieści się w przedziale między 2500g, a 4000g. Ponieważ prawidłowa masa urodzeniowa jest jedną z najważniejszych determinant wpływających na dalszy rozwój dziecka, zarówno zbyt wysoka, jak i zbyt niska masa urodzeniowa wskazują na zwiększone ryzyko wystąpienia zaburzeń rozwojowych, w tym, związanych z dalszym procesem wzrastania, jaki i o charakterze metabolicznym. W rozwoju wewnątrzmacicznym, oprócz czynników genetycznych, dostępności składników odżywczych i tlenu, znaczącą rolę odgrywają czynniki wzrostowe i hormony regulujące wzrastanie płodu. Należą do nich m.in.: hormon wzrostu GH, insulinopodobne czynniki wzrostu IGF, insulina, czy hormony tarczycy. Trzy pierwsze w znaczący sposób wpływają na syntezę i wydzielanie podstawowych hormonów regulujących łaknienie na poziomie podwzgórzowym, tj. leptyny i greliny, co zostało udokumentowane w badaniach na populacji dorosłych i jest ciągle przedmiotem badań w populacji noworodków i niemowląt. Cel: Celem pracy była ocena stężenia GH, IGF-1, białka wiążącego IGF-1, insuliny, greliny acylowanej i leptyny we krwi pępowinowej oraz określenie zależności pomiędzy stężeniami tych czynników, a antropometrycznymi parametrami urodzeniowymi noworodków z niską, i dużą urodzeniową masą ciała. **Materiał i metody:** Badaniem objęto 276 zdrowych noworodków z niską masą urodzeniową (LBW, masa ciała poniżej 2500 g, $n = 72$), prawidłową masą urodzeniową (NBW, masa ciała mieszcząca się w przedziale 2500 g – 4000 g, $n = 65$), oraz dużą urodzeniową masą ciała (HBW, masa ciała powyżej 4000 g, $n = 139$). Oprócz pomiaru urodzeniowej masy ciała zmierzono obwód głowy, brzucha, klatki piersiowej, ramienia, i uda. Wykorzystując testy immunoenzymatyczne ELISA, w surowicy krwi pępowinowej pobranej podczas porodu oznaczono stężenia GH, insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1), białka wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-BP3), insuliny, leptyny. Dodatkowo, przy użyciu metody RIA oznaczono stężenie greliny acylowanej. **Wyniki:** Stężenia oznaczanych czynników wzrostowych różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami. W porównaniu z pozostałymi grupami noworodków, w grupie LBW odnotowano najwyższe stężenia greliny acylowanej oraz najniższe stężenia leptyny, insuliny i IGF-1. Analogicznie, porównując z pozostałymi grupami noworodków, w grupie HBW wykazano najwyższe stężenia leptyny, insuliny, IGF-1 oraz IGF-BP3, a także najniższe stężenia greliny i GH. U noworodków LBW zaobserwowano szereg korelacji między pępowinowym stężeniem badanych czynników, a parametrami antropometrycznymi. Wykazano dodatnią korelację ($r_s = 0,80$; $p < 0,01$) między wielkością masy urodzeniowej, a stężeniem leptyny we krwi pępowinowej, bez istotnych statystycznie zależności pomiędzy masą ciała, a surowiczymi stężeniami: greliny, GH, IGF-1, czy IGF-BP3. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy obwodem głowy, a stężeniem greliny acylowanej we krwi pępowinowej ($r_s = 0,82$; $p < 0,01$) oraz brak zależności w odniesieniu do pozostałych badanych hormonów. Obwód klatki piersiowej korelował dodatnio ze stężeniem insuliny ($r = 0,95$; $p = 0,04$), a wielkość obwodu brzucha jak i obwodu ramienia wykazywały ujemną zależność w odniesieniu do GH (odpowiednio: $r_s = -0,69$; $p < 0,03$ oraz $r_s = -0,76$; $p < 0,02$). Pomędzy badanymi parametrami antropometrycznymi, a stężeniem hormonów i IGFBP3 nie zaobserwowano innych statystycznie istotnych korelacji. Analogiczne analizy przeprowadzone w odniesieniu do noworodków HBW oraz NBW nie wykazały żadnych istotnych statystycznie korelacji, poza dodatnią korelacją między pępowinowym

stężeniem leptyny, a urodzeniową masą ciała noworodków z grupy NBW ($r = -0,45$, $p < 0,05$). **Wnioski:** Pępowinowe stężenia insuliny, leptyny, greliny i GH wykazują zależności z urodzeniowymi parametrami antropometrycznymi. U noworodków z grupy LBW wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu prowadzi do adaptacyjnych zmian hormonalnych hormonów regulujących łaknienie. Noworodki HBW charakteryzują się wzmożonym uwalnianiem insuliny i leptyny. Oprócz działania typowych czynników wzrostowych (insulina, GH, IGF-1) sugeruje się udział leptyny i greliny w rozwoju somatycznym płodów.

SŁOWA KLUCZOWE: grelina, leptyna, hormon wzrostu, insulinopodobny czynnik wzrostu, insulina, krew pępowinowa, noworodki, rozwój płodu.

ABSTRACT:

Introduction: The mean normal birth weight established for the Polish population is slightly over 3,500 g, with reference values between 2,500 g and 4,000 g. Since birth weight appears to be one of the most important determinants of growth, both too high and too low birth weight are associated with increased risk of developmental disorders affecting growth and metabolic processes. During intrauterine life, genetic factors, food and oxygen availability, and hormonal regulatory effects play a crucial role in fetal development. The most important hormones and factors affecting fetal growth are: growth hormone (GH), insulin-like growth factor (IGF), insulin, and thyroid hormones. In adults, GH, IGF-1, and insulin markedly influence the synthesis and secretion of two appetite-regulating hormones: ghrelin and leptin. However, studies documenting their function and release during fetal life are still lacking. **Aim:** The purpose of the study was to evaluate the cord blood concentration levels of GH, IGF-1, IGF-BP3, insulin, ghrelin, and leptin, and determine the relationship between the concentrations of these bioactive factors and anthropometric measurements of infants with normal, low, and high birth weight. **Material and methods:** The study was conducted on 267 healthy newborns. They were divided into three study groups by weight: normal birth weight (NBW, birth weight between 2,500 g and 4,000 g, $n = 65$), low birth weight (LBW, birth weight below 2,500 g, $n = 72$), and high birth weight (HBW, birth weight over 4,000 g, $n = 139$). At birth, the circumference of the head, chest, abdomen, thigh, and arm were measured and body mass was recorded. In cord blood samples, the concentrations of GH, IGF-1, IGF-BP3, acyl ghrelin, leptin, and insulin were estimated using immunoenzymatic methods and RIA. **Results:** As regards the tested hormones, there were statistically significant differences between the studied groups. The highest levels of acyl ghrelin and the lowest levels of leptin, insulin, and IGF-1 were recorded in the LBW newborns. Similarly, the highest levels of leptin, insulin, IGF-1, and IGF-BP3, and the lowest concentration of acyl ghrelin and GH were observed in the HBW infants. There were several correlations between the studied hormones and birth anthropometric parameters in the LBW group. Birth mass correlated positively with cord blood leptin ($r_s = 0.80$; $p < 0.01$), head circumference correlated positively

with acyl ghrelin level ($r_s = 0.82$; $p < 0.01$), and chest circumference, with insulin ($r = 0.95$; $p = 0.04$). The abdominal circumference as well as arm circumference were negatively associated with GH concentration ($r_s = -0.69$; $p < 0.03$ and $r_s = -0.76$; $p < 0.02$, respectively). In the two remaining groups, HBW and NBW, no associations were observed except for a positive correlation between birth mass and leptin in the NBW newborns ($r = -0.45$, $p < 0.05$). **Conclusions:** Cord blood insulin, leptin, acyl ghrelin, and GH correlated with anthropometric measurements of newborns. In newborns with low-birth-weight inhibition of growth, adaptive changes concerning appetite-regulating hormones were observed. HBW newborns demonstrated increased insulin and leptin levels. Apart from typical growth factors activity (insulin, GH, IGF-1), leptin and ghrelin may play a significant role in the fetal somatic development.

KEYWORDS: ghrelin, leptin, growth hormone, insulin-like growth factors, insulin, cord blood, newborns, fetal development.