

Mineralna gustoća kosti i biljezi koštane pregradnje u bolesnika sa somatotropinomom

Dušek, Tina

Doctoral thesis / Disertacija

2010

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:015229>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





Središnja medicinska knjižnica

Dušek, Tina (2010) *Mineralna gustoća kosti i biljezi koštane pregradnje u bolesnika sa somatotropinomom [Bone mineral density and bone turnover markers in patients with somatotropinoma].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/927>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

Sveučilište u Zagrebu

Medicinski fakultet

Tina Dušek

**MINERALNA GUSTOĆA KOSTI I BILJEZI KOŠTANE
PREGRADNJE U BOLESNIKA SA SOMATOTROPINOMOM**

Doktorska disertacija

Zagreb, studeni 2010.

Rad je izrađen u Zavodu za endokrinologiju Klinike za unutrašnje bolesti

Kliničkog bolničkog centra Zagreb

Voditelj istraživanja: Doc. dr. sc. Darko Kaštelan, dr. med.

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 6 |
| 1.1. Hormon rasta..... | 6 |
| 1.2. Kliničke karakteristike akromegalije..... | 8 |
| 1.3. Građa i metabolizam kosti | 10 |
| 1.3.1. Koštana pregradnja | 12 |
| 1.3.2. Utjecaj HR i IGF-1 na kost | 13 |
| 1.4. Dosadašnja istraživanja o koštanoj pregradnji i mineralnoj gustoći kosti u bolesnika s akromegalijom | 16 |
| 2. CILJ, SVRHA I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA | 22 |
| 3. ISPITANICI, PLAN I METODE ISTRAŽIVANJA..... | 24 |
| 3.1. Ispitanici | 24 |
| 3.2. Plan istraživanja | 25 |
| 3.3. Mjerenje mineralne gustoće kosti | 28 |
| 3.4. Mjerenje kvantitativnog ultrazvuka petne kosti | 29 |
| 3.5. Biokemijske metode | 29 |
| 3.6. Statističke metode | 30 |
| 4. REZULTATI | 31 |
| 4.1. Prikaz općih značajki populacije | 31 |
| 4.2. Prikaz rezultata liječenja i postizanja remisije bolesti | 34 |
| 4.3. Rezultati analize biljega koštane pregradnje | 38 |
| 4.4. Rezultati mjerenja mineralne gustoće kosti pomoću DXA | 45 |
| 4.5. Rezultati mjerenja kvantitativnog ultrazvuka petne kosti | 53 |
| 5. RASPRAVA | 56 |
| 5.1. Osvrt na rezultate liječenja i pridružene bolesti u ispitivanoj skupini | 56 |
| 5.2. Metabolizam kosti u bolesnika sa somatotropinomom | 57 |
| 5.3. Mineralna gustoća kosti..... | 60 |
| 6. ZAKLJUČCI | 63 |
| 7. SAŽETAK | 65 |
| Summary | 67 |
| 8. LITERATURA..... | 69 |
| 9. ŽIVOTOPIS..... | 81 |

POPIS SKRAĆENICA

| | |
|--------------|--|
| ACTH | kortikotropni hormon |
| ADH | antidiuretski hormon |
| BMD | mineralna gustoća kosti (prema engl. <i>bone mineral density</i>) |
| BMI | indeks tjelesne mase (prema engl. <i>body mass index</i>) |
| BUA | slabljenje ultrazvučnog vala pri prolasku kroz kost (prema engl. <i>broadband ultrasound attenuation</i>) |
| DXA | dvoenergetska apsorpciometrija x zraka (prema engl. <i>dual energy x-ray absorptiometry</i>) |
| FSH | folikul-stimulirajući hormon |
| HR | hormon rasta |
| Hip | proksimalni dio bedrene kosti |
| IGF-I | faktor rasta sličan inzulinu (prema engl. <i>insulin like growth factor-I</i>) |
| Inter | intertrohanterični dio bedrene kosti |
| IR | interkvartilni raspon |
| KAF | koštana alkalna fosfataza |
| LH | luteinizirajući hormon |
| L1-L4 | lumbalna kralježnica |
| Neck | vrat bedrene kosti |
| OPG | osteoprotegerin |
| PTH | paratiroidni hormon |
| QUI | indeks kvantitativnog ultrazvuka (prema engl. <i>quantitative ultrasound index</i>) |
| QUS | kvantitativni ultrazvuk (prema engl. <i>quantitative ultrasound</i>) |

| | |
|---------------|---|
| RANK | receptor za aktivaciju jezgrenog faktora kapa-B (prema engl. <i>receptor activator of nuclear factor κ-B</i>) |
| RANK-L | ligand receptora za aktivaciju jezgrenog faktora kapa-B (prema engl. <i>receptor activator of nuclear factor κ-B ligand</i>) |
| SOS | brzina ultrazvučnog vala (prema engl. <i>speed of sound</i>) |
| T3 | trijodtironin |
| T4 | tiroksin |
| fT3 | slobodni trijodtironin |
| fT4 | slobodni tiroksin |
| TSH | tireotropin |
| 25-OHD | 25-hidroksi vitamin D |

1. UVOD

1.1. Hormon rasta

Hormon rasta (HR) je jednolančani polipeptid izgrađen od 191 aminokiseline kojeg proizvode somatotropne stanice prednjeg režnja hipofize. Najznačajnija uloga hormona rasta je poticanje rasta organizma i svih njegovih organskih sustava što je najvažnije u periodu djetinjstva i adolescencije. Hormon rasta potiče diferencijaciju i umnažanje stanica te sintezu proteina. Njegovi metabolički učinci su poticanje glukoneogeneze u jetri i lipolize ¹.

Hormon rasta ostvaruje svoj učinak u organizmu na dva načina. Jedan je izravnim djelovanjem na periferna tkiva, a drugi je posredstvom svog medijatora - faktora rasta sličnog inzulinu-I (IGF-I; prema engl. *insulin-like growth factor-I*) čiju sintezu HR potiče u jetri. Hormon rasta je u krvi vezan za HR-vezivajući protein, a svoj učinak ostvaruje vezivanjem na stanični transmembranski glikoproteinski receptor (GHR; prema engl. *growth hormone receptor*) te daljnjom signalizacijom preko Janus tirozin kinaze-2 (JAK-2) i unutarstaničnih proteina od kojih su najznačajniji STAT proteini (prema engl. *signal transducers and activators of transcription*) ^{2,3,4}. IGF-I u organizmu djeluje na dva načina: poput cirkulirajućeg hormona, sintetiziranog u jetri pod kontrolom hormona rasta i s druge strane kao lokalni faktor rasta čija se sinteza odvija u mnogim organima i neovisna je o HR. Oko 99% ukupnog IGF-I u krvotoku se nalazi vezan u spoju s IGF-vezivajućim proteinom (IGFBP; prema engl. *IGF-binding protein*) i podjedinicom ALS (prema engl. *acid labile subunit*). U organizmu postoji 6 tipova IFGBP, od kojih je najznačajniji IGFBP-3 jer je na njega vezano oko 80% ukupnog IGF-I u

organizmu ⁵. Svoj učinak na periferna tkiva IGF-I ostvaruje vezivanjem na membranski IGF-I receptor (IGF-I-R) koji ima funkciju tirozin-kinaze i aktivator je unutarstaničnog AKT (serin/treonin protein kinaza) signalnog puta. Lučenje IGF-I ovisno je o spolu i genetskim faktorima. Najveće lučenje IGF-I prisutno je u periodu kasne adolescencije i smanjuje se starenjem. Koncentracije IGF-I su povećane u trudnoći, a smanjene u pothranjenih bolesnika kao i onih s jetrenom bolesti, loše reguliranim dijabetesom i hipotireozom ^{6,7}.

Sintezu i sekreciju hormona rasta potiče somatoliberin (GHRH), a inhibira ju somatostatin. Oba se luče iz hipotalamusa. Ghrelin, peptid kojeg stvaraju stanice sluznice fundusa želuca i epsilon stanice iz pankreasa ovisno o količini nutrijenata u probavnom traktu, također stimulira hipotalamus i hipofizu na lučenje hormona rasta. Spolni hormoni i hormoni štitnjače potiču lučenje hormona rasta dok ga glukokortikoidi inhibiraju ⁸. IGF-I negativnom povratnom spregom kontrolira lučenje HR ⁹. Lučenje hormona rasta se odvija tijekom cijelog života i pulzatilno je karaktera. Nasumično mjerenje hormona rasta tijekom dana u zdrave osobe najčešće pokazuje nemjerljive vrijednosti HR (<0,2 µg/L) u krvi. Procjenjuje se da hipofiza zdrave osobe intermitentno, oko 10 puta u 24 sata (uglavnom u snu) pulzatilno izluči količinu hormona rasta čija koncentracija u krvi tada dosežu vrijednost i do 30 µg/L ¹⁰. Te se vršne koncentracije HR u krvi zdravih ljudi čak preklapaju s koncentracijama izmjerenim u bolesnika s akromegalijom. Najintenzivnije lučenje HR je u periodu djetinjstva i adolescencije, a smanjuje se starenjem. To smanjenje je značajno brže u muškaraca nego u žena. Na smanjenje lučenja HR u starijoj dobi najvjerojatnije

utječe smanjenje količine spolnih hormona u organizmu, smanjenje fizičke aktivnosti i poremećaji sna ¹¹. Nedostatno lučenje hormona rasta u djetinjstvu očituje se niskim rastom, smanjenjem mišićne mase, smanjenjem mineralne gustoće kortikalne kosti i povećanjem udjela masnog tkiva u organizmu. Nakon izolacije iz kadaveričnih somatotropnih stanica hipofize, 1958. godine hormon rasta je po prvi puta upotrebljen za liječenje hipopituitarizma kod djece ¹², a od 1985. godine se u terapijske svrhe koristi biosintetski rekombinantni HR. Međunarodni olimpijski komitet svrstao je hormon rasta na listu nedopuštenih sredstava i njegova se zloupotreba u sportu smatra dopingom ¹³. Akromegalija, karakterizirana prekomjernim lučenjem hormona rasta u odrasloj dobi, može poslužiti kao model za praćenje učinka hormona rasta i IGF-1 na sve organske sustave.

1.2. Kliničke karakteristike akromegalije

Talijanski liječnik Verga je još 1864. godine opisao bolesnicu s neobičnim izgledom lica nazvavši to stanje prosopektazijom (od grčki *prosopon* lice, i *ektasis* proširenje). Bolesnica je uz karakteristične deformacije lica i osteoartropatiju imala i srčanu aritmiju, a naknadno je obdukcijom nađena i uvećana hipofiza ¹⁴. Lubanja bolesnice je postmortalno izložena u Anatomskom muzeju u Modeni, u Italiji. Francuski liječnik Pierre Marie je krajem 19. stoljeća također opisao dvoje sličnih bolesnika kojima je na obdukciji uz visceromegaliju nađena i uvećana hipofiza ¹⁵. Kasnije je bolest nazvana akromegalijom (prema grčkom *akros*- krajnji, gornji i *megas*-velik). U početku nije bilo jasno da li je

uvećanje hipofize posljedica istog uzroka zbog kojeg postoji i uvećanje ostalih organa, ili je pak uvećana hipofiza uzrok visceromegalije. Harvey Cushing je prvi puta 1909. godine uočio da je nakon parcijalne resekcije hipofize došlo do povlačenja kliničkih simptoma akromegalije. Na taj način ukazao je da bi osnova poremećaja mogla biti u prekomjernoj aktivnosti te žlijezde. Tim otkrićem Cushing je dao i prve smjernice za liječenje opisanog poremećaja ^{16,17}.

Danas se zna da je akromegalija skup kliničkih simptoma uzrokovanih prekomjernim lučenjem hormona rasta, najčešće iz somatotropinoma hipofize, a rjeđe iz ektopičnih tkiva poput tkiva karcinoma. Somatotropinomi su benigni monoklonalni adenomi nastali iz somatotropnih stanica hipofize koji autonomno luče hormon rasta. Prekomjerno lučenje hormona rasta u odrasloj dobi je karakterizirano prekomjernim rastom kostiju lica, šaka i stopala, te hipertrofijom vezivnog tkiva. Ostali klinički simptomi koji nastaju kao posljedica prekomjernog lučenja hormona rasta su hiperhidroza, osteoartropatija, sindrom karpalnog tunela, noćne apneje, hrkanje, poremećaji reprodukcije, šećerna bolest i srčanožilne bolesti (srčana hipertrofija, hipertenzija, srčane aritmije, u rijetkim slučajevima srčano zatajivanje) i neoplazme ¹⁸. Procjenjuje se da je prevalencija akromegalije od 40 do 90 bolesnika na milijun stanovnika, a godišnja incidencija 3-4 slučaja na milijun stanovnika ^{19,20}. Zbog svog sporog tijeka bolest često ostaje neprepoznata dugi niz godina. Prema rezultatima retrospektivnih studija procjenjuje da su kod većine bolesnika simptomi akromegalije prisutni od 4 do 10 godina prije postavljanja dijagnoze ¹⁸. S obzirom da se radi o relativno rijetkoj bolesti kvalitetnih studija o mortalitetu vezanom uz akromegaliju je malo. U

najvećem broju studija navodi se da su srčanožilne bolesti najčešći uzrok mortaliteta u tih bolesnika (60%), potom slijede bolesti respiratornog sustava (25%), a na trećem mjestu su maligne bolesti (15%)²¹. Akromegalija je tradicionalno bila smatrana jednim od uzroka sekundarne osteoporoze, no novija istraživanja pokazuju da je mineralna gustoća kosti kod tih bolesnika često i veća nego kod zdrave populacije^{22,23,24}. Procjenjuje se da je ukupni mortalitet u bolesnika s akromegalijom direktno povezan sa stupnjem kontrole sekrecije hormona rasta²⁵. Cilj liječenja akromegalije je smanjiti komplikacije bolesti i mortalitet. To se postiže smanjenjem volumena tumorske mase, a time i normalizacijom koncentracije hormona rasta i IGF-1 u krvi. Za većinu bolesnika prvi izbor terapije je transsfenoidna ablacija adenoma hipofize, zatim medikamentozna terapija agonistima somatostatina, antagonistom hormona rasta i dopaminergičkim agonistima, te radioterapija²⁶. Biokemijski kriteriji remisije bolesti su: 1) koncentracija HR < 1 µg/L u slučajnom uzorku ili koncentracija HR < 0,4 µg/L u OGT testu, 2) normalna koncentracija IGF-1 s obzirom na dob^{27,28}.

1.3. Građa i metabolizam kosti

Osnovnu strukturu kosti čine koštane stanice te međustanična tvar sastavljena od kolagena tipa I prožetog kristalima hidroksiapatita. U kosti postoje dvije vrste koštanih stanica: osteoblasti i osteoklasti. Osteoblasti su stanice mezenhinskog podrijetla smještene na koštanoj površini u jednom sloju. Glavna uloga osteoblasta je stvaranje i odlaganje koštane međustanične tvari te

regulacija djelovanja osteoklasta. Osteoblasti sintetiziraju bjelančevinu osteokalcin koja pripada skupini bjelančevina koštane međustanične tvari i specifična je za osteoblaste. Sudbina zrelog osteoblasta je trojaka: može postati osteocit, pokrovna stanica ili odumrijeti apoptozom. Osteociti su osteoblasti ukopani u koštanu međustaničnu tvar, a pokrovne stanice prekrivaju koštanu površinu koja trenutno nije u procesu pregradnje²⁹. Osteoklasti su polinuklearne stanice nastale spajanjem prekursorsih stanica monocitno-makrofagne loze. One su najznačajnije, ako ne i jedine stanice, koje mogu resorbirati kost. Diferencijacija osteoklasta se zbiva na ili u neposrednoj blizini koštane površine, u bliskom dodiru s osteoblastima. Osteoblasti imaju vrlo značajnu ulogu u razvoju osteoklasta jer su ključni izvor faktora rasta osteoklasta³⁰.

Struktura kosti je na makroskopskoj i mikroskopskoj razini karakterizirana zadivljujućim biomehaničkim svojstvima – idealan omjer mase, volumena i specifična arhitektura omogućuje joj snagu potrebnu za otpornost prema lomljenju. Čvrstoća kosti određena je njezinom strukturom i sastavom. Kost mora biti čvrsta i otporna na deformiranje da bi mogla podnositi teret. Također mora biti fleksibilna s mogućnošću apsorpiranja energije kako bi se mogla skraćivati i produžavati pri kompresiji. Istovremeno, kost treba biti lagana da se lakše pokreće. Kada je kost previše fleksibilna, pod utjecajem sile prekomjerno se deformira te može doći do loma. Ukoliko je pak kost prečvrsta i ne može se deformirati, pri naprezanju dolazi najprije do mikrooštećenja, a potom i do loma kosti. Kost dakle mora udovoljiti kontradiktornim zahtjevima da bude čvrsta i jaka, a istovremeno elastična i lagana. Za duge kosti, koje uglavnom služe za dizanje

tereta i pokretanje, važno je da budu čvrste i lagane. One zbog toga imaju cjevastu strukturu i nazivaju se kortikalne kosti. Za razliku od njih kosti kralješnice imaju poroznu trabekularnu strukturu, mogu apsorbirati puno više energije i mogu se više deformirati nego cjevaste kosti, ali s druge strane ne mogu podnijeti toliki teret kao cjevaste kosti ³¹.

1.3.1. Koštana pregradnja

Koštana pregradnja je proces kojim se kost trajno obnavlja. Osnovna zadaća koštane pregradnje je uklanjanje oštećenih dijelova kosti te održavanje homeostaze kalcija u organizmu. Za održavanje normalne mikrostrukture kosti važno je da su u koštanoj pregradnji proces razgradnje i stvaranja nove kosti ravnomjerni. U prvoj fazi koštane pregradnje osteoklasti vrše resorpciju kosti stvaranjem uvjeta kiselog mikrokoliša koji pogoduje otapanju minerala koštanog tkiva. Za započinjanje procesa pregradnje nužni su signali koje osteoklastima šalju osteoblasti. To znači da su resorpcija i stvaranje kosti zajednički koordinirani, te da iste tvari koje djeluju na osteoblaste, posredno djeluju i na funkciju osteoklasta. Ligand receptora za aktivaciju jezgrenog faktora kapa B (RANKL; prema engl. *receptor activator nuclear factor kappa B ligand*) je molekula koju sintetiziraju osteoblasti i koja uz pomoć faktora rasta makrofagnih kolonija (M-CSF; prema engl. *colony stimulating factor*) potiče stvaranje osteoklasta. Prekursor osteoklasta na svojoj površini sadrži receptor za aktivaciju jezgrenog faktora kapa B (RANK; prema engl. *receptor activator nuclear factor kappa B*) za kojeg se veže RANKL. Osteoprotegerin (OPG) je molekula koju

sintetiziraju stanice osteoblastne loze, koja je funkcionalni antagonist RANKL-a i na taj način modulira osteoklastogenezu i kontrolira koštanu resorpciju. Osteoklastni enzimi cijepaju sastojke koštanog matriksa sa stvaranjem dijelova kolagenih vlakana: N-terminalni (Ntx) i C-terminalni telopeptidi (Ctx) kolagena tip I i prstenaste piridinolinske spojeve kolagenih molekula. Nakon faze resorpcije slijedi faza izgradnje kosti u kojoj osteoblasti na istom mjestu stvaraju nemineraliziranu koštanu međustaničnu tvar, osteoid, koja se postupno mineralizira. Osteoblasti na mjestu formiranja nove kosti stvaraju i osteokalcin, kolagen tip I i koštanu alkalnu fosfatazu. Koštana pregradnja odvija se trajno tijekom života, a najintenzivnija je u periodu rasta i razvoja ³². Mjerenje koncentracije peptida i aktivnosti enzima koji su rezultat fizioloških aktivnosti osteoblasta i osteoklasta jednostavan je način procjene koštane pregradnje u rutinskoj kliničkoj praksi. Biokemijski pokazatelji koštane pregradnje mjere se u serumu i u mokraći. Najznačajniji pokazatelji koštane izgradnje koji se mogu mjeriti komercijalnim kitovima su: osteokalcin, koštana alkalna fosfataza, C-terminalni propeptid prokolagena I i N-terminalni propeptid prokolagena I. Najznačajniji pokazatelji koštane razgradnje su: N-terminalni (Ntx) i C-terminalni telopeptidi (Ctx) kolagena tip I (β -crosslaps), tartarat-rezistentna kiselna fosfataza i prstenasti piridinolinski spojevi kolagenih molekula ³³.

1.3.2. Utjecaj HR i IGF-1 na kost

1.3.2.1. Utjecaj HR i IGF-1 na rast kosti

Procesom enhondralne osifikacije kosti rastu u dužinu, a stvaranjem nove kosti na periostalnoj površini kosti rastu u širinu. Pri longitudinalnom rastu u epifiznoj pukotini dolazi do proliferacije, hipertrofije i diferencijacije hondrocita. U novostvorenu hrskavicu urastaju krvne žile, ona se mineralizira, te se uklapa u kost. Proces enhondralne osifikacije je reguliran genetskim i hormonskim faktorima, te faktorima okoline od kojih je najznačajnija prehrana ^{34,35}. Najznačajniji hormoni koji kontroliraju longitudinalni rast i sazrijevanje kosti u periodu prije puberteta su: HR, IGF-I, T3, T4 i inzulin, dok u pubertetu najvažniju ulogu imaju spolni hormoni (androgeni i estrogeni) ³⁶. HR stimulira longitudinalni rast kosti. S jedne strane HR direktno potiče replikaciju hondrocita u epifiznoj pukotini, a s druge strane djeluje na sintezu IGF-I u jetri i u hondrocitima, te posredstvom IGF-I HR djeluje na sazrijevanje stanica u epifiznoj pukotini ³⁷. Miševi s delecijom oba gena i za receptor HR i za IGF-I imaju puno teži oblik patuljastog rasta nego miševi s delecijom samo jednog od ta dva gena, što ukazuje da je učinak IGF-I na longitudinalni rast kosti samo djelomično ovisan o HR ³⁸, te da se dio IGF-I stvara lokalno u epifiznoj pukotini neovisno o utjecaju HR. Vjeruje se da u prenatalnom razdoblju IGF-I i IGF-II imaju važniju ulogu u rastu nego HR. Miševi s kongenitalnim deficitom HR imaju tek blago smanjenu porođajnu dužinu, dok je u onih s deficitom IGF-I i IGF-II porođajna dužina značajno smanjena ³⁹. Delecija gena za IGF-I kod ljudi dovodi do značajnog prenatalnog i postnatalnog zaostatka u rastu ⁴⁰, što potvrđuje da je uloga IGF-I u prenatalnom razdoblju vrlo važna. IGF-II ima značajnu ulogu u embrionalnom rastu, no njegova uloga u postnatalnom periodu nije sasvim jasna ⁴¹.

1.3.2.2. Utjecaj HR i IGF-1 na koštanu pregradnju

Dok su HR i IGF-I u periodu prije i za vrijeme puberteta važni za rast kosti u dužinu te sazrijevanje skeleta i dosezanje vršne koštane mase, u odrasloj su dobi važni za održavanje koštane mase^{42,35,34}. Receptori za HR su prisutni u osteoblastima⁴³. *In vitro* studije su pokazale da HR stimulira proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta te da potiče stvaranje koštanog morfogenetskog proteina 2 i 4, koji je važan za stvaranje kosti^{44,45}. HR stimulira osteoblaste na stvaranje osteoprotegerina koji je važan za sprečavanje osteoklastogeneze⁴⁶.

IGF-I, kao i HR, djeluje na osteoblaste stimulirajući njihovu funkciju i na taj način izgradnju kosti. Sinteza IGF-I se odvija u svim organima. Najveći dio IGF-I se sintetizira u jetri pod utjecajem HR. IGF-I stvoren u jetri cirkulira u krvotoku i smatra se da ima puno veći utjecaj na kortikalnu nego na trabekularnu kost⁴⁷. S druge strane IGF-I koji je stvoren lokalno u kosti, stvara se velikim dijelom pod utjecajem je PTH⁴⁸. Taj lokalni IGF-I ima pak veći utjecaj na metabolizam trabekularne kosti. IGF-I povećava sintezu i smanjuje razgradnju kolagena tipa I, što pozitivno djeluje na održavanje koštane mase⁴⁹.

Utjecaj IGF-I na osteoklaste je manje jasan. Osteoklasti imaju receptor za IGF-I i on na njih ima direktan utjecaj. *In vitro*, IGF-I potiče sintezu RANK-L-a što ima za posljedicu poticanje osteoklastogeneze⁵⁰. Tim se mehanizmom objašnjava kako IGF-I stimulira resorpciju kosti, dok HR indukcijom osteoprotegerina neutralizira taj efekt⁵¹. Činjenica da IGF-I ima istovremeni učinak na stvaranje i resorpciju kosti može objasniti zašto davanje IGF-I nema značajni učinak na povećanje koštane mase *in vivo*⁵².

IGF-I i HR moduliraju metabolizam vitamina D na način da potiču aktivnost bubrežne 1-alfa-hidroksilaze i smanjuju aktivnost 24-hidroksilaze, što dovodi do povećanja sinteze aktivnog 1,25 (OH) D vitamina ⁵³. Istraživanje Gertenera i suradnika (1979. g.) su pokazala da HR pospješuje retenciju fosfata u bubrežima, mehanizmom neovisnim od vitaminu D te na taj način posredno modulira sekreciju PTH ⁵⁴. Drugi autori su pokazali da HR osim toga ima i neposredni učinak na sekreciju i cirkadijarni ritam lučenja PTH ⁵⁵.

1.4. Dosadašnja istraživanja o koštanoj pregradnji i mineralnoj gustoći kosti u bolesnika s akromegalijom

Anabolička aktivnost hormona rasta na mnoge organe i organske sustave je dobro poznata. Hormon rasta djeluje na kost direktno, posredstvom IGF-1, te indirektno, regulacijom metabolizma vitamina D i sekrecije PTH. Praćenjem metabolizma kosti kod bolesnika s akromegalijom kod kojih postoji dugogodišnja izloženost prekomjernim količinama hormona rasta možemo indirektno zaključiti o utjecaju hormona rasta na kost.

Sve do kraja 60-tih godina prošlog stoljeća akromegalija je bila povezivana s osteoporozom. Sedamdesetih godina prošlog stoljeća pojavili su se rezultati prvih istraživanja u kojima se prati pozitivan utjecaj prekomjernog lučenja hormona rasta na mineralnu gustoću kosti. Sve više se počinje razmatrati da je osteoporoza kod bolesnika s akromegalijom prvenstveno posljedica hipogonadizma koji je često prisutan kod tih bolesnika, a da nije uzrokovana prekomjernom količinom hormona rasta u organizmu. Katzelson i suradnici

(2001. g.) su istraživali učestalost hipogonadizma u skupini od 363 bolesnika s akromegalijom mlađih od 50 godina. Kod 59% bolesnika su našli poremećaj gonadne funkcije (hipogonadizam). Hipogonadizam je kod bolesnika s akromegalijom najčešće uzrokovan kompresivnim efektom tumorske mase na gonadotropne stanice u hipofizi, ali i često pridruženom hiperprolaktinemijom. U navedenoj studiji istovremeno su nađeni i bolesnici s mikroadenomima i normalnim vrijednostima prolaktina koji su ipak imali hipogonadizam, te je zaključeno je da je hipogonadizam često pridružen akromegaliji, čak i u bolesnika s normalnim vrijednostima prolaktina i mikroadenomima. U istoj studiji nađene su značajno više vrijednosti hormona rasta u onih pacijenata koji su imali poremećaj gonadne funkcije, u odnosu na pacijente s normalnom gonadnom funkcijom⁵⁶.

Još prije 60 godina su se pojavili prvi radovi koji su istraživali utjecaj prekomjernog lučenja hormona rasta na koštani metabolizam i mineralnu gustoću kosti⁵⁷. S obzirom da su rezultati istraživanja sve do danas prilično neujednačeni, to i dalje ostaje predmet rasprave. Prema rezultatima većine istraživanja mineralna gustoća kortikalne kosti u bolesnika s akromegalijom uglavnom je jednaka ili nešto viša od vrijednosti za opću populaciju. Istraživanja mineralne gustoće trabekularne kosti u većoj mjeri pokazuju kontradiktorne rezultate. Seeman i suradnici (1982. g.) su pronašli povećan BMD na kralješnici kod 7 bolesnika s aktivnom akromegalijom⁵⁸. Diamond i suradnici (1989. g.) su u svom istraživanju imali tri grupe ispitanika – 12 pacijenata s akromegalijom koji su imali normalnu gonadnu funkciju, 12 pacijenata s akromegalijom koji su imali

hipogonadizam i kontrolnu skupinu zdravih pojedinaca. Bolesnici s akromegalijom i hipogonadizmom su imali manji BMD na kralješnici u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu, dok su bolesnici s akromegalijom i normalnom gonadnom funkcijom imali jednak BMD na kralješnici kao i zdravi pojedinci i nešto veći BMD na podlaktici u odnosu na zdrave ⁵⁹. Slične rezultate navodi Ezzat i suradnici (1993. g.). Oni su pokazali da je BMD na kralješnici kod 7 bolesnika s normalnom gonadnom funkcijom bio jednak BMD-u zdravih pojedinaca. Istovremeno, bolesnici s akromegalijom i hipogonadizmom su imali manji BMD na kralješnici u odnosu na zdrave pojedince ⁶⁰. Ho i suradnici (1992. g.) su u grupi od 25 bolesnika (8 eugonada i 17 hipogonada) s aktivnom bolesti našli podjednake vrijednosti BMD-a na kralješnici i femuru kao kod zdravih pojedinaca ⁶¹. Kotzman i suradnici (1993. g.) su našli veći BMD na kralješnici i femuru kod bolesnika s akromegalijom (4 eugonada i 12 hipogonada) u odnosu na zdrave pojedince ⁶². Kayath i Vieira (1997. g.) su u grupi od 45 bolesnika (11 eugonada i 34 hipogonada) našli podjednake vrijednosti BMD na kralješnici i na femuru kao i kod zdravih pojedinaca ⁶³. Lesse i suradnici (1998. g.) su u grupi od 18 bolesnika, kod 12 bolesnika s normalnom gonadnom funkcijom našli viši BMI na kralješnici i femuru nego kod zdravih pojedinaca, dok su bolesnici s hipogonadizmom imali niži BMD na kralješnici nego zdravi pojedinci ²². Longobardi i suradnici (1998. g.) su u grupi od 11 bolesnika našli niži BMD na kralješnici nego kod zdravih pojedinaca ⁶⁴. Kaji i suradnici (2001. g.) su pronašli veći BMD na kralješnici, femuru i podlaktici kod bolesnika s akromegalijom nego kod zdravih pojedinaca ²³. Alfredo i suradnici (2003. g.) su proveli veliku studiju u

koju su bila uključena 152 bolesnika s akromegalijom, podijeljena u 2 skupine ovisno o gonadnoj funkciji. Bolesnici s normalnom gonadnom funkcijom imali su veću BMD na kralješnici nego referentna populacija, dok su bolesnici s hipogonadizmom imali manji BMD na kralješnici u odnosu na referentnu populaciju. BMD na femuru je bio veći kod bolesnika s aktivnom akromegalijom u odnosu na referentnu populaciju, neovisno o gonadnoj funkciji ²⁴. Bolanowski i suradnici (2006. g.) su našli sniženu BMD u bolesnika s hipogonadizmom na podlaktici (u žena) i na femuru (u muškaraca). Povećanu BMD na femuru našli su kod eugonadnih bolesnika s aktivnom akromegalijom ⁶⁵.

Dvoenergetska apsorpciometrija x-zraka (DXA) predstavlja zlatni standard u procjeni mineralne gustoće kosti. DXA međutim ne pruža informacije o koštanoj mikroarhitekturi koja je vrlo važna za rizik od nastanka prijeloma kosti. Kvantitativni ultrazvuk kosti je novija metoda kojom se pokušavaju otkriti detalji o mikroarhitekturi i strukturi kosti, te povezati njegove rezultate s rizikom od prijeloma kosti ⁶⁶. Do sada su u literaturi objavljena tek dva rada u kojima je mjerena kvantitativni UZV petne kosti kod bolesnika s akromegalijom, te je nađeno da bolesnici s aktivnom bolesti imaju značajno niže parametre kvantitativnog ultrazvuka od bolesnika u remisiji bolesti ^{67,68}.

Postoje brojna istraživanja koja su se bavila proučavanjem mineralne gustoće kosti u bolesnika s nedostatnim lučenjem hormona rasta. Prva velika studija u koju je bilo uključeno 2084 bolesnika s deficitom hormona rasta pokazala je da ti bolesnici imaju sniženu mineralnu gustoću kosti i veći rizik od

pojave prijeloma nego zdravi pojedinci⁶⁹. Nekoliko istraživanja je pokazalo da se supstitucijom hormona rasta kod takvih bolesnika povećava BMD i smanjuje rizik od prijeloma kosti^{69,70,71}.

Velik broj dosadašnjih istraživanja pokazao je da bolesnici s aktivnom akromegalijom imaju ubranu koštanu pregradnju u odnosu na zdrave pojedince⁷². Većina tih studija je presječna (engl. cross-sectional study)^{60,73,74} dok su samo 2 studije imale prospektivni dizajn. Marazuela i suradnici (1993. g.) su u grupi od 10 ispitanika našli da je vrijednost osteokalcina značajno viša u bolesnika s aktivnom akromegalijom, te da se s uspješnim liječenjem akromegalije vrijednost osteokalcina izjednačava s vrijednostima u zdravih pojedinaca⁷⁵. Parkinson i suradnici (2003. g.) su našli da su se biljezi koštane pregradnje u bolesnika koji su ušli u remisiju terapijom antagonistom HR - pegvizomantom također izjednačili s vrijednostima biljega pregradnje zdrave populacije⁷⁶.

Do sada je objavljen vrlo mali broj studija koje su se bavile proučavanjem učestalosti prijeloma kosti kod bolesnika s akromegalijom a i rezultati tih studija nisu ujednačeni. Bonadonna i suradnici (2005. g.) su pratili bolesnice s akromegalijom u postmenopauzi i uspoređivali broj deformiteta kralješnice s kontrolnom skupinom koju su sačinjavale zdrave vršnjakinje u postmenopauzi. Deformiteti kralješnice (mjereni radiološki pomoću kvantitativne morfometrijske analize i kvantificirani na temelju visine kralješaka) bili su značajno češći u bolesnica s aktivnom akromegalijom nego u kontrolnoj skupini. Pojavnost deformiteta kralješnice nije bila ovisna o BMD-u, već o dužini trajanja aktivne bolesti, a deformiteti su bili nađeni i kod bolesnica s normalnim vrijednostima

BMD-a ⁷⁷. Ista je grupa autora proširila istraživanje na muškarce s akromegalijom i našli su da je pojavnost deformiteta kralješnice značajno češća u bolesnika u odnosu na zdravu populaciju ⁷⁸. Kada su uspoređivali BMD bolesnika s deformitetima u odnosu na one bez deformiteta, nisu našli značajne razlike u mineralnoj gustoći kosti u te dvije skupine bolesnika ⁷⁸. S druge strane, Vestegaard i suradnici (2004. g.) su pak pronašli značajno manju učestalost prijeloma u grupi bolesnika s akromegalijom, u odnosu na grupu zdravih pojedinaca ⁷⁹.

2. CILJ, SVRHA I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Akromegalija je vrlo rijetka bolest i studije koje se bave proučavanjem kliničkih karakteristika i komplikacija te bolesti uglavnom su ograničene malim brojem ispitanika. Rezultati dosadašnjih studija koje su se bavile proučavanjem koštanog metabolizma i mineralne gustoće kosti u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta su kontradiktorni, a dobiveni podaci nedostatni za potpuno razumijevanje etiopatogeneze poremećaja koštanog sustava ovih bolesnika. Ovim istraživanjem nastojati će se doprinijeti savladavanju kontradiktornosti dosadašnjih rezultata istraživanja koštanog metabolizma i mineralne gustoće kosti bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta. Sukladno iznesenim činjenicama određeni su i ciljevi ovog istraživanja:

Osnovni cilj:

1. Ispitati mineralnu gustoću kosti i dinamiku koštane pregradnje u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta i usporediti ih sa zdravim pojedincima podudarnim po dobi i po spolu.

Ostali ciljevi:

1. Ispitati razliku u dinamici koštane pregradnje u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta prije početka liječenja i 6 mjeseci nakon postizanja remisije bolesti.

2. Ispitati utjecaj spola, aktivnosti bolesti te funkcije spolnih žlijezda na dinamiku koštane pregradnje i mineralnu gustoću kosti u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta.
3. Procijeniti uspjeh liječenja bolesnika sa somatotropinomom u KBC Zagreb te istražiti prisutnost komorbiditeta u tih bolesnika.

Hipoteza

Bolesnici s prekomjernim lučenjem hormona rasta imaju više vrijednosti biljega koštane pregradnje i veću mineralnu gustoću kosti u odnosu na zdrave pojedince, a nakon postizanja remisije bolesti vrijednosti biljega koštane pregradnje izjednačavaju se sa vrijednostima kod zdravih pojedinaca.

Znanstveni doprinos disertacije

Rezultati dosadašnjih istraživanja o učestalosti i etiopatogenezi koštanog poremećaja u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona su kontradiktorni. Znanstveni doprinos ovog istraživanja očituje se u unaprjeđenju znanja o učestalosti poremećaja koštanog metabolizma i mineralizacije kosti u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta, kao i etiopatogenezi tog poremećaja. Rezultati ovog istraživanja također mogu pomoći u boljem razumijevanju uloge hormona rasta u metabolizmu kosti kao i njegove potencijalne terapijske uloge u liječenju osteoporoze i ostalih metaboličkih bolesti kostiju.

3. ISPITANICI, PLAN I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Ispitanici

U ovu longitudinalnu studiju koja je trajala od 2000. do 2010. godine bilo je uključeno 53 bolesnika (26 žena i 27 muškaraca u dobi između 26 i 70 godina) s prekomjernim lučenjem hormona rasta uzrokovanih somatotropinomom. U cilju procjene mineralne gustoće i metabolizma kosti ispitanicima je učinjeno mjerenje mineralne gustoće kosti pomoću DXA aparata (N=43 ispitanika) i kvantitativnog ultrazvuka petne kosti (N=36 ispitanika) te mjerenje biljega koštane pregradnje prije početka liječenja (N=37 ispitanika) i 6 mjeseci nakon postizanja remisije bolesti (N=28 ispitanika). U ispitivanje mineralne gustoće i metabolizma kosti uključeni su samo oni bolesnici koji nisu imali drugih bolesti koje utječu na metabolizam i mineralnu gustoću kosti (osim hipogonadizma). Iz analize je isključeno dvoje bolesnika s bolestima paratiroidnih žlijezda (jedan muškarac s hiperparatiroidizmom i jedna žena s hipoparatiroidizmom nastalim nakon operacije štitnjače) i jedan bolesnik koji je uzimao bisfosfonate. Kod 7 bolesnika DXA nije učinjena iz tehničkih razloga (nedostupnost aparata za mjerenje). Mjerenje biljega koštane pregradnje i kvantitativnog ultrazvuka petne kosti počelo se vršiti tek nakon 2005. g. i u taj su dio istraživanja uključeni samo oni bolesnici kojima je dijagnoza somatotropinoma postavljena nakon 2005. godine. Kontrolno mjerenje biljega koštane pregradnje 6 mjeseci nakon postizanja remisije nije izvršeno kod 9 bolesnika. Kod 6 bolesnika razlog je bio taj što u vrijeme završetka ovog istraživanja nisu bili 6 mjeseci u remisiji bolesti. Kod ostalih troje

biljezi pregradnje su iz tehničkih razloga izmjereni kasnije nego što je protokolom istraživanja predviđeno, te su zbog toga isključeni iz analize.

Kontrolnu skupinu je činilo 43 zdravih pojedinaca (20 žena i 23 muškaraca u dobi od 30 do 64 godine).

Dostatan broj ispitanika u pojedinoj skupini prethodno je procijenjen temeljem rezultata pilot studije pomoću analize snage testa (engl. *power analysis*). U pilotskoj studiji izmjereni su biljezi koštane pregradnje i mineralna gustoća kosti u 15 nasumično odabranih bolesnika sa somatotropinomom te u 15 bolesnika iz kontrolne skupine. Analizom snage testa uz $\alpha = 0,05$ i snagu testa 0,8, procijenjena je dostatna veličina uzorka $N=37$ po uspoređivanoj skupini.

3.2. Plan istraživanja

Pri uključivanju u studiju svakom bolesniku uzeta je anamneza, učinjen klinički pregled i dijagnostička obrada. Učinjene su standardne biokemijske pretrage (glukoza, elektroliti, jetrene aminotransferaze, kreatinin, lipidogram) i hormonske pretrage (HR, IGF-1, testosteron, progesteron, estradiol, LH, FSH, prolaktin, T3, T4, TSH, kortizol, ACTH te OGT- test). Navedene pretrage čine uobičajenu dijagnostičku obradu bolesnika s neuroradiološki dokazanim adenomom hipofize i kliničkom sumnjom na prekomjerno lučenje hormona rasta. Uz navedenu obradu bolesnicima su pri postavljanju dijagnoze izmjereni i serumski biljezi koštane pregradnje - osteokalcin i koštana alkalna fosfataza kao biljezi koštane izgradnje te karboksiterminalni telopeptid kolagena tipa 1 (β -crosslaps) kao biljeg koštane razgradnje. Pri postavljanju dijagnoze učinjeno je

mjerenje mineralne gustoće kosti pomoću DXA aparata. Kvantitativni ultrazvuk petne kosti rađen je u periodu od 2005. do 2007. godine svim novootkrivenim bolesnicima kao i onim bolesnicima koji su liječeni i prije do tog vremena, čija je bolest bila u remisiji i bili su u mogućnosti odazvati se pozivu na pregled.

Tri mjeseca nakon provedenog liječenja učinjena je reevaluacija bolesti s ciljem procjene aktivnosti bolesti i pituitarne funkcije. Šest mjeseci nakon postizanja remisije bolesti ponovno je procijenjena aktivnost bolesti i onim bolesnicima koji su postigli remisiju bolesti ponovo su izmjereni serumski biljezi koštane pregradnje.

Članovima kontrolne skupine jednokratno su izmjereni serumski biljezi koštane pregradnje i mineralna gustoća kosti pomoću DXA i kvantitativnog ultrazvuka petne kosti.

Istraživanje je provedeno u Zavodu za endokrinologiju, Klinike za unutrašnje bolesti KBC Zagreb. Odobreno je od strane Etičkog povjerenstva KBC Zagreb kao i od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Bolesnici su prije uključivanja u istraživanje potpisali informirani pristanak.

Dijagnoza akromegalije je postavljena na temelju standardnih dijagnostičkih kriterija: postojanje karakteristične kliničke slike prekomjernog lučenja hormona rasta (uvećanje šaka i stopala, naglašeni supraorbitalni lukovi, progenija, prekomjerno znojenje), uz povišenu koncentraciju IGF-1 u serumu s obzirom na dob, te koncentracija hormona rasta viša od 0,4 µg/L (1 mIU/L) u oralnom testu

opterećenja glukozom (75 g glukoze)^{20,28,80}. U istraživanje su uključeni samo oni bolesnici s akromegalijom koji imaju neuroradiološki verificiran adenom hipofize. Adenomi hipofize su na temelju veličine klasificirani na mikro (do 1 cm u promjeru) i makroadenome (veći od 1 cm u promjeru). Invazivnim adenomima smatrani su oni koji invadiraju kavernoze sinuse i/ili intraarahnoidalni prostor.

Remisija bolesti je definirana biokemijskim kriterijima koji podrazumijevaju nalaz normalne vrijednosti IGF-1 u serumu (s obzirom na dob) uz supresiju hormona rasta ispod 0,4 µg/L (1 mU/L) u oralnom testu opterećenja glukozom (75 g glukoze)²⁸. Sedmero bolesnika je postoperativno postiglo zadovoljavajuću supresiju hormona rasta u OGT testu (< 1 mIU/L), no vrijednosti IGF-1 su im bile iznad granica normale. Od navedenih 7 bolesnika kod njih 5 je postoperativno došlo do značajnog kliničkog poboljšanja i nestanka simptoma aktivne bolesti (znojenje, artralgijske, edemi okarina), te su svrstani u skupinu bolesnika u remisiji bolesti. Kod preostalih dvoje bolesnika nije došlo do kliničkog poboljšanja i nestanka simptoma, te su svrstani u skupinu bolesnika s aktivnom bolesti i podvrgnuti daljnjem liječenju.

Dužina trajanja bolesti je izračunata kao vrijeme koje je proteklo od prve pojave simptoma do postignuća remisije bolesti na temelju subjektivne procjene bolesnika.

Kriteriji za procjenu pituitarne funkcije - za procjenu funkcije kortikotropnih stanica hipofize korišten je test inzulinske hipoglikemije, u kojem se normalnim odgovorom kortizol smatrao porast kortizola iznad 550 nmol/L. Funkcija tireotropnih stanica je procijenjena na temelju vrijednosti slobodnih hormona štitnjače (fT3 i fT4), tako da su uredne vrijednosti slobodnih hormona štitnjače podrazumijevale urednu funkciju tireotropnih stanica. Redoviti menstruacijski ciklusi podrazumijevali su normalnu gonadnu funkciju kod ispitanica, dok je normalna gonadna funkcija kod muškaraca bila definirana normalnom koncentracijom testosterona u serumu. Funkcija somatotropnih stanica procijenjena je testom inzulinske hipoglikemije u kojem se normalnim odgovorom HR smatrao porast HR preko 9 mU/L. Kod sumnje na insuficijenciju ADH, rađen je pokus koncentracije urina⁸⁰.

3.3. Mjerenje mineralne gustoće kosti

Mineralna gustoća kosti (BMD) je mjerena pomoću dvoenergetske apsorpciometrije x-zraka (DXA; prema engl. *dual energy x-ray absorptiometry*) na aparatu QDR Delphi (Hologic). BMD predstavlja sadržaj minerala (BMC; prema engl. bone mineral content) po jedinici površine kosti, u pet različitim regija: lumbalna kralježnica (zbirni rezultat L1-L4 kralješka), vrat bedrene kosti (engl. *femoral neck*), trohanter bedrene kosti, intertrohanterični dio bedrene kosti i zbirni rezultat za proksimalni dio natkoljениčne kosti (engl. *total hip*). Kralješci i bedrena kost predstavljaju dva različita tipa koštanog tkiva; u području slabinske

kralježnice dominira trabekularna kost, dok je bedrena kost sačinjena uglavnom od kortikalne kosti.

Rezultati mjerenja mineralne gustoće kosti bili su izraženi na tri načina: BMD - u apsolutnim vrijednostima (g/cm^2), zatim kao T vrijednost (engl. *T-score*) koji predstavlja odstupanje izmjerene vrijednosti BMD od vršne koštane mase mladih osoba izraženo u standardnim devijacijama, te kao Z vrijednost (engl. *Z-score*) koji predstavlja odstupanje izmjerene vrijednosti BMD od prosječne koštane mase osoba iste dobi izraženo u standardnim devijacijama. T i Z vrijednosti automatski su izračunate koristeći podatke iz aparata.

3.4. Mjerenje kvantitativnog ultrazvuka petne kosti

Kvantitativni ultrazvuk petne kosti učinjen je na ultrazvučnom aparatu Sahara Hologic. Ultrazvukom su mjerne 2 varijable: slabljenje ultrazvučnog vala pri prolasku kroz kost (BUA; prema engl. *broadband ultrasound attenuation*) izraženo u dB/MHz i brzina ultrazvučnog vala (SOS; prema engl. *speed of sound*) izraženo u m/s. Kvantitativni ultrazvučni indeks (QUI; prema engl. *quantitative ultrasound index*) automatski je izračunat pomoću računala u ultrazvučnom aparatu i izražen u postotku. Za mjerenja je korištena lijeva noga. Prije svakog prvog mjerenja u danu aparat je atestiran koristeći kalibrator. Koeficijenti varijacije za BUA bili su 6.5%, za SOS 0.2 % i 2.8% za QUI.

3.5. Biokemijske metode

Svi uzorci krvi su uzimani ujutro natašte. IGF-1, HR, koštani izoenzim alkalne fosfataze (K-AP), osteokalcin te β -crosslaps u serumu su određivani preporučenim standardnim metodama prema pravilima dobre laboratorijske prakse i uputama proizvođača.

3.6. Statističke metode

Dobiveni rezultati opisani su deskriptivnom statistikom. U analizi se ovisno o prirodi distribucija ispitivanih obilježja (Smirnow-Kolmogorovljev test), primijenio primjereni parametrijski (Studentov t-test za neovisne uzorke), odnosno neparametrijski (Mann-Whitneyev) test usporedbe između ispitanika. Kod ponovljenih mjerenja korišten je Wilcoxon signed-rank test. Ispitivanje povezanosti dviju kontinuiranih varijabli učinjeno je Spearmanovim testom korelacije. Razlike dobivenih vrijednosti između skupina statistički su se analizirale na razini značajnosti od 5%. Podaci su analizirani upotrebom programske podrške Statistica, ver. 7.1.

4. REZULTATI

Ovo prospektivno istraživanje trajalo je od 2000. do 2010. godine. U istraživanje je uključeno ukupno 53 bolesnika (27 muškaraca i 26 žena) što čini ukupan broj bolesnika liječenih zbog somatotropinoma u tom periodu u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb. U analizu uspješnosti liječenja somatotropinoma i prevalencije pridruženih bolesti uključeni su svi bolesnici, dok mjerenje mineralne gustoće kosti i serumskih biljega koštane pregradnje nije učinjeno kod svih već samo kod jednog dijela ispitanika. Rezultati su prikazani tablično.

4.1. Prikaz općih značajki populacije

Opće značajke populacije 53 bolesnika (27 muškaraca i 26 žena) s akromegalijom i kontrolne skupine (20 muškaraca i 23 žene) prikazane su u Tablici 1. Prosječna dob bolesnika pri postavljanju dijagnoze je bila $45,4 \pm 11,4$ godina i nije se značajno razlikovala od dobi kontrolne skupine ($47,7 \pm 9,4$ godine), $p=0,405$. Skupina bolesnika je imala statistički značajno viši indeks tjelesne mase (ITM) nego kontrolna skupina ($28,3 \pm 3,9$ vs. $26,7 \pm 2,9$; $p=0,023$). Prosječno trajanje simptoma prije postavljanja dijagnoze je bilo $4,7 \pm 4,2$ godina. Među spolovima nije nađeno statistički značajnih razlika u dobi, dužini trajanja simptoma prije postavljanja dijagnoze, koncentraciji hormona rasta i veličini adenoma. Bolesnici muškog spola su imali statistički značajno viši ITM nego bolesnice ($29,6 \pm 3,4$ kg/m^2 vs $27,0 \pm 3,9$ kg/m^2 , $p=0,017$). Medijan dužine praćenja grupe bolesnika bio je 4 godine (IR 2,0-7,0 godina). Kod 39 (73.6%)

bolesnika je nađen makroadenom, a kod ostalih mikroadenom hipofize. Od ukupnog broja makroadenoma, 12 (30,7%) su bili invazivni makroadenomi.

Tablica 1. Opći podaci o ispitanicima

| | Svi bolesnici (N=53) | Muškarci (N=27) | Žene (N=26) | p* | Kontrolna skupina (N=41) | p** |
|-------------------------------|-------------------------|--------------------|----------------|-------|-----------------------------|-------|
| Dob (godine) | 45,4 ± 11,4 | 44,1 ± 11,4 | 49,0 ± 11,7 | NS | 47,7±9,4 | NS |
| ITM (kg/m ²) | 28,3 ± 3,9 | 29,6 ± 3,4 | 27,0 ± 3,9 | 0,017 | 26,7±2,9 | 0,023 |
| Trajanje simptoma (godine) | 4,7 ± 4,2 | 5,0 ± 5,0 | 4,9 ± 4,4 | NS | | |
| HR (mIU/L) | 43,5 ± 43,7 | 39,0 ± 36,1 | 48,9 ± 51,9 | NS | | |
| Mikroadenom | 14 (26,4 %) | 9 (33,3%) | 5 (18,5%) | NS | | |
| Makroadenom | 39 (73,6 %) | 18 (66,7%) | 21 (80,7%) | NS | | |

Kontinuirane varijable su izražene kao aritmetička sredina ± standardna devijacija; Kategorijske varijable su prikazane kao N (%); * razlika između muškaraca i žena; ** razlika između skupine bolesnika i kontrolne skupine

Tablica 2 prikazuje učestalost najčešćih pridruženih bolesti u skupini bolesnika. Najviše bolesnika imalo je hipertenziju (39,6%), potom dijabetes ili poremećenu toleranciju glukoze (30,2%), dislipidemiju (24,5%). Osteoporozi je imalo 9,1% bolesnika, a osteopeniju 6,8%. Srčano zatajivanje je imalo 3,8% bolesnika. Troje bolesnika je imalo karcinomsku bolest; jedan bolesnik je imao seminom testisa, jedna bolesnica karcinom grlića maternice, a druga papilarni karcinom štitnjače. Među dobroćudnim tumorima najčešći su bili struma štitnjače (8 bolesnika), benigna hipertrofija prostate (3 bolesnika), polipi nosa (3 bolesnika), polipi debelog crijeva (2 bolesnika), miom maternice (2 bolesnice) i adenom paratiroideje (1 bolesnica). Žučne i bubrežne kamence je imalo po 5 bolesnika.

Tablica 2. Učestalost najčešćih pridruženih bolesti u grupi bolesnika s akromegalijom (N=53)

| Pridružene bolesti | N (%) |
|--|------------|
| Arterijska hipertenzija | 21 (39,6%) |
| Šećerna bolest ili intolerancija glukoze | 16 (30,2%) |
| Dislipidemia | 13 (24,5%) |
| Hiperprolaktinemija | 9 (16,9%) |
| Struma štitnjače | 8 (15,1%) |
| Depresivni sindrom | 5 (9,4%) |
| Srčano zatajivanje | 2 (3,8%) |

4.2. Prikaz rezultata liječenja i postizanja remisije bolesti

U analizu metoda i uspješnosti liječenja uključeni su svi bolesnici liječeni zbog somatotropinoma u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb 2000. do 2010. godine. Transsfenoidna ablacija adenoma hipofize je korištena kao prva linija terapije kod 50 bolesnika. 69,4% bolesnika je nakon transsfenoidne operacije postiglo remisiju bolesti (Tablica 3). Podaci o jednom bolesniku iz grupe operiranih nisu poznati. Značajno veći broj bolesnika s mikroadenomom (N=11, 84,6%) je nakon transsfenoidne operacije postigao remisiju bolesti u odnosu na bolesnike s makroadenomom (N=23, 63,9%), $p < 0,001$. Remisija bolesti nakon transsfenoidne operacije je postignuta u samo troje (25%) bolesnika s invazivnim makroadenomom. (Tablica 4). Troje bolesnika je zbog kontraindikacija za kirurško liječenje liječeno agonistima somatostatinskih receptora i kod svih troje je postignuta remisija bolesti.

S obzirom da 15 bolesnika nije postiglo remisiju bolesti nakon kirurškog liječenja, liječenje je nastavljeno drugom linijom terapije; 13 bolesnika prima agoniste somatostatinskih receptora (okterotid), a dvoje bolesnika se liječe dopaminergičkim agonistima. Stereotaksijska radioterapija (gama nožem) je provedena kod 5 bolesnika prije započinjanja medikamentozne terapije. Među bolesnicima liječenim drugom linijom terapije dvoje bolesnika nije uspjelo postići remisiju bolesti (unatoč maksimalnim dozama agonista somatostatinskih receptora i prethodnoj radioterapiji), te ukupno izlječenje u grupi iznosi 95,8%. Kod četvero bolesnika koji koriste drugu liniju terapije još nije učinjena

reevaluacija bolesti. Kod svih bolesnika je početna doza oktreotida je bila 20 mg mjesečno do maksimalno 30 mg mjesečno, a doza bromokriptina je 10 mg/dan.

Tijekom 10-godišnjeg perioda praćenja dvoje bolesnika je umrlo. Uzrok smrti kod jednog bolesnika je bilo srčano zatajivanje u dobi od 54 godine, a kod druge bolesnice sepsa, nakon traumatskog prijeloma kuka u dobi od 76 godina.

Tablica 3. Ishod liječenja transsfenoidnom ablacijom adenoma hipofize

| Ishod liječenja | Udio bolesnika |
|-----------------|----------------|
| Remisija | 34/49 (69,4%) |
| Aktivna bolest | 15/49 (30,6%) |

Tablica 4. Ishod liječenja transsfenoidnom ablacijom adenoma hipofize u odnosu na veličinu adenoma

| Ishod liječenja | Mikroadenom (N=13) | Makroadenom (N=36) | p |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|--------|
| Remisija | 11/13 (84,6%) | 23/36 (63,9%) | <0,001 |
| Aktivna bolest | 2/13 (15,4%) | 13/36 (36,1%) | <0,001 |

Tablica 5 prikazuje udio bolesnika koji su prije i nakon provedenog liječenja imali insuficijenciju nekog od hormona hipofize. Analiza je rađena na 43 bolesnika za koje postoje podaci.

Tablica 5. Udio bolesnika s insuficijencijom pituitarnih hormona prije i nakon provedenog liječenja (na uzorku od N=43 bolesnika*)

| | Prije liječenja | Nakon liječenja | p |
|---------|-----------------|-----------------|--------|
| TSH | 8 (18,6%) | 12 (27,9%) | <0,05 |
| ACTH | 13 (30,2%) | 10 (23,3%) | NS |
| LH, FSH | 12 (27,9%) | 12 (27,9%) | NS |
| HR | 0 | 12 (27,9%) | <0,001 |
| ADH | 0 | 3 (7,0%) | <0,001 |

* podaci o insuficijenciji pituitarnih hormona nisu poznati za 10 bolesnika

4.3. Rezultati analize biljega koštane pregradnje

Biljezi koštane pregradnje nisu slijedili normalnu distribuciju, stoga je za ispitivanje razlika u koncentracijama biljega koštane pregradnje između skupina korišten Mann-Whitney test. Tablica 6 prikazuje prosječnu dob bolesnika uključenih u analizu biljega pregradnje te medijan koncentracija biljega koštane pregradnje u grupi bolesnika s aktivnom bolesti i u kontrolnoj skupini. Nije bilo statistički značajne razlike u dobi bolesnika i kontrolne skupine. Vrijednosti sva tri ispitivana biljega koštane pregradnje su bila statistički značajno više u skupini bolesnika u usporedbi s kontrolnom skupinom (osteokalcin: 25,9 vs 14,0 $\mu\text{g/L}$; $U=462,5$, $p=0,003$; koštana alkalna fosfataza: 15,6 vs 8,1 IU/L; $U=336,5$, $p<0,001$; β -crosslaps: 1,03 vs 0,33 $\mu\text{g/L}$; $U=194,5$, $p<0,001$). Kada su se usporedile vrijednosti biljega pregradnje kod bolesnika prije početka liječenja i nakon postignute remisije bolesti koristeći Wilcoxonov test nađeno je da je koncentracija osteokalcina i β -crosslaps statistički značajno viša prije početka liječenja nego nakon postignute remisije bolesti (osteokalcin: 21,2 vs 11,5 $\mu\text{g/L}$; $W=614,0$, $p=0,003$; β -crosslaps: 0,755 vs 0,425 $\mu\text{g/L}$; $W=634,5$, $p=0,007$), dok se vrijednosti koštane alkalne fosfataze nisu statistički značajno razlikovale prije i nakon postizanja remisije bolesti (13,9 vs 10,4 IU/L; $W=741,5$, $p=0,354$) (Tablica 7). Uspoređujući bolesnike u remisiji bolesti s kontrolnom skupinom nađeno je da je aktivnost koštane alkalne fosfataze i koncentracija β -crosslaps statistički značajno viša u skupini bolesnika (koštana alkalna fosfataza: 10,4 vs 8,1 IU/L; $U=336,5$, $p=0,004$; β -crosslaps: 0,425 vs 0,330 $\mu\text{g/L}$; $U=341,5$, $p=0,004$) nego u kontrolnoj skupini dok se koncentracija osteokalcina nije statistički značajno

razlikovala u te dvije skupine ispitanika (11,5 vs. 14,0 $\mu\text{g/L}$; $U=437,0$, $p=0,094$) (Tablica 8). Ispitivanjem vrijednosti biljega koštane pregradnje među spolovima nije nađena statistički značajna razlika u rezultatima (Tablica 9). Vrijednosti biljega koštane pregradnje nisu se značajno razlikovale niti između bolesnika s normalnom i bolesnika s poremećenom gonadnom funkcijom (Tablica 10). Spearmanov korelacijski test nije pokazao statistički značajnu povezanost između koncentracije hormona rasta i biljega koštane pregradnje kod 37 bolesnika s aktivnom bolesti (za osteokalcin $\rho=0,125$, $p=0,472$; za koštanu alkalnu fosfatazu $\rho=0,085$, $p=0,62$; za β -crosslaps, $\rho=0,167$, $p=0,331$).

Tablica 6. Biljezi koštane pregradnje u bolesnika s aktivnom bolesti i u kontrolnoj skupini*

| | Aktivna bolest | Kontrolna skupina | p |
|---|------------------|-------------------|---------|
| | N= 37 | N= 43 | |
| Osteokalcin ($\mu\text{g/L}$) | 25,9 (14,6-54,2) | 14,0 (10,0-24,0) | 0,003 |
| KAF (IU/L) | 15,6 (8,5-29,7) | 8,1 (6,9-9,6) | < 0,001 |
| β - crosslaps ($\mu\text{g/L}$) | 1,03 (0,60-1,60) | 0,33 (0,2-0,46) | < 0,001 |

*Varijable su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon

KAF – koštana alkalna fosfataza

Tablica 7. Biljezi koštane pregradnje u bolesnika prije početka liječenja i nakon postizanja remisije bolesti*

| | Aktivna bolest | Remisija bolesti | p |
|---|---------------------|---------------------|-------|
| | N= 28 | N= 28 | |
| Osteokalcin ($\mu\text{g/L}$) | 21,2 (11,2-50,3) | 11,5 (9,3-16,0) | 0,003 |
| KAF (IU/L) | 13,9 (7,4-21,9) | 10,4 (7,9-16,4) | 0,354 |
| β - crosslaps ($\mu\text{g/L}$) | 0,755 (0,476-1,387) | 0,425 (0,312-0,710) | 0,007 |

*Varijable su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon

KAF – koštana alkalna fosfataza

Tablica 8. Biljezi koštane pregradnje u bolesnika koji su postigli remisiju i u kontrolnoj skupini*

| | Remisija bolesti | Kontrolna skupina | p |
|---|---------------------|---------------------|-------|
| | N= 28 | N= 41 | |
| Osteokalcin ($\mu\text{g/L}$) | 11,5 (9,3-16,0) | 14,0 (10,0-24,0) | 0,094 |
| KAF (IU/L) | 10,4 (7,9-16,4) | 8,1 (6,9-9,5) | 0,004 |
| β - crosslaps ($\mu\text{g/L}$) | 0,425 (0,312-0,710) | 0,330 (0,200-0,460) | 0,004 |

*Varijable su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon.

KAF – koštana alkalna fosfataza

Tablica 9. Biljezi koštane pregradnje u bolesnika u odnosu na spol *

| | Muškarci | Žene | p |
|---------------------|---------------------|---------------------|----|
| | N= 20 | N= 17 | |
| Osteokalcin (μg/L) | 23,2 (14,3-47,5) | 34,0 (12,6-60,5) | NS |
| KAF (IU/L) | 15,7 (9,4-27-3) | 15,6 (7,4-38,0) | NS |
| β- crosslaps (μg/L) | 0,906 (0,637-1,630) | 1,030 (0,371-1,475) | NS |

*Varijable su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon

KAF – koštana alkalna fosfataza

Tablica 10. Biljezi koštane pregradnje u bolesnika u odnosu na gonadnu funkciju

| | Eugonadizam | Hipogonadizam | p |
|---|---------------------|---------------------|----|
| | N= 16 | N= 21 | |
| Osteokalcin ($\mu\text{g/L}$) | 18,0 (10,8-52,8) | 30,0 (18,3-59,6) | NS |
| KAF (IU/L) | 11,5 (7,6-24,7) | 18,5 (8,9-44,7) | NS |
| β - crosslaps ($\mu\text{g/L}$) | 0,692 (0,407-1,575) | 1,210 (0,740-1,590) | NS |

*Varijable su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon

KAF – koštana alkalna fosfataza

4.4. Rezultati mjerenja mineralne gustoće kosti pomoću DXA

Mineralna gustoća kosti pokazivala je normalnu distribuciju u svim mjerenim regijama pa je u analizi korišten Studentov t-test. Muški bolesnici sa somatotropinomom i kontrolna skupina nisu se statistički značajno razlikovali po mineralnoj gustoći kosti izraženoj u apsolutnoj vrijednosti (g/cm^2) (Tablica 11). Kada su rezultati mjerenja mineralne gustoće kosti bili izraženi kao Z-vrijednost (vrijednost koja predstavlja odstupanje izmjerene vrijednosti BMD od prosječne koštane mase osoba iste dobi izraženo u standardnim devijacijama) također nije nađeno statistički značajne razlike između bolesnika i kontrolne skupine (Tablica 12). U usporedbi s kontrolnom skupinom, bolesnice su imale statistički značajno veću mineralnu gustoću kosti u predjelu vrata bedrene kosti ($0,871 \pm 0,121$ vs. $0,783 \pm 0,094 \text{g}/\text{cm}^2$; $t=2,501$; $p=0,017$) i trohantera ($0,814 \pm 0,148$ vs. $0,709 \pm 0,079 \text{g}/\text{cm}^2$; $t=2,684$; $p=0,011$). Z-vrijednost je također bila statistički značajno viša u bolesnica nego u kontrolnoj skupini u predjelu vrata bedrene kosti ($0,143 \pm 1,079$ vs $-0,600 \pm 0,872$; $t=2,427$; $p= 0,020$) i trohantera ($1,095 \pm 1,476$ vs $0,033 \pm 0,808$; $t=2,757$; $p=0,009$).

Bolesnici su bili podijeljeni u dvije skupine ovisno o normalnosti gonadne funkcije. S obzirom da bolesnici s normalnom i poremećenom spolnom funkcijom nisu bili podudarni po dobi, za ispitivanje razlika u mineralnoj gustoći kosti u te dvije skupine korištene su Z-vrijednosti jer su prikladnije za u uspoređivanje dviju skupina ispitanika različite dobi. U istraživanju nije nađeno statistički značajnih razlika u Z-vrijednostima između bolesnika s normalnom i poremećenom gonadnom funkcijom u oba spola (Tablica 15 i 16). Uspoređujući bolesnice s

normalnom gonadnom funkcijom i kontrolnu skupinu nađeno je da su bolesnice s normalnom gonadnom funkcijom imale statistički značajno veću Z-vrijednost u području trohantera bedrene kosti nego kontrolna skupina ($1,637 \pm 1,235$ vs $0,033 \pm 0,808$; $t=2,545$; $p=0,018$).

Tablica 11. Usporedba mineralne gustoće kosti u bolesnika i kontrolne skupine (muškarci)*

| Mjerena regija | Bolesnici N=22 | Kontrolna skupina N=16 | P |
|------------------------------------|-------------------|---------------------------|----|
| BMD L1-L4 (g/cm ²) | 1,082 ± 0,185 | 1,039 ± 0,106 | NS |
| BMD Neck (g/cm ²) | 0,929 ± 0,129 | 0,867 ± 0,128 | NS |
| BMD Trohanter (g/cm ²) | 0,846 ± 0,131 | 0,791 ± 0,091 | NS |
| BMD Inter (g/cm ²) | 1,292 ± 0,153 | 1,286 ± 0,139 | NS |
| BMD Hip (g/cm ²) | 1,111 ± 0,995 | 1,078 ± 0,119 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija

Neck – vrat bedrene kosti; *Inter* – intertrohanterični dio bedrene kosti; *Hip* - proksimalni dio bedrene kosti

Tablica 12. Usporedba z-vrijednosti bolesnika i kontrolne skupine (muškarci)*

| | Bolesnici N=22 | Kontrolna skupina N=16 | p |
|---------------|-------------------|---------------------------|----|
| Z - L1-L4 | 0,245 ± 1,807 | -0,200 ± 0,972 | NS |
| Z – Neck | 0,677 ± 0,944 | 0,162 ± 0,832 | NS |
| Z - Trohanter | 0,865 ± 1,186 | 0,368 ± 0,714 | NS |
| Z – Inter | 0,780 ± 0,970 | 0,675 ± 0,744 | NS |
| Z - Total hip | 0,818 ± 0,989 | 0,569 ± 0,745 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija

Neck – vrat bedrene kosti; *Inter* – intertrohanterični dio bedrene kosti; *Hip* - proksimalni dio bedrene kosti

Tablica 13. Usporedba mineralne gustoće kosti bolesnica i kontrolne skupine*

| | Bolesnice N= 22 | Kontrolna skupina N= 17 | p |
|------------------------------------|--------------------|----------------------------|-------|
| BMD L1-L4 (g/cm ²) | 1,069 ± 0,233 | 1,010 ± 0,116 | NS |
| BMD Neck (g/cm ²) | 0,871 ± 0,121 | 0,783 ± 0,094 | 0,017 |
| BMD Trohanter (g/cm ²) | 0,814 ± 0,148 | 0,709 ± 0,079 | 0,011 |
| BMD Inter (g/cm ²) | 1,205 ± 0,185 | 1,149 ± 0,129 | NS |
| BMD Hip (g/cm ²) | 1,012 ± 0,166 | 0,955 ± 0,100 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija

Neck – vrat bedrene kosti; *Inter* – intertrohanterični dio bedrene kosti; *Hip* - proksimalni dio bedrene kosti

Tablica 14. Usporedba z-vrijednosti u bolesnica i kontrolne skupine*

| | Bolesnice N=22 | Kontrolna skupina N=17 | p |
|--------------|-------------------|---------------------------|-------|
| Z - L1-L4 | 0,936 ± 2,007 | 0,459 ± 1,062 | NS |
| Z – Neck | 0,143 ± 1,079 | -0,600 ± 0,872 | 0,020 |
| Z- Trohanter | 1,095 ± 1,476 | 0,033 ± 0,808 | 0,009 |
| Z - Inter | 1,052 ± 1,142 | 0,661 ± 0,890 | NS |
| Z - Hip | 1,086 ± 1,263 | 0,650 ± 0,908 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija

Neck – vrat bedrene kosti; *Inter* – intertrohanterični dio bedrene kosti; *Hip* - proksimalni dio bedrene kosti

Tablica 15. Usporedba Z-vrijednosti u muških bolesnika u odnosu na gonadnu funkciju *

| | Eugonadizam N=14 | Hipogonadizam N=8 | p** | Kontrolna skupina N=16 | p*** |
|--------------------------|---------------------|----------------------|-----|------------------------------|------|
| Dob (godine) | 45,5 ± 10,5 | 41,8 ± 12,9 | NS | 47,0 ± 9,7 | NS |
| ITM (kg/m ²) | 28,5 ± 2,3 | 31,3 ± 4,2 | NS | 27,4 ± 2,8 | NS |
| Z – L1-L4 | 0,214 ± 1,351 | 0,300 ± 2,530 | NS | -0,200 ± 0,972 | NS |
| Z – Neck | 0,592 ± 0,751 | 0,825 ± 1,261 | NS | 0,162 ± 0,832 | NS |
| Z- Trohanter | 0,800 ± 0,932 | 0,962 ± 1,560 | NS | 0,368 ± 0,714 | NS |
| Z - Inter | 0,641 ± 0,703 | 0,987 ± 1,303 | NS | 0,675 ± 0,744 | NS |
| Z - Hip | 0,764 ± 0,730 | 0,912 ± 1,389 | NS | 0,569 ± 0,745 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija; ** usporedba bolesnika s hipogonadizmom i eugonadizmom; *** usporedba bolesnika s eugonadizmom i kontrolne skupine
Neck – vrat bedrene kosti; *Inter* – intertrohanterični dio bedrene kosti; *Hip* - proksimalni dio bedrene kosti

Tablica 16. Usporedba Z-vrijednosti u bolesnica u odnosu na gonadnu funkciju*

| | Eugonadizam N=8 | Hipogonadizam N=14 | p** | Kontrolna skupina N=17 | p*** |
|--------------------------|--------------------|-----------------------|--------|------------------------------|--------|
| Dob (godine) | 40,9 ± 8,5 | 49,7 ± 11,8 | <0,001 | 48,4 ± 9,3 | <0,001 |
| ITM (kg/m ²) | 26,8 ± 4,3 | 27,1 ± 3,9 | NS | 26,1 ± 2,9 | NS |
| Z - L1-L4 | 1,425 ± 1,209 | 0,657 ± 2,342 | NS | 0,459 ± 1,062 | NS |
| Z – Neck | 0,825 ± 1,087 | 1,000 ± 0,919 | NS | -0,600 ± 0,872 | NS |
| Z- Trohanter | 1,637 ± 1,235 | 1,554 ± 1,464 | NS | 0,033 ± 0,808 | 0,018 |
| Z - Inter | 0,857 ± 1,154 | 1,181 ± 1,172 | NS | 0,661 ± 0,890 | NS |
| Z - Hip | 1,162 ± 1,199 | 1,038 ± 1,347 | NS | 0,650 ± 0,908 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija; ** usporedba bolesnica s hipogonadizmom i eugonadizmom; *** usporedba bolesnica s eugonadizmom i kontrolne skupine
Neck – vrat bedrene kosti; *Inter* – intertrohanterični dio bedrene kosti; *Hip* - proksimalni dio bedrene kosti

4.5. Rezultati mjerenja kvantitativnog ultrazvuka petne kosti

Analiza kvantitativnog ultrazvuka petne kosti učinjena je kod 36 bolesnika (17 muškaraca i 19 žena). Rezultati parametara kvantitativnog ultrazvuka pokazivali su normalnu distribuciju, stoga je u analizi korišten Studentov t-test. Tablica 17 prikazuje vrijednosti parametara kvantitativnog ultrazvuka u skupinama bolesnika podijeljenih po spolu i u kontrolnoj skupini. Statistički značajno niže vrijednosti ultrazvučnih parametara su imali muški bolesnici u odnosu na kontrolnu skupinu (QUI: $77,2 \pm 23,7$ vs $100,7 \pm 21,8\%$, $t=1,698$, $p=0,002$; SOS $1526,8 \pm 33,0$ vs $1555,3 \pm 34,9$ m/s, $t=2,123$, $p=0,002$, BUA: $56,9 \pm 29,1$ vs $83,1 \pm 20,3$ dB/MHz, $t=2,221$, $p=0,002$). Tablica 18 prikazuje parametre kvantitativnog ultrazvuka petne kosti u bolesnika podijeljenih prema spolu i prema aktivnosti bolesti. Muški bolesnici s aktivnom bolesti imali su statistički značajno niže parametre kvantitativnog ultrazvuka petne kosti u odnosu na bolesnike koji su postigli remisiju bolesti (QUI: $66,7 \pm 17,2$ vs $96,3 \pm 22,7\%$, $t=1,931$, $p=0,043$; SOS $1510,1 \pm 21,4$ vs $1557,2 \pm 29,0$ m/s, $t=2,103$, $p=0,030$, BUA: $45,3 \pm 24,0$ vs $78,2 \pm 26,5$ dB/MHz, $t=2,130$, $p=0,022$). U skupini bolesnica nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima parametara kvantitativnog ultrazvuka petne kosti između onih čija je bolest bila u aktivnoj fazi u odnosu na one čija je bolest bila u remisiji.

Tablica 17. Usporedba vrijednosti BUA, SOS, QUI u bolesnika i u kontrolne skupine*

| | Muškarci | | | Žene | | |
|-----------------|---------------------|--------------------------------|-------|---------------------|--------------------------------|----|
| | Bolesnici (n=17) | Kontrolna skupina (n=20) | p | Bolesnice (n=19) | Kontrolna skupina (n=20) | p |
| QUI (%) | 77,2±23,7 | 100,7±21,8 | 0,002 | 84,5±15,4 | 90,8±17,9 | NS |
| SOS (m/s) | 1526,8±33,0 | 1555,3±34,9 | 0,002 | 1534,0±27,9 | 1539,9±28,3 | NS |
| BUA (dB/MHz) | 56,9±29,1 | 83,1±20,3 | 0,002 | 64,8±12,4 | 72,6±16,2 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija

QUI – prema engl. Quantitative ultrasound index; *SOS* – prema engl. Speed of sound; *BUA* – prema engl. Broadband ultrasound attenuation

Tablica 18. Usporedba vrijednosti BUA, SOS, QUI u bolesnika s aktivnom bolesti i u bolesnika čija je bolest u remisiji*

| Varijabla | Muškarci | | | Žene | | |
|-----------------|--------------------------|-------------------|-------|--------------------------|-------------------|----|
| | Aktivna bolest (n=11) | Remisija (n=6) | P | Aktivna bolest (n=11) | Remisija (n=8) | P |
| QUI (%) | 66,7±17,2 | 96,3±22,7 | 0,043 | 79,3±9,1 | 88,2±18,2 | NS |
| SOS (m/s) | 1510,1±21,4 | 1557,2±29,0 | 0,030 | 1523,6±16,6 | 1540,2±32,5 | NS |
| BUA (dB/MHz) | 45,3±24,0 | 78,2±26,5 | 0,022 | 62,6±9,5 | 66,4±14,4 | NS |

*Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija

QUI – prema engl. Quantitative ultrasound index; SOS – prema engl. Speed of sound; BUA – prema engl. Broadband ultrasound attenuation

5. RASPRAVA

5.1. Osvrt na rezultate liječenja i pridružene bolesti u ispitivanoj skupini

Ovim prospektivnim istraživanjem obuhvaćeni su svi bolesnici koji su u periodu od 2000. do početka 2010. godine liječeni zbog akromegalije uzrokovane somatotropinomom u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb. U tom periodu bilo je 53 novodijagnosticiranih bolesnika. Uzevši u obzir da je godišnja incidencija akromegalije 3-4 bolesnika na milijun stanovnika ²⁰ i da Republika Hrvatska ima 4,44 milijuna stanovnika ⁸¹, za očekivati je da ova skupina bolesnika čini nešto više od trećine ukupno dijagnosticiranih bolesnika s akromegalijom u Republici Hrvatskoj u zadnjih 10 godina.

Bolesnici su u prosjeku 4,7 godina prije postavljanja dijagnoze akromegalije počeli osjećati simptome bolesti, no bolest je zbog svog sporog i teško prepoznatljivog tijeka otkrivena tek kasnije. Grupa američkih autora je na uzorku od 324 bolesnika napravila retrogradno istraživanje o brzini otkrivanja akromegalije te objavila rezultate u kojima se također opisuje da je postavljanje dijagnoze akromegalije u prosjeku bilo odgođeno za više od 4 godine od pojave prvih simptoma bolesti ¹⁸. Podaci o dužini trajanja bolesti prije njezinog otkrivanja su temeljeni na subjektivnoj procjeni bolesnika na osnovu sjećanja i usporedbi starih fotografija. S obzirom da se radi o vrlo nepreciznoj metodi procjene, moguće je da je dužina trajanja simptoma bila i veća nego što je u istraživanju nađeno. Najčešće pridružene bolesti uz akromegaliju u ispitivanoj skupini

bolesnika bile su: hipertenzija, dijabetes i dislipidemija, što je sukladno izvještajima ostalih autora ¹⁹.

Najčešće primjenjivana metoda liječenja je bila transsfenoidna ablacija adenoma hipofize. Nakon tog zahvata 69,4% bolesnika je postiglo remisiju bolesti. Uspjeh transsfenoidne ablacije ovisio je o veličini somatotropinoma, tako da je značajno uspješnija bila operacija mikroadenoma (84,6%) nego makroadenoma (63,9%). Od ukupnog broja bolesnika kod njih 26,4% je nađen mikroadenom, a ostali su imali makroadenom. Sličan omjer mikro- i makroadenoma našli su i drugi autori ^{82,83}. Rezultati transsfenoidne operacije adenoma u našoj seriji bolesnika podudarni su s rezultatima ostalih autora ⁸³⁻⁸⁶. S obzirom da postizanje remisije bolesti značajno smanjuje mortalitet bolesnika s akromegalijom ⁸⁷, svim bolesnicima kod kojih operacijom nije postignuta remisija bolesti primijenjena je druga linija terapije s ciljem normalizacije vrijednosti HR i IGF-I. Drugu liniju terapije čine radioterapija te agonisti somatostatinskih i dopaminergičkih receptora. Uz navedenu terapiju u 95,8% naših bolesnika je postignuta remisija bolesti, a kod dvoje bolesnika remisiju bolesti nije bilo moguće postići unatoč primjeni sve dostupne terapije.

5.2. Metabolizam kosti u bolesnika sa somatotropinomom

Ovim istraživanjem je nađeno da bolesnici sa somatotropinomom imaju značajno više vrijednosti biljega koštane izgradnje i razgradnje u odnosu na zdrave pojedince što ukazuje da prekomjerno lučenje hormona rasta dovodi do ubrzanja koštane pregradnje. Navedeni rezultat sukladan je rezultatima

istraživanja većine drugih autora^{60,72,74}. U analizi koštane pregradnje u ovoj studiji su korištena dva biljega koštane izgradnje (osteokalcin i koštana alkalna fosfataza) i jedan biljeg koštane razgradnje (β -crosslaps). Iako su bolesnici imali statistički značajno više vrijednosti sva tri biljega pregradnje u odnosu na zdrave pojedince, razlike u aktivnosti koštane alkalne fosfataze i koncentraciji β -crosslaps su dosegle veći nivo statističke značajnosti ($p < 0,001$) od razlika u koncentracijama osteokalcina ($p = 0,003$).

Najveća vrijednost ovog istraživanja je njegov prospektivni dizajn pomoću kojeg je praćena dinamika koštane pregradnje u skupini bolesnika prije i nakon postizanja remisije bolesti te njihova usporedba sa zdravim pojedincima. Do sada su objavljene samo dvije studije sličnog dizajna. U studiji Parkinsona i suradnika u koju je bilo uključeno 16 bolesnika s akromegalijom liječenih antagonistom receptora HR (pegvizomantom) nađeno je značajno smanjenje biljega koštane pregradnje nakon postizanja remisije bolesti⁷⁶. U studiji Marazulele i suradnika ispitivana je promjena koncentracije osteokalcina kod 10 bolesnika prije i nakon provedenog liječenja bolesti i nađene su značajno niže vrijednosti osteokalcina nakon postignute remisije bolesti⁷⁵. U ovoj studiji koncentracije osteokalcina i β -crosslaps su se statistički značajno smanjile šest mjeseci nakon remisije bolesti. Međutim, uspoređujući bolesnike šest mjeseci nakon uspješno provedenog liječenja sa skupinom zdravih pojedinaca nađeno je da su vrijednosti koštane alkalne fosfataze i β -crosslaps i dalje statistički značajno više u skupini bolesnika, dok se vrijednosti osteokalcina između te dvije skupine nisu značajno razlikovale. Navedeni rezultat se ne podudara s našom hipotezom da će se vrijednosti biljega

koštane pregradnje kod bolesnika nakon postizanja remisije bolesti izjednačiti s kontrolnom skupinom te ukazuju na to da se utjecaj prekomjernog lučenja HR na koštanu pregradnju očituje i šest mjeseci nakon normalizacije njegovih vrijednosti u krvi. Koji su mogući razlozi za produženo djelovanje prekomjernog lučenja HR na ubrzanje koštane pregradnje? Smatra se da proces koštane pregradnje, započet aktivacijom osteoklasta od strane osteoblasta te daljnja kaskadna reakcija koja se nastavlja aktivacijom osteoblasta i završava stvaranjem nove kosti, traje 4 mjeseca. Odluka da se u ovom istraživanju kontrolno ispitivanje biljega pregradnje vrši 6 mjeseci nakon provedenog liječenja temeljena je upravo na saznanju da, jednom započet, ciklus koštane pregradnje traje 4 mjeseca pa smo očekivali da će se nakon tog vremena uz normalizaciju lučenja hormona rasta normalizirati i brzina koštane pregradnje. Poznato je da se nakon uspješne operacije somatotropinoma vrijednosti HR normaliziraju u idućih nekoliko dana, no također se zna da se kod nekih bolesnika mogu naći povišene vrijednosti IGF-I u krvi i nekoliko mjeseci nakon normalizacije lučenja HR ²⁸. Postoji mogućnost je kod dijela bolesnika IGF-I bio povišen još najmanje 2 mjeseca nakon uspješne operacije, te da je u tom periodu potaknuo četveromjesečni ciklus koštane pregradnje koji je trajao sve do kontrolnog mjerenja biljega koštane pregradnje 6 mjeseci nakon operacije. Za precizniju procjenu dužine učinka prekomjernog lučenja HR na ubrzanje koštane pregradnje biti će potrebno dugoročnije prespektivno praćenje dinamike biljega koštane pregradnje.

Ovo istraživanje ukazuje da remisija akromegalije dovodi do normalizacije koncentracija osteokalcina i do značajnog pada aktivnosti alkalne fosfataze i

koncentracije β -crosslaps u krvi. Uzevši u obzir nedostatke suvremenih biokemijskih metoda za određivanje IGF-I i HR što u praksi često stvara velike poteškoće pri evaluaciji uspješnosti liječenja akromegalije^{28,88-90}, rezultati ove studije mogu poslužiti kao ishodište u razmatranju potencijalne uloge biljega koštane pregradnje kao dodatnih biokemijskih markera pri procjeni aktivnosti bolesti.

5.3. Mineralna gustoća kosti

Prema rezultatima ovog istraživanja mineralna gustoća kosti mjerena pomoću DXA ovisna je o spolu. Kod bolesnica je nađena značajno viša mineralna gustoća kortikalne kosti mjerene na vratu i trohanteru bedrene kosti dok se mineralna gustoća kosti u muškaraca s akromegalijom nije značajno razlikovala od kontrolne skupine. Istraživanja većine ostalih autora su pokazala pozitivni učinak prekomjernog lučenja HR na mineralnu gustoću kortikalne kosti kod oba spola^{22,62,63,65}. Podjelom bolesnika na one s normalnom i one s insuficijentnom funkcijom gonada također nije nađeno značajnih razlika u mineralnoj gustoći kosti, iako je dio autora u literaturi našao je da je mineralna gustoća kosti u bolesnika s akromegalijom i pratećim hipogonadizmom niža nego u bolesnika s normalnom funkcijom gonada^{22,24,59,60}. Grupa bolesnika s hipogonadizmom i eugonadizmom u ovom istraživanju je vrlo mala što je značajan limitirajući faktor pri interpretaciji rezultata.

Do sada su objavljena samo tri istraživanja koja su se bavila ispitivanjem pojavnosti prijeloma kosti u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta.

Grupa autora iz Italije ^{77,78} objavila je da takvi bolesnici imaju veću učestalost prijeloma, iako nisu našli razlike u mineralnoj gustoći kosti u odnosu na zdravu populaciju. Istovremeno, grupa autora iz Danske je našla smanjenu učestalost prijeloma u skupini bolesnika s akromegalijom ⁷⁹. Iz navedenog proizlazi da će za bolju procjenu učestalosti prijeloma u bolesnika s akromegalijom biti potrebne dodatne prospektivne studije. Uzevši u obzir specifičnu koštanu morfologiju bolesnika s akromegalijom karakteriziranu velikim koštanim volumenom, postavlja se pitanje je li u ovoj populaciji bolesnika mineralna gustoća kosti mjerena pomoću DXA dovoljno dobar prediktor rizika za nastanak prijeloma kosti. Primjerice, u sekundarnoj osteoporozi uzrokovanj uzimanjem glukokortikoida mineralna gustoća kosti mjerena pomoću DXA nije dovoljno dobar prediktor rizika od razvoja prijeloma za razliku od postmenopauzalne osteoporoze gdje rezultat DXA dobro korelira s rizikom nastanka prijeloma ⁹¹. Neki smatraju da bi kvantitativni ultrazvuk kosti mogao pružiti preciznije podatke o kvaliteti kosti nego DXA, no dometi ove metode su još u fazi ispitivanja. Više istraživanja je ukazalo na vrijednost kvantitativnog ultrazvuka kosti u predikciji rizika prijeloma u žena ⁹²⁻⁹⁴, a nedavno je objavljena studija koja je to potvrdila i za muškarce ⁹⁵. Za razliku od DXA, QUS uz koštanu gustoću pruža informacije i o strukturi, te mikroarhitekturi kosti ⁹⁶. Ovim istraživanjem nađene su značajno niže vrijednosti parametara ultrazvuka petne kosti kod muškaraca s akromegalijom u odnosu na kontrolnu skupinu što govori u prilog smanjene kvalitete kosti. Slične rezultate objavili su Bolanowski i suradnici ⁶⁷. Našim istraživanjem nije nađeno značajnih razlika u brzini koštane pregradnje između

spolova, ali je mineralna gustoća kosti mjerena pomoću DXA u bolesnika bila značajno viša nego u kontrolnoj skupini. Navedeno ukazuje da bi učinak prekomjernog lučenja HR i IGF-I na kost mogao biti ovisan o spolu. Neki autori smatraju da je bi navedena spolna razlika mogla biti posljedica modulirajućeg učinka estrogena na lučenje i aktivnost HR ⁹⁷.

Iako je uključivanje bolesnika u ovu studiju trajalo čak 10 godina, zbog vrlo male prevalencije bolesti i dalje značajan nedostatak ovog istraživanja predstavlja relativno mali broj ispitanika. Sličan problem imale su i dosadašnje studije koje su se bavile proučavanjem koštanog metabolizma kod bolesnika s akromegalijom. Pri interpretaciji rezultata analize mineralne gustoće i metabolizma kosti dodatni problem predstavlja hipogonadizam koji je često pridružen akromegaliji. Prevladavanje problema malog uzorka bolesnika i heterogenosti grupa jedino je moguće stvaranjem zajedničkih internacionalnih baza podataka čime bi se povećala pouzdanost rezultata istraživanja uloge hormona rasta u metabolizmu kosti.

6. ZAKLJUČCI

1. Bolesnici s prekomjernim lučenjem hormona rasta imaju značajno bržu koštanu pregradnju u odnosu na zdrave ispitanike iste dobi što se očituje statistički značajno višim vrijednostima serumskih biljega koštane izgradnje i razgradnje.

2. Vrijednosti biljega koštane pregradnje statistički se značajno smanjuju 6 mjeseci nakon postizanja remisije bolesti, no i dalje su više u usporedbi sa zdravim ispitanicima.

3. Spol je značajna odrednica mineralne gustoće kosti u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta. Mineralna gustoća kosti mjerena pomoću DXA ne razlikuje se značajno između zdravih muškraca i onih s prekomjernim lučenjem hormona rasta, dok žene s prekomjernim lučenjem hormona rasta imaju značajno veću mineralnu gustoću kosti u području vrata i trohantera bedrene kosti u usporedbi sa zdravim ispitanicima. Muškarci s prekomjernim lučenjem hormona rasta imaju niže vrijednosti parametara kvantitativnog ultrazvuka petne kosti od zdravih pojedinaca, dok se navedena razlika ne nalazi kod žena.

4. U skupini muškaraca s prekomjernim lučenjem hormona rasta aktivnost bolesti je značajna odrednica kvalitete kosti mjerene kvantitativnim ultrazvukom petne kosti. Muški bolesnici u aktivnoj fazi bolesti imaju statistički značajno niže parametre kvantitativnog ultrazvuka petne kosti od bolesnika koji su postigli remisiju bolesti, dok kod žena navedena razlika nije nađena.

5. U bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta nije nađena značajna povezanost mineralne gustoće kosti i funkcije spolnih žlijezda.

6. Vrijednost biljega koštane pregradnje u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta neovisna je o spolnoj pripadnosti i o funkciji spolnih žlijezda.

7. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je ispitivanje mineralne gustoće kosti u bolesnika s prekomjernim lučenjem hormona rasta, te prospektivno praćenje vrijednosti biljega koštane pregradnje prije i nakon izlječenja bolesti. Dodatni cilj istraživanja bio je praćenje pridruženih bolesti i uspjeha liječenja tih bolesnika. U istraživanje je uključeno 53 bolesnika liječenih u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb zbog prekomjernog lučenja hormona rasta uzrokovanog somatotropinomom u periodu od 2000. do 2010. godine. U cilju procjene mineralne gustoće i metabolizma kosti ispitanicima je učinjeno mjerenje mineralne gustoće kosti pomoću DXA (n=43 ispitanika) i kvantitativnog ultrazvuka petne kosti (n=36 ispitanika) te mjerenje biljega koštane pregradnje (osteokalcin, koštana alkalna fosfataza, β -crosslaps) prije početka liječenja (n=37 ispitanika) i 6 mjeseci nakon postizanja remisije bolesti (n=28 ispitanika). U bolesnika s akromegalijom su nađene statistički značajno više vrijednosti biljega koštane pregradnje nego u zdravih pojedinaca (osteokalcin: $p=0,003$; koštana alkalna fosfataza: $p<0,001$; β -crosslaps: $p<0,001$). Šest mjeseci nakon postizanja remisije bolesti došlo je do značajnog smanjenja koncentracije osteokalcina i β -crosslaps, dok smanjenje aktivnosti alkalne fosfataze nije doseglo razinu statističke značajnosti. U usporedbi sa zdravom populacijom, 6 mjeseci nakon postizanja remisije bolesti koncentracije β -crosslaps i aktivnost koštane alkalne fosfataze i dalje su bili značajno viši u skupini bolesnika ($p<0,05$), dok se koncentracije osteokalcina nisu značajno razlikovale među te dvije skupine. Bolesnice su imale značajno višu mineralnu gustoću kosti u području vrata i trohantera bedrene kosti u

usporedbi s kontrolnom skupinom. Mineralna gustoća kosti muških bolesnika nije se razlikovala od zdravih pojedinaca, dok su parametri kvantitativnog ultrazvuka petne kosti bili značajno niži u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini. Rezultati upućuju na značajnu ulogu hormona rasta na ubrzanje koštane pregradnje što se očituje i 6 mjeseci nakon postizanja remisije bolesti.

Bone mineral density and bone turnover markers in patients with somatotropinoma

Summary

The aim of this study was to investigate the bone mineral density in patients with hypersecretion of growth hormone caused by somatotropinoma, as well as to measure the bone turnover markers before and 6 months after the treatment of disease. Additional purpose of the study was to detect the prevalence of comorbidities in patients with acromegaly and to evaluate the results of the acromegaly treatment. The study comprised 53 patients diagnosed and treated for acromegaly at Division of Endocrinology, University Hospital Centre Zagreb in the period from year 2000 to 2010. Analysis of bone mineral density was done by DXA (n=43 patients) and by quantitative ultrasound of the heel (n=36 patients). Bone turnover markers were analysed before the acromegaly treatment (n=37 patients) and six months after the disease remission achievement (n=28 patients). Bone turnover markers were significantly higher in patients with acromegaly than in the control group (osteocalcin, $p=0,003$; bone alkaline phosphatase, $p<0,001$; β -crosslaps, $p<0,001$). Six months after the disease remission achievement osteocalcin and β -crosslaps levels significantly decreased ($p<0.05$), whilst the reduction in alkaline phosphatase level was not statistically significant. When patients with disease remission were compared to control group, bone alkaline phosphatase and β -crosslaps were still significantly higher in patients ($p<0.05$). The osteocalcin level did not differ significantly between the two groups. Female patients had significantly higher bone mineral

density in femoral neck and trochanter region when compared to controls. No significant differences were found between bone mineral density of male patients with acromegaly and controls. The results imply the important effect of growth hormone on bone turnover which can still be observed six months after normalisation of growth hormone and IGF-I secretion.

8. LITERATURA

1. Guyton AC HJ. The pituitary hormones and their control by the hypothalamus. In: Guyton AC HJ, ed. Medical physiology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996:933-944.
2. Argetsinger LS, Campbell GS, Yang X, et al. Identification of JAK2 as a growth hormone receptor-associated tyrosine kinase. *Cell* 1993;74:237-244.
3. Zhu T, Goh ELK, Graichen R, Ling L, Lobie PE. Signal transduction via the growth hormone receptor. *Cellular Signalling* 2001;13:599-616.
4. Lichanska AM, Waters MJ. New Insights into Growth Hormone Receptor Function and Clinical Implications. *Horm Res* 2008;69:138-145.
5. Boisclair YR, Rhoads RP, Ueki I, Wang J, Ooi GT. The acid-labile subunit (ALS) of the 150 kDa IGF-binding protein complex: an important but forgotten component of the circulating IGF system. *J Endocrinol* 2001;170:63-70.
6. Milani D CJ, Welkowitz J, et al. Variability and reliability of single serum IGF-I measurements: impact on determining predictability of risk ratios in disease development. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2271-2274.
7. Brabant G, Muhlen A, Wuster C, et al. Serum insulin-like growth factor I reference values for an automated chemiluminescence immunoassay system: results from a multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;60:53-60.
8. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the Neuroregulation of Growth Hormone Secretion in Experimental Animals and the Human. *Endocr Rev* 1998;19:717-797.

9. Leung K, Rajkovic IA, Peters E, Markus I, Van Wyk JJ, Ho KK. Insulin-like growth factor I and insulin down-regulate growth hormone (GH) receptors in rat osteoblasts: evidence for a peripheral feedback loop regulating GH action. *Endocrinology* 1996;137:2694-2702.
10. Peacey SR, Toogood A, Veldhuis JD, Thorner MO, Shalet SM. The relationship between 24-hour growth hormone secretion and insulin-like growth factor I in patients with successfully treated acromegaly: impact of surgery or radiotherapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:259-266.
11. Veldhuis JD, Iranmanesh A. Physiological regulation of the human growth hormone (GH)-insulin-like growth factor type I (IGF-I) axis: predominant impact of age, obesity, gonadal function, and sleep. *Sleep* 1996;19:221-224.
12. Raben MS. Treatment of pituitary dwarf with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1958;18:901-903.
13. Saugy M, Robinson N, Saudan C, Baume N, Avois L, Mangin P. Human growth hormone doping in sport. *Br J Sports Med* 2006 40:35-39
14. Verga A. A singular case of prosopectasia. In: Bernasconi G, ed *Rendiconti del Reale Istituto Lombardo di Scienze e Lettere* 1864;1:110-117.
15. Marie P. Sur deux cas d'acromegalie. *Rev Med* 1886;6:297-299.
16. Cushing H. Partial hypophysectomy for acromegaly. *Ann Surg* 1909;50:1002-1017.
17. de Herder W. Acromegaly and gigantism in the medical literature. Case descriptions in the era before and the early years after the initial publication of Pierre Marie (1886). *Pituitary* 2009;12:236-244.

18. Reid TJ, Post KD, Bruce JN, Kanibir MN, Reyes-Vidal CM, Freda PU. Features at diagnosis of 324 patients with acromegaly did not change from 1981 to 2006: acromegaly remains under-recognized and under-diagnosed. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;72:203-208.
19. Colao A, Ferone D, Marzullo P, Lombardi G. Systemic complications of Acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocrine Reviews* 2004;25:102-152.
20. Melmed S. Acromegaly. *N Engl J Med* 2006;355:2558-2573.
21. Dekkers OM, Biermasz NR, Pereira AM, Romijn JA, Vandenbroucke JP. Mortality in Acromegaly: A Metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:61-67.
22. Lesse GP, Fraser WD, Farquharson R, Hipkin L, Vora JP. Gonadal status is an important determinant of bone density in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;48:59-65.
23. Kaji H, Sugimoto T, Nakaoka D, et al. Bone metabolism and body composition in Japanese patients with active acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55:175-181.
24. Alfredo S, Claudia B, Iacopo C, et al. Bone mineral density in acromegaly: the effect of gender, disease activity and gonadal status. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;58:725-731.
25. Holdaway IM, Bolland MJ, Gamble GD. A meta-analysis of the effect of lowering serum levels of GH and IGF-I on mortality in acromegaly. *Eur J Endocrinol* 2008;159:89-95.

26. Melmed S, Colao A, Barkan A, et al. Guidelines for Acromegaly Management: An Update. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1509-1517.
27. Giustina A, Barkan A, Chanson P, Grossman A, Hoffman A, Ghigo E, Casanueva F, Colao A, Lamberts S, Sheppard M, Melmed S; Pituitary Society; European Neuroendocrine Association. Guidelines for the treatment of growth hormone excess and growth hormone deficiency in adults. *J Endocrinol Invest* 2008; 31:820-838.
28. Giustina A, Chanson P, Bronstein MD, et al. A Consensus on Criteria for Cure of Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:3141-3148.
29. Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The Osteoblast: A Sophisticated Fibroblast under Central Surveillance. *Science* 2000;289:1501-1504.
30. Teitelbaum SL. Bone Resorption by Osteoclasts. *Science* 2000;289:1504-1508.
31. Seeman E, Delmas PD. Bone Quality - The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *N Engl J Med* 2006;354:2250-2261.
32. Compston JE. Bone marrow and bone: a functional unit. *J Endocrinol* 2002;173:387-394.
33. Kušec V. Procjena koštane pregradnje pomoću biokemijskih pretraga klinička primjena i značenje. *Pediatira Croatica* 2005;49.
34. van der Eerden BCJ, Karperien M, Wit JM. Systemic and Local Regulation of the Growth Plate. *Endocr Rev* 2003;24:782-801.
35. Nilsson O, Marino R, De Luca F, Phillip M, Baron J. Endocrine regulation of the growth plate. *Horm Res* 2005;64:157-165.

36. Mardešić D. *Pedijatrija* (ed 6.). Zagreb: Školska knjiga; 2000.
37. Ohlsson C, Nilsson A, Isaksson O, Lindahl A. Growth hormone induces multiplication of the slowly cycling germinal cells of the rat tibial growth plate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:9826-9830.
38. Lupu F, Terwilliger JD, Lee K, Segre GV, Efstratiadis A. Roles of Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor 1 in Mouse Postnatal Growth. *Developmental Biology* 2001;229:141-162.
39. Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 1993;75:73-82.
40. Woods KA, Camacho-Hubner C, Savage MO, Clark AJL. Intrauterine Growth Retardation and Postnatal Growth Failure Associated with Deletion of the Insulin-Like Growth Factor I Gene. *N Engl J Med* 1996;335:1363-1367.
41. DeChiara TM, Robertson EJ, Efstratiadis A. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell* 1991;64:849-859.
42. Monson JP, Drake WM, Carroll PV, Weaver JU, Rodriguez-Arno J, Savage MO. Influence of growth hormone on accretion of bone mass. *Horm Res.* 2002;58:52-56.
43. Werther GA, Haynes K, Edmonson S, Oakes S, Buchanan CJ, Herington AC, Waters MJ. Identification of growth hormone receptors on human growth plate chondrocytes. *Acta Paediatr* 1993;Suppl:50-53.
44. Kassem M, Blum W, Ristelli J, Mosekilde L, Eriksen E. Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcified Tissue International* 1993;52:222-226.

45. Li H, Bartold PM, Zhang CZ, Clarkson RW, Young WG, Waters MJ. Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor I Induce Bone Morphogenetic Proteins 2 and 4: A Mediator Role in Bone and Tooth Formation? *Endocrinology* 1998;139:3855-3862.
46. Mrak E, Villa I, Lanzi R, Losa M, Guidobono F, Rubinacci A. Growth hormone stimulates osteoprotegerin expression and secretion in human osteoblast-like cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;192:639-645.
47. Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, et al. Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *The Journal of Clinical Investigation* 2002;110:771-781.
48. Bikle DD, Sakata T, Leary C, et al. Insulin-Like Growth Factor I Is Required for the Anabolic Actions of Parathyroid Hormone on Mouse Bone. *J Bone Miner Res* 2002;17:1570-1578.
49. Canalis E, Rydziel S, Delany AM, Varghese S, Jeffrey JJ. Insulin-like growth factors inhibit interstitial collagenase synthesis in bone cell cultures. *Endocrinology* 1995;136:1348-1354.
50. Rubin J, Ackert-Bicknell CL, Zhu L, et al. IGF-I Regulates Osteoprotegerin (OPG) and Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand in Vitro and OPG in Vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4273-4279.
51. Ueland T. GH/IGF-I and bone resorption in vivo and in vitro. *Eur J Endocrinol* 2005;152:327-332.
52. Friedlander AL, Butterfield GE, Moynihan S, et al. One Year of Insulin-Like Growth Factor I Treatment Does Not Affect Bone Density, Body Composition, or

Psychological Measures in Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1496-1503.

53. Wei S, Tanaka H, Kubo T, Ono T, Kanzaki S, Seino Y. Growth hormone increases serum 1,25-dihydroxyvitamin D levels and decreases 24,25-dihydroxyvitamin D levels in children with growth hormone deficiency. *Eur J Endocrinol* 1997;136:45-51.

54. Gertner JM, Horst RL, Broadus AE, Rasmussen H, Genel M. Parathyroid Function and Vitamin D Metabolism during Human Growth Hormone Replacement. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;49:185-188.

55. Ahmad AM, Hopkins MT, Fraser WD, Ooi CG, Durham BH, Vora JP. Parathyroid hormone secretory pattern, circulating activity, and effect on bone turnover in adult growth hormone deficiency. *Bone* 2003;32:170-179.

56. Katznelson L, Kleinberg D, Vance ML, et al. Hypogonadism in patients with acromegaly: data from the multi-centre acromegaly registry pilot study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;54:183-188.

57. Albright F, Reifeinstein EC. *The Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease: Selected Studies*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1948:188 – 196.

58. Seeman E, Wahner HW, Offord KP, Kumar R, Johnson WJ, Riggs BL. Differential effects of endocrine dysfunction on the axial and the appendicular skeleton. *The Journal of Clinical Investigation* 1982;69:1302-1309.

59. Diamond T, Nery L, Posen S. Spinal and peripheral bone mineral densities in acromegaly: the effects of excess growth hormone and hypogonadism. *Ann Intern Med* 1989;111:567-573.

60. Ezzat S, Melmed S, Endres D, Eyre DR, Singer FR. Biochemical assessment of bone formation and resorption in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1452-1457.
61. Ho PJ, Fig LM, Barkan AL, Shapiro B. Bone Mineral Density of the Axial Skeleton in Acromegaly. *J Nucl Med* 1992;33:1608-1612.
62. Kotzmann H, Bernecker P, Hübsch P, et al. Bone mineral density and parameters of bone metabolism in patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;8:459-465.
63. Kayath MJ, Vieira JG. Osteopenia occurs in a minority of patients with acromegaly and is predominant in the spine. *Osteoporos Int* 1997;7:226-230.
64. Longobardi S, Di Somma C, Di Rella F, Angelillo N, Ferone D, Colao A, Merola B, Lombardi G. Bone mineral density and circulating cytokines in patients with acromegaly. *J Endocrinol Invest* 1998;21:688-693.
65. Bolanowski M, Daroszewski J, Mędraś M, Zadrożna-Śliwka B. Bone mineral density and turnover in patients with acromegaly in relation to sex, disease activity, and gonadal function. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 2006;24:72-78.
66. Njeh CF, Boivin CM, Langton CM. The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: a review. *Osteoporos Int* 1997;7:7-22.
67. Bolanowski M JD, Milewicz A, Arkowska A. Quantitative ultrasound of the heel and some parameters of bone turnover in patients with acromegaly. *Osteoporos Int* 2002;13:303-308.

68. Kastelan D, Dusek T, Kraljevic I, et al. Bone Properties in Patients with Acromegaly: Quantitative Ultrasound of the Heel. *Journal of Clinical Densitometry* 2007;10:327-331.
69. Wüster C, Abs R, Bengtsson B-Å, et al. The Influence of Growth Hormone Deficiency, Growth Hormone Replacement Therapy, and Other Aspects of Hypopituitarism on Fracture Rate and Bone Mineral Density. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;16:398-405.
70. Holmes SJ, Economou G, Whitehouse RW, Adams JE, Shalet SM. Reduced bone mineral density in patients with adult onset growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:669-674.
71. Gotherstrom G, Bengtsson BA, Bosaeus I, Johannsson G, Svensson J. Ten-year GH replacement increases bone mineral density in hypopituitary patients with adult onset GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 2007;156:55-64.
72. Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factors, and the Skeleton. *Endocr Rev* 2008;29:535-559.
73. de la Piedra C, Larrañaga J, Castro N, Horcajada C, Rapado A, Herrera Pombo JL, Carbó E. Correlation among plasma osteocalcin, growth hormone, and somatomedin C in acromegaly. *Calcif Tissue Int* 1988;43:44-45.
74. Ueland T, Fougner SL, Godang K, Schreiner T, Bollerslev J. Serum GH and IGF-I are significant determinants of bone turnover but not bone mineral density in active acromegaly: a prospective study of more than 70 consecutive patients. *Eur J Endocrinol* 2006;155:709-715.

75. Marazuela M, Astigarraga B, Tabuenca MJ, Estrada J, Marín F, Lucas T. Serum bone Gla protein as a marker of bone turnover in acromegaly. *Calcif Tissue Int* 1993;52:419-421.
76. Parkinson C, Kassem M, Heickendorff L, Flyvbjerg A, Trainer PJ. Pegvisomant-Induced Serum Insulin-Like Growth Factor-I Normalization in Patients with Acromegaly Returns Elevated Markers of Bone Turnover to Normal. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5650-5655.
77. Bonadonna S, Mazziotti G, Nuzzo M, et al. Increased Prevalence of Radiological Spinal Deformities in Active Acromegaly: A Cross-Sectional Study in Postmenopausal Women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;20:1837-1844.
78. Mazziotti G, Bianchi A, Bonadonna S, et al. Prevalence of Vertebral Fractures in Men with Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4649-4655.
79. Vestergaard P, Mosekilde L. Fracture risk is decreased in acromegaly - a potential beneficial effect of growth hormone. *Osteoporosis International* 2004;15:155-159.
80. Ausiello J, Bruce J, Freda P. Postoperative assessment of the patient after transsphenoidal pituitary surgery. *Pituitary* 2008;11:391-401.
81. Državni Zavod za statistiku Republike Hrvatske, popis stanovništva, 2001 <http://www.dzs.hr/hrv/censuses/Census2001/Popis/Hdefault.html>
82. Kreutzer J, Vance ML, Lopes MB, Laws ER Jr. Surgical management of GH-secreting pituitary adenomas: an outcome study using modern remission criteria. *Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4072-4077

83. Mestron A, Webb SM, Astorga R et al. Epidemiology, clinical characteristics, outcome, morbidity and mortality in acromegaly based on the Spanish Acromegaly Registry (Registro Espanol de Acromegalia, REA). *Eur J Endocrinol* 2004;151:439-446.
84. De P, Rees DA, Davies N et al. Transsphenoidal surgery for acromegaly in Wales: results based on stringent criteria of remission. *Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3567–3572.
85. Attanasio R, Montini M, Valota M et al. An audit of treatment outcome in acromegalic patients attending our center at Bergamo, Italy. *Pituitary* 2008;11:1-11.
86. Nomikos P, Buchfelder M, Fahlbusch R. The outcome of surgery in 668 patients with acromegaly using current criteria of biochemical 'cure'. *Eur J Endocrinol* 2005;152:379-387.
87. Colao A, Auriemma R, Pivonello R, Galdiero M, Lombardi G. Medical consequences of acromegaly: What are the effects of biochemical control? *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders* 2008;9:21-31.
88. Costa ACF, Rossi A, Martinelli C. E, Machado H.R., Moreira A. C. Assessment of Disease Activity in Treated Acromegalic Patients Using a Sensitive GH Assay: Should We Achieve Strict Normal GH Levels for a Biochemical Cure? *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3142-3147.
89. Pokrajac A, Wark G, Ellis AR, Wear J, Wieringa GE, Trainer PJ. Variation in GH and IGF-I assays limits the applicability of international consensus criteria to local practice. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007 67:65-70.

90. Trainer PJ, Barth J, Sturgeon C, Wieringaon G. Consensus statement on the standardisation of GH assays. *Eur J Endocrinol* 2006;155:1-2.
91. Staa TPV, Laan RF, Barton IP, Cohen S, Reid DM, Cooper C. Bone density threshold and other predictors of vertebral fracture in patients receiving oral glucocorticoid therapy 2003;48:3224-3229.
92. Hans D, Dargent-Molina P, Schott AM et al. Ultrasonographic heel measurement to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Lancet* 1996;348:5511-5514.
93. Bauer DC, Gluer CC, Genant HK, Stone K, for the Fracture Intervention Trial Research Group. Quantitative ultrasound and vertebral fracture in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1995;10:353-358.
94. Moayyeri A, Kaptoge S, Dalzell N, et al. Is QUS or DXA Better for Predicting the 10-Year Absolute Risk of Fracture? *Journal of Bone and Mineral Research* 2009;24:1319-1325.
95. Khaw KT, Reeve J, Luben R et al. Prediction of total and hip fracture risk in man and women by quantitative ultrasound of the calcaneus: EPIC-Norfolk prospective population study. *Lancet* 2004;363:197-202.
96. Njeh CF, Fuerst T, Diessel E, Genant HK. Is quantitative ultrasound dependent on bone structure ? A reflection. *Osteoporos Int* 2001;12:1-15.
97. Leung KC, Johannsson G, Leong GM, Ho KKY. Estrogen Regulation of Growth Hormone Action. *Endocr Rev* 2004;25:693-721.

9. ŽIVOTOPIS

Tina Dušek, dr. med., specijalist interne medicine, rođena je u Zagrebu 18. studenog 1977. godine. Maturirala je u XV gimnaziji u Zagrebu. Diplomirala je u srpnju 2002. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Dobitnica je Rektorove nagrade za studentski znanstveni rad. Od 2003. do 2004. godine radi kao znanstveni novak-asistent na Katedri za farmakologiju, a od 2004. godine na Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta u Zagrebu. Znanstveni poslijediplomski studij 'Biomedicina i zdravstvo' na Medicinskom fakultetu u Zagrebu upisala je 2003. godine. Na specijalizaciji iz interne medicine bila je od 2004. do 2008. godine, a od 2009. godine radi kao specijalist internist u Zavodu za endokrinologiju Klinike za unutrašnje bolesti, KBC Zagreb. Njezino uže područje interesa su bolesti hipofize i nadbubrežne žlijezde. Autor je dvadesetak znanstvenih i stručnih radova od kojih je 11 objavljeno u časopisima indeksiranim u Current Contents.