

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

**Autoreferát**

**Ghrelín u malnutričních stavů různé etiologie  
Ghrelínu jako patogenetický faktor systémové zánětlivé odpovědi.**

**MUDr. Martina Rosická**

**Školitel: Prof. MUDr. Josef Marek, DrSc.**

**Dizertační práce byla vypracována v rámci doktorského studijního programu  
v biomedicině na III. interní klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.**



**Autor:** MUDr. Martina Rosická  
**Školitel:** Prof. MUDr. Josef Marek, DrSc.  
**Adresa:** III. interní klinika 1. LF UK a VFN  
U nemocnice 1  
128 08 Praha 2

**Obor:** Fyziologie a patofyziologie člověka  
**Oponenti:**

**Autoreferát byl rozeslán dne:**.....  
**Obhajoba dizertace se koná dne:**.....**v hodin:**.....

**S dizertací je možné se seznámit na děkanátě 1. lékařské fakulty UK,  
Kateřinská 32, 121 08 Praha 2.**

**Předseda komise pro obhajobu:  
Prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.  
Fyziologický ústav 1. LF UK  
Albertov 5  
121 08 Praha 2**



## Obsah

1.	Úvod	6
1.1.	Ghrelín – nový orexigenní peptid a sekretagogum růstového hormonu	7
1.2.	Regulace syntézy a sekrece ghrelinu	8
1.3.	Endokrinní aktivity ghrelinu	9
1.3.1.	Ghrelín jako stimulant sekrece růstového hormonu	9
1.3.2.	Další endokrinní aktivity ghrelinu	9
1.4.	Neendokrinní aktivity ghrelinu	9
1.4.1.	Ledviny	9
1.4.2.	Kardiovaskulární systém	10
1.4.3.	Ghrelín a spánek	10
1.5.	Ghrelín a jeho vliv na příjem potravy a energetickou rovnováhu	10
1.5.1.	Orexigenní a adipogenní účinky ghrelinu	10
1.5.2.	Trávicí systém	11
1.6.	Ghrelín u malnutričních stavů	11
1.7.	Ghrelín a systémová zánětová odpověď	12
2.	Hypotéza	14
3.	Soubor pacientů	15
3.1.	Kontrolní skupina	15
3.2.	Obezita a obezita po redukci hmotnosti hladovkou	15
3.3.	Mentální anorexie	15
3.4.	Syndrom krátkého střeva a vliv realimentace	15
3.5.	Systémová zánětová reakce	15
4.	Metody	17
4.1.	Laboratorní metody	17
4.2.	Statistická analýza	18
5.	Výsledky	19
5.1.	Kontrolní skupina	19
5.2.	Ghrelín a obezita	25
5.2.1.	Změny plazmatických koncentrací ghrelinu během sedmidenní redukční hladovky	33
5.3.	Ghrelín a mentální anorexie	35
5.4.	Ghrelín u nemocných se syndromem krátkého střeva a jeho změny po realimentaci	39
5.5.	Ghrelín a systémová zánětová reakce	43
6.	Diskuse	46
7.	Summary	49
8.	Literatura	51
9.	Publikační činnost	56
9.1.	Účast na konferencích	57

## Seznam zkratek

AAT	.....	$\alpha$ -1 antitrypsin
ACTH	.....	adrenokortikotropní hormon
ADH	.....	antiduretický hormon
AGRP	.....	agouti-related protein
ALS	.....	acidolabilní podjednotka (acid-labile subunit)
AN	.....	mentální anorexie (anorexia nervosa)
BMI	.....	index tělesné hmotnosti (body mass index)
CRH	.....	uvolňující hormon pro ACTH (corticotropin releasing hormone)
CRP	.....	C reaktivní protein
GH	.....	růstový hormon (growth hormone)
GHRH	.....	uvolňující hormon pro růstový hormon (growth hormone-releasing hormone)
GHS	.....	sekretagogum růstového hormonu (growth hormone secretagogue)
GHS-R	.....	receptor pro sekretagoga růstového hormonu (growth hormone secretagogue receptor)
HOMA	.....	Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance Index
IGF-I	.....	inzulínu podobný růstový faktor-I (insulin-like growth factor-I)
IGFBP	.....	vazebný protein pro IGF (insulin-like growth factor binding protein)
IL	.....	interleukin
KC	.....	kontrolní skupina celkem
KM	.....	kontrolní skupina muži
KZ	.....	kontrolní skupina ženy
NPY	.....	neuropeptid Y
PWS	.....	Praderův-Willyho syndrom
OC	.....	obézní celkem
OM	.....	obézní ženy
OZ	.....	obézní muži
QUICKI	.....	Quantitative Insulin Sensitivity Check Index
rhGH	.....	rekombinantní lidský růstový hormon (recombinant human growth hormone)
POMC	.....	proopiomelanocortin
SBS	.....	syndrom krátkého střeva (short bowel syndrome)
SIRS	.....	systemová zánětová odpověď (systemic inflammatory response)
SLR	.....	solubilní leptinový receptor (soluble leptin receptor)
TNF	.....	tumor nekrotizující faktor (tumor necrosis factor)
WHR	.....	poměr pas/boky (waist to hip ratio)

# 1. Úvod

## 1.1. Ghrelin – nový orexigenní peptid a sekretagogum růstového hormonu

V roce 1976 byl Cyrilem Y. Bowersem při práci s analogy metenkefalinu objeven opioidní peptid se schopností uvolňovat růstový hormon (GH) (*Bowers a kol. 1977*). Po tomto objevu bylo syntetizováno množství látek peptidové i nepeptidové povahy tzv. sekretagog růstového hormonu (GHSs - growth hormone releasing peptides) se schopností stimulovat syntézu a sekreci GH.

Receptor pro GHS byl detekován v roce 1996. Jedná se o transmembránový receptor se 7 doménami o celkové délce 366 aminokyselin asociovaný s G-proteinem. Zatím byly izolovány dva typy tohoto receptoru: GHS-R typ 1a a alternativním sestřihem vznikající GHS-R typ 1b. Podtyp R1b, kratší izoforma receptoru R1a, má ve srovnání s R1a podstatně slabší nebo žádnou biologickou aktivitu (*Howard a kol. 1996*). Oba typy receptorů byly detekovány v mnoha tkáních organismu, což indikuje mnohočetné funkce endogenního ligandu (např. v procesu učení, regulace spánku, regulace příjmu potravy) (*Muccioli a kol. 2002, Papotti a kol. 2000*).

Endogenní ligand GHS-R byl objeven v roce 1999 Kojimou a spolupracovníky a byl nazván ghrelin. Jedná se o peptid tvořený 28 aminokyselinami. Jeho gen lokalizovaný na chromosomu 3p kóduje propeptid preproghrelin složený ze 117 aminokyselin. Současně s ghrelinem se z preproghrelinu tvoří jiný peptid – obestatin (*Zhang a kol. 2005*), který má na rozdíl od ghreluinu anorexigenní účinek. Je o něm zatím známo jen velmi málo.

Charakteristikou molekuly ghreluinu je přítomnost oktanoylové skupiny na hydroxyskupině serinu v pozici 3. Tento oktanovou kyselinou esterifikovaný ghrelin je nazýván acylovaný nebo také aktivní ghrelin. Ghrelin je prvním známým bioaktivním peptidem s oktanoylovou modifikací u člověka. Jedná se o posttranslační úpravu, která je pro funkci ghreluinu v organismu nezbytná (*Bednarek a kol. 2000, Matsumoto a kol. 2001*). Enzym, který tuto modifikaci katalyzuje a který nebyl dosud detekován, je pravděpodobně důležitý regulátor ghrelinové aktivity.

Ghrelin je z 80% produkován v sekrečních buňkách žaludeční sliznice, které jsou součástí endokrinního systému trávicího traktu. Tyto buňky reprezentující poměrně velkou populaci buněk (20%) jsou lokalizovány především ve sliznici žaludečního fundu, méně v duodenu a v tenkém a tlustém střevě (čím dál od žaludku, tím je jejich koncentrace nižší) (*Date a kol. 2000a*). Ghrelinová mRNA je exprimována také v ledvinách, zvláště v glomerulech (*Gnanapavan a kol. 2002*). Nalezena byla také v ovariích, testes (v Leydigových i Sertoliho buňkách) nebo syncytiotrofoblastu lidské placenty. V centrálním nervovém systému byly ghrelin-produkující neurony popsány v omezeném regionu hypothalamického nucleus arcuatus odpovědného za řízení příjmu potravy (*Kojima a kol. 1999*). Recentní studie popisují přítomnost ghreluinu v nespecifických hypothalamických neuronech spojujících dorsální, ventrální a paraventrikulární jádro a nucleus arcuatus.

Ghrelin se v plazmě vyskytuje v několika formách. Kromě acylovaného ghreluinu je v cirkulaci přítomen neacylovaný ghrelin (jinak také neaktivní ghrelin), který postrádá hydrofobní substituci řetězce. Je také produkován enteroendokrinními buňkami žaludku a převažuje v systémové cirkulaci (*Hosoda a kol. 2000b*). Je bez vlivu na sekreci růstového hormonu a bez dalších endokrinních účinků, ale neaktivní není. Bylo zjištěno, že vykazuje kardiovaskulární (*Baldanzi a kol. 2002*) a proliferativní účinky a možná i účinky metabolické.

Acylovaná forma ghreluinu se váže na receptor pro sekretagoga růstového hormonu, GHS-R1a nebo R1b. Neacylovaná forma se na receptor GHS-R1 navázat nedovede. Prostřednictvím jakých receptorů neacylovaná forma působí dnes ještě nevíme. Některé

periferní účinky acylovaného ghreluinu (např. stimulační účinek na sekreci inzulinu a na glukoneogenezu) jsou neacylovaným ghrelinem antagonizovány (*Broglio a kol. 2004*). Jiné účinky (např. na tukovou tkáň, na kardiovaskulární systém, stimulující buněčnou proliferaci) jsou pro obě formy společné.

Minoritní formou ghreluinu je des-14-glutamin ghrelin. Vzniká alternativním sestřihem ghrelinového genu v rámci postranskripčních úprav. Tento sestřih je vyjímečný tím, že probíhá v peptidkodující části DNA, v exonu (*Hosoda a kol. 2000a*). Des-14-Gln ghrelin je také ligandem pro GHS-R1a a jeho aktivita je srovnatelná s acylovaným ghrelinem. Liší se pouze množstvím: des-14-Gln ghreluinu bylo ve tkáni žaludku detekováno podstatně méně než ghreluinu.

## 1.2. Regulace syntézy a sekrece ghreluinu

Jedním ze základních faktorů regulace ghrelinové sekrece je pravděpodobně příjem potravy. Plazmatický ghrelin reaguje jak na akutní nutriční změny, tak i na chronický stav energetické bilance organismu. Hladiny ghreluinu jsou zvýšené během hladovění a klesají po příjmu potravy. Jsou vysoké u pacientů s mentální anorexií (*Otto a kol. 2001, Kršek a kol. 2002*). Naopak nízké koncentrace ghreluinu nacházíme u obézních osob (*Tschop a kol. 2000*). Tyto změny jsou reverzibilní po úpravě hmotnosti.

Hladina ghreluinu stoupá 1-2 hodiny před hlavním jídlem a po jídle klesá opět na bazální hodnoty během 1-2 hodin. Je tedy možné, že nárůst koncentrací ghreluinu před jídlem hraje roli v navození pocitu hladu a v iniciaci příjmu potravy (*Cummings a kol. 2001a, Tschop a kol. 2001b*). Nelze vyloučit souvislost těchto změn s kolísáním glykemie a/nebo inzulínových hladin v souvislosti s jídlem. Nyní se zdá, že glykemie a inzulín jsou pravděpodobně významnými regulačními faktory.

Plazmatická koncentrace ghreluinu je senzitivní na skladbu potravy, snižuje se při nadměrné konzumaci tuků (*Erdmann a kol. 2003, Greenman a kol. 2004*). Prostá distenze žaludku ke změnám koncentrace ghreluinu nevede (*Shiyya a kol. 2002*).

Hladina ghreluinu se zvyšuje během spánku, ale u obézních nebo při spánkové deprivaci je tento mechanismus porušen (*Dzaja a kol. 2004*).

Po podání somatostatinu a cortistatinu dochází ke snížení hladiny ghreluinu (*Broglio a kol. 2002b, Norrelund a kol. 2002*). Somatostatin navíc negativně ovlivňuje diurnální variabilitu ghreluinu (*Barkan a kol. 2003*).

Exogenní GH snižuje expresi ghrelinové mRNA v žaludku a plazmatické koncentrace ghreluinu, ale neovlivňuje zásoby ghreluinu v žaludečních buňkách. Exprese GHS-R je vysoce senzitivní na hladiny GH a je zvýšená u GH deficitních nemocných.

Sekrece ghreluinu je též pravděpodobně ovlivněna pohlavím. Mechanismus není jistý, ale uvažuje se o vlivu estrogenů. U žen v pozdně folikulární fázi byly zjištěny signifikantně vyšší koncentrace ghreluinu (*Barkan a kol. 2003*).

Nejednoznačný je dosud vztah stárnutí a ghreluinu; v některých studiích byl popsán pokles koncentrací ghreluinu s věkem (*Chapman a kol. 2004, Rigamonti a kol. 2002*), v jiné studii toto pozorování potvrzeno nebylo (*Purnell a kol. 2003*).

Syntéza, ale především sekrece ghreluinu ve tkáni žaludku může být ovlivněna také autonomním nervovým systémem především cholinergními vlákny nervus vagus. Zvýšený tonus parasympatiku (anabolický) vede k útlumu ghrelinové sekrece. Ačkoliv se bazální koncentrace ghreluinu po vagotomii nemění, hladověním indukované zvýšení ghreluinu je kompletně narušeno (*Williams a kol. 2003*).



### **1.3. Endokrinní aktivity ghrelinu**

#### **1.3.1. Ghrelin jako stimulant sekrece růstového hormonu**

Ghrelin je stejně jako ostatní GHSs silným stimulantem sekrece GH (*Kojima a kol. 1999, Date a kol. 2000b*). Stimulace sekrece GH ze somatotropních buněk hypofýzy je závislá na dávce ghrelinu. Jeho stimulační účinek je 2-3x silnější než účinek samotného GHRH. Přesto k plně vyjádřenému účinku ghrelinu na stimulaci GH je nezbytná přítomnost GHRH. Jejich vliv na produkci GH je synergistický. GHRH vede ke stimulaci sekrece, ale také syntézy GH, zatímco ghrelin má antagonistický účinek k somatostatinu - stimuluje sekreci, ale nikoliv syntézu GH (*Date a kol. 2000b*).

Otázkou zůstává, zda se na regulaci GH podílí více žaludeční nebo hypothalamický ghrelin. Hypothalamický ghrelin se do oblasti předního laloku hypofýzy dostává prostřednictvím hypothalamo-hypofyzárního portálního systému. Při porušení hypofyzární stopky je odpověď na ghrelin porušena (*Wren a kol. 2000*). Nemocní s organickou lézí v oblasti hypothalamu mají velmi často poruchu uvolňování GH (*Popovic a kol. 2003*).

Účinek žaludečního ghrelinu v oblasti hypothalamu je limitován průchodem hematoencefalickou bariérou. Ten zajišťuje hydrofobní úprava po esterifikaci oktanovou kyselinou. Přesto je množství periferního ghrelinu procházejícího hematoencefalickou bariérou velmi malé. Recentní studie naznačují, že hlavní cestou zprostředkující účinek žaludečního ghrelinu v CNS jsou aferentní vlákna nervus vagus. Jestliže je nervus vagus přerušeno, je indukce sekrece GH po aplikaci ghrelinu dramaticky snížena (*Date a kol. 2002*). Žaludeční ghrelin je ale také uvolňován do systémové cirkulace a mohl by na somatotropní buňky adenohipofýzy, které nejsou od systémové cirkulace odděleny hematoencefalickou bariérou, působit přímo. Ovšem po přidání ghrelinu ke kultuře krysích pituitárních buněk dochází ke zvýšení hladiny GH 2-3x, což je mnohem méně než po podání ghrelinu v experimentu in vivo.

#### **1.3.2. Další endokrinní aktivity ghrelinu**

Ghrelin stimuluje sekreci ACTH. Tato stimulace je zřejmě zprostředkována kortikotropin uvolňujícím faktorem (corticotropin releasing hormon - CRH) a antidiuretickým hormonem (ADH) syntetizovanými v hypothalamu – po protěžení stopky hypofýzy mizí. Je zpětnovazebně regulována glukokortikoidy z periferie a zřejmě i samotným ACTH.

Stimulační účinek na prolaktin je jen mírný a uvádí se, že je způsoben stimulací smíšených somatolaktotropních buněk hypofýzy.

Leydigovy buňky jsou schopné syntetizovat malá množství ghrelinu, který pravděpodobně negativně ovlivňuje syntézu testosteronu. Naopak vyšší hladiny testosteronu mají na syntézu ghrelinu stimulační vliv. To připomíná mechanismus jednoduché zpětné vazby (*Tena-Sempere a kol. 2005*). V ovariích se ghrelin zvýšeně exprimuje v pozdní folikulární fázi a ve fázi luteální, a to nejvíce v corpus luteum. Předpokládá se, že by se ghrelin mohl účastnit v procesu decidualizace stromálních buněk endometria.

Byla pozorována rovněž stimulace sekrece aldosteronu a vasopresinu ghrelinem (*Arvat a kol. 2001a*).

### **1.4. Neendokrinní aktivity ghrelinu**

#### **1.4.1. Ledviny**

Expres ghrelinového genu a GHS-R byla prokázána v ledvinných podocytech, mesangiálních, glomerulárních a fibroblastům podobných buňkách (*Mori a kol. 2000*). Zvýšené hladiny ghrelinu jsou popisovány u renálního selhání s redukcí jeho hladiny po dialýze zřejmě v důsledku snížené ghrelinové clearance (*Jarkovská a kol. 2005a, b*).

### 1.4.2. Kardiiovaskulární systém

Výskyt GHS-R1 a jeho mRNA byl zaznamenán na buňkách endokardu, myokardu, v srdečních síních i komorách, v cévách včetně aorty, koronárních tepnách, karotidách či horní i dolní duté žíle (*Gnanapavan a kol. 2002*). U lidských dobrovolníků bylo zjištěno, že po intravenózním podání ghrelinu došlo k poklesu středního arteriálního tlaku, ke vzrůstu srdečního indexu a tepového objemu bez vlivu na srdeční frekvenci. Jeho účinek není závislý na NO. Antagonizuje vasokonstrikci navozenou endotelinem. U krys s kardiální dysfunkcí zvyšuje EF levé komory, blokuje remodelaci a je prevencí rozvoje kardiální kachexie (*Nagaya a kol. 2001 a, b, 2003*). Účinek má jak acylovaný, tak neacylovaný ghrelin.

### 1.4.3. Ghrelin a spánek

Ghrelin zvyšuje podíl pomalých vln a snižuje REM spánek (maximálních hladin dosahuje mezi 24-02 hodinou), tedy vlastně spánek prohlubuje a tím zkvalitňuje. Je tak považován za důležitý endogenní regulátor spánku. Po spánkové deprivaci je ghrelin zvýšen. Toto zvýšení se dává do souvislosti se vznikem obezity u osob, které spí relativně krátce. Je to jedno z vysvětlení, proč v populaci negativně koreluje délka spánku se vznikem obezity (*Schussler a kol. 2006*).

## 1.5. Ghrelin a jeho vliv na příjem potravy a energetickou rovnováhu

### 1.5.1. Orexigenní a adipogenní účinky ghrelinu

Nález ghrelin-produkujících neuronů v hypothalamickém nucleus arcuatus ukazuje na úlohu ghrelinu při řízení příjmu potravy a energetické homeostázy (*Kojima a kol. 1999*). Ghrelin vede v závislosti na dávce ke zvýšení příjmu potravy a snížení energetického výdeje, tedy navození pozitivní energetické bilance s odpovídajícím nárůstem tělesné hmotnosti. Ke snížení energetického výdeje dochází potlačením aktivity sympatického nervového systému a poklesem termogeneze. Centrální regulací metabolismu adipocytů se zvyšuje vychytávání glukózy a triacylglycerolů, zvyšuje se lipogeneze a inhibuje se tuková oxidace (*Nakazato a kol. 2001, Wren a kol. 2000*). Tento lipogenetický efekt ghrelinu je nezávislý na GH (účinek GH je lipolytický).

Recentní studie popisují přítomnost ghrelinu v nesespecifických hypothalamických neuronech spojujících dorsální, ventrální a paraventrikulární jádro a nucleus arcuatus. Tyto ghrelin-produkující neurony vysílají eferentní vlákna:

- a) k neuronům syntetizujícím orexigenní neuropeptid Y (NPY) a agouti related peptid (AGRP) (*Cowley a kol. 2003, (Hewson a kol. 2000)*)
- b) k neuronům tvořící anorexigenní proopiomelanocortin (POMC)
- c) k neuronům dopaminového systému v přední tegmentální oblasti, kde se ghrelin podílí na stimulaci tzv. neurogenních systémů odměny (reward circuits).

Ghrelin dále inhibuje sekreci serotoninu z krysích hypothalamických neuronálních synapsí in vitro podobně jako orexin A a B, což může přispět k jeho orexigennímu působení (*Brunetti a kol. 2002*). V recentní studii účinků neacylovaného ghrelinu byla pozorována aktivace orexin exprimujících neuronů v laterálním hypothalamu (*Toshinay a kol. 2003*).

Ghrelin je produkován primárně gastrointestinálními orgány jako odpověď na hlad a hladovění, cirkuluje v periferní krvi jako signál pro CNS aktivující příjem potravy. Tento signál je z periferie do CNS přenášen buď přímo cestou cirkumventrikulárních orgánů nebo prostřednictvím nervus vagus. To podporuje detekce GHS-R1 na aferentních vagových neuronech v ganglion nodosum. Vagotomie inhibuje schopnost ghrelinu stimulovat příjem potravy i uvolňování GH (*Andrews a kol. 2002*). Ačkoliv se bazální koncentrace ghrelinu po

vagotomii nemění, hladověním indukované zvýšení ghrelinu je kompletně narušeno (*Williams a kol. 2003*).

Kromě výše uvedených zásahů do centrálního řízení energetického homeostázy zasahuje ghrelin i do periferního metabolismu. Prostřednictvím GHS-R1a zvyšuje acylovaný ghrelin jaterní glykogenolýzu a stimuluje sekreci inzulínu (*Ahima a kol. 2006*). Působí tak diabetogenně a adipogenně. Zvýšené hladiny inzulínu, např. postprandiálně, snižují sekreci acylovaného ghrelinu. To může mít význam u léčbou nekompenzovaných diabetiků 1. typu, u kterých nedostatek inzulínu nevede k postprandiální inhibici sekrece ghrelinu. Tím lze vysvětlit hyperfagii pozorovanou u těchto nemocných.

V současné době se považuje za prokázaný lipogenní a adipogenní účinek především neacylovaného ghrelinu. Neacylovaný ghrelin aktivuje lipogenézu v tukových buňkách prostřednictvím redukce AMPK (adenosin 5' monofosfátem aktivovaná proteinová kináza).

### **1.5.2. Trávící systém**

Ghrelin zrychluje motilitu žaludku a tenkého střeva a tím zvyšuje dostupnost živin. Nejasný je vliv na sekreci kyseliny chlorovodíkové a pepsinu. Uvádí se jak stimulace sekrece žaludečních šťáv (*Date a kol. 2001*), tak její inhibice (*Masuda a kol. 2000*). Vzhledem ke gastroprotektivnímu účinku (v určitých situacích brání rozvoji stresových vředů a omezuje toxický vliv alkoholu) se zdá být inhibiční účinek pravděpodobnější (*Konturek a kol. 2004*).

### **1.6. Ghrelin u malnutričních stavů**

Řadou experimentů byly prokázány významné změny plazmatických koncentrací ghrelinu během malnutričních stavů. Po objevu jeho silné orexigenní aktivity byla zvažována jeho kauzální role v etiopatogenezi nutričních poruch od obezity až po mentální anorexii a těžkou kachexii.

Za fyziologických okolností u normostenických osob vykazují plazmatické koncentrace ghrelinu určitý diurnální rytmus podobný rytmu sérových koncentrací GH. Nárůst koncentrace ghrelinu byl pozorován mezi hlavními jídly, přitom minimálních hodnot bylo dosaženo mezi 9. a 10. hodinou dopoledne a maximálních hodnot mezi půlnocí a 2. hodinou ranní (*Cummings a kol. 2001, Shiya a kol. 2002*). Ovšem denní kolísání koncentrací ghrelinu nebylo pozorováno všemi autory (*Barkan a kol. 2003*).

Vzhledem k tomu, že u zdravých dobrovolníků vyvolalo podání ghrelinu pocit hladu, je možné, že vzestup koncentrací ghrelinu před jídlem hraje roli v iniciaci příjmu potravy.

U obézních jedinců jsou popisovány snížené koncentrace ghrelinu s poruchou jeho suprese po jídle (*English a kol. 2002*). Jedná se nicméně o reverzibilní stav, po redukci hmotnosti koncentrace ghrelinu opět vzrůstají a jeho reaktivita na příjem potravy se obnovuje (*Cummings a kol. 2002*). Obézní jedinci zároveň vykazují abnormální spontánní sekreci GH, nižší plazmatické hladiny GH a porušenou somatotropní reaktivitu. I zde se jedná o stav reverzibilní po normalizaci hmotnosti. Také pro nemocné s metabolickým syndromem, kde je přítomna současně hyperinzulinemie a obezita, jsou charakteristické nízké hladiny ghrelinu (*Ukkola a kol. 2005*). Výjimkou v tomto ohledu jsou nemocní s Praderovým-Willyho syndromem (PWS), u nichž nacházíme vysoké plazmatické koncentrace ghrelinu. Také u nemocných s bulimia nervosa byly pozorovány koncentrace ghrelinu signifikantně zvýšené a v ojedinělých kasuistikách u nemocných s tumory gastrointestinálního traktu secernujícími ghrelin (ghrelinomy) byl zjištěn vyšší BMI i obsah tělesného tuku (*Corbetta a kol. 2003, Tsolakis a kol. 2004*). To naznačuje možnou roli ghrelinu jako na rozvoji hyperfagie. Jeho orexigenní a ve svém důsledku i adipogenní efekt může hrát kauzální roli v etiopatogenezi těchto onemocnění (*Tanaka a kol. 2002*).

Plazmatické hladiny ghrelinu jsou sníženy u nemocných po žaludečním bypassu (*Geloneze a kol. 2003*) ačkoliv se jedná zpravidla o nemocné s nízkou váhou. Zde je zřejmě hlavním faktorem redukce ghrelin-produkujících buněk.

Naopak zvýšené hladiny ghrelinu jsou nacházeny u stavů prostého hladovění, mentální anorexie (*Otto a kol. 2001*) nebo u kachexií doprovázejících závažné chronické, infekční nebo zánětlivé onemocnění (*Itoh a kol. 2004*). Vysoké koncentrace ghrelinu u mentální anorexie se po terapeutické intervenci vedoucí k nárůstu tělesné hmotnosti signifikantně snižují (*Otto a kol. 2001*). S dysregulací ghrelinu mohou souviset i některé hormonální změny mentální anorexii doprovázející (např. elevace GH, ACTH a kortizolu, amenorhoe).

## **1.7. Ghrelin a systémová záněťová odpověď**

Reakce akutní fáze a systémová záněťová reakce je uniformní nespecifická reakce organismu na systémový inzult. Zahrnuje aktivaci imunitního a nervového systému, metabolické a endokrinní změny. Jedním ze základních projevů systémového zánětu, který dosáhl určité intenzity, je syntéza řady látek především buňkami aktivovaného imunitního systému, endotelovými buňkami nebo buňkami systému neuroendokrinního. Jejich hlavní úlohou je kontrola proliferace a diferenciací buněk a tkání během lokální i systémové zánětlivé reakce. Jedná se o látky nazývané cytokiny, jejichž aktivita je koordinována s „klasickými“ hormony a jaterními proteiny akutní fáze. Vytvářejí síť interakcí mezi imunitním, hemopoetickým, endokrinním a nervovým systémem. Cytokiny představují širokou skupinu látek polypeptidové povahy s řadou parakrinních, autokrinních, ale i endokrinních funkcí, s prozánětlivými i protizánětlivými účinky.

Nově byla nastolena otázka, zda změny ghrelinu v průběhu systémové zánětlivé reakce navozené infekcí, traumatem nebo operačním zákrokem mohou souviset s anorexií a kachexií, která doprovází tyto stavy. Aktuální znalosti a chování ghrelinu během reakce akutní fáze jsou neúplné a jeho fyziologická role je nejasná. Výsledky několika experimentálních prací naznačují, že ghrelin, podobně jako leptin, může být dalším článkem ve složité síti interakcí během zánětu, nezbytné pro adekvátní reakci organismu na lokální nebo systémový inzult.

Na zvířecím modelu bylo prokázáno významné zvýšení plazmatických hladin ghrelinu u krys po navození septického šoku a po podání endotoxinu. Endotoxin vedl ke stimulaci syntézy a sekrece ghrelinu v závislosti na dávce pravděpodobně svým přímým působením na neuroendokrinní buňky sliznice žaludku produkující ghrelin. Podání synteticky připraveného ghrelinu během endotoxického šoku u krys vedlo k signifikantnímu snížení mortality a významně snížilo výskyt závažné hypotenze (*Chang a kol. 2004a, b*). Podání ghrelinu během akutní pankreatitidy vedlo ke zmírnění zánětlivého procesu, snížení uvolňování prozánětlivých cytokinů, především interleukinu 1 beta (IL-1beta)), k redukci zánětlivé infiltrace a snížení vakuolizace acinárních buněk (*Dembinski a kol. 2003*). U krys s revmatoidní artritidou jako modelem chronického zánětlivého postižení bylo naopak zjištěno signifikantní snížení plazmatických hladin ghrelinu. Toto snížení, autorem považované za možnou příčinu revmatoidní kachexie, může být způsobeno inhibičním působením anorexigenně působících prozánětlivých cytokinů (*Otero a kol. 2004*). Časně podání ghrelinu během akutního srdečního selhání významně oslabilo myokardiální deficit ATP a příznivě ovlivnilo funkci myokardu, výrazně vzrostla hladina glukózy a snížila se koncentrace laktátu (*Wu a kol. 2003*).

Anabolický efekt ghrelinu byl studován na modelu nádorové kachexie u myši po inokulaci melanomových buněk. Po podání ghrelinu došlo k signifikantnímu zvýšení příjmu potravy a nárůstu objemu bílé tukové tkáně (*Hanada a kol. 2004*).

Změny ghrelinu během zánětlivé reakce nemusí být podmíněny pouze zvýšením syntézy a sekrece, ale také změnou eliminace látky z organismu. *Wu a kol.* testovali dynamiku

a distribuci radioaktivně značeného ghrelinu na krysím modelu během sepse. Ledviny byly primárním místem ghrelinové clearance, která byla výrazně změněna během pozdních fází sepse. Také jaterní clearance hrála významnou roli, i ta byla během pozdních fází sepse změněna. Jaterní a renální dysfunkce popisovaná během systémové zánětlivé reakce může být tedy jednou z příčin zvýšené plazmatické hladiny ghrelinu.

Studie u lidí popisují zvýšené hladiny ghrelinu u kachexií při chronických chorobách. Při srovnání kachektických a normostenických nemocných s karcinomem plic se plazmatická hladina ghrelinu ve skupině normostenických pacientů s karcinomem nelišila od kontrolní skupiny, ale u kachektických nemocných byla plazmatická hladina ghrelinu zvýšená. Byl zaznamenán také vzestup ghrelinu po snížení chuti k jídlu navozené chemoterapií (*Shimizu a kol. 2003*). Vysoké hladiny ghrelinu byly nalezeny také u kachektických nemocných s CHOPN (*Itoh a kol. 2004*). Na druhou stranu, *Corbetta a kol.* nepotvrdili ve své práci významné odchylky plazmatických hladin ghrelinu u nemocných s gastroenteropankreatickým tumorem. Také u normostenických nemocných s kolorektálním karcinomem nebyly zjištěny signifikantní změny plazmatických hladin ghrelinu (*Rosicka a kol. nepublikované výsledky*).

Ghrelín jako faktor, který antagonizuje působení leptinu, je pravděpodobně dalším významným článkem podílejícím se na výsledném nutričním stavu nejen za bazálních podmínek, ale pravděpodobně i během zánětu. Ghrelín má některé rysy zánětlivých cytokinů: řada ghrelín syntetizujících a secernujících buněk v různých tkáních a orgánech, malá molekulová hmotnost, pluripotentní efekt, interakce s ostatními členy cytokinové sítě. Tyto interakce byly popsány na zvířecích modelech, ale poznatky jsou ještě neúplné. O dynamice ghrelinu v akutních stavech u člověka není známo prakticky nic.

## 2. Hypotéza

V době zahájení naší práce bylo o ghrelinu a jeho fyziologických účincích u člověka známo jen velmi málo. Cílem naší práce bylo objasnit, zda a jak se plazmatické hladiny celkového a aktivního ghrelinu mění v závislosti na aktuálním nutričním stavu, a jak tyto změny souvisí s vybranými endokrinními a metabolickými parametry a jejich kolísáním v reakci na aktuální energetickou bilanci organismu. Sledovali jsme vztah celkového a aktivního ghrelinu k pohlaví, věku, parametrům tělesného složení, leptinu, parametrům osy GH/IGF-I a inzulinu. Porovnávali jsme plazmatické koncentrace ghrelinu mezi skupinou štíhlých zdravých osob, pacientek s mentální anorexií, pacientek se závažnou protein - kalorickou malnutricí doprovázející syndrom krátkého střeva (SBS) a u obézních. V případě protein-kalorické malnutrice a u obézních byla součástí studie také detekce změn plazmatických hladin ghrelinu po terapeutickém zásahu – intenzivní parenterální realimentaci a redukci hmotnosti po sedmidenním hladovění.

Cílem práce bylo zodpovědět následující otázky:

- 1) Jsou plazmatické hladiny celkového a aktivního ghrelinu ovlivněny pohlavím?
- 2) Jsou plazmatické hladiny celkového a aktivního ghrelinu ovlivněny věkem?
- 3) Jaký je vztah plazmatických hladin celkového a aktivního ghrelinu k vybraným nutričním parametrům, k BMI a procentu tělesného tuku?
- 4) Jaký je vztah celkového a aktivního ghrelinu k inzulinu? Je souvislost mezi změnami inzulinu a ghrelinu během nutričních poruch?
- 5) Jaký je vztah periferního ghrelinu k parametrům osy GH/IGF-I, která je u nutričních poruch rovněž alterována?
- 6) Je nějaký vztah mezi celkovým a aktivním ghrelinem a anorexigenně působícím leptinem?

Vzhledem k silné orexigenní aktivitě ghrelinu jsme předpokládali zvýšení jeho plazmatických koncentrací u obézních jako jeden z kauzálních faktorů rozvoje obezity. Naopak v případě mentální anorexie a protein-kalorické malnutrice doprovázené sníženým kalorickým příjmem a nechutenstvím jsme předpokládali snížení plazmatických hladin ghrelinu.

Ve druhé části studie jsme se zajímali o změny plazmatických koncentrací ghrelinu během systémové zánětové reakce a sepse - stavy doprovázené mnohočetnými změnami neuroendokrinních a metabolických funkcí a téměř vždy doprovázené anorexií a váhovým úbytkem. Vzhledem k tomu, že ghrelin má některé rysy zánětlivých cytokinů (řada ghrelin syntetizujících a secernujících buněk v různých tkáních a orgánech, malá molekulová hmotnost, pluripotentní efekt, interakce s ostatními členy cytokinové sítě), a že o jeho vztahu k prozánětlivým cytokinům u člověka nebylo prakticky nic, zajímal nás především vztah ghrelinu k hlavním pro a protizánětlivých cytokinů a reaktantům akutní fáze, jejich dynamika a případná souvislost s anorexií a kachexií tyto stavy doprovázející.

### **3. Soubor pacientů**

#### **3.1. Kontrolní skupina**

Do kontrolní skupiny bylo zařazeno 78 normostenických osob (věk  $42,78 \pm 16,08$  let, BMI  $22,21 \pm 2,27$  kg.m<sup>-2</sup>). Vyřazovacím kritériem bylo BMI nad 25, závažná chronická onemocnění, především diabetes mellitus a jiné závažné endokrinopatie, hormonální terapie (hormonální antikoncepce, hormonální substituční terapie).

Ve skupině bylo 47 žen (věk  $41,62 \pm 14,68$  let, BMI  $21,58 \pm 2,12$  kg.m<sup>-2</sup>) a 31 mužů (věk  $44,55 \pm 18,10$  let, BMI  $23,16 \pm 2,18$  kg.m<sup>-2</sup>).

#### **3.2. Obezita a obezita po redukci hmotnosti hladovkou**

V této skupině bylo vyšetřováno 41 obézních pacientů (věk  $47,1 \pm 14$  let, BMI  $36,45 \pm 7,95$  kg.m<sup>-2</sup>), 13 mužů (věk  $54,69 \pm 13,66$ , BMI  $31,54 \pm 5,21$  kg.m<sup>-2</sup>) a 28 žen (věk  $43,54 \pm 12,65$ , BMI  $38,73 \pm 7,97$  kg.m<sup>-2</sup>). Vyloučení byli pacienti se závažným chronickým onemocněním především diabetes mellitus. Všichni vyšetřovaní byli doporučeni obezitologickou ambulancí III. interní kliniky VFN.

Ve skupině pacientů vyšetřovaných během sedmidenní redukční hladovky bylo 9 pacientek, pouze žen (věk  $43,4 \pm 10,82$  let, BMI  $43,63 \pm 6,39$  kg.m<sup>-2</sup>). Jednalo se o pacientky se III. stupněm obezity indikované k redukční hladovce obezitologickou ambulancí III. interní kliniky VFN. Pacientky byly vyšetřovány za hospitalizace. Odběry byly provedeny druhý den po nástupu k hospitalizaci před začátkem hladovění a poté sedmý den redukční hladovky.

#### **3.3. Mentální anorexie**

Do této skupiny bylo zařazeno 19 pacientek s purgativním typem mentální anorexie (věk  $25,9 \pm 5,37$  let, BMI  $15,07 \pm 2,42$  kg.m<sup>-2</sup>). Studie a výběr pacientek byl proveden ve spolupráci s Psychiatrickou klinikou VFN. Jednalo se o nemocné v době vyšetření hospitalizované na výše uvedené klinice. Pacientky byly vyšetřené vždy na začátku hospitalizace. Podmínkou byla nepřítomnost jiného závažného onemocnění a užívání hormonální antikoncepce.

#### **3.4. Syndrom krátkého střeva a vliv realimentace**

V této části byli vyšetřováni pacienti se syndromem krátkého střeva hospitalizovaní k intenzivní parenterální realimentaci na Metabolické jednotce III. interní kliniky VFN. Jednalo se o pacienty s různými diagnózami po rozsáhlých nitrobrášišních výkonech s resekci 60-80% tenkého střeva s ponecháním žaludku. S ohledem na sexuální dimorfismus plazmatických koncentrací ghrelinu a pro lepší srovnání s předchozími skupinami byly zahrnuty do studie pouze ženy. Vyšetřeno bylo celkem 14 žen (věk  $54,64 \pm 14,54$  let, BMI  $20,02 \pm 3,03$  kg.m<sup>-2</sup>). Vyloučeny byly pacientky se závažnými infekčními komplikacemi a diabetes mellitus. Všechny vyšetřované byly odebírány před zahájením infúzní terapie a 5 dnů po intenzivní parenterální realimentaci roztoky All in One.

#### **3.5. Systémová zánětová reakce**

Tato část studie probíhala odděleně v rámci jiného grantového projektu a z toho důvodu je její design odlišný.

Bylo zde studováno 25 chirurgických pacientů – mužů (věk 32-72 let) s rozvinutou pooperační sepsí po rozsáhlých břišních operacích: 9 pacientů po hemipankreatektomii (věk 39-56 let), 11 pacientů po resekci kolorektálního karcinomu (51-72 let) a 4 pacienti

s polytraumatem (32-49 let), BMI  $22,9 \pm 2,9 \text{ kg.m}^{-2}$ . 3 pacienti byli medikamentózně léčeni pro arteriální hypertenzi. Pacienti s diabetes mellitus byli ze studie vyloučeni. Sepse a septický šok byly definovány podle definice American College of Chest Physician and the Society of Critical Care Medicine (*Bone a kol. 1992*). V úvahu byla brána doporučení International Sepsis Forum Consensus Conference on Definition of Infection in the ICU (*Calandra a kol. 2005*). 6 z 25 pacientů splňovalo kritéria těžké sepse, tj. sepse spojené s orgánovou dysfunkcí, hypoperfuzí a hypotenzí.

U všech nemocných bylo spočteno APACHE II skóre (chronic physiology and chronic health evaluation), které vychází z hodnocení klíčových fyziologických parametrů. Riziko mortality je úzce vztaženo k úrovni postižení homeostatických mechanismů. APACHE II  $\geq 25$  představuje vysoké riziko smrti. Průměrné skóre APACHE II bylo  $14,0 \pm 5,2$ .

V kontrolní skupině bylo zahrnuto 14 zdravých mužských kontrol (věk 28-42 let), BMI  $23,3 \pm 3,6 \text{ kg.m}^{-2}$ . Žádný člen kontrolní skupiny neměl chronické onemocnění.

Skupina septických nemocných byla srovnávána se skupinou pacientů po nekomplikované intraabdominální operaci. Do této skupiny bylo zařazeno 22 pacientů – mužů (49-72 let), BMI  $23,9 \pm 2,7 \text{ kg.m}^{-2}$  po plánované resekci pro karcinom tlustého střeva. Vyloučeni byli nemocní s paliativními výkony a s lokálními nebo systémovými pooperačními komplikacemi a nemocní těžce malnutriční.



## 4. Metody

Odběry krve byly provedeny u všech vyšetřených osob za standardních podmínek. V kontrolní skupině, u obézních, pacientek s mentální anorexií a malnutričních nemocných se SBS byla krev v rámci prvního náběru odebrána v 8.00 hod. ráno po celonočním lačnění do vakuových zkumavek. U obézních pacientek vyšetřovaných během sedmidenního hladovění byly odběry provedeny v 8:00 ráno po celonočním lačnění v den zahájení hladovění a pak ve stejném čase 7. den před ukončením redukční hladovky. U pacientů se SBS sledovaných před a po parenterální realimentaci byl první odběr proveden ráno po celonočním lačnění před zahájením realimentace, druhý odběr po pěti dnech intenzivní parenterální realimentace.

Bezprostředně po odběru byly sérum i plazma obloženy ledem a po transportu do laboratoře separovány centrifugací při 3000 ot./min. po dobu 10 minut při +4 °C. Poté byly vzorky zmrazeny při teplotě -80 °C do doby stanovení.

V den vyšetření bylo provedeno základní antropometrické vyšetření – pacienti byli zváženi, byla změřena tělesná výška, obvod pasu v úrovni pupku a obvod boků v nejširším místě. Z vybraných parametrů jsme vypočítali body mass index (BMI) dle vzorce tělesná váha (kg)/tělesná výška (m<sup>2</sup>) a waist-hip ratio (WHR) jakožto poměr obvodu pasu (m)/obvod boků (m). Obsah tělesného tuku (%) byl stanoven změřením tloušťky 4 kožních řas Bestovým kaliperem na nedominantní straně těla (nad bicepsem, tricepsem, spina iliaca anterior superior, pod lopatkou).

Vyšetřovali jsme koncentrace celkového a u některých skupin i aktivního ghrelinu, GH, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-6, leptinu, inzulinu, solubilního leptinového receptoru, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, LDL cholesterolu, triacylglycerolů, prealbuminu, albuminu, celkové bílkoviny, glukózy, urey a kreatininu. Koncentrace GH byly stanoveny jako aritmetický průměr ze 3 odběrů provedených v odstupu 30 min. Byl spočten HOMA index - Homeostasis Model Assessment Inzulin Resistance Index (koncentrace glukózy x koncentrace inzulinu / 405) a index QUICKI-Quantitative Insulin Sensitivity Check Index ( $1/\log$  koncentrace inzulinu +  $\log$  koncentrace glukózy).

V experimentu týkající se systémové zánětové reakce byly odběry naplánovány takto: Ve skupině pacientů s nekomplikovaným pooperačním průběhem byly provedeny celkem tři odběry: 1. vzorek byl nabírán ráno před operací a dále ve 24hodinových intervalech 1., 2. a 3.den (tj. +24h, +48h a +72h). U septických nemocných byl nabrán pouze jeden vzorek v den následující objevení se prvních příznaků sepse. V této skupině byla provedena měření plazmatických koncentrací ghrelinu, leptinu, tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF-alfa), interleukinu-1 (IL-1), solubilní IL-2 receptour (sIL-2R), IL-6, C reaktivní proteinu (CRP) a alfa-1 antitrypsinu (AAT).

### 4.1. Laboratorní metody

Koncentrace vybraných hormonálních parametrů byly stanovovány pomocí komerčních kitů. Ke změření koncentrací ghrelinu byly použity RIA kity – Ghrelin (Total) RIA kit a Ghrelin (Active) RIA kit (Linco Research, USA). Měření byla prováděna v duplikátech. Koncentrace leptinu a solubilního leptinového receptoru byly určovány pomocí komerčních ELISA kitů (Bio Vendor, ČR), koncentrace inzulinu pomocí RIA kitu (Solupharm, ČR), ke zjištění koncentrací IGFBP-2 a IGFBP-6 byly použity také RIA kity (DSL, USA). Koncentrace GH a IGF-I byly stanoveny komerčními IRMA kity (Immunotech, ČR), koncentrace volného IGF-I, IGFBP-1 a IGFBP-3 byly změřeny taktéž IRMA kity (DSL, USA). TNF-alfa, IL1beta, IL-6 byly stanoveny ELISA kitem pro lidské cytokiny (Immunotech/Coulter Company, Hamburg). Monitoring CRP a AAT byl proveden nefelometrickou analýzou s použitím monoklonální protilátky (Boehringer).

Ostatní sérové parametry (koncentrace celkové bílkoviny, albuminu, prealbuminu, cholesterolu, triacylglycerolů, HDL cholesterolu, LDL cholesterolu, urey, kreatininu a glukózy) byly stanoveny standardními laboratorními metodami v centrálních laboratořích VFN, Praha.

#### **4.2. Statistická analýza**

Data byla statisticky zpracována pomocí programu Statistica (StatSoft, Inc., USA). Byly vypočítány průměry a směrodatné odchylky. Významnost rozdílů mezi skupinami byla stanovena pomocí nepárového t-testu, případně Mann-Whitney neparametrického testu. K porovnání dynamických změn sledovaných parametrů byl použit párový t-test.

Pro srovnání jednotlivých skupin byla použita Tukeyova metoda mnohonásobného porovnání. Vztahy mezi jednotlivými parametry byly určovány pomocí Pearsonova resp. Spearmanova korelačního testu.

## 5. Výsledky

### 5.1. Kontrolní skupina

Do kontrolní skupiny bylo zařazeno 78 zdravých normostenických osob, 31 mužů a 47 žen. Plazmatická koncentrace celkového ghrelinu byla v celé kontrolní skupině  $250,1 \pm 109,8$  ng/l, koncentrace aktivního ghrelinu činila  $6,4 \pm 6,0$  ng/l. Stanovení celkového ghrelinu zahrnuje jak aktivní acylovaný ghrelin, tak neaktivní ghrelin, v malém množství jsou zastoupeny další minoritní formy ghrelinu. Aktivní ghrelin tedy představuje  $2,88 \pm 2,06$  % z celkového ghrelinu.

Bylo zjištěno, že koncentrace celkového ghrelinu se významně liší v závislosti na pohlaví. Vyšší celkový ghrelin byl nalezen u žen (KM  $193,3 \pm 79$  ng/l vs. KZ  $290,1 \pm 11$  ng/l;  $p < 0,0001$ ) (viz. graf 1). Aktivního ghrelinu se tato závislost netýkala (KM  $4,8 \pm 2,7$  ng/l vs. KZ  $7,7 \pm 7,7$  ng/l) (viz. graf 2). Ani procentuální zastoupení aktivního ghrelinu nebylo ovlivněno pohlavím (KM  $2,54 \pm 1,29$  % vs. KZ  $3,15 \pm 2,47$  %).

Z dalších parametrů (viz. tab. 1) byl u žen významně vyšší obsah tělesného tuku a leptin, ženy měly vyšší hodnotu HDL cholesterolu, GH, poměr GH/IGF-I a IGF-BP1. Naopak byla u žen potvrzena nižší hodnota BMI a WHR, nižší byla koncentrace urey a kreatininu, prealbuminu, glukózy a IGFBP-6.

Koncentrace celkového ghrelinu v celé kontrolní skupině negativně korelovaly s BMI, WHR, HOMA indexem, inzulínem, triacylglyceroly a IGFBP-3. Naopak pozitivní korelace byla nalezena mezi celkovým ghrelinem a QUICKI indexem, albuminem, HDL cholesterolem a IGFBP-1. V případě aktivního ghrelinu byl nalezen pouze vztah s IGFBP-1 a 3 (viz. tab.2).

V kontrolní skupině mužů byla nalezena pozitivní korelace mezi celkovým ghrelinem a QUICKI indexem, HDL cholesterolem, IGF BP-1 a 2 a aktivním ghrelinem, negativní vztah lineární závislosti byl prokázán mezi celkovým ghrelinem a BMI a hemoglobinem (viz. tab. 3).

U žen nebyl prokázán žádný vztah celkového ghrelinu k parametrům tělesného složení. Pozitivní korelační koeficient se statistickou významností byl vypočítán mezi celkovým ghrelinem a prealbuminem, albuminem, celkovou bílkovinou a IGF BP-3, negativní lineární závislost pak mezi celkovým ghrelinem a triacylglyceroly, hraničně statisticky významný byl korelační koeficient mezi ghrelinem a inzulínem. Aktivní ghrelin koreloval ve skupině žen pozitivně a statisticky významně s WHR (viz. tab. 4).

Změny plazmatických koncentrací celkového a aktivního ghrelinu v souvislosti s věkem nebyly potvrzeny.

Hladina leptinu byla statisticky významně vyšší ve skupině štíhlých žen v porovnání s muži a významně statisticky pozitivně korelovala s procentem tělesného tuku ( $r = 0,45$ ,  $p < 0,0001$ ) a BMI ( $r = 0,40$ ,  $p < 0,05$ ). Mezi leptinem a celkovým a aktivním ghrelinem nebyl nalezen žádný vztah.

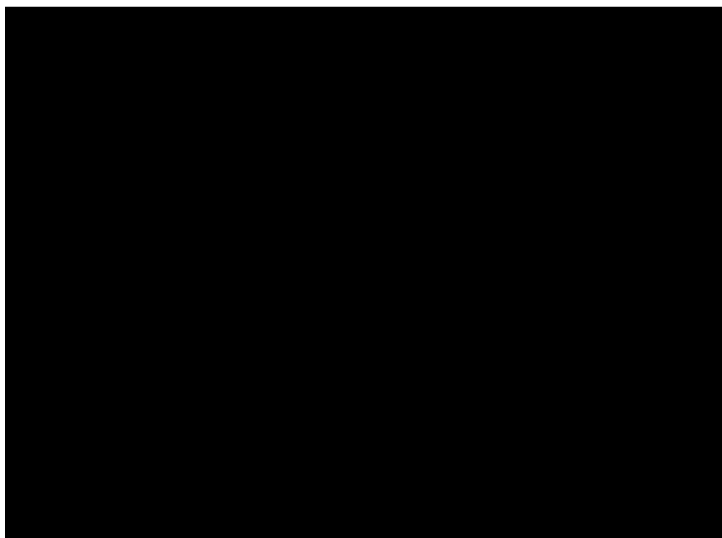
**Tabulka 1**

	<b>Kontroly celkem</b>	<b>Kontroly muži</b>	<b>Kontroly ženy</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,21 ± 2,27	23,16 ± 2,18	21,58 ± 2,12**
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	18,87 ± 7,77	13,46 ± 6,46	22,27 ± 6,53****
<b>WHR</b>	0,78 ± 0,08	0,84 ± 0,07	0,73 ± 0,05****
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	250,1 ± 109,8	193,6 ± 79,0	290,1 ± 11,0****
<b>Aktivní ghrelin (ng/l)</b>	6,4 ± 6,0	4,8 ± 2,7	7,7 ± 7,7
<b>Aktivní ghrelin (%)</b>	2,88 ± 2,06	2,54 ± 1,29	3,15 ± 2,47
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	17,02 ± 7,4	17,68 ± 7,94	16,55 ± 7,08
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	4,93 ± 0,55	5,15 ± 0,46	4,77 ± 0,56**
<b>HOMA index</b>	0,53 ± 0,05	0,52 ± 0,05	0,54 ± 0,05
<b>QUICKI</b>	0,21 ± 0,11	0,23 ± 0,11	0,20 ± 0,11
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,26 ± 0,06	0,28 ± 0,07	0,25 ± 0,05*
<b>Albumin (g/l)</b>	43,83 ± 3,3	44,4 ± 3,15	43,45 ± 3,68
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	73,77±3,61	74,4 ± 3,97	73,37 ± 3,35
<b>Transferin (g/l)</b>	2,65 ± 0,34	2,55 ± 0,33	2,73 ± 0,35
<b>CRP (mg/l)</b>	2,86 ± 2,54	2,55 ± 1,78	3,09 ± 3,0
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	4,93±0,92	4,90 ± 0,95	4,96 ± 0,91
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,53±0,35	1,33 ± 0,25	1,67 ± 0,33****
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,97±0,75	2,86 ± 0,74	2,88 ± 0,78
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,11±0,59	1,25 ± 0,64	1,02 ± 0,54
<b>GH (mIU/l)</b>	7,34±9,84	1,50 ± 2,14	11,37 ± 11,02****
<b>IGF-I (μg/l)</b>	193,82±78,23	204,44 ± 93,84	187,3 ± 67,25
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,04±0,05	0,01± 0,02	0,06 ± 0,06****
<b>Volný IGF-I (μg/l)</b>	0,74±0,33	0,77 ± 0,36	0,72 ± 0,31
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	38,39±22,99	31,11 ± 21,76	43,36 ± 22,72*
<b>IGFBP-2 (mg/l)</b>	0,63±0,45	0,61 ± 0,36	0,65 ± 0,51
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	4,04±1,01	3,97 ± 0,90	4,15 ± 1,08
<b>IGFBP-6 (mg/l)</b>	0,34±0,13	0,39 ± 0,17	0,3 ± 0,74*
<b>Leptin (ng/ml)</b>	9,24±7,82	4,24 ± 3,41	12,65 ± 8,17****
<b>SLR (ng/ml)</b>	22,4±8,62	24,9 ± 10,71	20,69 ± 6,44
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	135,78 ± 1,48	142,76 ±10,6	130,7 ± 7,7
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,84 ±11,05	1,79 ± 0,66	1,9 ± 0,6

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry v kontrolní skupině normostenických osob. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, KSC – kontrolní skupina, KS-M – kontrolní skupina mužů, KS-Z – kontrolní skupina žen, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001 KS-M vs. KS-Z.*

## Graf 1

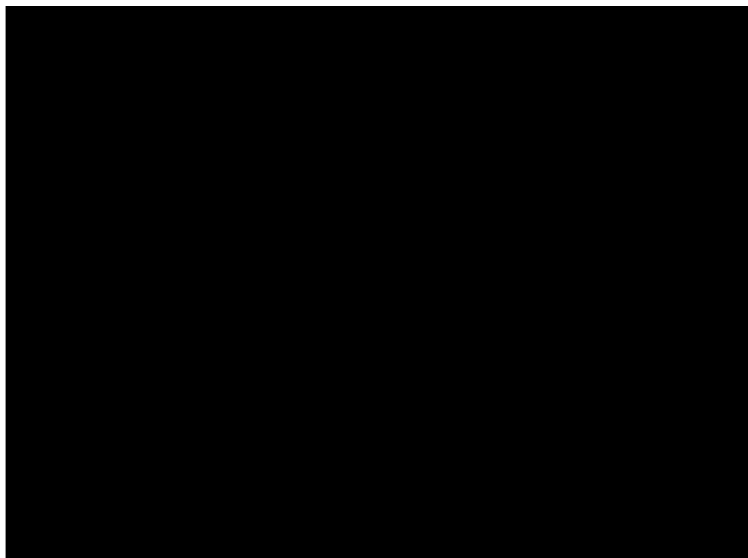
ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu ve skupině normostenických mužů a žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky. KC - kontroly celkem, KM - kontroly muži, KZ – kontroly ženy.*

## Graf 2

ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací aktivního ghrelinu ve skupině normostenických mužů a žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky. KC - kontroly celkem, KM - kontroly muži, KZ – kontroly ženy.*

**Tabulka 2**

<b>Kontroly celkem</b>	<b>Celkový ghrelin</b>	<b>Aktivní ghrelin</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	r= - 0,38, p< 0,001	NS
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	NS	NS
<b>WHR</b>	r= -0,27, p< 0,05	NS
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>		NS
<b>Aktivní ghrelin (ng/l)</b>	NS	
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	r= -0,34, p< 0,01	NS
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	NS	NS
<b>HOMA index</b>	r= -0,36, p< 0,01	NS
<b>QUICKI</b>	r= 0,41, p< 0,01	NS
<b>Prealbumin (g/l)</b>	NS	NS
<b>Albumin (g/l)</b>	r= 0,35, p< 0,01	NS
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	NS	NS
<b>Transferin (g/l)</b>	NS	NS
<b>CRP (mg/l)</b>	NS	NS
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	NS	NS
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	r= 0,39, p< 0,01	NS
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	NS	NS
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	r= -0,36, p< 0,01	NS
<b>GH (mIU/l)</b>	NS	NS
<b>IGF-I (μg/l)</b>	NS	NS
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	NS	NS
<b>Volný IGF-I (μg/l)</b>	NS	NS
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	r= 0,30, p< 0,05	r= 0,51, p< 0,01
<b>IGFBP-2 (mg/l)</b>	NS	NS
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	r= -0,34 p< 0,01	r= 0,51, p< 0,01
<b>IGFBP-6 (mg/l)</b>	NS	NS
<b>Leptin (ng/ml)</b>	NS	NS
<b>SLR (ng/ml)</b>	NS	NS
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	r= -0,47 p< 0,001	r= -0,43 p< 0,05
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	NS	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi celkového a aktivního ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry v kontrolní skupině. NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

**Tabulka 3**

<b>Kontroly muži</b>	<b>celkový ghrelin</b>	<b>aktivní ghrelin</b>
Věk (roky)	NS	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	r= -0,65, p< 0,001	NS
Obsah tělesného tuku (%)	NS	NS
WHR	NS	NS
Celkový ghrelin (ng/l)		r= 0,52, p< 0,01
Aktivní ghrelin (ng/l)	r= 0,52, p< 0,05	
Inzulín (μIU/ml)	r=- 0,52, p< 0,05	NS
Glukóza (mmol/l)	NS	NS
HOMA index	NS	NS
QUICKI	r= 0,42, p< 0,05	NS
Prealbumin (g/l)	NS	NS
Albumin (g/l)	NS	NS
Celková bílkovina (g/l)	NS	NS
Transferin (g/l)	NS	NS
CRP (mg/l)	NS	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	NS	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	r= 0,56, p< 0,01	NS
LDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	NS	NS
GH (mIU/l)	NS	NS
IGF-I (μg/l)	NS	r= 0,78, p< 0,001
GH/IGF-I (mIU/μg)	NS	NS
Volný IGF-I (μg/l)	NS	NS
IGFBP-1 (μg/l)	r= 0,42, p< 0,05	NS
IGFBP-2 (mg/l)	r= 0,76, p< 0,0001	NS
IGFBP-3 (mg/l)	NS	NS
IGFBP-6 (mg/l)	NS	NS
Leptin (ng/ml)	NS	NS
SLR (ng/ml)	NS	NS
Hemoglobin (g/l)	r= -0,49, p< 0,01	NS
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	NS	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi celkového a aktivního ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry v kontrolní skupině normostenických mužů. NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

**Tabulka 4**

<b>Kontroly ženy</b>	<b>celkový ghrelin</b>	<b>aktivní ghrelin</b>
Věk (roky)	NS	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	NS	NS
Obsah tělesného tuku (%)	NS	NS
WHR	NS	r= 0,63, p< 0,01
Celkový ghrelin (ng/l)		NS
Aktivní ghrelin (ng/l)	NS	
Inzulín (μIU/ml)	NS	NS
Glukóza (mmol/l)	NS	NS
HOMA index	NS	NS
QUICKI	r= 0,31, p< 0,05	NS
Prealbumin (g/l)	r= 0,37, p< 0,05	NS
Albumin (g/l)	r= 0,53, p< 0,001	NS
Celková bílkovina (g/l)	r= 0,32, p< 0,05	r= -0,46, p< 0,05
Transferin (g/l)	NS	NS
CRP (mg/l)	NS	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	NS	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS
LDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	r= -0,38, p< 0,05	NS
GH (mIU/l)	NS	NS
IGF-I (μg/l)	NS	NS
GH/IGF-I (mIU/μg)	NS	NS
Volný IGF-I (μg/l)	NS	NS
IGFBP-1 (μg/l)	NS	NS
IGFBP-2 (mg/l)	NS	NS
IGFBP-3 (mg/l)	r= -0,51, p< 0,01	NS
IGFBP-6 (mg/l)	NS	NS
Leptin (ng/ml)	NS	NS
SLR (ng/ml)	NS	NS
Hemoglobin (g/l)	NS	r= -0,62, p< 0,01
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	NS	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi celkového a aktivního ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry v kontrolní skupině normostenických žen. NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*



## 5.2. Ghrelin a obezita

Do studie bylo zařazeno 41 pacientů s nadváhou a obezitou, 13 mužů a 28 žen. Rozhodujícím kritériem zařazení do skupiny bylo BMI nad 25.

Plazmatická koncentrace celkového ghrelinu byla v celé skupině obézních  $170,2 \pm 79,3$  ng/l a byla statisticky významně nižší než v kontrolní skupině ( $250,1 \pm 109,8$ ,  $p < 0,0001$ ). Aktivního ghrelinu bylo naměřeno  $6,1 \pm 3,9$  ng/l, tedy hladina srovnatelná s kontrolní skupinou ( $6,4 \pm 6,0$  ng/l). Vyjádřeno procentuálně představovala hladina aktivního ghrelinu u obézních  $4,65 \pm 3,88$  % z ghrelinu celkového, zatímco u kontrol to bylo pouze  $2,88 \pm 2,06$  % ( $p < 0,05$ ) (viz. tab. 5).

Vzhledem k tomu, že jsme v první části naší práce prokázali statisticky významný vliv pohlaví na hladiny celkového ghrelinu, byla skupina obézních rozdělena na muže a ženy a porovnání s kontrolní skupinou bylo provedeno v každé skupině zvlášť (viz. tab.6 a 7, graf 3). Ačkoliv hodnota celkového ghrelinu byla v celé skupině obézních statisticky významně snižena, tak po rozdělení podle pohlaví bylo zjištěno, že se koncentrace celkového ghrelinu u obézních mužů neliší od mužů štíhlých (OM  $166,4 \pm 84,1$  ng/l vs. KM  $193,3 \pm 79$  ng/l). Statisticky významný rozdíl byl zachován pouze u žen (OZ  $171,7 \pm 77,2$  ng/l vs. KZ  $290,1 \pm 11$  ng/l;  $p < 0,001$ ). V případě absolutní hodnoty aktivního ghrelinu nebyl zjištěn rozdíl mezi štíhlými a obézními ani po adjustaci na pohlaví (viz. tab. 6 a 7, graf 4) Po přepočtu na procenta je patrné, že u obézních je relativní hodnota aktivního ghrelinu zvýšená, ale statistické významnosti bylo dosaženo pouze v celé skupině obézních a u mužů (OC  $4,65 \pm 3,88$  % vs. KS  $2,88 \pm 2,06$  %,  $p < 0,05$ ; OM  $4,65 \pm 3,88$  % vs. KM  $2,54 \pm 1,29$  %,  $p < 0,05$ ). Ve skupině obézních žen je procentuální zastoupení aktivního ghrelinu rovněž vyšší, ale tato hodnota nedosahuje statistické významnosti ( OZ  $5,22 \pm 4,91$ % vs. KZ  $3,15 \pm 2,47$  %).

Na rozdíl od kontrolní skupiny jsme ve skupině obézních nezaznamenali rozdíl plazmatických hladin celkového ghrelinu daný pohlavím (OM  $166,4 \pm 84,1$  ng/l vs. OZ  $171,7 \pm 77,2$  ng/l)(viz. tab. 8 a graf 3).

Statisticky významný rozdíl byl mezi muži a ženami zachycen v parametrech tělesného složení. Z dalších sledovaných hodnot byla v obou skupinách obézních mužů a žen zjištěna vyšší hladina inzulínu a inzulínová rezistence vyjádřená HOMA indexem se sníženou inzulínovou senzitivitou vyjádřenou QUICKI indexem. Hladina leptinu byla ve skupině obézních výrazně zvýšená v porovnání se štíhlými subjekty, a to jak ve skupině mužů, tak ve skupině obézních žen. Leptin byl výrazně vyšší u vyšetřovaných obézních žen než u mužů. Zatímco hladina GH a poměr GH/IGF-I byly ve skupině obézních žen statisticky významně sniženy, nebyla tato diference nalezena u mužů (viz. tab.5, 6, 7, 8).

Ve skupině obézních mužů i žen byla nalezena negativní asociace mezi ghrelinem a inzulínem a mezi celkovým ghrelinem a HOMA indexem. Na rozdíl od kontrolní skupiny nebyla u obézních nalezena korelace mezi ghrelinem a BMI, ale v celé skupině a u mužů celkový ghrelin negativně koreloval s WHR. Negativní korelační koeficient byl také nalezen mezi celkovým ghrelinem a IGF-I (viz. tab. 9 ). V případě aktivního ghrelinu byla nalezena pozitivní lineární závislost na IGF BP-3 (viz. tab. 10). Silná pozitivní korelace byla zjištěna také mezi leptinem a BMI ( $r = 0,79$ ,  $p < 0,001$ ) a leptinem a procentem tělesného tuku ( $r = 0,80$ ,  $p < 0,001$ ).

**Tabulka 5**

	<b>Kontroly</b>	<b>Obézní</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,21 ± 2,27	36,45 ± 7,95****
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	18,87 ± 7,77	33,13 ± 10,75****
<b>WHR</b>	0,78 ± 0,08	0,92 ± 1,11****
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	250,1 ± 109,8	170,2 ± 79,3****
<b>Aktivní ghrelin (ng/l)</b>	6,4 ± 6,0	6,1 ± 3,9
<b>Aktivní ghrelin (%)</b>	2,88 ± 2,06	4,65 ± 3,88*
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	17,02 ± 7,4	31,78 ± 12,3****
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	4,93 ± 0,55	5,63 ± 1,03
<b>HOMA index</b>	0,21 ± 0,11	0,45 ± 0,21****
<b>QUICKI</b>	0,53 ± 0,05	0,46 ± 0,05****
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,26 ± 0,06	0,25 ± 0,04
<b>Albumin (g/l)</b>	43,83 ± 3,3	43,16 ± 4,16
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	73,77 ± 3,61	72,74 ± 3,8
<b>CRP (mg/l)</b>	2,86 ± 2,54	5,15 ± 6,04 *
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	4,93 ± 0,92	5,38 ± 1,03 *
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,53 ± 0,35	1,52 ± 0,62
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,97 ± 0,75	2,96 ± 1,03
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,11 ± 0,59	1,79 ± 0,90****
<b>GH (mIU/l)</b>	7,34 ± 9,84	1,21 ± 1,22***
<b>IGF-I (μg/l)</b>	193,82 ± 78,23	197,86 ± 90,37
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,04 ± 0,05	0,0074 ± 0,0083***
<b>Volný IGF-I (μg/l)</b>	0,74 ± 0,33	0,60 ± 0,36
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	38,39 ± 22,99	17,62 ± 12,09****
<b>IGFBP-2 (mg/l)</b>	0,63 ± 0,45	0,38 ± 0,23**
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	4,04 ± 1,01	4,52 ± 1,09*
<b>IGFBP-6 (mg/l)</b>	0,34 ± 0,13	0,31 ± 0,16
<b>Leptin (ng/ml)</b>	9,24 ± 7,82	31,27 ± 18,64****
<b>SLR (ng/ml)</b>	22,4 ± 8,62	14,20 ± 7,39 ****
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	135,78 ± 1,48	141,96 ± 12,33*
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,84 ± 11,05	2,02 ± 0,64

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině obézních a jejich porovnání s kontrolní skupinou. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, \* p < 0,05, \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001; \*\*\*\* p < 0,0001*

**Tabulka 6**

	<b>Kontroly muži</b>	<b>Obézní muži</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	23,16 ± 2,18	31,54 ± 5,21****
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	13,46 ± 6,46	22,08 ± 9,9**
<b>WHR</b>	0,84 ± 0,07	1,02 ± 0,07**
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	193,6 ± 79,0	166,4 ± 84,1
<b>Aktivní ghrelin (ng/l)</b>	4,8 ± 2,7	5,0 ± 3,1
<b>Aktivní ghrelin (%)</b>	2,54 ± 1,29	4,11 ± 2,33*
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	17,68 ± 7,94	29,5 ± 11,16****
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	5,15 ± 0,46	5,4 ± 0,52
<b>HOMA index</b>	0,52 ± 0,05	0,39 ± 0,14****
<b>QUICKI</b>	0,23 ± 0,11	0,47 ± 0,05**
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,28 ± 0,07	0,26 ± 0,05
<b>Albumin (g/l)</b>	44,4 ± 3,15	42,71 ± 3,22
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	74,4 ± 3,97	72,6 ± 3,57
<b>CRP (mg/l)</b>	2,55 ± 1,78	3,2 ± 3,6
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	4,90 ± 0,95	5,38 ± 0,83
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,33 ± 0,25	1,36 ± 0,34
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,86 ± 0,74	2,99 ± 0,91
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,25 ± 0,64	1,71 ± 0,86
<b>GH (mIU/l)</b>	1,50 ± 2,14	0,9 ± 0,98
<b>IGF-I (μg/l)</b>	204,44 ± 93,84	212 ± 93,53
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,01
<b>Volný IGF-I (μg/l)</b>	0,77 ± 0,36	0,61 ± 0,33
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	31,11 ± 21,76	19,73 ± 13,09
<b>IGFBP-2 (mg/l)</b>	0,61 ± 0,36	0,39 ± 0,26
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	3,97 ± 0,90	3,89 ± 0,81
<b>IGFBP-6 (mg/l)</b>	0,39 ± 0,17	0,37 ± 0,15
<b>Leptin (ng/ml)</b>	4,24 ± 3,41	13,83 ± 8,9*
<b>SLR (ng/ml)</b>	24,9 ± 10,71	18,68 ± 6,57
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	142,8 ± 10,8	151,45 ± 6,58*
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,7 ± 0,67	1,83 ± 0,55

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině obézních mužů a jejich porovnání s kontrolní skupinou mužů. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001*

**Tabulka 7**

	<b>Kontroly ženy</b>	<b>Obézní ženy</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	21,58 ± 2,12	38,73 ± 7,97****
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	22,27 ± 6,53	38,27 ± 6,36****
<b>WHR</b>	0,73 ± 0,05	0,86 ± 0,08****
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	290,1 ± 11,0	171,7 ± 077,2***
<b>Aktivní ghrelin (ng/l)</b>	7,7 ± 7,7	7,2 ± 4,9
<b>Aktivní ghrelin (%)</b>	3,15 ± 2,47	5,22 ± 4,91
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	16,55 ± 7,08	32,86 ± 12,9****
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	4,77 ± 0,56	5,75 ± 1,19****
<b>HOMA index</b>	0,20 ± 0,11	0,48 ± 0,23****
<b>QUICKI</b>	0,54 ± 0,05	0,45 ± 0,05****
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,25 ± 0,05	0,25 ± 0,03
<b>Albumin (g/l)</b>	43,45 ± 3,68	43,41 ± 4,58
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	73,37 ± 3,35	72,81 ± 3,91
<b>CRP (mg/l)</b>	3,09 ± 3,0	6,41 ± 6,9
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	4,96 ± 0,91	5,38 ± 1,11
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,67 ± 0,33	1,6 ± 0,71
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,88 ± 0,78	2,95 ± 1,08
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,02 ± 0,54	1,82 ± 0,91*
<b>GH (mIU/l)</b>	11,37 ± 11,02	1,35 ± 1,29****
<b>IGF-I (μg/l)</b>	187,3 ± 67,25	190,79 ± 87,9
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,06 ± 0,06	0,01 ± 0,01**
<b>Volný IGF-I (μg/l)</b>	0,72 ± 0,31	0,6 ± 0,37
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	43,36 ± 22,72	16,29 ± 11,21***
<b>IGFBP-2 (mg/l)</b>	0,65 ± 0,51	0,38 ± 0,2
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	4,15 ± 1,08	4,9 ± 1,07
<b>IGFBP-6 (mg/l)</b>	0,3 ± 0,74	0,27 ± 0,15
<b>Leptin (ng/ml)</b>	12,65 ± 8,17	39,99 ± 15,93****
<b>SLR (ng/ml)</b>	20,69 ± 6,44	11,87 ± 6,69**
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	130,2 ± 7,7	134,5 ± 10,53
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,88 ± 0,59	2,16 ± 0,66

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině obézních žen a jejich porovnání s kontrolní skupinou žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001*

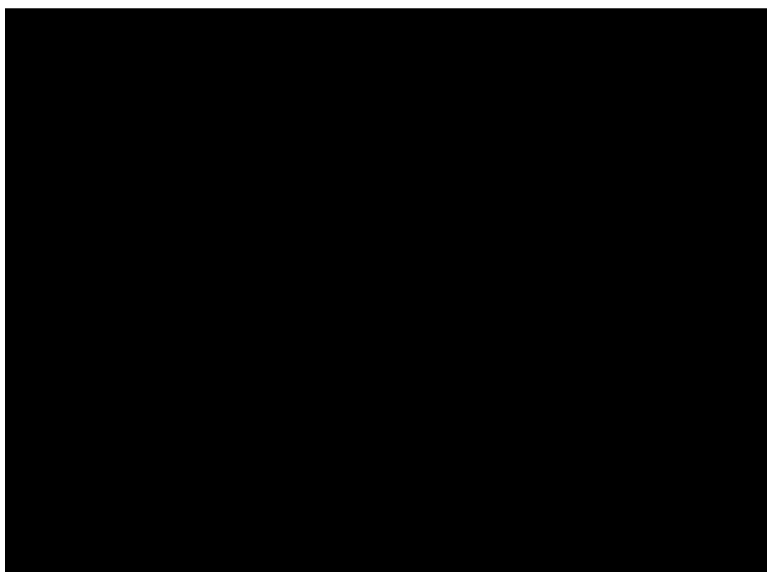
**Tabulka 8**

	<b>Obézní muži</b>	<b>Obézní ženy</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	31,54 ± 5,21	38,73 ± 7,97****
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	22,08 ± 9,9	38,27 ± 6,36****
<b>WHR</b>	1,02 ± 0,07	0,86 ± 0,08****
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	166,4 ± 84,1	171,7 ± 77,2
<b>Aktivní ghrelin (ng/l)</b>	5,0 ± 3,1	7,2 ± 4,9
<b>Aktivní ghrelin (%)</b>	4,11 ± 2,33	5,22 ± 4,91
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	29,52 ± 11,16	32,86 ± 12,9
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	5,4 ± 0,52	5,75 ± 1,19
<b>HOMA index</b>	0,39 ± 0,14	0,48 ± 0,23
<b>QUICKI</b>	0,47 ± 0,05	0,45 ± 0,05
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,26 ± 0,05	0,25 ± 0,03
<b>Albumin (g/l)</b>	42,71 ± 3,22	43,41 ± 4,58
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	72,6 ± 3,57	72,81 ± 3,91
<b>CRP (mg/l)</b>	3,2 ± 3,6	6,41 ± 6,9
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	5,38 ± 0,83	5,38 ± 1,11
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,36 ± 0,34	1,6 ± 0,71
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,99 ± 0,91	2,95 ± 1,08
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,71 ± 0,86	1,82 ± 0,91
<b>GH (mIU/l)</b>	0,9 ± 0,98	1,35 ± 1,29
<b>IGF-I (μg/l)</b>	212 ± 93,53	190,79 ± 87,9
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
<b>Volný IGF-I (μg/l)</b>	0,61 ± 0,33	0,6 ± 0,37
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	19,73 ± 13,09	16,29 ± 11,21
<b>IGFBP-2 (mg/l)</b>	0,39 ± 0,26	0,38 ± 0,2
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	3,89 ± 0,81	4,9 ± 1,07
<b>IGFBP-6 (mg/l)</b>	0,37 ± 0,15	0,27 ± 0,15
<b>Leptin (ng/ml)</b>	13,83 ± 8,9	39,99 ± 15,93****
<b>SLR (ng/ml)</b>	18,68 ± 6,57	11,87 ± 6,69
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	151,45 ± 6,58	134,5 ± 10,53***
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,83 ± 0,55	2,16 ± 0,66

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry a jejich porovnání mezi skupinou obézních mužů a žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001*

### Graf 3

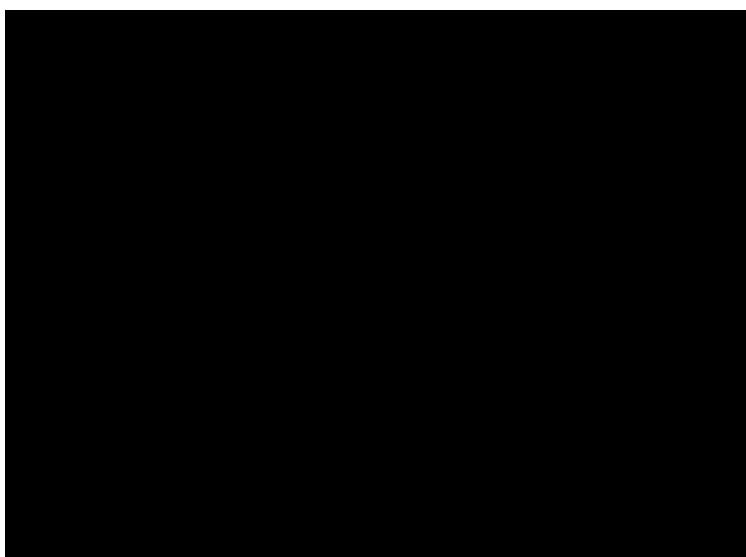
ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu ve skupině štíhlých osob a u obézních. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky. KC - kontroly celkem, OBC - obézní celkem, KM - kontroly muži, OBM – obézní muži, KZ – kontroly ženy, OBZ – obézní ženy*

### Graf 4

ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací aktivního ghrelinu ve skupině štíhlých osob a u obézních. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky. KC - kontroly celkem, OBC - obézní celkem, KM - kontroly muži, OBM – obézní muži, KZ – kontroly ženy, OBZ – obézní ženy*

**Tabulka 9**

<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	<b>Obézní</b>	<b>Obézní muži</b>	<b>Obézní ženy</b>
Věk (roky)	NS	NS	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	NS	NS	NS
Obsah tělesného tuku (%)	NS	r= 0,67, p< 0,05	NS
WHR	r= -0,37, p< 0,05	r= -0,66, p< 0,05	NS
Celkový ghrelin (ng/l)			
Aktivní ghrelin (ng/l)	NS	NS	NS
Inzulín (μIU/ml)	r= -0,54, p< 0,001	r= - 0,63, p< 0,05	r= - 0,52, p< 0,01
Glukóza (mmol/l)	NS	NS	NS
HOMA index	r= -0,44, p< 0,01	r= - 0,65, p< 0,05	r= - 0,39, p< 0,05
QUICKI	NS	r= 0,85, p< 0,001	r= 0,46, p< 0,05
Prealbumin (g/l)	NS	NS	NS
Albumin (g/l)	NS	NS	NS
Celková bílkovina (g/l)	NS	NS	NS
Transferin (g/l)	NS	NS	NS
CRP (mg/l)	NS	r= 0,78, p< 0,01	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	NS	NS	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS	NS
LDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	NS	NS	NS
GH (mIU/l)	NS	NS	NS
IGF-I (μg/l)	r= -0,32, p< 0,05	NS	r= - 0,42, p< 0,05
GH/IGF-I (mIU/μg)	NS	NS	NS
Volný IGF-I (μg/l)	NS	NS	r= 0,40, p< 0,05
IGFBP-1 (μg/l)	NS	NS	NS
IGFBP-2 (mg/l)	NS	NS	NS
IGFBP-3 (mg/l)	NS	NS	NS
IGFBP-6 (mg/l)	NS	NS	NS
Leptin (ng/ml)	NS	NS	NS
SLR (ng/ml)	NS	NS	NS
Hemoglobin (g/l)	NS	NS	NS
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	NS	NS	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi celkového ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry ve skupině obézních. NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

**Tabulka 10**

Aktivní ghrelin (ng/l)	Obézní	Obézní muži	Obézní ženy
Věk (roky)	NS	NS	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	NS	NS	NS
Obsah tělesného tuku (%)	NS	NS	NS
WHR	NS	NS	NS
Celkový ghrelin (ng/l)	NS	NS	NS
Aktivní ghrelin (ng/l)			
Inzulín (μIU/ml)	NS	NS	NS
Glukóza (mmol/l)	NS	NS	NS
HOMA index	NS	NS	NS
QUICKI	NS	NS	NS
Prealbumin (g/l)	NS	NS	NS
Albumin (g/l)	NS	NS	NS
Celková bílkovina (g/l)	NS	NS	NS
Transferin (g/l)	NS	NS	NS
CRP (mg/l)	NS	NS	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	NS	NS	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS	NS
LDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	NS	NS	NS
GH (mIU/l)	NS	NS	NS
IGF-I (μg/l)	NS	NS	r= 0,79, p< 0,01
GH/IGF-I (mIU/μg)	NS	NS	NS
Volný IGF-I (μg/l)	NS	NS	NS
IGFBP-1 (μg/l)	NS	NS	NS
IGFBP-2 (mg/l)	NS	NS	NS
IGFBP-3 (mg/l)	r= 0,54, p< 0,01	NS	r= 0,64, p< 0,05
IGFBP-6 (mg/l)	NS	NS	NS
Leptin (ng/ml)	NS	NS	NS
SLR (ng/ml)	NS	NS	NS
Hemoglobin (g/l)	NS	r= -0,71, p< 0,05	NS
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	NS	NS	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi aktivního ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry ve skupině obézních. NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*



### **5.2.1. Změny plazmatických koncentrací ghrelinu během sedmidenní redukční hladovky**

Ve druhé části studie jsme sledovali změny plazmatických hladin celkového ghrelinu u 9 obézních žen po sedmidenním hladovění v rámci terapeutické redukce hmotnosti hladovkou. Koncentrace celkového ghrelinu byla před začátkem hladovění významně nižší ve srovnání se skupinou kontrolních žen (OZ  $204,1 \pm 115,6$  ng/l vs.  $290,1 \pm 11,0$  ng/l,  $p < 0,05$ ).

Statisticky významně zvýšené byly ve skupině obézních žen koncentrace inzulínu a glukózy včetně inzulínové rezistence vyjádřené indexem HOMA. Vyšší hladina byla zachycena v případě CRP, triacylglycerolu, IGFBP-3 a leptinu. Naopak nižší hladiny ve srovnání s kontrolní skupinou jsme zachytili v případě GH, poměru GH/IGF-I, IGFBP-1 a 2, solubilního leptinového receptoru a HDL cholesterolu.

Po sedmi dnech hladovění došlo ke statisticky významnému zvýšení ghrelinu ( $204,1 \pm 115,6$  vs.  $480,9 \pm 267,0$ ,  $p < 0,01$ ). Z dalších sledovaných parametrů byl zachycen vzestup GH, poměru GH/IGF-I, IGFBP-1 a hladiny solubilního leptinového receptoru. Naopak poklesla hladina inzulínu, zvýšila se inzulínová senzitivita vyjádřená QUICKI indexem a zlepšila se inzulínová rezistence. Snížila se hladina HDL cholesterolu, leptinu a sestupnou tendenci měly také dva z vazebných proteinů IGF-I - IGFBP-3 a 6 (viz. tab. 11 a graf 5).

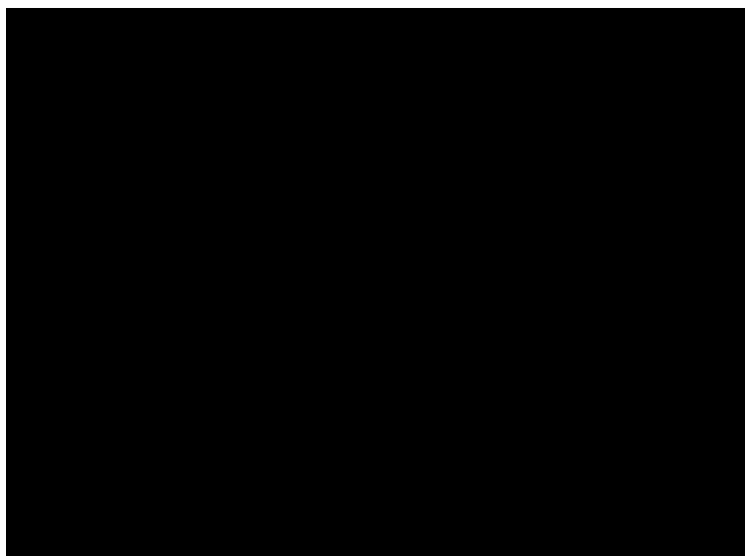
**Tabulka 11**

	Kontroly ženy	Obézní	
		Před hladovkou	Po hladovce
Věk (roky)	41,62 ± 14,68	43,4 ± 10,82	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21,58 ± 2,12	43,63 ± 6,39****	40,7 ± 6,2++++
Obsah tělesného tuku (%)	22,27 ± 6,53	42,49 ± 6,07****	41,72 ± 5,84
WHR	0,73 ± 0,05	0,91 ± 0,12****	
Celkový ghrelin (ng/l)	290,1 ± 11,0	204,1 ± 115,6*	480,9 ± 267,0++
Inzulín (μIU/ml)	16,55 ± 7,08	39,66 ± 14,2****	24,6 ± 9,02++
Glukóza (mmol/l)	4,77 ± 0,56	6,27 ± 1,06****	5,66 ± 1,23++
HOMA index	0,54 ± 0,05	0,62 ± 0,27****	0,33 ± 0,22+
QUICKI	0,20 ± 0,11	0,43 ± 0,04****	0,48 ± 0,06+++
Prealbumin (g/l)	0,25 ± 0,05	0,25 ± 0,04	0,2 ± 0,04
Albumin (g/l)	43,45 ± 3,68	41,96 ± 2,99	42,18 ± 3,01
Celková bílkovina (g/l)	73,37 ± 3,35	74,21 ± 4,64	73,77 ± 5,88
CRP (mg/l)	3,09 ± 3,0	11,44 ± 8,03***	10,36 ± 6,11
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,96 ± 0,91	5,31 ± 1,13	5,27 ± 1,07
HDL cholesterol (mmol/l)	1,67 ± 0,33	1,11 ± 0,19***	0,97 ± 0,15+
LDL cholesterol (mmol/l)	2,88 ± 0,78	3,25 ± 0,81	3,45 ± 0,98
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,02 ± 0,54	2,11 ± 1,11***	1,65 ± 0,63
GH (mIU/l)	11,37 ± 11,02	0,72 ± 0,41**	1,4 ± 0,84+
IGF-I (μg/l)	187,3 ± 67,25	177,44 ± 69,04	122,7 ± 55,49
GH/IGF-I (mIU/μg)	0,06 ± 0,06	0,004 ± 0,002 **	0,014 ± 0,01+
Volný IGF-I (μg/l)	0,72 ± 0,31	0,79 ± 0,44	2,79 ± 2,32
IGFBP-1 (μg/l)	43,36 ± 22,72	10,67 ± 7,8****	18,69 ± 7,99++
IGFBP-2 (mg/l)	0,65 ± 0,51	0,32 ± 0,1*	0,45 ± 0,15
IGFBP-3 (mg/l)	4,15 ± 1,08	5,36 ± 0,88**	4,54 ± 1,07+
IGFBP-6 (mg/l)	0,3 ± 0,74	0,25 ± 0,06	0,23 ± 0,06
Leptin (ng/ml)	12,65 ± 8,17	47,51 ± 14,78****	35,12 ± 11,77++
SLR (ng/ml)	20,69 ± 6,44	8,5 ± 4,78****	12,19 ± 5,18++
Hemoglobin (g/l)	130,1 ± 7,7	133,33 ± 16,53	135,34 ± 14,5
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	1,9 ± 0,6	1,8 ± 0,7	1,9 ± 0,6

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry u obézních žen a jejich porovnání před redukční hladovkou, po redukční hladovce a s kontrolní skupinou štíhlých žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, obézní vs. kontroly ženy \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ , obézní před redukcí vs. obézní po redukcí + $p < 0,05$ , ++ $p < 0,01$ ; +++ $p < 0,001$ ; ++++ $p < 0,0001$ .*

## Graf 5

ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu ve skupině obézních žen před a po redukční hladovce. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky.*

### 5.3. Ghrelin a mentální anorexie

V této části studie bylo vyšetřeno 19 pacientek s purgativním typem mentální anorexie. Při porovnání laboratorních parametrů jsme u pacientek s mentální anorexií zjistili statisticky významně zvýšené plazmatické koncentrace celkového ghrelinu ( $290,1 \pm 11,0$  vs.  $431,3 \pm 163,8$  ng/l;  $p < 0,0001$ ), dále CRP, solubilního leptinového receptoru a LDL cholesterolu ve srovnání s kontrolní skupinou normostenických žen. Hladina GH nebyla u žen s AN statisticky významně zvýšená. Zachyceno bylo snížení IGF-I, inzulínu a glukózy současně se zvýšením inzulínové senzitivity, nižší byla hladina leptinu a IGF BP-3 (viz. tab.12 a graf 6).

Při testování závislostí jednotlivých zkoumaných parametrů s celkovým ghrelinem byl nalezen statisticky významný negativní korelační koeficient mezi ghrelinem a inzulínem, a mezi ghrelinem a HOMA indexem. Pozitivně koreloval celkový ghrelin s albuminem a prealbuminem. Velmi významný vztah pozitivní lineární závislosti byl prokázán mezi ghrelinem a HDL cholesterolem. Mezi ostatními sledovanými parametry a ghrelinem žádný vztah lineární ani jiné závislosti nalezen nebyl (viz. tab.13 ). Byla prokázána inverzní korelace leptinu s hladinou solubilního leptinového receptoru ( $r = -0,68$ ;  $p < 0,01$ ) a pozitivní lineární vztah leptinu s BMI ( $r = 0,46$ ;  $p < 0,05$ ), s procentem tělesného tuku ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,001$ ) a s IGF BP-3 ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,01$ ).

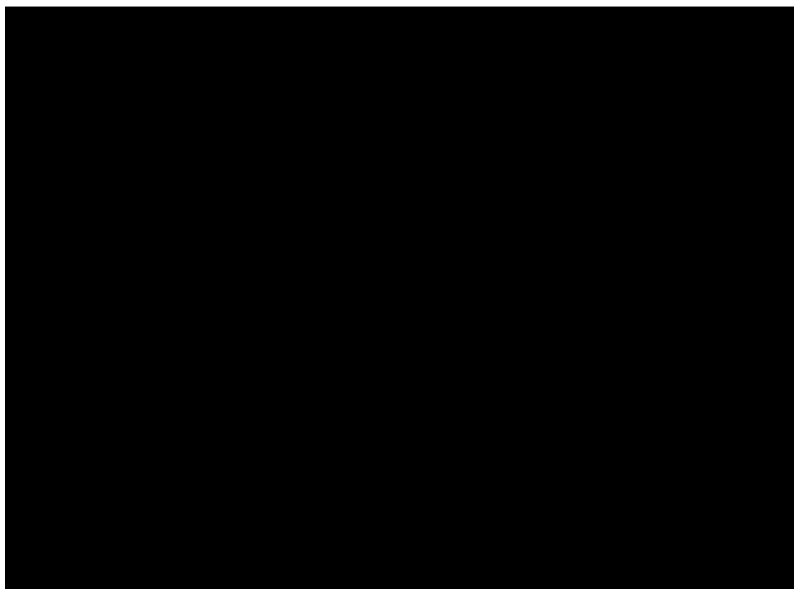
**Tabulka 12**

	<b>Kontroly ženy</b>	<b>Anorexia nervosa</b>
<b>Věk (roky)</b>	41,62 ± 14,68	25,9 ± 5,37**
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	21,58 ± 2,12	15,07 ± 2,42****
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	22,27 ± 6,53	16,44 ± 5,29*
<b>WHR</b>	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,04
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	290,1 ± 11,0	431,3 ± 163,8****
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	16,55 ± 7,08	7,31 ± 1,74****
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	4,77 ± 0,56	3,94 ± 0,77****
<b>HOMA index</b>	0,20 ± 0,11	0,07 ± 0,22****
<b>QUICKI</b>	0,54 ± 0,05	0,69 ± 0,07****
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,25 ± 0,05	0,29 ± 0,07
<b>Albumin (g/l)</b>	43,45 ± 3,68	44,72 ± 2,87
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	73,37 ± 3,35	73,5 ± 3,96
<b>CRP (mg/l)</b>	3,09 ± 3,0	5,15 ± 4,34*
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	4,96 ± 0,91	5,6 ± 1,22
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,67 ± 0,33	1,85 ± 0,43
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,88 ± 0,78	3,54 ± 1,09**
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,02 ± 0,54	1,62 ± 1,48
<b>GH (mIU/l)</b>	11,37 ± 11,02	8,58 ± 7,32
<b>IGF-I (μg/l)</b>	187,3 ± 67,25	133,47 ± 76,26**
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,06 ± 0,06	0,085 ± 0,084
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	43,36 ± 22,72	43,39 ± 25,03
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	4,15 ± 1,08	2,63 ± 0,78****
<b>Leptin (ng/ml)</b>	12,65 ± 8,17	2,51 ± 2,96**
<b>SLR (ng/ml)</b>	20,69 ± 6,44	32,49 ± 12,9****
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	130,2 ± 7,7	115,3 ± 8,6**
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,88 ± 0,59	1,09 ± 0,45*

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině pacientek s anorexia nervosa a jejich porovnání s kontrolní skupinou žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .*

## Graf 6

ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu ve skupině pacientek s mentální anorexií s kontrolní skupinou normostenických žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky. KZ – kontrolní skupina ženy, AN – anorexia nervosa*

**Tabulka 13**

	<b>Mentální anorexie</b>
Věk (roky)	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	NS
Obsah tělesného tuku (%)	NS
WHR	NS
Inzulín (μIU/ml)	r= -0,69; p < 0,001
Glukóza (mmol/l)	NS
HOMA index	r= -0,63; p < 0,01
QUICKI	NS
Prealbumin (g/l)	r= 0,62; p < 0,01
Albumin (g/l)	r= 0,52; p < 0,05
Celková bílkovina (g/l)	NS
CRP (mg/l)	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	r= 0,81; p < 0,0001
LDL cholesterol (mmol/l)	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	NS
GH (mIU/l)	NS
IGF-I (μg/l)	NS
GH/IGF-I (mIU/μg)	NS
IGFBP-1 (μg/l)	NS
IGFBP-3 (mg/l)	NS
Leptin (ng/ml)	NS
SLR (ng/ml)	NS
Hemoglobin (g/l)	NS
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi celkového ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry ve skupině pacientek s anorexia nervosa., NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

#### **5.4. Ghrelin u nemocných se syndromem krátkého střeva a jeho změny po realimentaci**

Do studie bylo vybráno 14 žen se syndromem krátkého střeva (SBS) a byl sledován vliv intenzivní parenterální realimentace na plazmatické hladiny celkového ghrelinu.

Srovnání pacientek se SBS s kontrolní skupinou před zahájením realimentace ukázalo statisticky významně nižší plazmatickou hladinu celkového ghrelinu ( $290,1 \pm 11,0$  vs.  $233,2 \pm 108,1$  ng/l;  $p < 0,05$ ). Po parenterální realimentaci nebyla zachycena významnější změna koncentrace celkového ghrelinu ( $233,2 \pm 108,1$  vs.  $206,9 \pm 93,1$  ng/l)(viz. tab. 14 a graf 7). Mezi ghrelinem a ostatními sledovanými antropometrickými, biochemickými ani nutričními parametry nebyl zachycen žádný typ závislosti (viz. tab. 15 ).

Ze sledovaných nutričních parametrů byla zjištěna nízká hladina celkové bílkoviny, albuminu, transferinu, celkového cholesterolu včetně HDL i LDL, naopak vyšší byla hladina triacylglycerolu. Výrazně snížený byl hemoglobin, lymfocyty se v obou sledovaných skupinách významněji nelišily. Z těchto parametrů bylo po realimentaci zachyceno malé zvýšení pouze u celkové bílkoviny, u většiny ostatních parametrů došlo jen k nevýznamným změnám. Byla snižená hladina inzulínu a zvýšená glykémie.

Z parametrů osy GH/IGF-I jsme zachytili statisticky významné snížení jak GH, tak IGF-I a IGF BP-3. V případě IGF-I byla po realimentaci patrná tendence k vzestupu, ale bez statistické významnosti (viz. tab.14).

Sérová hladina leptinu byla u nemocných se syndromem krátkého střeva srovnatelná s kontrolní skupinou. Po realimentaci mírně nevýznamně poklesla. Mezi leptinem a ostatními sledovanými parametry nebyl nalezen žádný signifikantní vztah kromě pozitivní lineární závislosti mezi leptinem a prealbuminem ( $r = 0,55$ ,  $p < 0,05$ ). Hladina solubilního leptinového receptoru byla významně vyšší ve skupině pacientek se SBS a po realimentaci se nezměnila.

**Tabulka 14**

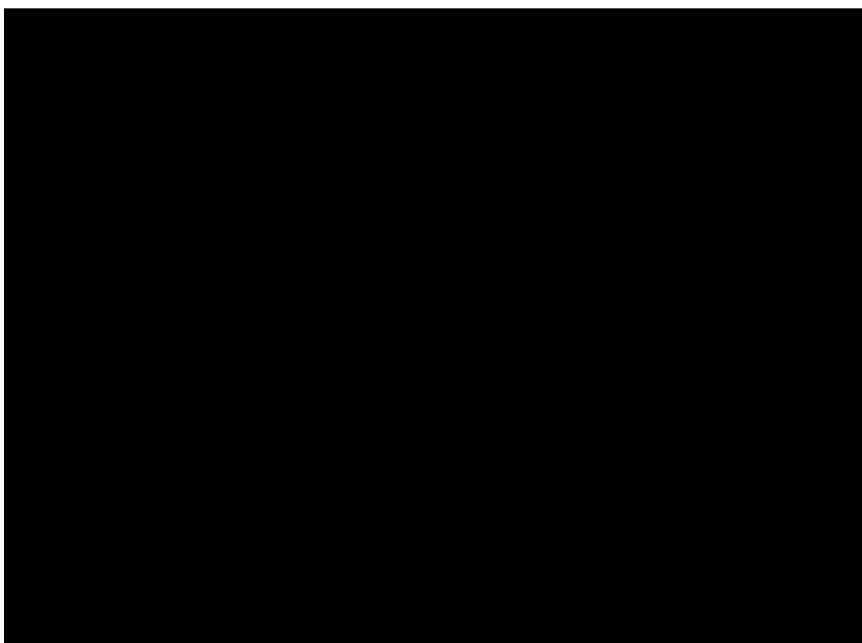
	<b>Kontroly ženy</b>	<b>SBS před R</b>	<b>SBS po R</b>
<b>Věk (roky)</b>	41,62 ± 14,68	54,64 ± 14,54**	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	21,58 ± 2,12	20,02 ± 3,03	20,49 ± 3,43
<b>Obsah tělesného tuku (%)</b>	22,27 ± 6,53	16,13 ± 2,93**	17,04 ± 2,89+
<b>WHR</b>	0,73 ± 0,05	0,73 ± 0,05	
<b>Celkový ghrelin (ng/l)</b>	290,1 ± 11,0	233,2 ± 108,1*	206,9 ± 93,1
<b>Inzulín (μIU/ml)</b>	16,55 ± 7,08	8,19 ± 1,94***	10,22 ± 2,38++
<b>Glukóza (mmol/l)</b>	4,77 ± 0,56	5,63 ± 0,6****	5,09 ± 0,61+
<b>HOMA index</b>	0,54 ± 0,05	0,11 ± 0,03	0,13 ± 0,04
<b>QUICKI</b>	0,20 ± 0,11	0,61 ± 0,05	0,59 ± 0,04
<b>Prealbumin (g/l)</b>	0,25 ± 0,05	0,21 ± 0,13	0,25 ± 0,08
<b>Albumin (g/l)</b>	43,45 ± 3,68	34,71 ± 8,02****	35,15 ± 7,37
<b>Celková bílkovina (g/l)</b>	73,37 ± 3,35	58,93 ± 8,04****	64 ± 8,13+
<b>Transferin (g/l)</b>	2,73 ± 0,35	1,7 ± 0,72**	1,99 ± 0,73
<b>Orosomukoid (g/l)</b>	0,79 ± 0,33	1,33 ± 0,6	1,57 ± 0,81
<b>CRP (mg/l)</b>	3,09 ± 3,0	42,79 ± 48,24****	45,17 ± 47,67
<b>Celkový cholesterol (mmol/l)</b>	4,96 ± 0,91	3,73 ± 1,6**	3,59 ± 1,28
<b>HDL cholesterol (mmol/l)</b>	1,67 ± 0,33	1,28 ± 0,32***	
<b>LDL cholesterol (mmol/l)</b>	2,88 ± 0,78	1,9 ± 0,78***	
<b>Triacylglyceroly (mmol/l)</b>	1,02 ± 0,54	2,08 ± 1,66***	1,49 ± 0,73
<b>GH (mIU/l)</b>	11,37 ± 11,02	5,25 ± 4,21*	4,47 ± 3,95
<b>IGF-I (μg/l)</b>	187,3 ± 67,25	91,79 ± 52,72****	126,31 ± 82,31
<b>GH/IGF-I (mIU/μg)</b>	0,06 ± 0,06	0,09 ± 0,11	0,06 ± 0,07
<b>IGFBP-1 (μg/l)</b>	43,36 ± 22,72	52,84 ± 34,26	63,19 ± 46,12
<b>IGFBP-3 (mg/l)</b>	4,15 ± 1,08	1,85 ± 0,54****	1,93 ± 0,52
<b>Leptin (ng/ml)</b>	12,65 ± 8,17	12,55 ± 18,32	9,56 ± 12,1
<b>SLR (ng/ml)</b>	20,69 ± 6,44	29,84 ± 14,59**	27,36 ± 15,33
<b>Hemoglobin (g/l)</b>	130,2 ± 7,7	110,42 ± 17,31****	111,98 ± 16,96
<b>Lymfocyty (10<sup>9</sup>/l)</b>	1,88 ± 0,59	1,69 ± 0,84	1,43 ± 0,41

*Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině malnutričních pacientek se syndromem krátkého střeva před a po realimentaci a jejich porovnání s kontrolní skupinou žen. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka. SBS před R – syndrom krátkého střeva před realimentací, SBS po R – syndrom krátkého střeva po realimentaci, KSZ vs. SBS \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ , SBS před R vs. SBS po R +  $p < 0,05$ , ++ $p < 0,01$*



## Graf 7

ng/l



*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu ve skupině pacientek se syndromem krátkého střeva před a po realimentaci a porovnání s kontrolní skupinou. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky. KZ – kontrolní skupina ženy, SBS – syndrom krátkého střeva, SBS po R – syndrom krátkého střeva po realimentaci.*

**Tabulka 15**

	<b>SBS před R</b>	<b>SBS po R</b>
Věk (roky)	NS	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	NS	NS
Obsah tělesného tuku (%)	NS	NS
WHR	NS	NS
Inzulín (μIU/ml)	NS	NS
Glukóza (mmol/l)	NS	NS
HOMA index	NS	NS
QUICKI	NS	NS
Prealbumin (g/l)	NS	NS
Albumin (g/l)	NS	NS
Celková bílkovina (g/l)	NS	NS
Transferin (g/l)	r= -0,56; p < 0,05	NS
Orosomukoid (g/l)	NS	NS
CRP (mg/l)	NS	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	NS	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS
LDL cholesterol (mmol/l)	NS	NS
Triacylglyceroly (mmol/l)	NS	NS
GH (mIU/l)	NS	NS
IGF-I (μg/l)	NS	NS
GH/IGF-I (mIU/μg)	NS	NS
IGFBP-1 (μg/l)	NS	NS
IGFBP-3 (mg/l)	NS	NS
Leptin (ng/ml)	NS	NS
SLR (ng/ml)	NS	NS
Hemoglobin (g/l)	NS	NS
Lymfocyty (10 <sup>9</sup> /l)	NS	NS

*Vztah mezi plazmatickými koncentracemi celkového ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry ve skupině pacientek se syndromem krátkého střeva před a po realimentaci. SBS před R – syndrom krátkého střeva před realimentací, SBS po R – syndrom krátkého střeva po realimentaci, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

## 5.5. Ghrelin a systémová zánětová reakce

Ve skupině osob po nekomplikované intraabdominální operaci bylo zařazeno 22 pacientů – mužů (49-72 let), (BMI  $23,9 \pm 2,7 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) po plánované resekci pro karcinom tlustého střeva. Ghrelin, leptin, TNF-alfa, IL-1, sIL-2R, IL-6, CRP a AAT byly stanoveny před operací a +24, +48 a +72 hodin po resekci tlustého střeva (viz. tab.19). V předoperačním období byly koncentrace TNF - alfa, IL-6 a CRP statisticky významně vyšší než stejné parametry v kontrolní skupině. Ostatní sledované parametry – ghrelin, leptin, sIL-2R a AAT se v obou skupinách nelišily. Během prvních 24 hodin po operaci bylo zaznamenáno statisticky významné zvýšení plazmatických hladin ghreluinu, TNF-alfa, sIL-2R, IL-6, CRP a leptinu. V prvních 24 hodinách hladiny těchto parametrů dosáhly maximálních hodnot, kromě CRP, které kulminovalo až 48 hodin od operace. Plazmatické koncentrace všech pěti parametrů se statisticky významně lišily jak od kontrolní skupiny, tak od předoperačního období. Hladiny ghreluinu, leptinu, TNF-alfa a sIL-2R se v čase +48 a +72 h vrátily na hladiny srovnatelné s hladinami před operací. Elevace IL-6 a CRP přetrvávaly déle, jejich koncentrace zůstaly zvýšené i +72 hodin po operaci (viz. tab. 16 a graf 8).

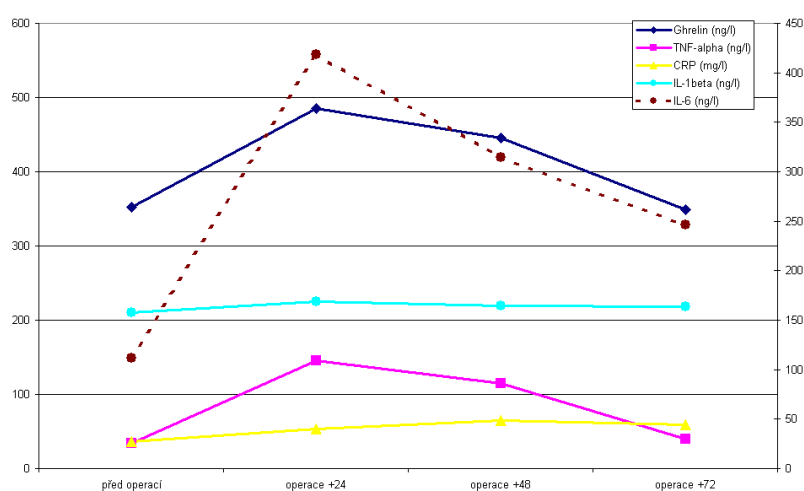
Ghrelin statisticky významně pozitivně koreloval s IL-6 v období +24 po operaci ( $r = 0,42$ ,  $p < 0,05$ ) a závislost byla nalezena také mezi ghrelinem a TNF-alfa, rovněž +24hodin po operaci ( $r = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ). Žádná závislost nebyla nalezena mezi ghrelinem a IL-1 nebo ghrelinem a sIL-2R.

**Tabulka 16**

	Kontroly	Před operací	Po operaci		
			+24 h	+48 h	+72 h
Ghrelin (ng/l)	336,5 ± 46,1	352,4 ± 51,3	485,1 ± 74,9 <sup>+</sup> *	445,7 ± 68,8 <sup>+</sup> *	348,6 ± 39,9
TNF-alpha (ng/l)	61,4 ± 9,2	33,8 ± 7,4 <sup>+</sup>	145,1 ± 59,3 <sup>+++</sup> *	115,2 ± 44,4 <sup>+++</sup> *	39,6 ± 16,4 <sup>+</sup>
IL-1beta (ng/l)	235,4 ± 48,9	209,8 ± 61,5	224,5 ± 67,9	219,7 ± 63,7	218,1 ± 49,2
sIL-2R (IU/ml)	581 ± 145	262,3 ± 81,7	509,1 ± 158,9 <sup>+++</sup> *	336,3 ± 94,4	306,5 ± 68,1
IL-6 (ng/l)	118 ± 49	111,7 ± 64,7 <sup>++</sup>	418,2 ± 109,2 <sup>++++</sup> *	314,4 ± 96,9 <sup>++++</sup> *	246,4 ± 79,3 <sup>+++</sup> *
CRP (mg/l)	5,5 ± 5	36,3 ± 11,3 <sup>++</sup>	52,9 ± 12,8 <sup>+++</sup> *	64,7 ± 18,2 <sup>+++</sup> *	59,2 ± 19,6 <sup>+++</sup> *
AAT (g/l)	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,7	2,4 ± 0,9	2,4 ± 0,8	2,5 ± 0,6
Leptin (ug/l)	3,5 ± 0,9	4,1 ± 1,8	27,5 ± 8,6 <sup>+</sup> *	7,9 ± 3,9 <sup>+</sup> *	4,8 ± 3,0 <sup>+</sup> *
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,3 ± 3,6	23,9 ± 2,7			

*Vývoj plazmatických hladin celkového ghreluinu, leptinu a vybraných zánětlivých parametrů během nekomplikovaného pooperačního období a jejich srovnání s kontrolní skupinou. Před operací vs. po operaci \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ , operování vs. kontrolní skupina + $p < 0,05$ , ++ $p < 0,01$ ; +++ $p < 0,001$ ; ++++ $p < 0,0001$ .*

**Graf 8**



**Průběh vybraných zánětlivých parametrů a ghrelinu během nekomplikovaného pooperačního období. IL-6 je vztažen na vedlejší osu.**

Ve skupině septických nemocných bylo vyšetřováno 25 chirurgických pacientů – mužů s rozvinutou pooperační sepsí po rozsáhlých břišních operacích: 9 pacientů (věk 39-56 let) po hemipankreatektomii, 11 pacientů po resekci kolorektálního karcinomu (51-72 let) a 4 pacienti s polytraumatem (32-49let), BMI  $22,9 \pm 2,9 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ . Průměrné skóre APACHE II bylo  $14,0 \pm 5,2$ . 6 z 25 pacientů splňovalo kritéria těžké sepse. Plazmatické koncentrace ghrelinu, leptinu, TNF-alfa, IL-1, sIL-2R, IL-6, CRP a AAT viz. tab 20. Skupina septických nemocných se od kontrolní skupiny významně lišila v sedmi z osmi zkoumaných parametrů. Mezi skupinou s nekomplikovaným pooperačním průběhem a skupinou septických nemocných byl nalezen rozdíl v šesti parametrech (viz. tab 17 a graf 9).

Prokázali jsme statisticky významné zvýšení plazmatické hladiny ghrelinu a leptinu během sepse. Na rozdíl od zdravých kontrol ( $r = 0,84, p < 0,001$ ) nebyla u septických nemocných pozorována pozitivní korelace leptinu s BMI ani negativní vztah ghrelinu k BMI. Plazmatický ghrelin během sepse dobře koreloval s TNF-alfa ( $r = 0,43, p < 0,05$ ) a IL-6 ( $r = 0,44, p < 0,05$ ) – iniciátory zánětlivé reakce. Na druhou stranu, mezi ghrelinem a IL-1beta a ghrelinem a sIL-2R nebyl nalezen žádný vztah.

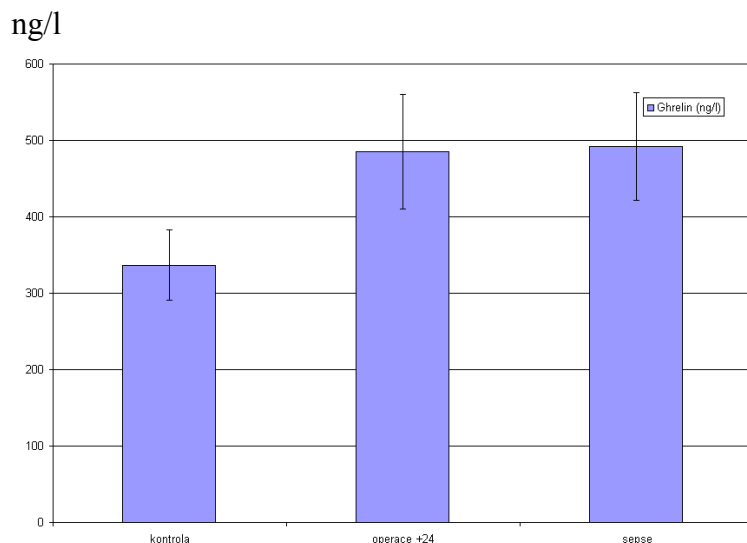
Během sepse byla pro leptin prokázána statisticky významná pozitivní korelace mezi leptinem a CRP ( $r = 0,51, p < 0,05$ ) a leptinem a AAT ( $r = 0,46, p < 0,05$ ). Ve vztahu k cytokinům byl potvrzen vztah mezi leptinem a IL-6 ( $r = 0,53, p < 0,05$ ) na rozdíl od kontrolní skupiny, kde tento vztah nalezen nebyl, a mezi leptinem a TNF-alfa u septických pacientů ( $r = 0,46, p < 0,05$ ).

**Tabulka 17**

	Kontroly	Před operací	Po operaci	Sepse
Ghrelin (ng/l)	336,5 ± 46,1	352,4 ± 51,3	485,1 ± 74,9 <sup>1 2</sup>	492,3 ± 70,6 <sup>11</sup>
TNF-alpha ng/l	61,4 ± 9,2	33,8 ± 7,4 <sup>1</sup>	145,1 ± 59,3 <sup>11 22</sup>	378,9 ± 122,1 <sup>111 333</sup>
IL-1beta (ng/l)	235,4 ± 48,9	209,8 ± 61,5	224,5 ± 67,9	238,2 ± 33,3
sIL-2R (ng/l)	581 ± 145	262,3 ± 81,7	509,1 ± 158,9 <sup>11 22</sup>	3066 ± 1118 <sup>111 333</sup>
IL-6 (ng/l)	118 ± 49	111,7 ± 64,7 <sup>11</sup>	418,2 ± 109,2 <sup>111 222</sup>	1906 ± 1172 <sup>111 333</sup>
CRP (mg/l)	5,5 ± 5	36,3 ± 11,3 <sup>11</sup>	52,9 ± 12,8 <sup>11 2</sup>	241,6 ± 68,3 <sup>111 333</sup>
AAT (g/l)	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,7	2,4 ± 0,9	3,4 ± 0,7 <sup>11 3</sup>
Leptin (ug/l)	3,5 ± 0,9	4,1 ± 1,8	27,5 ± 8,6+2 <sup>2</sup>	31,6 ± 12,2 <sup>111 333</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,3 ± 3,6	23,9 ± 2,7	23,9 ± 3,1	22,6 ± 2,8

*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu a vybraných zánětlivých parametrů u pacientů po nekomplikované operaci a u pacientů komplikovaných v pooperačním období sepsí. <sup>1-3</sup>p < 0,05, <sup>1-3</sup>p < 0,01, <sup>1-3</sup>p < 0,001; 1 – kontrolní skupina vs. před operací, po operaci, sepse; 2 – před operací vs. po operaci; 3 – po nekomplikované operaci vs. sepse.*

**Graf 9**



*Srovnání plazmatických koncentrací celkového ghrelinu u pacientů po operaci s nekomplikovaným pooperačním průběhem a operaci komplikované sepsí s kontrolní skupinou. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatné odchylky.*

## 6. Diskuse

Ghrelín je peptid složený z 28 aminokyselin produkovaný především enteroendokrinními buňkami žaludku. Charakteristikou molekuly ghrelínu je přítomnost oktanové skupiny na hydroxyskupině serinu v pozici 3, v organismu unikátní a nezbytnou pro jeho biologickou aktivitu. Kromě acylovaného, tzv. aktivního ghrelínu, je v cirkulaci přítomen neacylovaný ghrelín a některé další minoritní formy. Neacylovaný ghrelín postrádá hydrofobní substituci řetězce, převažuje v systémové cirkulaci, ale je bez vlivu na sekreci růstového hormonu a bez dalších endokrinních účinků. Vykazuje kardiovaskulární a proliferativní účinky a možná i účinky metabolické. Jeho působení je zprostředkované jiným receptorem než GHS-R1a nebo 1b. Ten nebyl dosud popsán.

Plazmatická koncentrace celkového ghrelínu je ovlivněna pohlavím. Vyšší koncentrace celkového ghrelínu, ale nikoliv ghrelínu aktivního, byly detekovány u žen. Rozhodujícím činitelem je pravděpodobně vliv steroidních hormonů (estrogenů).

Změny plazmatických hladin ghrelínu s věkem jednoznačně nepotvrzujeme. V naší studii jsme nezachytili změny acylovaného ani neacylovaného ghrelínu v závislosti na věku.

Ghrelín je důležitým regulátorem energetické homeostázy a příjmu potravy. Vede ke zvýšení příjmu potravy a snížení energetického výdeje potlačením aktivity sympatického nervového systému a poklesem termogeneze. Uplatňuje se jak v krátkodobé regulaci nutričního stavu, tak na dlouhodobé regulaci energetické homeostázy a tělesné hmotnosti. Hraje roli v iniciaci příjmu potravy jako signál hladu. Na jeho vztah k dlouhodobé regulaci energetické rovnováhy poukazují korespondující změny plazmatických hladin celkového ghrelínu a tělesné hmotnosti, jeho negativní korelace s BMI. V rozporu s některými publikovanými studiemi jsme nepotvrdili asociaci celkového ghrelínu k množství podkožní tukové tkáně. Inverzní korelace celkového ghrelínu s WHR jako prediktoru centrální obezity, potvrzená i např. v práci Langenberga a spolupracovníku indikuje závislost plazmatických koncentrací celkového ghrelínu na množství viscerální tukové tkáně. Nízká hladina ghrelínu u viscerálního typu obezity, je spojena s vysokým rizikem syndromu inzulínové rezistence a diabetes mellitus II. typu (Langenberg a kol. 2005). Ghrelín tedy daleko přesněji odráží změny BMI, tělesné hmotnosti a viscerální tukové tkáně než změny tukové tkáně podkožní.

V případě aktivního ghrelínu nebyla asociace s parametry tělesného složení prokázána.

Z dalších sledovaných nutričních a biochemických parametrů je zajímavý vztah pozitivní lineární závislosti celkového ghrelínu s HDL cholesterolem a albuminem. Recentní studie naznačují, že ghrelín se s HDL částicemi váže a je pravděpodobně její nedílnou součástí (Purnell a kol. 2003). Zajímavou otázkou je, zda-li je HDL pouze jedním ze systémů transportujících ghrelín v plazmě nebo zda je právě HDL částice místem, kde dochází k acylaci ghrelínu na hydroxyskupině serinu v pozici 3. Je pravděpodobné, že albumin je další z transportních proteinů ghrelínu v plazmě společně s HDL cholesterolem. Představa, že ghrelín stimuluje syntézu albuminu v hepatocytu je pouze naší domněnkou.

Mezi základní činitele uplatňující se v regulaci syntézy a sekrece ghrelínu patří inzulín. V naší práci byly prokázány negativní korelace mezi hladinami celkového ghrelínu a inzulínu ve skupině normostenických osob, u pacientů s nadváhou a obezitou a u pacientek s mentální anorexií. Absence této závislosti u malnutričních nemocných se syndromem krátkého střeva vysvětlujeme redukcí části ghrelín secernujících buněk. I když vzájemný vztah inzulínu a ghrelínu není do podrobností objasněn, je pravděpodobné, že inzulín přímo či nepřímo zprostředkovává vliv nutriční či aktuální energetické bilance na plazmatické koncentrace ghrelínu. Ačkoliv recentní studie uvádějí stimulační účinek acylovaného ghrelínu na sekreci inzulínu, neprokázali jsme v naší práci v žádné z vyšetřovaných skupin žádný typ závislosti mezi inzulínem a aktivním ghrelínem. Neacylovaný ghrelín, který je zastoupen v cirkulaci především, stimulační účinek aktivního ghrelínu tlumí. Ghrelín tedy

pravděpodobně plní úlohu jakéhosi modulátoru syntézy a sekrece inzulínu. Výsledný stav je závislý na vzájemném poměru obou hlavních forem ghrelinu – acylovaného a neacylovaného.

Ghrelín pravděpodobně participuje na rozvoji syndromu inzulínové rezistence u obézních osob. Ačkoliv celkový ghrelín je u pacientů s nadváhou a obezitou prokazatelně snížený, tak acylovaný ghrelín je naopak relativně zvýšen. Acylovaný ghrelín, jak již bylo zmíněno výše, má stimulační účinky na sekreci inzulínu. Jeho relativní zvýšení a pokles ghrelinu neacylovaného, (který stimulační účinek aktivního ghrelinu na sekreci inzulínu blokuje), může být jednou z příčin rozvoje hyperinzulinemie a inzulínové rezistence u obézních. Vysoká hladina inzulínu mechanismem zpětné vazby blokuje syntézu a sekreci ghrelinu. Hyperinzulinémie je spojena s nízkými plazmatickými koncentracemi celkového ghrelinu.

Dalším studovaným tématem byl vztah orexigenního ghrelinu k anorexigennímu leptinu. Ghrelín a leptin mají antagonistické účinky zprostředkované na úrovni hypothalamu systému NPY/AGRP. Jejich hlavním úkolem je informovat CNS o stavu energetické rovnováhy. Výsledky publikovaných studií o vzájemném vztahu leptinu a ghrelinu nejsou jednotné. Některé studie prokázaly negativní korelace mezi koncentracemi ghrelinu a leptinu (*Cappiello a kol. 2002*), jiné tento vztah nepotvrzují (*Giavoli a kol. 2004, Malik a kol. 2004*). V naší studii jsme neprokázali statisticky významný vztah mezi koncentracemi aktivního ani celkového ghrelinu a leptinu v žádné ze studovaných skupin (*Rosicka a kol. 2003*).

Acylovaný ghrelín je sice dosud nejsilnějším známým stimulatorem sekrece GH in vitro i in vivo, ale naše výsledky v souladu s jinými publikovanými studiemi nesvědčí pro unikátní roli periferního ghrelinu na řízení endogenní sekrece GH. Ghrelín je pravděpodobně pouze jedním z celé řady faktorů – pituitárních, hypothalamických i periferních, které ovlivňují syntézu a sekreci GH. Problémem studia fyziologických účinků ghrelinu ve vztahu k somatotropní ose obecně je nemožnost jeho přímého stanovení v oblasti hypofýzy/hypotalamu. Výsledky získané rozбором plazmatických koncentrací ghrelinu nelze jednoduše transformovat na oblast hypotalamo/hypofyzární, kde role aktivního ghrelinu v sekreci GH a existence negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a komponentami somatotropní osy vyloučena není a k jejímu potvrzení či vyloučení bude zapotřebí dalšího výzkumu. Přesto nás naše výsledky upevnily v přesvědčení, že úlohu žaludečního ghrelinu na regulaci syntézy a sekrece GH nelze opomíjet. Periferní ghrelín je zřejmě důležitým spojovacím článkem mezi aktuálním nutričním stavem a produkcí GH v somatotropních buňkách hypofýzy. Přesný mechanismus regulační kaskády není zatím jasný, ale vzhledem k tomu, že jsme v žádné z vyšetřovaných skupin neprokázali závislost plazmatických koncentrací celkového ani aktivního ghrelinu a GH, je zjevné, že se nejedná o jednoduchou zpětnou vazbu (*Jarkovská, Rosická a kol. 2006*). Možným vysvětlením je útlum sekrece somatostatinu a zvýšení citlivosti hypofýzy na účinek GHRH. Zajímavý a dosud nepopsaný je nález statisticky významného pozitivního korelačního koeficientu mezi aktivním ghrelinem a IGFBP-3 v kontrolní skupině a ve skupině obézních.

Vzhledem k silnému orexigennímu a adipogennímu účinku se zvažoval možný kauzální vliv ghrelinu při rozvoji malnutric. V případě kachektických nemocných či pacientek s mentální anorexií jsme očekávali pokles plazmatických koncentrací ghrelinu, naopak v případě obézních spíše jeho vzestup. Tuto hypotézu na základě našich výsledků zamítáme. Studie u obézních nemocných prokázala, že koncentrace ghrelinu nejsou v případě obezity zvýšeny, ale naopak sníženy a stoupají po redukci hmotnosti (*Rosicka a kol. 2003*). Kromě snížení celkového ghrelinu dokumentujeme také změnu poměru acylované a neacylované formy ghrelinu. Pokles celkového ghrelinu může být kompenzační reakcí na dlouhodobě pozitivní energetickou bilanci. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že ghrelín není kauzálním faktorem rozvoje prosté obezity. Odlišná je situace u nemocných s patologickou sekrecí ghrelinu např. nádory gastrointestinálního traktu produkujících ghrelín (ghrelinomy),

u nemocných s Praderovým-Willyho syndromem nebo renální insuficiencí (*Jarkovská, Rosická a kol. 2006*). Vysoké koncentrace ghrelinu jsou zde spojeny s vyšším BMI a vyšším obsahem tuku v organismu a jsou pravděpodobně zpětnově neovlivnitelné inzulinem. V těchto případech nelze vyloučit kauzální roli patologicky vysokých koncentrací ghrelinu v etiopatogenezi tvorby tukové tkáně. Ghrelin v tomto případě může mít až diabetogenní účinky zvýšením glukoneogeneze a potlačením účinku inzulinu, jak bylo prokázáno u nemocných s ghrelinomy a u laboratorních zvířat.

V případě mentální anorexie a kachexie jsme nepotvrdili hypotézu, že pokles plazmatických hladin orexigenního ghrelinu je příčinou anorexie a dlouhodobě sníženého kalorického příjmu těchto nemocných. Zvýšení plazmatické hladiny celkového ghrelinu reflektuje stav dlouhodobě negativní energetické bilance a je pravděpodobně kompenzačním mechanismem, který má organismu zajistit zvýšení chuti k jídlu a adekvátní zvýšení energetického příjmu (*Kršek, Rosická a kol. 2002*). Na druhou stranu je zřejmé, že u pacientek s mentální anorexií nepozorujeme ani přes vysoké hladiny ghrelinu zvýšení chuti k jídlu, a ani v literatuře uváděná intravenózní aplikace ghrelinu nevede k úpravě potravních zvyklostí (*Miljic a kol. 2006*). Možným vysvětlením je rozvoj rezistence na ghrelin, jejíž podstatou může být porucha na receptorové nebo postreceptorové úrovni.

U malnutričních nemocných s syndromem krátkého střeva je situace modifikována redukcí části ghrelin secernujících buněk. Ačkoliv je přítomna těžká malnutrice, plazmatické hladiny ghrelinu jsou sniženy. Zdá se tedy, že přestože je hlavní podíl ghrelinu secernujících buněk v žaludku, dochází po resekci velké části tenkého střeva k významnému poklesu plazmatického ghrelinu. Nízká hladina orexigenně působícího peptidu ghrelinu může být jednou z příčin chronické anorexie u těchto nemocných (*Kršek, Rosická a kol. 2003*).

Recentní experimentální a klinické studie podporují hypotézu, že ghrelin, podobně jako leptin, reaguje během akutní stresové reakce. Ghrelin jako faktor, který antagonizuje působení leptinu, je pravděpodobně dalším významným článkem podílejícím se na výsledném nutričním stavu nejen za bazálních podmínek, ale pravděpodobně i během zánětu. Má některé rysy zánětlivých cytokinů: řada ghrelinu syntetizujících a secernujících buněk v různých tkáních a orgánech, malá molekulová hmotnost, pluripotentní efekt, interakce s ostatními členy cytokinové sítě. V naší práci jsme ukázali dynamiku změn ghrelinu během nekomplikovaného pooperačního období. Z výsledků je patrné, že operační stres je spojen s výraznou elevací nejen prozánětlivých cytokinů a leptinu, ale také ghrelinu. Nález pozitivní lineární závislosti mezi TNF - alfa a ghrelinem nepodporuje hypotézu, že anorexigenní účinek TNF - alfa je zprostředkován supresí syntézy a sekrece ghrelinu a snížením jeho plazmatických hladin (*Maruna, Rosická a kol. 2006*). Na základě našich výsledků a výsledků několika experimentálních prací konstatujeme, že zvýšení ghrelinu během SIRS a sepse je kompenzační reakcí na vyplavení prozánětlivých cytokinů. Zdá se, že účinky ghrelinu jsou antagonistické k působení prozánětlivých působků, především TNF-alfa, IL-1 a IL-6. Ghrelin tedy řadíme mezi tzv. protizánětlivé působky.



## 7. Summary

Ghrelin, the endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor, was discovered in 1999 by Kojima *et al.* (Kojima *et al.* 1999). Ghrelin is composed of 28 amino acids, with a unique octanoyl modification of hydroxygroup on serine at the 3<sup>rd</sup> position. This peptide modification is entirely unique to the organism and is essential for the function of this peptide (Bednarek *et al.* 2000). Ghrelin is predominantly produced by cells in the oxyntic mucosa of the stomach (Date *et al.* 2000). According to the widespread distribution of the peptide and its receptor ghrelin has multiple biological effects. Ghrelin is a strong stimulator of the growth hormone secretion in the somatotroph cells of hypophysis (Takaya *et al.* 2000, Peino *et al.* 2000), plays an important role in signaling hypothalamic centers regulating feeding and caloric state (ghrelin leads to an increase of the food intake and a decrease of the energy expenditure) (Nakazoto *et al.* 2001). Its orexigenic effects are independent of growth hormone stimulation and appear to be mediated at least in part through activation of NPY/agouti gene-related protein neurons in the hypothalamic arcuate nucleus.

The aim of our study is to demonstrate the change of active and total ghrelin in malnourished patient and during systemic inflammatory response and their relationship with gender, age, parameters of body composition, nutritional parameters, insulin, leptin and GH/IGF-I axis.

In our study we reported gender differences in plasma total ghrelin levels with higher levels in women. We did not confirm these findings in the plasma active ghrelin. Active and total ghrelin does not affected by ageing.

HDL cholesterol is positively associated with plasma total ghrelin levels. Recent study demonstrated that ghrelin binds to HDL particles. These findings support the possible role of HDL particles as circulating transporters of ghrelin. It's possible that some of enzymes, which are part of HDL particle is responsible for octanoyl modification of hydroxygroup on serine at the 3<sup>rd</sup> position.

Total ghrelin levels correlated negatively with fasting insulin levels, insulin resistance estimated by HOMA and positively with the insulin sensitivity estimated by QUICKI. In our study we showed no correlation between fasting plasma ghrelin and percent body fat or leptin concentration. On the other hand, fasting plasma total ghrelin significantly negatively correlated with BMI and waist - hip ratio. Our data suggest, that total ghrelin levels best reflect the body weight rather the subcutaneous fat mass. The inverse correlation of total plasma ghrelin with waist - hip ratio support the hypothesis that ghrelin is associated with central adiposity. These findings support hypothesis that ghrelin may play a role in the etiology of insulin resistance and metabolic syndrom. On the other hand, total plasma ghrelin levels are down regulated in the hyperinsulinemic states.

Ghrelin is a potent stimulator of GH secretion, especially the active ghrelin, which represent a small proportion of total ghrelin levels. In our study, we have not proved a linear relation between the GH level and total or active ghrelin. This finding does not support the unique role of gastric ghrelin on regulation of GH secretion in hypophysis. Ghrelin is important link between actual energy state and production of GH in somatotroph cells. Ghrelin is one of several cooperative factors – pituitary, hypothalamic and peripheral, involving in regulation of GH synthesis and secretion.

Total ghrelin plasma levels are decreased in human obesity and increase in patients with anorexia nervosa (Rosicka *et al.* 2003, Kršek *et al.* 2003). Circulating ghrelin concentration returns to the base level after normalization of weight. Active ghrelin does not change, but in obese group, we documented relative elevation of active ghrelin.

We propose hypothesis that the change of total plasma ghrelin concentrations observed in obese and malnourished patients represent a physiological adaptation to long-term

positive or negative energy balance. The down regulation of ghrelin in obese subject may be consequence of elevated insulin and higher insulin resistance associated with visceral fat accumulation, and not consequence of total body (mainly subcutaneous) fat accumulation (associated with elevated leptin concentration).

In contrast to patients with anorexia nervosa, total plasma ghrelin levels are surprisingly decreased in malnourished patients with short bowel syndrome characterised by a significant reduction of gut length. We can speculate that the decrease in ghrelin plasma levels is caused by a significant reduction of endocrine cells producing ghrelin in gastrointestinal tract. The fall of plasma levels of orexigenic peptide ghrelin may be contribute partly to decrease appetite in these patients.

According to recent findings ghrelin shows itself as a new inflammatory mediator during both infectious and non-infectious inflammatory reaction. Ghrelin has some features of inflammatory cytokines: low molecular weight, production by different cell types, pluripotent effect, and interaction with other members of cytokine network. During postoperative intra-abdominal sepsis, total ghrelin plasma levels are elevated and positively correlate with both inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-6) and main APP member (CRP). It supports experimental finding that TNF- $\alpha$  and IL-6 can be important regulatory factors of ghrelin synthesis and secretion. This hormonal reaction is not specific to sepsis – the significant increase of total ghrelin occurs during an uncomplicated postoperative response, although to a lesser extent than was shown in sepsis. With regard to its cardiovascular, metabolic and central nervous effects, ghrelin belong to a compensatory antiinflammatory response syndrome. It contra-regulates potentially autoaggressive influence of proinflammatory cytokines.

## 8. Literatura

1. **Ahima, R.S.:** Ghrelin- a new player in glucose homeostasis? *Cell. Metab.* 3, No 5, p. 301-302, 2006.
2. **Andrews PL and Sanger GJ.** Abdominal vagal afferent neurones: an important target for the treatment of gastrointestinal dysfunction. *Curr Opin Pharmacol* 2: 650–656, 2002.
3. **Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E:** Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 23: 493-5, 2000
4. **Arvat E, Gianotti L, Giordano R, Broglio F, Maccario M, Lanfranco F, Muccioli G, Papotti M, Graziani A, Ghigo E, Deghenghi R:** Growth hormone-releasing hormone and growth hormone secretagogue-receptor ligands: focus on reproductive system. *Endocrine* 14: 35-43, 2001
5. **Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonisconi S, Fubini A, Malan D, Baj G, Granata R, Broglio F, Papotti M, Surico N, Bussolino F, Isgaard J, Deghenghi R, Sinigaglia F, Prat M, Muccioli G, Ghigo E, and Graziani A.** Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 159: 1029–1037, 2002
6. **Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA:** Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 88: 2180-4, 2003
7. **Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, Warren VA, Howard AD, Van Der Ploeg LH, Heck JV:** Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 43: 4370-6, 2000
8. **Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ:** Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovation therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee; American College of Chest Physician and the Society of Critical Care Medicine. *Chest* 101: 1644-1655, 1992
9. **Bowers CY, Chang J, Momany F & Folkers K:** Effects of enkephalins and enkephalins analogs on release of pituitary hormones in vitro. *Molecular Endocrinology:* 287-292, 1977
10. **Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Prodam F, Grottoli S, Papotti M, Muccioli G, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E:** Endocrine activities of cortistatin-14 and its interaction with GHRH and ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3783-90, 2002
11. **Broglio F, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Muccioli G, Papotti M, Abribat T, Van Der Lely AJ, Ghigo E** Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3062–3065, 2004
12. **Brunetti L, Recinella L, Orlando G, Michelotto B, Di Nisio C, Vacca M :** Effects of ghrelin and amylin on dopamine, norepinephrine and serotonin release in the hypothalamus. *Eur J Pharmacol* 454: 189-192, 2002
13. **Calandra aT, Cohen J:** International sepsis forum definition of infection in the ICU consensus conference: The international sepsis forum conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 33: 1538-1548, 2005
14. **Cappiello V, Ronchi C, Morpurgo PS Epaminonda P, Arosio M, Beck-Peccoz P, Spada A :** Circulating ghrelin levels in basal conditions and during glucose tolerance test in acromegalic patients. *Eur J Endocrinol* 147, 189-94, 2002
15. **Corbetta S, Peracchi M, Cappiello V, Lania A, Lauri E, Vago L, Beck-Peccoz P, Spada A:** Circulating ghrelin levels in patients with pancreatic and gastrointestinal neuroendocrine tumors: identification of one pancreatic ghrelinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 3117-20, 2003
16. **Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P,**

- Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, and Horvath TL.** The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37: 649–661, 2003
17. **Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, and Weigle DS.** A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50: 1714–1719, 2001
  18. **Dall R, Kanaley J, Hansen TK, Moller N, Christiansen JS, Hosoda H, Kangawa K, Jorgensen JO:** Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol* 147:65-70, 2002
  19. **Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M:** Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 14: 4255-61, 2000a
  20. **Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M:** Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 275: 477-80, 2000b
  21. **Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, and Matsukura S.** Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 280: 904–907, 2001
  22. **Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Yada T, Matsukura S:** Ghrelin is present in pancreatic  $\alpha$ -cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 51:124–129, 2002
  23. **Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC:** Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J Physiol Pharmacol*; 54: 561-73, 2003.
  24. **Dzaja A, Dalal MA, Himmerich H, Uhr M, Pollmacher T, and Schuld A.** Sleep enhances nocturnal plasma ghrelin levels in healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004
  25. **English PJ, Ghatgei MA, Malik IA, Bloom SR, Wilding JP:** Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2984, 2002
  26. **Erdmann J, Lippl F, and Schusdziarra V.** Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man. *Regul Pept* 116: 101–107, 2003
  27. **Geloneze B, Tambascia MA, Pilla VF, Geloneze SR, Repetto EM, and Pareja JC.** Ghrelin: a gut-brain hormone: effect of gastric bypass surgery. *Obesity Surg* 13: 17–22, 2003
  28. **Giavoli C, Cappiello V, Corbetta S, Ronchi CL, Morpurgo PS, Ferrante E, Beck-Peccoz P, Spada A:** Different effects of short- and long-term recombinant hGH administration on ghrelin and adiponectin levels in GH-deficient adults. *Clin Endocrinol* 61: 81 – 7, 2004
  29. **Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, and Korbonits M.** The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2988, 2002
  30. **Greenman Y, Golani N, Gilad S, Yaron M, Limor R, and Stern N.** Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner. *Clin Endocrinol* 60: 382–388, 2004
  31. **Hanada T, Toshinai K, Date Y, Kajimura N, Tsukada T, Hayashi Y, Kangawa K, Nakazato M:** Upregulation of ghrelin expression in cachectic nude mice bearing human melanoma cells. *Metabolism*; 53: 84-8, 2004.
  32. **Hewson AK and Dickson SL.** Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *J Neuroendocrinol* 12: 1047–1049, 2000
  33. **Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K:** Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 279: 909-13, 2000b

34. **Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K:** Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 275: 21995-2000a
35. **Howard HD, Feighner SD, Cully DF:** A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273 : 974 – 976, 1996
36. **Chang L, Du JB, Gao LR, Pang YZ, Tang CS:** Effect of ghrelin on septic shock in rats. *Acta Pharmacol Sin*; 24: 45-9. 2003.
37. **Chang L, Ren Y, Liu X, Li WG, Yang J, Geng B, Weintraub NL, and Tang C.** Protective effects of ghrelin on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 43: 165–170, 2004b
38. **Chapman IM:** Endocrinology of anorexia of ageing. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 18: 437-52, 2004
39. **Itoh T, Nagaya N, Yoshikawa M, Fukuoka A, Takenaka H, Shimizu Y, Haruta Y, Oya H, Yamagishi M, Hosoda H, Kangawa K, Kimura H.:** Elevated plasma ghrelin level in underweight patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. Oct 15;170(8):879-82, 2004.
40. **Jarkovská Z., Hodková M., Szamová M., Rosická M., Dusilová-Sulková S., Marek J., Justová V., Lacinová Z., Haluzík M., Haas T., Kršek M.:** Plasma levels of active and total ghrelin in renal failure: a relationship with GH/IGF-I axis. *Growth Horm IGF Res*; 15(6): 369-376, 2005a.
41. **Jarkovska Z., Rosicka M., Krsek M., Sulkova S., Haluzik M., Justova V., Lacinova Z., Marek J.:** Plasma ghrelin levels in patients with end-stages renal disease. *Phys Res*; 54(4): 403-8, 2005b (IF 1,806).
42. **Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K:** Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656-60, 1999
43. **Konturek PC, Brzozowski T, Pajdo R, Nikiforuk A, Kwiecien S, Harsch I, Drozdowicz D, Hahn EG, Konturek SJ:** Ghrelin-a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *J Physiol Pharmacol*. Jun;55(2):325-36, 2004.
44. **Kršek M., Rosická M., Haluzík M., Papežová H., Křížová J., Justová V., Lacinová Z., Jarkovská Z.:** Změny sérových koncentrací ghrelinu a jejich vztah k IGF-I, jeho vazebným proteinům a leptinu u pacientek s mentální anorexií. *Vnitr Lek* 2002; 48, 948-952b.
45. **Langenberg C, Bergstrom J, Laughlin GA, Barret-Connor E:** Ghrelin and the metabolic syndrom in older adults. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 6448-6453, 2005.
46. **Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, and Kangawa K.** Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 276: 905–908, 2000
47. **Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y, Morozumi N, Minamitake Y, Tanaka S, Matsuo H, Kojima M, Hayashi Y, Kangawa K:** Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 287: 142-6, 2001
48. **Miljic D, S. Pekic, M. Djurovic, M. Doknic, N. Milic, F. F. Casanueva, M. Ghatei and V. Popovic:** Ghrelin Has Partial or No Effect on Appetite, Growth Hormone, Prolactin, and Cortisol Release in Patients with Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*, 91, 4 1491-1495, 2006.
49. **Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K:** Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 486: 213-6, 2000
50. **Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, and Ghigo E.** Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 440: 235–254, 2002
51. **Nagaya N and Kangawa K.** Ghrelin improves left ventricular dysfunction and cardiac cachexia in heart failure. *Curr Opin Pharmacol* 3: 146–151, 2003
52. **Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, and Kangawa K.** Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R1483–R1487, 2001b

53. **Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, Hosoda H, Shimizu W, Yamagishi M, Oya H, Koh H, Yutani C, Kangawa K:** Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation*; 104: 2034-8, 2001a.
54. **Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S:** A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409: 194-8, 2001
55. **Norrelund H, Hansen TK, Orskov H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Weeke J, Moller N, Christiansen JS, Jorgensen JO:** Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin. *Clin Endocrinol* 57: 539-46, 2002
56. **Otero M, Nogueiras R, Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino JJ, Gualillo O.:** Chronic inflammation modulates ghrelin levels in humans and rats. *Rheumatology (Oxford)*; 43: 306-10, 2004.
57. **Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C, Riepl RL, Heiman ML, Lehnert P, Fichter M, Tschop M:** Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 145: 669-73, 2001
58. **Papotti M, Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G:** Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 3803-7, 2000
59. **Popovic V, Miljic D, Micic D, Damjanovic S, Arvat E, Ghigo E, Dieguez C, Casanueva FF:** Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 3450-3, 2003
60. **Purnell JQ, Weigle DS, Breen P, Cummings DE:** Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 88 : 5747-52, 2003
61. **Rigamonti AE, Pincelli AI, Corra B, Viarengo R, Bonomo SM, Galimberti D, Scacchi M, Scarpini E, Cavagnini F, Muller EE:** Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *J Endocrinol.* 175: R1-5, 2002
62. **Shiyya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S:** Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 87:240-4, 2002
63. **Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, Imazu M, Okumura H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Kohno N:** Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res*; 9: 774-8, 2003.
64. **Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, Hayashi T, Inoue G, Hosoda K, Kojima M, Kangawa K, Nakao K:** Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 50: 227-32, 2001
65. **Schussler P, Uhr M, Ising M, Weikel JC, Schmid DA, Held K, Mathias S, Steiger A.:** Nocturnal ghrelin, ACTH, GH and cortisol secretion after sleep deprivation in humans. *Psychoneuroendocrinology*, Sep;31(8):915-23, 2006
66. **Tanaka M, Naruo T, Muranaga T, Yasuhara D, Shiyya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S:** Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. *Eur J Endocrinol* 146: R1-3, 2002
67. **Tena-Sempere:** Ghrelin: a novel regulator of gonadal function. *Review. J Endocrinol Invest.*;28(5 Suppl):26-9, 2005
68. **Theander-Carrillo, C., Wiedmer, P., Cettour-Rose, P., Nogueiras, R., Perez-Tilve, D., Pfluger, P., Castaneda, T.R., Muzzin, P., Schürmann, A., Szanto, I., Tschöp. M.H., Rohner-Jeanrenaud, F.:** Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *J. clin. Invest.* 116, No 7, p.1983 –1993, 2006
69. **Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML:** Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908 – 13, 2000

70. **Tschop M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, and Folwaczny C.:** Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 24: 19–21, 2001b.
71. **Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML:** Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50: 707-9, 2001a
72. **Tsolakis AV, Portela-Gomes GM, Stridsberg M, Grimelius L, Sundin A, Eriksson BK, Oberg KE, Janson ET:** Malignant gastric ghrelinoma with hyperghrelinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3739-44, 2004
73. **Ukkola, O.:** Ghrelin and metabolic balance. *J. Endocrinol. Invest.*28, No 9, p. 849-852, 2005
74. **Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, and Kaplan JM.:** Vagotomy dissociates short- and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 144: 5184–5187, 2003
75. **Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR:** The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 141: 4325-8, 2000
76. **Wu R, Zhou M, Cui X, Simms HH, Wang P:** Ghrelin clearance is reduced at the late stage of polymicrobial sepsis. *Int J Mol Med*; 12: 777-81, 2003.
77. **Zhang J, Pei-Gen Ren, Orna Avsian-Kretchmer, Ching-Wei Luo, Rami Rauch, Cynthia Klein, Aaron J. W. Hsueh:** Obestatin, a Peptide Encoded by the Ghrelin Gene, Opposes Ghrelin's Effects on Food Intake. *Science* 310: 996-999, 2005.
78. **Zhang, J.V., Ren, P.G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C.W., Rauch, R., Klein, C., Hsueh, A.J. :**Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 310, No 11, p. 996-999, 2005.

## 9. Autorčiny publikace

1. Haluzík M., Bednářová V., Svobodová J., Rosická M.: Změny koncentrace leptinu u pacientů s renálním selháním: klinický význam. **Aktuality v nefrologii**; 1: 4-9, 1999.
2. Svobodová J., Haluzík M., Rosická M., Kotrlíková E., Kábrt J: Vztah sérových koncentrací leptinu k regulaci bazálního energetického výdeje. **Vnitřní Léč**; 45: 703-7, 1999.
3. Svobodová J., Haluzík M., Papežová H., Rosická M., Nedvídková J., Kotrlíková E., Kábrt J.: Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace leptinu a bazální energetický výdej u pacientek s mentální anorexií. **Cas Lek Ces**; 138: 748-52, 1999.
4. Marková M., Haluzík M., Rosická M., Svobodová J.: Serum leptin levels in patients with sideropenic and pernicious anemia: the influence of anemia treatment. **Phys Res**; 49: 679-684, 2000 (**IF 1,806**).
5. Adamcová Z., Rosická M., Marek J, Kršek M: Ghrelin jako regulační komponenta somatotropní osy. **DMEV** 4: 201-205, 2001
6. Marková M., Haluzík M., Jiskra J., Rosická M., Svobodová J., Haluzíková D.: Vliv sideropenické anemie a její léčby na sérové hladiny leptinu., **Cas Lek Ces** 140, 767-769, 2001.
7. Rosická M., Kršek M, Jarkovská Z, Marek J, Schreiber V: Ghrelin – a new endogenous growth hormone secretagogue. **Phys Res** 51: 435 – 441, 2002 (**IF 1,806**).
8. Kršek M., Rosická M., Haluzík M., Svobodová J., Kotrlíková E., Justová V., Lacinová Z., Jarkovská Z.: Plasma ghrelin levels in patients with short bowel syndrome. **Endocrine Research**, 28, 27-33, 2002 (**IF 4,939**)
9. Kršek M., Rosická M., Haluzík M., Papežová H., Křížová J., Justová V., Lacinová Z., Jarkovská Z.: Změny sérových koncentrací ghreluinu a jejich vztah k IGF-I, jeho vazebným proteinům a leptinu u pacientek s mentální anorexií. **Vnitřní Léč** ,48, 948-952, 2002.
10. Rosická M., Kršek M, Matoulek M, Jarkovská Z, Marek J, V. Justová, Z. Lacinová: Serum ghrelin levels in obese patients: The relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. **Phys Res**. 52, 61-66, 2003 (**IF 1,806**).
11. Kršek M, Rosická M., Papežová H, Křížová J, Kotrlíková E, Haluzík M, Justová V, Lacinová Z, Jarkovská Z: Plasma ghrelin levels and malnutrition: A comparison of two etiologies. **Eating and Weight Disorders**, 8, No 3, 207-211, 2003.
12. Jezkova J, Marek J, Prazny M, Kršek M, Malickova K, Rosicka M, Jarkovska Z, Pecen L.: Effect of hypercortisolism on development of atherosclerotic changes in blood vessels] **Vnitřní Léč** ;49(8):656-67, 2003.
13. Rosická M., Marek J, Hrdličková Z: Akromegalická kardiomyopatie a poruchy srdečního rytmu. Kasuistika. **Kapitoly z kardiologie**; 5, č.4, 2003.
14. Jarkovská Z., Kršek M., Rosická M., Marek J.: Endocrine and metabolic activities of recently isolated peptide hormone ghrelin, an endogenous ligand of the growth hormone secretagogue receptor. **Endocr. Regul.** Jun; 38 (2): 80-6, 2004. Review.
15. Jarkovská Z., Rosická M., Kršek M., Sulková S., Haluzik M., Justová V., Lacinová Z., Marek J.: Plasma ghrelin levels in patients with end-stages renal disease. **Phys Res**; 54(4): 403-8, 2005 (**IF 1,806**).
16. Šilha JV., Kršek M., Hána V., Marek J., Weiss V., Ježkova J., Rosická M., Jarkovská Z., Murphy LJ.: The effects of growth hormone status on circulating levels of vascular growth factors. **Clin Endocrinol. (Oxf)**. Jul; 63(1): 79-86, 2005 (**IF 3,412**).
17. Jarkovská Z., Hodková M., Szamová M., Rosická M., Dusilová-Sulková S., Marek J., Justová V., Lacinová Z., Haluzík M., Haas T., Kršek M.: Plasma levels of active and total ghrelin in renal failure: a relationship with GH/IGF-I axis. **Growth Horm IGF Res**; 15(6): 369-376, 2005 (**IF 4,939**).
18. Jarkovská Z., Rosická M., Marek J., Hána V., Weiss V., Justová V., Lacinová Z., Haluzík M., Kršek M.: Plasma levels of total and ghrelin in acromegaly and growth hormone deficiency. **Phys Res** 55(2): 175 – 181, 2006 (**IF 1,806**).
19. Maruna P., Gurlich R., Fraško R., Rosická M.: Ghrelin and leptin elevation in postoperative intra-abdominal sepsis. **Eur Surg Res**. 2005 Nov-Dec.; 37 (6): 354-9 (**IF 0,755**)



20. Kršek M, Rosická M, Nedvidková J, Kvasničková H, Hána V, Marek J, Haluzík M, Lai EW, Pacák K: Increased lipolysis of subcutaneous abdominal adipose tissue and altered noradrenergic activity in patients with Cushing's syndrome: An in vivo microdialysis study. **Phys Res**, 55(4): 421-8, 2006 (IF 1,806)

### 9.1. Účast na konferencích

21. Haluzík M., Svobodová J., Rosická M, Kotrlíková E., Kábrt J.: Sérové koncentrace leptinu a jejich vztah k bazálnímu energetickému výdeji u pacientů s malnutricí. Endokrinologické dny. Teplice, 10/1999.
22. Svobodová J., Haluzík M., Rosická M, Kotrlíková E., Kábrt J.: Vztah sérových koncentrací leptinu k regulaci bazálního energetického výdeje. Kongres Metabolická intenzivní péče a umělá výživa. Hradec Králové, 3/1999. Poster.
23. Rosická M, Hána V., Marek J., Trněný M., Plas M., Jinochová M., Siedl Z.: Centrální diabetes insipidus jako primomanifestace lymfomu. Postgraduální kurz v endokrinologii, Hradec Králové 2002, Novinky v terapii endokrinních chorob. Přednáška.
24. Kršek M., Rosická M, Papežová H., Haluzík M., Křížová J., Jarkovská Z., Justová V., Lacinová Z.: Ghrelin: současné poznatky a některé vlastní výsledky. DMEV, XXV. Endokrinologické dny Liptovský Mikuláš. Přednáška.
25. Hána V., Štěpán J., Rosická M, Křenková J., Mašatová A.: Účinek substituce růstovým faktorem na vybrané metabolické parametry u dospělých pacientů v průběhu tří let léčby. DMEV, XXV. Endokrinologické dny Liptovský Mikuláš 2002. Přednáška.
26. Maruna P., Gürlich R., Rosická M, Marunová M., Pařízková J.: Postavení leptinu v modelových situacích infekční a neinfekční zánětlivé odpovědi. DMEV, XXV. Endokrinologické dny Liptovský Mikuláš 2002. Přednáška..
27. Rosická M, Kršek M., Haluzík M., Křížová J., Justová V., Lacinová Z., Papežová H.: Změny sérových koncentrací ghrelinu u pacientek s mentální anorexií. 3. studentská vědecká konference 2002, Praha. Přednáška.
28. Kršek M., Rosická M, Papežová H., Kotrlíková E., Křížová J., Haluzík M., Justová V., Lacinová Z.: Ghrelin concentrations in patient with malnutrition. ENEA 2002 Munich, 10th Meeting of the European Neuroendocrine Association. Přednáška.
29. Maruna P., Rosická M, Pařízková J., Fraško R., Gürlich R. Leptin as a new inflammatory mediator. The relations to cytokines, acute phase proteins and body mass index. 14<sup>th</sup> Congress of Pathological and Clinical Physiology, Hradec Králové 2002. Poster.
30. Marek J., Ježková J., Prazný M., Kršek M., Malíčková K, Rosická M, Jarkovská Z., Pecen L.: Effects of hypercortisolism on development of atherosclerosis. 6<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Lyon 2003. Přednáška.
31. Ježková J, Marek J, Prazný M, Kršek M, Malíčková M, Rosická M, Jarkovská Z, Pecen L: Vliv hyperkortizolismu na rozvoj aterosklerotických cévních změn. XXVI. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Liberec, DMEV, suplementum, 2003. Přednáška.
32. Jarkovská Z, Kršek M, Rosická M, Marek J, Justová V, Lacinová Z, Haluzík M, Sulková S, Bednářová V: Vliv chronické renální insuficience na plazmatické hladiny ghrelinu. XXVI. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Liberec, DMEV, suplementum 2, 2003. Poster.
33. Rosická M, Kršek M, Matoulek, Z, Jarkovská, Z, Lacinová, V, Justová, J, Marek: Sledování změn vybraných neuropeptidů u pacientů s těžkou obezitou během desetidenní redukční hladovky. XXVI. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Liberec, DMEV, suplementum, 2003. Poster.
34. Rosická M, Kršek M, Jarkovská Z, Matoulek M, Lacinová Z, Justová V, Marek J: Změny ghrelinu, GH a IGF-systému v závislosti na změnách nutričního stavu. XXVII. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Piešťany, DMEV, suplementum, 2004. Přednáška.