

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Disertační práce

**Osa růstový hormon/IGF-I, její regulace, metabolické ovlivnění a funkce.**

**Změny plasmatických koncentrací ghrelinu u vybraných patologických stavů.**

MUDr. Zuzana Jarkovská–Adamcová

Školitel: Prof. MUDr. Josef Marek, DrSc.

III. interní klinika

1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

MUDr. Zuzana Jarkovská-Adamcová

**Osa růstový hormon/IGF-I, její regulace, metabolické ovlivnění a funkce.  
Změny plasmatických koncentrací ghrelinu u vybraných patologických  
stavů.**

Disertační práce

Praha 2006

# Disertační práce

Praha 2006

## Obsah:

Seznam zkratk.....	4
1. <b>Úvod.....</b>	<b>5</b>
2. <b>Ghrelín.....</b>	<b>6</b>
2.1. Fyziologická role ghrelínu – sekrece růstového hormonu.....	6
2.2. Sekrece dalších hypofyzárních hormonů.....	9
2.3. Faktory ovlivňující plasmatické koncentrace ghrelínu.....	9
2.4. Centrální metabolické působení ghrelínu.....	11
2.5. Ghrelín a poruchy příjmu potravy.....	12
2.6. Ghrelín u nemocných s porušenou funkcí ledvin.....	13
2.7. Ghrelín u nemocných s akromegalií.....	15
2.8. Ghrelín u nemocných s deficitem růstového hormonu.....	16
3. <b>Leptin a solubilní leptinový receptor.....</b>	<b>17</b>
4. <b>IGF-I a jeho vazebné proteiny.....</b>	<b>19</b>
5. <b>Cíl projektu.....</b>	<b>21</b>
6. <b>Metody.....</b>	<b>22</b>
7. <b>Výsledky.....</b>	<b>25</b>
7.1. Plasmatické koncentrace ghrelínu u zdravých jedinců.....	25
7.1.1 Vztah ghrelínu k parametrům osy GH/IGF-I a k základním laboratorním a antropometrickým parametrům u zdravých jedinců a v závislosti na pohlaví.....	25
7.1.2 Vliv tělesné kompozice na plasmatické koncentrace ghrelínu u zdravých subjektů.....	28
7.2. Plasmatické koncentrace ghrelínu u nemocných s akromegalií.....	31
7.3. Ghrelín u nemocných s deficitem růstového hormonu.....	37
7.4. Ghrelín u nemocných s porušenou funkcí ledvin.....	42
7.4.1. Koncentrace celkového a aktivního ghrelínu a dalších hormonálních a nutričních parametrů u nemocných s renální insuficiencí.....	42
7.4.2 Změny koncentrací celkového a aktivního ghrelínu vlivem hemodialyzační léčby.....	52
8. <b>Diskuse.....</b>	<b>58</b>
8.1. Plasmatické koncentrace ghrelínu u zdravých jedinců.....	58
8.1.1 Vztah ghrelínu k parametrům osy GH/IGF-I a k základním laboratorním a antropometrickým parametrům u zdravých jedinců a v závislosti na pohlaví.....	58
8.2. Plasmatické koncentrace ghrelínu u nemocných s akromegalií.....	61
8.3. Ghrelín u nemocných s deficitem růstového hormonu.....	63
8.4. Ghrelín u nemocných s porušenou funkcí ledvin.....	65
8.4.1. Koncentrace celkového a aktivního ghrelínu a dalších hormonálních a nutričních parametrů u nemocných s renální insuficiencí.....	65
8.4.2 Změny koncentrací celkového a aktivního ghrelínu vlivem hemodialyzační léčby.....	67
9. <b>Závěr.....</b>	<b>68</b>
10. <b>Literatura.....</b>	<b>71</b>
11. <b>Autorčiny publikace.....</b>	<b>79</b>

## Seznam zkratek

$\alpha$ MSH.....	$\alpha$ melanocyty stimulující hormon
AGRP.....	agouti-related protein
ALS.....	acidolabilní podjednotka (acid-labile subunit)
CRH.....	uvolňující hormon pro ACTH (corticotropin releasing hormone)
GH.....	růstový hormon (growth hormone)
GHRH.....	uvolňující hormon pro růstový hormon (growth hormone-releasing hormone)
GHRP-6.....	peptid-6 stimulující sekreci GH (growth hormone-releasing peptide-6)
GHS.....	sekretagogum růstového hormonu (growth hormone secretagogue)
GIT .....	gastrointestinální trakt
IGF-I.....	inzulínu podobný růstový faktor-I (insulin-like growth factor-I)
IGFBP.....	vazebný protein pro IGF (insulin-like growth factor binding protein)
MRI.....	nukleární magnetická resonance (magnetic resonance imaging)
NPY.....	neuropeptid Y
PWS.....	Praderův-Willyho syndrom
rhGH.....	rekombinantní lidský růstový hormon (recombinant human growth hormone)
POMC.....	proopiomelanocortin
RI.....	renální insuficience
RS.....	renální selhání
SLR.....	solubilní leptinový receptor (soluble leptin receptor)
WHR.....	poměr pas/boky (waist to hip ratio)

# 1. Úvod

Ghrelín patří do skupiny sekretagog růstového hormonu (GHS). Počátek jejich historie se datuje do roku 1977, kdy Bowers a spolupracovníci objevili skupinu malých peptidů se schopností stimulovat výdej růstového hormonu (GH) z buněk adenohipofýzy *in vitro* (Bowers a kol. 1977). Až do doby, kdy byl ghrelín izolován, zahrnovala tato skupina pouze uměle syntetizované látky. V průběhu let byly postupně syntetizovány další působky peptidové i nepeptidové povahy se schopností významně stimulovat sekreci GH *in vitro* i *in vivo*, např. growth hormone-releasing peptide-6 (GHRP-6) a později MK-0677 (Bowers a kol. 1984, Smith a kol. 1997). Některé látky z této skupiny, např. GHRP-6, vykazovaly schopnost stimulovat sekreci GH i při různých aplikačních cestách (intravenózní, intramuskulární, perorální).

V roce 1982 byl však izolován growth hormone-releasing hormone (GHRH), který na sebe obrátil pozornost vědců. Postupně převládlo dogma, že sekrece GH ze somatotropních buněk adenohipofýzy je výsledkem antagonistického působení dvou hypotalamických hormonů, a sice GHRH a somatostatinu, modifikovaného vlivem negativní zpětné vazby IGF-I na úrovni hypotalamu a hypofýzy i vlastního GH na hypotalamické úrovni.

Brzy se ukázalo, že GHS, GHRH i somatostatin ovlivňují sekreci GH jinými mechanismy a přes jiné receptory. Ve všech případech se jedná o receptory spřažené s G-proteinem. GHRH aktivuje adenylátcyklázu katalyzující tvorbu cAMP. cAMP následně aktivuje proteinkinázu A a ve svém důsledku sekreci hormonu. Somatostatin působí přes inhibiční receptor spřažený s G-proteinem, který zabraňuje depolarizaci membrány somatotropních buněk a tak blokuje výdej GH.

Receptor pro sekretagoga růstového hormonu (GHS-R) byl izolován až v roce 1997 (McKee a kol. 1997). Jedná se o klasický receptor spřažený s G-proteinem. Při jeho stimulaci dochází k aktivaci fosfolipázy C, což vede ke zvýšení koncentrace jednak inositol 1,4,5-trifosfátu a jeho působením k uvolnění kalcia do cytoplasmy buněk, jednak diacylglycerolu aktivujícího proteinkinázu C. GHS-R je přítomen v řadě tkání a orgánů, např. v adenohipofýze, hypotalamu, žaludku, střevu, pankreatu, myokardu, aortě, nadledvinách, plicích, játrech, ledvinách, štítné žláze, tukové tkáni, lymfatických uzlinách, příštítných tělískách, placentě, prostatě a ve slezině (Date a kol. 2000a, Papotti a kol. 2000, Shuto a kol. 2001). V současné době jsou známy 2 subtypy GHS-R, označované jako GHS-R 1a a GHS-R 1b. Ghrelín, stejně jako ostatní látky ze skupiny GHS, se váže pouze na GHS-R 1a, endogenní ligand pro GHS-R 1b dosud nebyl izolován. Velmi pravděpodobně však existují i další subtypy tohoto receptoru, čemuž nasvědčuje přítomnost vazebných míst pro GHS rozdílných od GHS-R 1a a 1b v rozličných tkáních (Papotti a kol. 2000, Ghigo a kol. 2001).

I přes intenzivní výzkum byl první endogenní ligand GHS-R izolován z tkáně krysího žaludku až v roce 1999 a nazván ghrelínem (Kojima a kol. 1999). Ghrelín je převážně produkován v žaludku (Date a kol. 2000a), i když menší produkce byla objevena i ve střevě, pankreatu, ledvině, placentě,

nadledvinách, vaječnicích, varlatech, imunokompetentních buňkách, hypofýze a hypotalamu (Date a kol. 2000a, Papotti a kol. 2000, Kršek a kol. 2002, Wierup a kol. 2002). V žaludku je ghrelin produkován endokrinními buňkami v žluďečnících žlázkách (Dornonville de la Cour a kol. 2001).

Ghrelin je peptid složený z 28 aminokyselin, třetí aminokyselinou v pořadí je serin, na který je připojen octanoylový zbytek. Tato unikátní posttranslační peptidová modifikace je esenciální pro vazbu na GHS-R1a a tudíž i pro funkci ghrelinu a hraje roli zřejmě i v transportu molekuly přes hematoencefalickou bariéru (Bednarek a kol. 2000, Kojima a kol. 1999, Matsumoto a kol. 2001).

Při dalších výzkumech bylo zjištěno, že ghrelin není jediným endogenním ligandem GHS-R. Byl izolován des-Gln<sup>14</sup>-ghrelin, peptid složený z 27 aminokyselin, který postrádá oproti ghrelinu aminokyselinu glutamin v pozici 14. Des-Gln<sup>14</sup>-ghrelin má stejné biologické účinky jako vlastní ghrelin (Hosoda a kol. 2000a).

Později byl v plasmě izolován též des-acyl ghrelin, který postrádá hydrofobní substituci v pozici 3. Des-acyl ghrelin převažuje nad ghrelinem svou koncentrací ve tkáni krysího žaludku. Také v plasmě jsou jeho koncentrace mnohonásobně vyšší, jak bylo prokázáno u krys (Hosoda a kol. 2000b) i u člověka (Yoshimoto a kol. 2002). Des-acyl ghrelin nevykazuje endokrinologické účinky jako vlastní acylovaný ghrelin, není však biologicky zcela inaktivní (Baldanzi a kol. 2001).

## 2. Ghrelin

### 2.1. Fyziologická role ghrelinu – sekrece růstového hormonu

Ghrelin stimuluje u krys sekreci GH z buněk adenohipofýzy in vitro i in vivo. Je dokonce silnějším stimulatorem sekrece GH než samotný GHRH (Kojima a kol. 1999, Seoane a kol. 2000). U lidí intravenózní podání ghrelinu způsobuje v závislosti na dávce též vzestup koncentrace GH a také platí, že ghrelin je silnějším stimulatorem sekrece GH než GHRH (Arvat a kol. 2000, Peino a kol. 2000, Takaya a kol. 2000, Ghigo a kol. 2001).

Jaká je však fyziologická role endogenního ghrelinu ve vztahu k sekreci GH není zatím vůbec jasné. Možnost, zda se ghrelin uplatňuje za fyziologických podmínek významnou měrou na sekreci GH a podobně zda endogenní GH recipročně ovlivňuje sekreci ghrelinu je stále předmětem diskusí, dosud publikované výsledky jsou do značné míry rozporuplné a neumožňují jednoznačnou odpověď. Situaci komplikuje i fakt, že koncentrace plasmatického ghrelinu převážně odráží jeho syntézu v žaludku a ostatním GIT, zatímco jeho produkce adenohipofýzou/hypotalamem v závislosti na změnách koncentrací GH je velmi malá a obtížně stanovitelná. Níže uvedené studie dále vždy zkoumaly pouze koncentrace celkového ghrelinu, které jsou dány součtem koncentrací des-acyl ghrelinu (představující cca 94% z celkové koncentrace ghrelinu) a acylovaného ghrelinu. Pouze acylovaný ghrelin má schopnost stimulovat sekreci GH.

Některá pozorování roli endogenního ghrelinu v sekreci GH i vzájemný zpětnovazebný vztah mezi oběma působky podporují. Například kontinuální periferní podání GH u krys vedlo ke snížení koncentrace hypofyzárního ghrelinu a snížilo hypofyzární expresi ghrelinového genu, samotné podání IGF-I tento efekt nezpůsobilo (Kamegai a kol. 2004). To by odpovídalo negativní zpětné vazbě mezi GH a hypofyzárním ghrelinem. Podobně synchronicita ghrelinové a GH dynamiky při nutričních manipulacích ukazuje na možnou roli ghrelinu jako promotéru sekrece GH (vysoké koncentrace GH i ghrelinu u štíhlých individuí včetně mentální anorexie a nízké koncentrace obou hormonů u obézních - Otto a kol. 2001, Cummings a kol. 2002). Další studie naznačují roli ghrelinu v generování diurnálního rytmu sekrece GH (Muller a kol. 2002) a zvýšené sekrece GH při hladovění (Toshinai a kol. 2001, Muller a kol. 2002).

Existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a osou GH/IGF-I podporuje i pozorování suprese koncentrací ghrelinu po podání GH při aerobním cvičení u nemocných s deficitem růstového hormonu (GHD) (Dall a kol. 2002). Ve studii Fredové a spolupracovníků vedla normalizace akromegalického procesu a koncentrací GH k elevaci plasmatických koncentrací ghrelinu (Freda a kol. 2003).

Z výsledků recentních studií u krys se nicméně ukazuje, že ghrelin není kriticky nutný pro sekreci GH a tato pozorování zároveň neprokazují přítomnost jejich vzájemného zpětnovazebného vztahu. Krysy, u kterých byl ghrelinový gen knockoutován a které mají koncentrace ghrelinu minimální, vykazují normální růst, tělesnou kompozici včetně kostní denzity a normální koncentrace IGF-I. Podání ghrelinu u nich vede ke stimulaci příjmu potravy, stejně jako u zdravých zvířat (Sun a kol. 2003). U lidí nedochází po podání GHRH antagonisty či GHRH antiséra k žádnému ovlivnění plasmatických koncentrací ghrelinu, i když koncentrace GH signifikantně poklesnou (Barkan a kol. 2003). Kazuistika Corbetta a spolupracovníků popisuje vysoké koncentrace ghrelinu u nemocného s pankreatickým tumorem (ghrelinomem), u něhož tyto vysoké koncentrace ghrelinu nijak neovlivnily sérové koncentrace GH a IGF-I (Corbetta a kol. 2003). V některých studiích zahrnujících pacienty s akromegalií (Barkan a kol. 2003) či s GHD (Janssen a kol. 2001) nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v koncentracích ghrelinu oproti zdravým kontrolám, přestože koncentrace GH se mezi těmito skupinami subjektů výrazně lišily a eventuální jednoduchá zpětná vazba ghrelin/GH by to předpokládala. Navíc v publikovaných studiích nebyly zjištěny korelace mezi koncentracemi ghrelinu a GH jak u zdravých jedinců, tak v případě různých patologických stavů (Cappiello a kol. 2002, Dall a kol. 2002, Torsello a kol. 2002).

Studie Dalla a spolupracovníků přináší sama o sobě rozporuplné výsledky. Zde sice došlo k supresi koncentrací ghrelinu u nemocných s GHD po podání rekombinantního lidského GH ( rhGH), avšak aerobní cvičení zdravých subjektů nevedlo k žádným změnám koncentrací ghrelinu, přestože došlo k elevaci koncentrací GH (Dall a kol. 2002).

Ghrelin svým působením vede ke stimulaci sekrece, ne však přímo syntézy GH. Opakované podání ghrelinu u krys v krátkém časovém intervalu nevede k dalším vzestupům koncentrací GH.

K tomu dochází až po uplynutí intervalu 3-4 hodin, ve kterých nebyly pozorovány spontánní epizody sekrece GH (Tolle a kol. 2001). Po podání ghrelinu dále nedochází ke stimulaci syntézy GH mRNA v adenohypofýze. Naproti tomu infuze GHRH stimuluje syntézu i sekreci GH a v experimentu u krys byla prokázána i zvýšená syntéza ghrelinu i GHS-R v adenohypofýze po podání GHRH (Kamegai a kol. 2001, Yoshihara a kol. 2002).

Některé výsledky naznačují, že exprese ghrelinu i jeho stimulační vliv na sekreci GH v adenohypofýze jsou alespoň částečně závislé na GHRH (Kamegai a kol. 2004). V experimentálních podmínkách u krys, ve kterých dochází ke zvýšení exprese hypotalamického GHRH, např. při deficitu GH způsobeném mutací GH receptoru, při hypokortikalismu a hypotyreóze, dochází ke zvýšené produkci ghrelinu v adenohypofýze. Obdobně při snížení exprese hypotalamického GHRH, např. při terapii rhGH, po podání suprafyziologických dávek glukokortikoidů, při hypertyreóze a při hladovění dochází ke snížení množství ghrelinové mRNA i ghrelinu samotného v hypofýze. V některých studiích podání antagonisty GHRH receptoru či protnutí stopky hypofýzy u krys vedlo k potlačení sekrece GH po podání GHS i ghrelinu (Tannenbaum a kol. 2001, van der Lely a kol. 2004).

Jiné práce dokládají i opačný vztah mezi GHRH a hypotalamickým ghrelinem. GHS-R jsou přítomny na hypotalamických buňkách secernujících GHRH. Podání antagonisty GHS-R významně snížilo produkci GH stimulovanou GHRH (Kamegai a kol. 2004). Lze tedy konstatovat, že GHS i GHRH participují na sekreci GH a oba systémy se vzájemně ovlivňují.

V sekreci GH existuje pohlavní dimorfismus (Jaffe a kol. 1998). Ačkoli celkový denní výdej GH se neliší mezi muži a ženami, byly opakovaně zjištěny pohlavní rozdíly v charakteru GH sekrece. U obou pohlaví převládá noční sekrece GH. Ženy mají ovšem více denních pulsů sekrece GH než muži, jejichž amplituda je relativně uniformní a bazální a střední koncentrace GH v mezidobí jsou vyšší v porovnání s muži. U mužů více převládá noční sekrece GH, noční pulsy výdeje GH mají vysokou amplitudu, naopak během dne je výdej GH relativně nízký. Uvažuje se, že na udržení vyšších koncentrací GH u žen se podílí GHRH a zvýšená citlivost hypofýzy k GHRH u žen (Jessup a kol. 2003). Pohlavní rozdíly též v.s. existují jednak v působení hypotalamického somatostatinu, který se více podílí na ovlivnění sekrece GH u mužů, jednak v síle negativní zpětné vazby IGF-I potlačující sekreci GH. Barkan na základě výsledků své studie zvažuje možnou roli ghrelinu v udržení vyšších koncentrací GH u žen (Barkan a kol. 2003).

Sekrece GH je tedy nejspíše ovlivňována vzájemným působením GHRH, somatostatinu, ghrelinu, negativní zpětné vazby IGF-I i samotného GH a zvažuje se též potenciální vliv dalších neuropeptidů. Výsledky některých studií naznačují, že amplituda GH pulsů u člověka může být převážně řízena GHRH a frekvence pulsatilní sekrece GH je patrně ovlivněna oscilacemi v koncentracích somatostatinu/ghrelinu (Maheshwari a kol. 2001).

Buňky produkující ghrelin byly prokázány v adenohypofýze i hypotalamu. V současné době někteří autoři na základě svých pozorování uzavírají, že endogenní sekrece GH je parakrinně ovlivněna ghrelinem přítomným v adenohypofýze (Korbonits a kol. 2001, Kamegai a kol. 2004), jiní



autoři připisují rozhodující vliv na sekreci GH hypotalamickému ghrelinu (Popovic a kol. 2003, van der Lely a kol. 2004). Cirkulující ghrelin v plasmě zřejmě není významnějším regulátorem sekrece GH z adenohypofýzy, i když byl popsán aktivní transport ghrelinu přes hematoencefalickou bariéru (Banks a kol. 2002). K definitivnímu objasnění, která z hypotéz nejvíce odpovídá skutečnosti, bude zapotřebí dalšího výzkumu.

## **2.2. Sekrece dalších hypofyzárních hormonů**

Po intracerebroventrikulárním podání ghrelinu u krys dochází kromě stimulace sekrece GH také ke stimulaci výdeje ACTH a následně kortizolu a k inhibici sekrece TSH. Po periferním podání ghrelinu u krys dochází pouze ke zvýšení sérových koncentrací GH, koncentrace ostatních hormonů nejsou ovlivněny (Date a kol. 2000b, Wren a kol. 2000). Po intravenózním podání u krys ghrelin blokuje stimulovanou sekreci somatostatinu, zatímco jeho bazální sekrece zůstává neovlivněna (Tolle a kol. 2001).

U lidí intravenózní podání ghrelinu vede kromě stimulace sekrece GH také ke zvýšení koncentrací prolaktinu, ACTH a kortizolu (Arvat a kol. 2001b), byla pozorována též stimulace sekrece aldosteronu (Arvat a kol. 2001a). Koncentrace FSH, LH i TSH zůstávají konstantní (Takaya a kol. 2000). Tento stimulační vliv na sekreci ACTH a kortizolu byl pozorován i u nemocných s GHD (Aimaretti a kol. 2002).

## **2.3. Faktory ovlivňující plasmatické koncentrace ghrelinu**

Bylo zjištěno, že u krys plasmatické koncentrace ghrelinu stoupají při hladovění a klesají po příjmu potravy (Toshinai a kol. 2001). Tyto změny jsou způsobeny změnou sekrece ghrelinu v žaludku a jsou reversibilní po realimentaci (Toshinai a kol. 2001).

Vzestup koncentrací ghrelinu při hladovění a jejich postupný pokles po nasycení byl zjištěn i u lidí. Bylo opakovaně pozorováno, že plasmatické koncentrace ghrelinu negativně korelují s BMI a obsahem tělesného tuku (Capiello a kol. 2002). Koncentrace ghrelinu jsou nízké u obézních individuí (výjimkou je Praderův-Willyho syndrom, viz níže), u kterých stoupají po redukci hmotnosti (Tschöp a kol. 2001), naopak jsou zvýšené u štíhlých jedinců, nemocných s mentální anorexií i kachexií nejrůznější etiologie a snižují se po dietní intervenci vyústující v nárůst hmotnosti (Becker a kol. 1999, Otto a kol. 2001).

Intravenózní či perorální podání glukózy vede k supresi plasmatických koncentrací ghrelinu u krys i u člověka (Ariyasu a kol. 2002, Nakagawa a kol. 2002, Shiiya a kol. 2002). Pouze ve studii Capiella nebyla prokázána suprese koncentrací ghrelinu při orálním glukózovém tolerančním testu,

avšak jednalo se o nemocné s akromegalií (Cappiello a kol. 2002) a v jiné studii u těchto nemocných suprese koncentrací ghrelinu pozorována byla (Freda a kol. 2003).

Hyperinzulinémie, ať již se současnou hypoglykemií či v euglykemickém clampu, snižuje plasmatickou koncentraci ghrelinu (Lucidi a kol. 2002, McCowen a kol. 2002, Saad a kol. 2002). Na základě těchto pozorování autoři uvedených studií uzavírají, že inzulín přímo či nepřímo zprostředkovává vliv nutrice či aktuální energetické bilance na koncentraci ghrelinu a naopak. Pokles koncentrací inzulínu při hladovění dle této hypotézy vede k vzestupu koncentrací ghrelinu, zatímco postprandiální hyperinzulinismus způsobuje jev opačný. Chronický hyperinzulinismus u obézních jedinců a nízká koncentrace inzulínu u kachexie by obdobně stejným mechanismem měla ovlivňovat plasmatické koncentrace ghrelinu u chronických nutričních změn. Nicméně ani zde nepanuje naprostá shoda mezi autory, v recentní studii Schallera a kol. (2003) došlo k supresi koncentrací ghrelinu u lidí pouze při použití suprafyziologických dávek inzulínu, samotná hyperglykémie vedoucí k fyziologickému hyperinzulinismu koncentrace ghrelinu neovlivnila. Navíc u krys byl v jedné studii pozorován opačný jev, podání inzulínu vedlo ke stimulaci syntézy a sekrece ghrelinu v žaludku (Toshinai a kol. 2001).

Pokud se týče změn koncentrací inzulínu působením ghrelinu, podání ghrelinu vedlo k potlačení sekrece inzulínu u lidí (Broglio a kol. 2001) i u krys (Egido a kol. 2002), což by mohla opět být hormonální odpověď na hladovění (viz výše), udržující koncentrace glukózy v normálním rozmezí inhibicí sekrece inzulínu. Podobně v ojedinělých kasuistikách nemocných s tumory secernujícími ghrelin (Corbetta a kol. 2003, Tsolakis a kol. 2004) došlo v průběhu nemoci k potlačení sekrece inzulínu a k rozvoji diabetu mellitu, a u myši s knockoutovaným ghrelinovým genem byly detekovány zvýšené koncentrace inzulínu (Sun a kol. 2005). Jiné studie ovšem popisují stimulaci sekrece inzulínu po podání ghrelinu z izolovaných buněk krysího (Adeghate a Ponery 2002) či lidského pankreatu (Date a kol. 2002). Podání ghrelinu vedlo u lidí k hyperglykémii (Broglio a kol. 2001), v jiné studii došlo ke zvýšení koncentrací glukózy ale i inzulínu pouze po podání acylovaného (aktivního) ghrelinu, desacylovaný ghrelin tyto biochemické změny nevyvolal (Gauna a kol. 2004). Z uvedeného vyplývá, že zatím nelze jednoznačně stanovit vzájemný vztah ghrelinu a inzulínu a v této oblasti je zapotřebí dalšího výzkumu.

K dalším působkům ovlivňujícím koncentraci ghrelinu patří somatostatin. Tento, stejně jako jeho analoga, způsobuje signifikantní pokles plasmatické koncentrace ghrelinu (Broglio a kol. 2002a, Norrelund a kol. 2002) a navíc způsobuje ztrátu jeho diurnální variability (Barkan a kol. 2003). Infuze glukózy, stejně jako lipid-heparinová infuze stimulující výdej somatostatinu z hypotalamu redukuje, nicméně nedokáže eliminovat sekreci GH řízenou ghrelinem (Broglio a kol. 2002b), zatímco stimulace sekrece GH po podání GHRH je kompletně potlačena (Di Vito a kol. 2002).

Sérové koncentrace leptinu negativně korelují s plasmatickými koncentracemi ghrelinu (Cappiello a kol. 2002), navíc podání leptinu u krys vedlo ke snížení koncentrací ghrelinu a podobně po podání ghrelinu došlo ke snížení koncentrací leptinu (Toshinai a kol. 2001, van der Lely a kol.

2004). Tyto nálezy vedly k úvahám o tom, že leptin a ghrelin recipročně vzájemně ovlivňují svou sekreci. Nicméně recentní výsledky studií na myších s vyřazením ghrelinového či GHS-R genu naznačují, že vzájemná regulace těchto dvou hormonů je komplexnější a zahrnuje i spolupodíl dalších regulačních mechanismů. V tomto případě nedochází ke změně fyziologické sekrece leptinu v závislosti na akutních či chronických nutričních změnách i přes to, že koncentrace ghrelinu jsou buď minimální anebo je jeho působení přes GHS-R zablokováno (Sun a kol. 2003, Sun a kol. 2004). Další vzájemné působení ghrelinu a leptinu je zmíněno v části pojednávající o centrálním metabolickém působení ghrelinu.

Sekrece ghrelinu je též ovlivněna v závislosti na pohlaví. U žen v pozdně folikulární fázi byly zjištěny signifikantně vyšší koncentrace ghrelinu (Barkan a kol. 2003). I v sekreci GH existuje pohlavní dimorfismus (viz výše), někteří autoři tedy zvažují kromě jiných vlivů i roli endogenního ghrelinu způsobující pohlavní dimorfismus sekrece GH (Barkan a kol. 2003).

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

## **2.4. Centrální metabolické působení ghrelinu**

Exogenně podaný ghrelin vede u krys ke stimulaci příjmu potravy, což způsobuje nárůst hmotnosti a signifikantní zvýšení množství tukové tkáně, beze změny množství beztukové tkáně, kostní hmoty a bez stimulace růstu (Nakazato a kol. 2001, Wren a kol. 2000). Dochází k nárůstu respiračního kvocientu, což naznačuje zvýšený katabolismus sacharidů a naopak snížení utilizace tuku. Lipogenetický efekt ghrelinu se zdá být nezávislým na působení GH, protože GH zvyšuje výdej energie a snižuje množství tělesného tuku aniž by ovlivnil respirační kvocient. Tento celkově anabolický efekt ghrelinu (možno chápat jako biologický adaptační mechanismus zajišťující substrát růstu pro působení GH) byl pozorován i u myší s GHD (Tschöp a kol. 2000). U krys, u kterých byl ghrelinový gen knockoutován, nebyly nicméně zjištěny významné odchylky ve velikosti a tělesné kompozici ani v rychlosti růstu a schopnosti reprodukce. Nebyl nalezen rozdíl mezi příjmem stravy u myší s vyřazeným ghrelinovým genem a u zdravých kontrol, což nepotvrzuje hlavní ani unikátní roli ghrelinu ve stimulaci příjmu potravy (Sun a kol. 2003). Recentní studie u myší s knockoutovaným ghrelinovým genem naznačily možnou roli ghrelinu v určení metabolického substrátu, který je využíván k udržení energetické bilance při příjmu diety s vysokým obsahem tuků (Wortley a kol. 2004).

Produkce ghrelinu byla prokázána i v hypotalamických buňkách lokalizovaných v okolí třetí mozkové komory. Tyto neurony jsou v kontaktu s buňkami secernujícími neuropeptid Y (NPY), agouti-related protein (AGRP) a další hormony (POMC/ $\alpha$ -MSH, GHRH a CRH), které jsou

lokalizovány v oblasti nucleus arcuatus. NPY je jedním z nejúčinnějších stimulátorů příjmu potravy a tím i nárůstu hmotnosti. Během podání ghrelinu byla pozorována zvýšená exprese markerů neuronální aktivace (Fos a Egr-1 protein), stejně jako exprese NPY mRNA a sekrece NPY v těchto neuronech (Nakazato a kol. 2001, Shintani a kol. 2001). Po podání protilátek proti NPY či antagonistů NPY-receptoru Y1 a Y5 došlo k inhibici ghrelinem indukované hyperfagie. Při intracerebroventrikulárním podání protilátek proti ghrelinu však nebyl pozorován inhibiční efekt na NPY indukovanou hyperfagii (Nakazato a kol. 2001). Neurony produkující NPY a AGRP jsou přítomny společně v nucleus arcuatus a AGRP antagonisté taktéž potlačí ghrelinem indukovaný příjem potravy. Tato fakta naznačují, že ghrelin užívá NPY/AGRP systém pro své orexigenní působení (Horvath a kol. 2001). Ghrelin navíc inhibuje sekreci serotoninu z krysích hypothalamických neuronálních synapsí in vitro, podobně jako orexin A a B, což také může přispět k jeho orexigennímu působení (Brunetti a kol. 2002).

Ghrelin blokuje leptinem indukovanou redukci příjmu potravy a obdobně leptin potlačuje ghrelinem indukovanou hyperfagii u krys. Vzhledem k tomu, že i leptin využívá při svém anorektickém působení systém NPY/AGRP je pravděpodobné, že opačné účinky těchto hormonů jsou způsobeny vzájemně antagonistickou regulací NPY/AGRP systému na úrovni hypothalamu (Nakazato a kol. 2001).

## 2.5. Ghrelin a poruchy příjmu potravy

Po zjištění výrazného orexigenního působení ghrelinu se zpočátku zvažovala jeho možná kauzální role v etiopatogenezi obezity. Vysoké koncentrace ghrelinu by tak u predisponovaných jedinců mohly vést k rozvoji obezity. Plasmatické koncentrace ghrelinu nicméně v převážné většině studií negativně korelují s body mass indexem (BMI) popř. i s obsahem tělesného tuku a koncentrace ghrelinu u obézních jsou oproti původnímu předpokladu nízké (Tschöp a kol. 2001, Cappiello a kol. 2001) a vzrůstají po redukci hmotnosti (Tschöp a kol. 2001).

V některých studiích (Cummings a kol. 2002, Shiiya a kol. 2002) plasmatické koncentrace ghrelinu u subjektů s normální tělesnou hmotností vykazovaly určitý diurnální profil podobný profilu sérových koncentrací GH. Bylo zjištěno, že koncentrace ghrelinu stoupají 1-2 hodiny před každým jídlem a po najedení klesají na bazální hodnoty opět během 1-2 hodin. U zdravých dobrovolníků podaný ghrelin vyvolal pocit hladu, a proto nárůst jeho koncentrací před jídlem může hrát roli v iniciaci příjmu potravy. Koncentrace ghrelinu mezi hlavními jídly při sledování jeho diurnálního profilu postupně vzrůstaly v průběhu dne, minimálních hodnot dosahovaly mezi 9. a 10. hodinou dopoledne a maximálních hodnot mezi půlnocí a 2. hodinou ranní (Cummings a kol. 2002). Denní kolísání koncentrací ghrelinu ovšem nebylo pozorováno všemi autory (Barkan a kol. 2003).

U obézních jedinců jsou snížené koncentrace ghrelinu a nedochází k jejich supresi po příjmu potravy (English a kol. 2002). Toto je nicméně reverzibilní stav, po snížení hmotnosti koncentrace

ghrelinu vzrůstají a jeho reaktivita na příjem potravy se obnovuje (Cummings a kol. 2002). Obézní jedinci zároveň vykazují abnormální spontánní sekreci GH, stejně jako porušenou somatotropní reaktivitu na různé provokativní stimuly. Insuficience somatotropní osy u obézních je reverzibilní, po normalizaci hmotnosti dietními opatřeními dochází k znovuoživení původního stavu. Hyposomatotropismus u obézních jedinců je nejspíše podmíněn multifaktoriálně, přispívají k němu metabolické změny jako chronická elevace volných mastných kyselin, hyperinzulinismus atd., nicméně ve světle nových poznatků nelze vyloučit i vliv ghrelinu (Maccario a kol. 2002).

U prosté obezity ghrelin pravděpodobně není hledaným kauzálním orexigenním faktorem. Ačkoli jsou koncentrace ghrelinu u obézních sníženy, jak je uvedeno výše, výjimkou v tomto ohledu jsou nemocní s Praderovým-Willyho syndromem (PWS), u nichž nacházíme vysoké plasmatické koncentrace ghrelinu a kde by orexigenní a ve svém důsledku i adipogenní efekt ghrelinu mohl hrát roli. PWS je charakterizován excesivním přejídáním, progresivní masivní obezitou, mentální retardací a abnormální tělesnou kompozicí se zmnožením tukové tkáně. Na rozdíl od prosté obezity jsou v případě PWS vysoké koncentrace ghrelinu spojeny s pozitivními korelacemi mezi koncentracemi ghrelinu a subjektivními pocity hladu ukazující na možný patofyziologický vztah ghrelinu k hyperfagii a obezitě u PWS (Delparigi a kol. 2002). Toto onemocnění je dále charakterizováno deficitem somatotropní osy, avšak kauzální vztah mezi relativní deficiencí GH a hyperghrelinemií, včetně studií u nemocných s podáváním rhGH, nebyl prokázán (Hoybye a kol. 2004, Tauber a kol. 2004). Také u nemocných s bulimia nervosa byly pozorovány signifikantně zvýšené koncentrace ghrelinu oproti kontrolní skupině, což naznačuje jeho možnou roli jako iniciátoru hyperfagie (Tanaka a kol. 2002). Podobně byl v ojedinělých kasuistikách u nemocných s tumory gastrointestinálního traktu secernujícími ghrelin (ghrelinomy), jež vedly k jeho suprafyziologickým koncentracím, zjištěn vyšší BMI i obsah tělesného tuku u těchto nemocných (Corbetta a kol. 2003, Tsolakis a kol. 2004).

Nemocní s mentální anorexií mají vysoké koncentrace ghrelinu (Becker a kol. 1999). Po terapeutické intervenci vedoucí k nárůstu tělesné hmotnosti dochází k jejich signifikantnímu snížení (Otto a kol. 2001).

Zdá se tedy, že změny plasmatických koncentrací ghrelinu s nutričním stavem souvisí, za fyziologického stavu jsou však spíše následkem než příčinou zvýšeného obsahu tuku v organismu a jeho změn. Pravděpodobně není hlavním orexigenním faktorem způsobujícím prostou obezitu u člověka, avšak u některých patologických stavů spojených s vysokými koncentracemi ghrelinu se tento jeho vliv uplatňovat může.

## **2.6. Ghrelin u nemocných s akromegalií**

Akromegalie je onemocnění charakterizované zvýšenou autonomní sekrecí GH v dospělosti způsobenou nejčastěji adenomem hypofýzy z eosinofilních buněk. Jen vzácně se jedná o ektopickou

paraneoplastickou sekreci GHRH z maligních tumorů či o autonomní sekreci GHRH z hypothalamických hamartomů, které způsobují hyperplazii somatotropních buněk adenohypofýzy. Diagnóza je stanovena jednak na základě klinických charakteristik, protože dochází k řadě morfologických změn, jednak na základě laboratorních nálezů a nálezů zobrazovacích metod, při kterých je adenom lokalizován. Laboratorně jsou prokazatelné vysoké koncentrace GH, IGF-I, IGFBP-3 a nesupresibilita elevovaných koncentrací GH k bazálním hodnotám při orálním glukózovém tolerančním testu.

Ghrelín se uplatňuje jako silné sekretagogum růstového hormonu, a proto lze předpokládat změny jeho plasmatických koncentrací u onemocnění charakterizovaného abnormální sekrecí GH. U tohoto onemocnění se zprvu uvažovalo o existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelínem a komponentami somatotropní osy, která by vedla k supresi koncentrací ghrelínu. V době sbírání dat pro naši studii bylo publikováno několik prací zabývajících se stanovením koncentrací ghrelínu u akromegalie, avšak tyto studie nepřinesly jednoznačné výsledky, které by objasnily patofyziologickou úlohu ghrelínu v endogenní sekreci GH u tohoto onemocnění. Někteří autoři detekovali nižší koncentrace ghrelínu oproti zdravým kontrolám (Cappiello a kol. 2002, Freda a kol. 2003, Ronchi a kol. 2004), v jiných studiích se koncentrace ghrelínu od zdravých subjektů nelišily (Norrelund a kol. 2002, Barkan a kol. 2003). Žádný statisticky významný vztah mezi koncentracemi ghrelínu a GH či IGF-I v daných studiích prokázán nebyl. Problémem těchto prací je fakt, že autoři v nich dosud stanovovali pouze koncentrace celkového ghrelínu, ne biologicky aktivní frakce (aktivního ghrelínu), který představuje minoritní podíl v plasmě a jehož plasmatické změny nemusejí odrážet změny koncentrací celkového ghrelínu. Navíc koncentrace biologicky účinného peptidu produkovaného lokálně v hypofýze či hypothalamu u těchto nemocných nejsou známy a zpětnovazebné regulační mechanismy v této oblasti jsou obtížně prokazatelné.

Zajímavé výsledky přinesly studie zabývající se vlivem různých léčebných modalit u akromegalie na změny koncentrací ghrelínu. U nemocných léčených neurochirurgickou operací došlo po normalizaci koncentrací GH i IGF-I k výraznému zvýšení hladin celkového ghrelínu, naopak u pacientů léčených somatostatinovými analogy koncentrace celkového ghrelínu klesly (Freda a kol. 2003, Norrelund a kol. 2002).

Další a svou koncepcí ojedinělá studie Arosia a spolupracovníků zkoumala vliv exogenně podaného ghrelínu na koncentrace GH. I u nemocných s akromegalií zůstala zachována stimulace sekrece GH po podání acylovaného ghrelínu (Arosio a kol. 2004).

Výsledky výše uvedených pozorování tedy neumožňují jednoznačné zhodnocení patofyziologického významu endogenně produkovaného ghrelínu u akromegalie, jeho úlohy v endogenní sekreci GH u tohoto onemocnění ani změn jeho koncentrací po úspěšném vyléčení akromegalického procesu. Koncentrace ghrelínu mohou odrážet vliv změn tělesného složení jež vznikají u nemocných s akromegalií (vyšší podíl beztukové hmoty a menší obsah tělesného tuku při aktivním onemocnění a naopak vzestup adipozity po úspěšné léčbě), může se podílet i

hyperinzulinismus u akromegalie hypoteticky suprimující koncentrace ghrelinu a pokles koncentrací inzulínu po vyléčení, nelze vyloučit ani vliv zpětné vazby GH/IGF-I event. jiné dosud nepoznané mechanismy. Posledně jmenovaný mechanismus by mohl vést k elevaci koncentrací ghrelinu po poklesu koncentrací GH a IGF-I po operaci hypofýzy, v případě podávání somatostatinových analog lze uvažovat o přímé blokádě sekrece ghrelinu endokrinními buňkami žaludeční sliznice. Kromě přímého vlivu somatostatinu na somatotropní buňky hypofyzárního adenomu potlačujícího sekreci GH se tudíž může uplatnit i vliv změněné sekrece ghrelinu v žaludku.

## 2.7. Ghrelin u nemocných s deficitem růstového hormonu

Deficit růstového hormonu (GHD) se může vyvinout následkem celé řady patologických stavů během dětství či v dospělosti. Ačkoli může být přítomen izolovaně jako jedinná endokrinopatie, častěji je součástí mnohočetných hormonálních deficitů, kdy GH je typicky prvním hormonem, jehož sekrece je u patologických stavů postižena. Nejčastější příčiny těchto stavů jsou tumory hypotalamo-hypofyzárního systému a jejich terapie, ozáření, trauma, vaskulární příhody, infekce a infiltrativní choroby. V dospělosti, kdy chybí hlavní klinický příznak deficitu GH a sice zástava růstu, je tento stav v počátku klinicky obtížně detekovatelný. Diagnóza je postavena na základě provedení stimulačních testů, např. testu s inzulínem indukovanou hypoglykemií, dále je možno využít argininový, glukagonový, klonidinový test, test s GHRH a GH sekretagogy atd. Za těžký deficit GH se považuje stav, kdy v testu s inzulínem indukovanou hypoglykemií nepřekročí indukovaná koncentrace GH 3  $\mu\text{g/l}$  (6mIU/l).

U nemocných s GHD byly v průběhu provádění naší studie různými autory postupně zjištěny a publikovány ve studiích různé koncentrace ghrelinu - stejné jako u kontrolních osob (Malik a kol. 2004), nesignifikantně nižší oproti zdravým jedincům (Janssen a kol. 2002), či signifikantně snížené (Giavoli a kol. 2004). Nebyly zjištěny žádné korelace mezi koncentracemi ghrelinu a GH či IGF-I.

Několik vědeckých skupin zjišťovalo změny koncentrací ghrelinu při terapii těchto nemocných rhGH a výsledky jsou opět rozporuplné. Ve studii Janssen nedošlo po ročním podávání rhGH k signifikantním změnám v koncentracích ghrelinu, naproti tomu ve studii Engströmově došlo po devítiměsíčním podávání rhGH k poklesu koncentrací ghrelinu (Janssen a kol. 2002, Engström a kol. 2004). Rozporuplné výsledky pozorovala i Giavoliová a spolupracovníci (2004). V této studii došlo ke vzestupu koncentrací ghrelinu, které tak dosáhly hodnot nalézáných u zdravé populace po ročním podávání rhGH, zatímco po krátkodobém týdenním podání vysokých dávek rhGH vedoucích k elevaci IGF-I nad fyziologické hodnoty koncentrace ghrelinu klesly (Giavoli a kol. 2004).

U nemocných s GHD dochází po dlouhodobém podávání rhGH i beze změny hmotnosti k poklesu celkového množství tělesného tuku (Janssen a kol. 2002, Engström a kol. 2003), eventuelně současně i k poklesu hmotnosti a tím i BMI (Giavoli a kol. 2004). Dochází k vzestupu koncentrací

inzulínu (Enström a kol. 2004). Plasmatické koncentrace ghrelinu a jejich změny při léčbě těchto nemocných by mohly opět být způsobeny negativní zpětnou vazbou mezi ghrelinem a komponentami osy GH/IGF-I, ale podílet se mohou i změny množství tělesného tuku, koncentrací inzulínu či jiné dosud nepoznané faktory. Opět je komplikujícím faktem to, že uvedené studie dosud stanovovaly pouze koncentrace celkového, ne biologicky aktivního ghrelinu.

U nemocných s GHD vede podání ghrelinu k signifikantnímu vzestupu koncentrací GH. Jeho stimulační efekt je silnější než působení GHRH + argininu či efekt inzulínem indukované hypoglykémie, nicméně indukované koncentrace GH jsou nižší než u zdravých kontrol. Také u těchto nemocných podání ghrelinu vede ke zvýšení koncentrací ACTH, kortizolu a prolaktinu (Aimaretti a kol. 2002).

## **2.8. Ghrelin u nemocných s porušenou funkcí ledvin**

Renální selhání je charakterizováno mnohočetnými endokrinními a metabolickými abnormalitami, které vznikají jako následek změny sekrece a metabolismu hormonů a růstových faktorů na jedné straně a změny orgánové sensitivity k jejich fyziologickému působení na straně druhé. Tyto změny postihují i somatotropní osu a vedou k určité rezistenci na působení GH. Při poruše funkce ledvin dochází k vzestupu pulsatilní sekrece GH, což ve spojení se sníženou clearance vede ke zvýšení sérových koncentrací GH. Na druhé straně bývá postižena sekrece IGF-I v játrech při urémii a proto jsou cirkulující koncentrace IGF-I normální či lehce elevované, avšak vzhledem ke zvýšeným koncentracím GH jsou neadekvátně nízké. K tomu přistupuje snížená dostupnost IGF-I při vazbě na vazebné proteiny pro IGF (IGFBP 1-6), jejichž koncentrace následkem kumulace v organismu při renálním selhání též vzrůstají. A dalším faktorem prohlubujícím GH/IGF-I rezistenci při onemocnění ledvin jsou jejich předpokládané receptorové a postreceptorové poruchy. Renální selhání tak není stavem deficitu endogenního GH či IGF-I, ale spíše stavem, kdy regulace a dostupnost jednotlivých komponent somatotropní osy je porušena (Roelfsema a kol. 2001).

V buňkách glomerulu i ledvinných tubulů byly nalezeny receptory pro GH i IGF-I. GH i IGF-I vedou ke zvýšení průtoku plasmy ledvinami a ke zvýšení glomerulární filtrace. Expres genu pro ghrelin i pro GHS-R byla také nalezena v ledvinné tkáni: v podocytech, mesangiálních buňkách, v buňkách glomerulu i ve fibroblastech, a to jak u hlodavců, tak v lidské ledvině (Mori a kol. 2000, Papotti a kol. 2000). Avšak patofyziologický význam produkce ghrelinu ledvinami zatím není znám.

V průběhu sbírání dat naší studie bylo publikováno několik prací, jež zjišťovaly změny plasmatických koncentrací ghrelinu u nemocných s porušenou funkcí ledvin. U nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním (RI/RS) byly ve studiích uniformně zjištěny zvýšené koncentrace celkového ghrelinu (Yoshimoto a kol. 2002, Pérez-Fontán a kol. 2004, Rodriguez Ayala a kol. 2004,



Schmidt a kol. 2004), avšak regulace sekrece ghrelinu a její vztah k sekreci GH či IGF-I u renálních onemocnění není zcela objasněna.

Koncentrace GH jsou při porušené funkci ledvin zvýšené a hemodialýza vede k jejich poklesu. Pokud se týče vztahu mezi ghrelinem a GH, byly mezi koncentracemi těchto parametrů nalezeny pozitivní korelace ve dvou studiích (Yoshimoto a kol. 2002, Pérez-Fontán a kol. 2004), Yoshimoto a spolupracovníci zkoumali též koncentrace aktivního ghrelinu, které také s koncentracemi GH pozitivně korelovaly. V jiných uvedených studiích žádná asociace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a GH potvrzena nebyla.

Na regulaci plasmatických koncentrací ghrelinu u RI/RS se v.s. podílí více faktorů. Jedním z nich je porucha ledvinové funkce, která vede k jeho kumulaci v organismu. Ačkoli v některých studiích nebyla nalezena žádná asociace mezi koncentracemi ghrelinu a renální funkcí (Pérez-Fontán a kol. 2004, Rodriguez Ayala a kol. 2004), po hemodialýze byl zjištěn pokles koncentrací celkového event. i acylovaného ghrelinu (Yoshimoto a kol. 2002, Schmidt a kol. 2004). Při studiích u kryš vedla heminefrectomie či bilaterální nefrectomie ke značnému nárůstu plasmatických koncentrací celkového ghrelinu a navíc byl ghrelin detekován v moči zdravých subjektů, což naznačuje jeho filtraci či aktivní sekreci do moči (Yoshimoto a kol. 2002).

Z dalších faktorů určujících koncentrace ghrelinu u onemocnění ledvin se podobně jako u zdravých jedinců zvažuje negativně zpětnovazebné působení koncentrací inzulínu a leptinu, koncentrace ghrelinu negativně korelují též s BMI a procentem viscerálního tuku (Rodriguez Ayala a kol. 2004), i když ani tento vztah nebyl potvrzen všemi autory (Pérez-Fontán a kol. 2004). Jednoznačně nelze ani usuzovat na vliv nutričních parametrů či markerů zánětu (Pérez-Fontán a kol. 2004, Schmidt a kol. 2004).

### **3. Leptin a solubilní leptinový receptor**

Leptin je proteinový hormon objevený v roce 1994 klonováním myšského ob genu (Zhang a kol. 1994). Jeho funkce u myší byla částečně objasněna studiemi na ob/ob myších, které v důsledku mutace ob genu produkují inaktivní leptin. Tito hlodavci se vyznačují obezitou a hyperfagií, podání rekombinantního leptinu vede k redukci hmotnosti a normalizaci příjmu potravy (Halaas a kol. 1995). Leptin vede u kryš ke zvýšení bazálního energetického metabolismu zvýšenou sympatickou nervovou aktivitou a termogenezí v tukové tkáni a ve svazech (Scarpace a kol. 1997).

I u lidí je leptin považován za signál informující centrální nervovou soustavu o stavu tukových zásob organismu a jeví se jako dlouhodobý regulační signál chuti k jídlu. Hlavním producentem leptinu jsou adipocyty, jeho produkce však byla identifikována i v dalších tkáních (Banks a kol. 1996).

Koncentrace leptinu u lidí koreluje pozitivně s BMI a obsahem tělesného tuku, obézní jedinci mají zvýšené koncentrace leptinu (Maffei a kol. 1995). Nejen u chronických, ale také u akutních změn nutričního stavu dochází k ovlivnění sérových hladin leptinu. Hladovění vede ke snížení jeho koncentrací, naopak příjem potravy koncentrace leptinu zvyšuje. Zvýšená koncentrace leptinu fyziologicky vede k omezení příjmu potravy. Toto však neplatí u obézních jedinců, kteří mají zvýšené koncentrace leptinu, jež se neuplatňují v supresi příjmu potravy. U těchto nemocných se předpokládá vznik rezistence k působení leptinu (Sinha a Caro 1998). Kromě obsahu tělesného tuku a BMI se za klíčový regulátor sekrece leptinu považuje inzulin, jež stimuluje jeho sekreci (Kolaczynski a kol. 1996). Koncentrace leptinu vykazují cirkadiánní rytmicitu s maximálním vzestupem v časných ranních hodinách. Diurnální rytmus je potlačen při dlouhodobém hladovění, kdy koncentrace leptinu, zprvu elevované u obézních jedinců, klesají (Sinha a kol. 1996).

V případě kachexie, malnutrice nejrůznější etiologie i mentální anorexie nacházíme nízké koncentrace leptinu (Haluzík a kol. 1999). Naproti tomu u nemocných s renální insuficiencí či renálním selháním v dialyzačním programu jsou koncentrace leptinu zvýšené, přestože tito nemocní často trpí malnutricí, anorexií a mají snížený obsah tělesného tuku (Stenvinkel a kol. 2000). Podíl leptinu na etiologii anorexie těchto nemocných se předpokládá, i když výsledky nejsou jednoznačné. Vysoké koncentrace leptinu jsou v tomto případě způsobeny nejspíše vlivem snížené clearance a degradace leptinu při onemocnění ledvin, na druhé straně nebyly jednoznačně prokázány korelace mezi koncentracemi leptinu a urey, kreatininu či glomerulární filtrací. Proto se u těchto stavů předpokládá i jiná příčina hyperleptinémie. I zde zůstávají zachovány pozitivní korelace mezi koncentracemi leptinu a obsahem tělesného tuku, BMI a koncentracemi inzulinu a právě hyperinzulinémie resp. inzulinová rezistence je dalším možným etiologickým faktorem elevujícím koncentrace leptinu. Koncentrace leptinu závisí též na propustnosti dialyzační membrány, proto v některých studiích po dialýze nedošlo ke změně koncentrací leptinu (Sharma a kol. 1997, Haluzík a kol. 2000), v jiných sérové koncentrace leptinu klesly (Wiesholzer a kol. 1998).

V cílových tkáních působí leptin po vazbě na svůj receptor, jež se skládá z extracelulární a intracelulární domény. Solubilní leptinový receptor (SLR), jehož koncentraci určujeme v séru, je strukturálně shodný s extracelulární částí leptinového receptoru a je hlavním plasmatickým vazebným proteinem pro leptin. Jeho funkce je nejspíše modulační – vazbou leptinu snižuje jeho působení ve tkáních, na druhé straně prodlužuje jeho biologický poločas (ochrana leptinu před degradací sérovými proteázami) a tím může ekonomizovat jeho účinek (Lammert a kol. 2001). Předpokládá se, že biologicky aktivní je pouze volný leptin.

V koncentracích leptinu existuje pohlavní dimorfismus, sérové koncentrace leptinu jsou 2-3x vyšší u žen než u mužů odpovídajícího BMI. Příčina není zcela jasná, může se jednat o vliv pohlavních hormonů či o vliv relativně vyššího podílu tělesného tuku u žen (Ostlund a kol. 1996).

Koncentrace leptinu jsou dle dostupných studií sníženy u pacientů s akromegalií, tito nemocní mají též nižší obsah tělesného tuku oproti zdravé kontrolní skupině. Pohlavní rozdíly

v koncentracích leptinu jsou přítomny i u tohoto onemocnění. Po úspěšné normalizaci koncentrací GH/IGF-I (po operaci hypofýzy či při podávání somatostatinových analog) dochází k signifikantnímu vzestupu koncentrací leptinu i obsahu tělesného tuku, který nemusí být doprovázen zvýšením BMI. Opět i v případě akromegalie zůstávají zachovány pozitivní korelace mezi koncentracemi leptinu a BMI, obsahem tělesného tuku a koncentracemi inzulínu (Damjanovic a kol. 2000). V některých studiích jsou tyto korelace přítomny pouze po normalizaci akromegalického procesu (Tan a kol. 2001). Většina autorů uzavírá, že změny koncentrací leptinu jsou primárně determinovány změnami obsahu tuku v organismu, přímé ovlivnění koncentrací leptinu změnami jednotlivých parametrů GH/IGF-I osy je spíše spekulativní (Isozaki a kol. 1999). Koncentrace leptinu negativně koreluje s koncentracemi ghrelinu u nemocných s akromegalií (Cappiello a kol. 2002), stejně jako u zdravých jedinců (Tschöp a kol. 2001).

Nemocní s GHD naopak vykazují oproti zdravým kontrolám vyšší obsah tělesného tuku, při úspěšném léčení rhGH obsah tělesného tuku klesá. V souladu s těmito změnami většina autorů studií zaznamenala vyšší koncentrace leptinu, které při léčbě rhGH obvykle klesají a jejich pokles je proporcionální poklesu obsahu tělesného tuku (White a kol. 2003, Engström a kol. 2003), i když někteří autoři s těmito nálezy polemizují. Buď nezaznamenali změny koncentrací leptinu při léčbě rhGH i přes změny tělesné kompozice (Hána a kol. 2004), anebo nebyl pokles koncentrací leptinu proporcionální změně adipozity (White a kol. 2003). Koncentrace leptinu tedy dle většiny autorů opět převážně odráží změny obsahu tělesného tuku u nemocných s GHD a koreluje s obsahem tělesného tuku před i po léčbě. Nicméně změny koncentrací leptinu při léčbě rhGH připouštějí navíc i možný regulační vliv vlastního podávaného rhGH, který způsobuje supresi koncentrací leptinu (Randeve a kol. 2002, White a kol. 2003) a jehož efekt je nezávislý na změnách obsahu tělesného tuku (Lissett a kol. 2001). U nemocných s GHD většina autorů nezaznamenala žádný statisticky významný vztah mezi koncentracemi ghrelinu a leptinu (Engström a kol. 2003, Giavoli a kol. 2004, Malik a kol. 2004).

## 4. IGF a jejich vazebné proteiny

IGF-I a IGF-II (insulin-like growth factor-I a II) byly identifikovány v roce 1957 a původně byly vzhledem ke své schopnosti stimulovat inkorporaci sulfátu do chrupavek nazvány „sulfatačními faktory“. S rozvojem poznání jejich dalších aktivit byly postupně přejmenovávány až do ustálení nomenklatury v roce 1978, kdy byly označeny jako „inzulínu podobné růstové faktory“ – IGF-I a IGF-II. Jedná se o polypeptidy syntetizované ve tkáních vlivem GH, jsou strukturálně homologní s inzulínem i navzájem.

Pro zprostředkování působení GH je nejdůležitější IGF-I. IGF-I vzniká v řadě periferních tkání působením GH, největší podíl v plasmě tvoří IGF-I produkovaný v játrech. V séru je přítomen převážně ve formě ternárního komplexu (150 kDa) s IGFBP-3 a acidolabilní podjednotkou (ALS).

Menší množství IGF-I je vázáno na ostatní vazebné proteiny, anebo je přítomno ve volné formě jako volný IGF-I, který je fakticky biologicky aktivní frakcí. Jako faktor cirkulující v krevním řečišti působí endokrinně, v tkáních které jej produkují také parakrinně a autokrinně. Mezi jeho účinky patří stimulace růstu dlouhých kostí a celkově anabolický účinek, dále inzulínu podobný účinek ve svalových buňkách a v tukové tkáni (vychytávání glukózy v uvedených tkáních způsobuje hypoglykémii podobně jako působení inzulínu), snižuje jaterní glukoneogenezi a zvyšuje inzulínovou senzitivitu, vede k poklesu hladiny ketolátek, volných mastných kyselin a triacylglycerolů v séru, dále stimuluje růst a diferenciaci buněk (zvyšuje syntézu DNA a proliferaci buněk, byla též popsána schopnost oddálit buněčnou smrt), ovlivňuje funkci některých buněk a tkání (produkce hormonů v ováriích, nadledvinách) a negativní zpětnou vazbou ovlivňuje sekreci GH na úrovni hypofýzy a hypotalamu. V ledvině zvyšuje IGF-I stejně jako GH renální průtok plasmy, glomerulární filtraci a tubulární reabsorpci fosfátů, za patologických stavů způsobuje IGF-I hypertrofii ledvin, kterou vidíme např. u diabetes mellitus či po nefrektomii. Samotný GH naopak vede ke glomeruloskleróze. Diagnosticky se používá stanovení sérových koncentrací IGF-I k potvrzení diagnózy akromegalie, kde jsou koncentrace IGF-I zvýšené a na rozdíl od samotného GH jsou relativně stabilní během dne. U nemocných s GHD jsou koncentrace IGF-I nízké a při terapii rhGH vzrůstají. Nízké koncentrace IGF-I nalézáme i při hladovění (je markerem proteino-energetické malnutrice), při realimentaci koncentrace IGF-I stoupají. Při porušené funkci ledvin (nemocní s renální insuficiencí či selháním v dialyzačním programu) jsou koncentrace IGF-I obvykle v pásu normy či mírně zvýšené – uplatňuje se snížená clearance IGF-I a jeho porušená tvorba ve tkáních, hlavně v játrech, při urémii (Iglesias a kol. 2004).

Pravá fyziologická funkce IGF-II stále není zcela objasněna. Jak bylo zjištěno v experimentálních podmínkách, mnoho jeho biologických funkcí je ekvivalentní k funkcím IGF-I. Je prokázáno, že IGF-II plní roli fetálního růstového faktoru. V séru je transportován převážně ve vazbě na IGFBP-3.

Na řízení aktivity IGF-I i IGF-II se podílí řada jejich vazebných proteinů (IGFBP 1-6 – insulin-like growth factor binding protein 1-6). Regulace aktivity IGF-I a IGF-II těmito působky je převážně negativní (vazbou IGF snižují jeho biologickou dostupnost), i když byl popsán i vliv stimulační, navíc se spekuluje o přímých tkáňových účincích některých vazebných proteinů. Připisuje se jim role v ovlivnění motility a adheze buněk, apoptózy i buněčného cyklu. Dosud jich bylo izolováno 6, hlavním sérovým vazebným proteinem je IGFBP-3. IGFBP-3 transportuje více než 75% IGF-I a IGF-II, volná frakce obou hormonů v cirkulaci tvoří cca 1% a zbytek je vázán na ostatní transportní proteiny.

IGFBP-1 je produkován převážně játry a deciduálně transformovaným endometriem. Jeho produkce v játrech je inverzně regulována koncentrací inzulínu v portální krvi a tedy odráží akutní změny týkající se příjmu potravy. Jeho sérové koncentrace stoupají při restrikci příjmu potravy a při malnutrici, po nasycení opět klesají. Zvýšené koncentrace nacházíme u diabetiků, těhotných žen a při jaterní cirhóze, snížené koncentrace při obezitě, hyperinzulinismu a hypersekreci GH. Vysoké

koncentrace nacházíme též v amniotické tekutině a fetálním séru, postnatálně tyto koncentrace klesají. Koncentrace IGFBP-1 během dne kolísají a vykazují cirkadiánní rytmus s preprandiálním vzestupem a postprandiálním poklesem, což souvisí se sekrecí inzulínu. IGFBP-1 s největší pravděpodobností neplní úlohu rezervoáru IGF-I, ale jakéhosi modulátoru aktivity IGF-I. Renální insuficience je spojena se zvýšením koncentrací IGFBP-1, na kterých se kromě jeho porušené clearance ledvinami podílí i zvýšení jaterní syntézy (Iglesias a kol. 2004).

IGFBP-2 je po IGFBP-3 druhým nejvýznamnějším sérovým vazebným proteinem pro IGF a hlavním vazebným proteinem v cerebrospinálním likvoru. Je přítomen též v amniotické a seminální tekutině a v moči. Při nutričním deficitu jeho koncentrace stoupají, zvýšené koncentrace nacházíme též u nemocných s renální insuficiencí či selháním ledvin. Opět se kromě porušené clearance ledvinami spekuluje o zvýšené tvorbě v játrech. Vazebná kapacita IGFBP-2 pro IGF-II je signifikantně vyšší než pro IGF-I (Jehle a kol. 2000).

IGFBP-3 je produkován především játry, jeho koncentrace jsou během dne stabilní a jeho syntéza je řízena působením GH. Vazebná kapacita je téměř zcela nasycena a představuje jakýsi rezervoár IGF. V séru je přítomen ve formě komplexu tvořeného jedním z dvojice IGF-I či IGF-II, dále ALS a vlastním IGFBP-3. Má modulační vliv na biologickou aktivitu IGF-I, i když převažuje jeho inhibiční působení. Recentně publikované studie naznačují možnou souvislost mezi zvýšenými koncentracemi IGF-I v situaci snížených koncentrací IGFBP-3, které jsou asociovány se zvýšeným rizikem kolorektálního karcinomu, karcinomu prostaty, prsu a plic. U nemocných s akromegalií jsou koncentrace IGFBP-3 zvýšené a naopak u nemocných s deficitem růstového hormonu nacházíme koncentrace nízké. Změny nutričního stavu sleduje paralelně s IGF-I; při nutričním deficitu klesá, po realimentaci se jeho koncentrace zvyšují. Při renální insuficienci či selhání ledvin dochází ke zvýšené hydrolýze IGFBP-3, následkem čehož se kumulují nízkomolekulární fragmenty IGFBP-3 v krvi, které ovšem vykazují malou afinitu pro IGF-I (Iglesias a kol. 2004, Jehle a kol. 2000).

IGFBP-6 nemá patrně významnou transportní funkci, podílí se spíše na modulaci biologické aktivity IGF-I na tkáňové úrovni. Je přítomen v séru i v mozkomíšním moku, jeho produkce byla prokázána v játrech, plicích i mozku. Jeho účinek je převážně inhibiční a má vyšší afinitu k IGF-II. Stejně jako u dalších vazebných proteinů jeho koncentrace při renální insuficienci vzrůstají (Jehle a kol. 2000).

## 5. Cíl projektu

Cílem naší studie bylo rozšíření poznání fyziologické role ghrelinu. Ghrelin je nejsilnějším známým stimulatorem sekrece GH po exogenním podání, nicméně jeho vlastní fyziologické působení ve vztahu k endogenní sekreci GH není plně objasněno. Ve studiích, které se dosud tímto tématem zabývaly, byly zjišťovány pouze koncentrace celkového ghrelinu. Cílem našeho projektu bylo určení

plasmatických koncentrací celkového i aktivního ghrelinu u zdravých jedinců i různých chorobných stavů spojených s patologickou sekrecí GH (nemocní s akromegalií, GHD a renální insuficiencí) a studium vzájemných vztahů mezi koncentracemi ghrelinu a jednotlivých parametrů osy GH/IGF-I. Předpokládali jsme, že sekrece ghrelinu je modulována sekrečním stavem růstového hormonu.

Testované hypotézy:

- 1) u pacientů s akromegalií jsme původně očekávali snížené plasmatické koncentrace ghrelinu jakožto výsledek negativní zpětné vazby při hypersekreci růstového hormonu
- 2) u pacientů s GHD jsme prvotně předpokládali, že v důsledku chybějícího negativně zpětnovazebného vlivu GH budou plasmatické koncentrace ghrelinu elevovány
- 3) u pacientů s RI/RS jsme zprvu očekávali snížené koncentrace ghrelinu, a dále jsme předpokládali, že stupeň tohoto snížení je úměrný stupni renální insuficience. Předpokládali jsme, že dojde k úpravě tohoto stavu po hemodialýze

## 6. Metody

Do naší studie byla zahrnuta řada nemocných s vybranými diagnózami – patologickými stavy charakterizovanými porušenou regulací somatotropní osy. Jednalo se o pacienty s hormonálně aktivní akromegalií, pacienty s GHD a o nemocné s porušenou funkcí ledvin včetně pacientů s renálním selháním v dialyzačním programu. Posledně jmenované jsme vyšetřili před i po provedení rutinní hemodialýzy. Dále jsme vyšetřili skupinu zdravých dobrovolníků, jejichž výsledky sloužily jako kontroly. Všichni vyšetřovaní jedinci byli poučeni o výzkumné povaze prováděných vyšetření a podepsali informovaný souhlas. Naše studie byla schválena etickou komisí.

Odběry krve byly provedeny u všech vyšetřených subjektů za standardních podmínek. Krev byla v rámci prvního náběru odebrána v 8.00 hod. ráno po celonočním lačnění do vakuových zkumavek. U všech subjektů jsme vyšetřili koncentrace celkového a aktivního ghrelinu, GH, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-6, leptinu, inzulínu, solubilního leptinového receptoru, celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, LDL cholesterolu, triacylglycerolů, prealbuminu, albuminu, celkové bílkoviny, glukózy, urey a kreatininu. Koncentrace GH byly určeny jako aritmetický průměr celkem ze 3 odběrů provedených v odstupu 30 min. U nemocných v dialyzačním programu jsme navíc po skončení hemodialýzy, která následovala bezprostředně po odběrech krve, odebrali krev na vyšetření koncentrací celkového a aktivního ghrelinu, GH, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-6, leptinu, inzulínu a solubilního leptinového receptoru. Bezprostředně po odběru byly sérum i plasma obloženy ledem a po transportu do laboratoře separovány centrifugací při 3000 ot./min. po dobu 10 min. při +4 °C. Vzorky byly následně zmrazeny při -80 °C až do doby stanovení.

U všech subjektů bylo v den vyšetření provedeno základní antropometrické vyšetření – 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).

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), 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). 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.

RIA metoda (radioimmunoassay) je metoda kompetitivně imunochemická. Stanovovaný antigen ve vzorku séra či plasmy a ve vzorcích standard je inkubován spolu s antigenem značeným <sup>125</sup>I ve zkumavkách potažených polyklonální protilátkou proti stanovovanému antigenu. Po inkubaci obsah zkumavek odsajeme a navázaná aktivita je změřena gama-čítačem. Koncentrace stanovovaného antigenu je nepřímou úměrná měřené aktivitě a je odečtena z kalibrační křivky.

IRMA metoda je imunoradiometrické stanovení koncentrace neznámé látky „sendvičovou“ a tedy nekompetitivní metodou. Využívá dvou monoklonálních protilátek proti dvěma různým epitopům stanovované molekuly. Stanovovaný antigen současně reaguje s první specifickou protilátkou imobilizovanou na stěně zkumavky a s druhou specifickou monoklonální protilátkou značenou <sup>125</sup>I. Po inkubaci se odsaje obsah zkumavek a vymyje se nenavázaná značená protilátka. Radioaktivita je opět měřena na gama-čítači. Koncentrace stanovované látky ve vzorku se odečte z kalibrační křivky sestavené pomocí standardů.

ELISA metoda (enzyme-linked immunosorbent assay) je imunoenzymatické stanovení sendvičového typu. Na stěně jamek ELISA kitů je adsorbována specifická monoklonální protilátka, jež váže detekované antigeny přítomné v testovaném vzorku tekutiny. Po vymytí zbytku vzorku se přidá polyklonální protilátka, taktéž specifická pro daný antigen, na které je navázaný enzym (křenová peroxidáza). Dalším promytím se odstraní tato polyklonální nenavázaná protilátka a po přidání chromogenního substrátu (tetramethylbenzidin) dojde k enzymatické reakci, která je provázena barevnou změnou úměrnou koncentraci detekovaného antigenu ve zkumavkách. Intenzita barvy je pak měřena spektrofotometricky. Standardní křivka je stanovena na základě měření absorbance standard, koncentrace neznámých vzorků jsou určeny na základě této křivky.

Data byla statisticky zpracována pomocí programu Statistica (StatSoft, Inc., USA). Byly vypočítány průměry a střední chyby průměru. Významnost rozdílů mezi skupinami byla stanovena pomocí nepárového t-testu, případně Mann-Whitney neparametrického testu. K porovnání dynamických změn sledovaných parametrů (efekt hemodialýzy) byl použit párový t-test. Vztahy mezi jednotlivými parametry byly určovány pomocí Pearsonova resp. Spearmanova korelačního testu. Rovněž byla použita analýza kovariance, která při porovnávání skupin zohledňuje různé rozložení koncentrací kreatininu. Data, která byla nenormálně (ne-Gaussovsky) rozložena byla před použitím analýzy kovariance logaritmována. Vzhledem k podezření, že vztah mezi některými proměnnými je způsobem renálním selháním byly rovněž počítány parciální korelace, které tento případný vliv kontrolují event. eliminují.



## 7. Výsledky

### 7.1. Plasmatické koncentrace ghrelinu u zdravých jedinců

#### 7.1.1. Vztah ghrelinu k parametrům osy GH/IGF-I a k základním laboratorním a antropometrickým parametrům u zdravých jedinců a v závislosti na pohlaví

Do studie bylo zařazeno 79 zdravých subjektů (33 mužů a 46 žen). Plasmatická koncentrace celkového ghrelinu u kontrolních zdravých subjektů byla  $2,16 \pm 0,13$  ng/ml, koncentrace aktivního ghrelinu byla  $0,09 \pm 0,02$  ng/ml. Aktivní ghrelin představoval 4,03 % z celkové koncentrace ghrelinu.

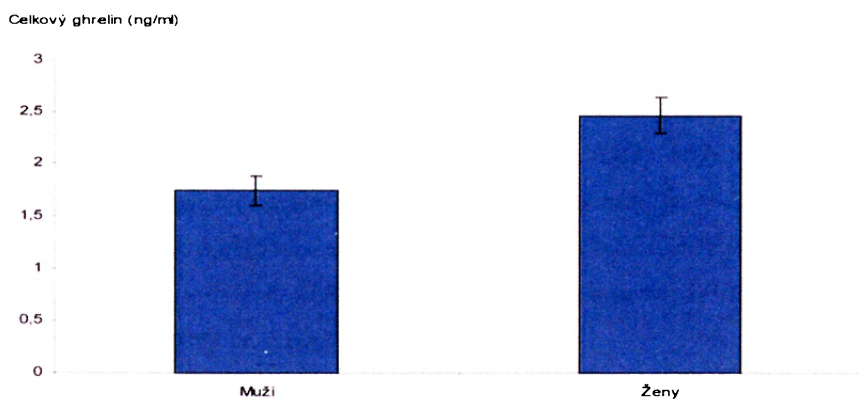
Bylo zjištěno, že koncentrace celkového ghrelinu, GH, IGFBP-3, leptinu, HDL cholesterolu a obsah tělesného tuku byly signifikantně vyšší u žen, muži měli statisticky významně vyšší WHR a koncentrace IGFBP-6, urey, kreatininu, prealbuminu a glukózy (graf 1, tabulka 1).

Koncentrace celkového ghrelinu negativně korelovaly s BMI, WHR, sérovými koncentracemi IGF-I, inzulínu, urey a triacylglycerolů a pozitivně korelovaly s koncentracemi IGFBP-2, HDL cholesterolu a poměrem GH/IGF-I v celé kontrolní skupině. Žádné signifikantní korelace nebyly zjištěny mezi plasmatickými koncentracemi aktivního ghrelinu a studovanými parametry (tabulka 2).

Dále byl zkoumán vztah koncentrací ghrelinu ke sledovaným parametrům zvláště ve skupině mužů i žen. U obou pohlaví byly nalezeny negativní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a BMI, obsahem tuku v organismu a koncentracemi inzulínu. U mužů koncentrace celkového ghrelinu pozitivně korelovaly s koncentracemi IGFBP-1 a IGFBP-2. U žen, na rozdíl od mužů, byly nalezeny pozitivní korelace s koncentracemi volného IGF-I, poměrem GH/IGF-I a negativní korelace s koncentracemi IGF-I a triacylglycerolů. V případě aktivního ghrelinu nebyly nalezeny korelace s žádným ze studovaných parametrů ani u jednoho pohlaví (tabulka 2).

### Graf 1

Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu ve skupině zdravých mužů a žen



Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměry  $\pm$  střední chyba průměru,  $p < 0,01$ .

## Tabulka 1

Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině zdravých subjektů

	KS	KS-M	KS-Ž
Věk (roky)	47,66±1,84	49,91±3,24	46,04±2,13
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,29±0,63	25,46±0,76	25,18±0,94
Obsah tělesného tuku (%)	16,50±1,08	10,10±1,20 <sup>d</sup>	21,01±1,24
Celkový ghrelin (ng/ml)	2,16±0,13	1,74±0,14 <sup>b</sup>	2,46±0,18
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,09±0,02	0,09±0,04	0,09±0,02
GH (mIU/l)	7,75±1,48	1,57±0,35 <sup>c</sup>	12,19±2,32
IGF-I (μg/l)	201,15±9,42	215,00±17,29	191,22±10,31
GH/IGF-I (mIU/μg)	0,04±0,01	0,01±0,002	0,07±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	0,66±0,03	0,69±0,06	0,64±0,04
IGFBP-1 (μg/l)	36,37±5,3	28,04±3,52	42,48±8,75
IGFBP-2 (mg/l)	0,57±0,05	0,54±0,06	0,59±0,07
IGFBP-3 (mg/l)	4,29±0,10	3,98±0,14 <sup>b</sup>	4,51±0,13
IGFBP-6 (mg/l)	0,33±0,01	0,37±0,02 <sup>a</sup>	0,3±0,02
Leptin (ng/ml)	13,69±1,30	6,64±0,98 <sup>d</sup>	18,95±1,77
SLR (ng/ml)	21,59±0,89	22,59±1,58	20,82±1,00
Inzulín (μIU/ml)	19,92±1,43	20,02±1,51	19,85±2,27
Prealbumin (g/l)	0,24±0,01	0,26±0,01 <sup>b</sup>	0,23±0,01
Albumin (g/l)	42,98±0,25	43,24±0,44	42,8±0,30
Celková bílkovina (g/l)	73,42±0,41	73,55±0,67	73,32±0,51
Urea (mmol/l)	5,00±0,17	5,78±0,23 <sup>d</sup>	4,45±0,21
Kreatinin (μmol/l)	85,18±1,48	92,79±2,40 <sup>d</sup>	79,72±1,41
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,02±0,12	4,90±0,16	5,10±0,18
HDL cholesterol (mmol/l)	1,53±0,04	1,36±0,05 <sup>c</sup>	1,64±0,05
LDL cholesterol (mmol/l)	2,97±0,09	2,92±0,13	3,00±0,12
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,31±0,08	1,34±0,12	1,26±0,11
Glukóza (mmol/l)	5,07±0,07	5,24±0,09 <sup>a</sup>	4,94±0,09
WHR	0,83±0,01	0,91±0,01 <sup>d</sup>	0,77±0,01

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, KS – kontrolní skupina, KS-M – kontrolní skupina mužů, KS-Ž – kontrolní skupina žen, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p < 0,05, <sup>b</sup> p < 0,01, <sup>c</sup> p < 0,001, <sup>d</sup> p < 0,0001 vs. kontrolní skupina žen.

## Tabulka 2

Vztah mezi plasmatickými koncentracemi celkového ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry ve skupině zdravých subjektů

	KS	KS-M	KS-Ž
Věk	NS	NS	NS
BMI	$r = -0,36, p = 0,001$	$r = -0,55, p = 0,001$	$r = -0,31, p < 0,05$
Obsah tělesného tuku	NS	$r = -0,41, p < 0,05$	$r = -0,34, p < 0,05$
Aktivní ghrelin	NS	NS	NS
GH	NS	NS	NS
IGF-I	$r = -0,23, p < 0,05$	NS	$r = -0,39, p < 0,01$
GH/IGF-I	$r = 0,35, p < 0,05$	NS	$r = 0,48, p < 0,001$
Volný IGF-I	NS	NS	$r = 0,34, p < 0,05$
IGFBP-1	NS	$r = 0,50, p < 0,01$	NS
IGFBP-2	$r = 0,29, p = 0,01$	$r = 0,65, p < 0,0001$	NS
IGFBP-3	NS	NS	NS
IGFBP-6	NS	NS	NS
Leptin	NS	NS	NS
SLR	NS	NS	NS
Inzulín	$r = -0,29, p = 0,01$	$r = -0,40, p < 0,05$	$r = -0,40, p < 0,01$
Prealbumin	NS	NS	NS
Albumin	NS	NS	NS
Celková bílkovina	NS	NS	NS
Urea	$r = -0,26, p < 0,05$	NS	NS
Kreatinin	NS	NS	NS
Celkový cholesterol	NS	NS	NS
HDL cholesterol	$r = 0,36, p = 0,001$	NS	NS
LDL cholesterol	NS	NS	NS
Triacylglyceroly	$r = -0,25, p < 0,05$	NS	$r = -0,45, p < 0,01$
Glukóza	NS	NS	NS
WHR	$r = -0,37, p = 0,001$	NS	NS

KS – kontrolní skupina, KS-M – kontrolní skupina mužů, KS-Ž – kontrolní skupina žen, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl,  $r$  – korelační koeficient,  $p$  – hladina významnosti.

### 7.1.2. Vliv tělesného složení na plasmatické koncentrace ghrelinu u zdravých subjektů.

Do studie jsme zařadili 79 subjektů (33 mužů a 46 žen). Celou skupinu jsme rozdělili na 2 podskupiny; podskupinu jedinců s normální váhou ( $n = 51$ ,  $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ) a na podskupinu jedinců s nadváhou/obezitou ( $n = 28$ ,  $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ).

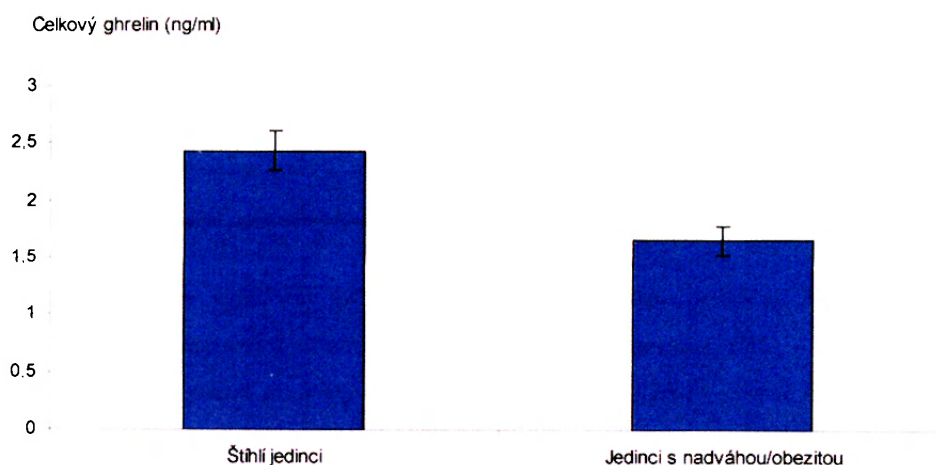
Koncentrace celkového ghrelinu byly signifikantně vyšší ve skupině štíhlých jedinců, v plasmatických koncentracích aktivního ghrelinu se obě skupiny nelišily. Obsah tělesného tuku, WHR, sérové koncentrace leptinu, inzulínu, celkového cholesterolu, triacylglycerolů a glukózy byly statisticky významně vyšší ve skupině jedinců s nadváhou/obezitou, naproti tomu ve skupině štíhlých subjektů jsme zaznamenali signifikantně vyšší koncentrace GH, volného IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2 a kreatininu. Jedinci s normální váhou byli též signifikantně mladší než jedinci s nadváhou/obezitou (graf 2, tabulka 3).

Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu korelovaly pozitivně s poměrem GH/IGF-I a negativně s koncentracemi inzulínu u obou zkoumaných skupin. Koncentrace celkového ghrelinu korelovaly ve skupině štíhlých individuů navíc pozitivně s koncentracemi IGFBP-2, HDL cholesterolu a albuminu a negativně s koncentracemi kreatininu, triacylglycerolů a s WHR (tabulka 4).

Koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly pozitivně pouze s koncentracemi IGFBP-3 ve skupině subjektů s nadváhou/obezitou ( $r = 0,59$ ,  $p = 0,001$ ). Ve skupině štíhlých subjektů nebyl nalezen žádný statisticky významný vztah mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a sledovanými parametry.

## Graf 2

Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu ve skupině štíhlých zdravých jedinců a ve skupině jedinců s nadváhou/obezitou



Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměry  $\pm$  střední chyba průměru,  $p < 0,01$ .

### Tabulka 3

Vybrané antropometrické, hormonální a laboratorní parametry ve skupině zdravých jedinců s normální váhou a ve skupině jedinců s nadváhou/obezitou

	KS-S	KS-OB
Věk (roky)	44,71±2,47 <sup>a</sup>	53,04±2,30
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22,07±0,29 <sup>d</sup>	31,05±0,98
Obsah tělesného tuku (%)	13,17±1,02 <sup>d</sup>	22,77±1,93
Celkový ghrelin (ng/ml)	2,44±0,17 <sup>b</sup>	1,66±0,13
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,11±0,04	0,07±0,01
GH (mIU/l)	11,06±2,14 <sup>b</sup>	1,73±0,49
IGF-I (μg/l)	191,06±9,87	219,54±19,35
GH/IGF-I (mIU/ μg)	0,06±0,01	0,01±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	0,71±0,04 <sup>a</sup>	0,58±0,06
IGFBP-1 (μg/l)	43,63±7,79 <sup>b</sup>	22,64±2,91
IGFBP-2 (mg/l)	0,65±0,06 <sup>a</sup>	0,42±0,05
IGFBP-3 (mg/l)	4,31±0,12	4,24±0,18
IGFBP-6 (mg/l)	0,33±0,01	0,32±0,03
Leptin (ng/ml)	11,80±1,41 <sup>a</sup>	17,27±2,55
SLR (ng/ml)	21,61±1,08	21,55±1,59
Inzulín (μIU/ml)	17,29±1,09 <sup>b</sup>	25,00±3,46
Prealbumin (g/l)	0,24±0,01	0,25±0,01
Albumin (g/l)	42,88±0,29	43,18±0,49
Celková bílkovina (g/l)	73,71±0,49	72,87±0,71
Urea (mmol/l)	4,85±0,21	5,28±0,29
Kreatinin (μmol/l)	87,27±1,40 <sup>a</sup>	81,36±3,23
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,79±0,15 <sup>a</sup>	5,42±0,18
HDL cholesterol (mmol/l)	1,55±0,05	1,49±0,07
LDL cholesterol (mmol/l)	2,85±0,10	3,18±0,17
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,09±0,08 <sup>c</sup>	1,69±0,16
Glukóza (mmol/l)	4,89±0,07 <sup>c</sup>	5,39±0,11
WHR	0,78±0,01 <sup>d</sup>	0,93±0,02

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, KS-S - kontrolní skupina štíhlých jedinců, KS-OB - kontrolní skupina jedinců s nadváhou/obezitou, BMI - body mass index, GH - růstový hormon, IGF-I - inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I - volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 - vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 - vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 - vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 - vazebný protein pro IGF-6, SLR - solubilní leptinový receptor, WHR - poměr pas/boky, <sup>a</sup> p < 0,05, <sup>b</sup> p < 0,01, <sup>c</sup> p < 0,001, <sup>d</sup> p < 0,0001 vs. kontrolní skupina obézních.

## Tabulka 4

Vztah mezi plasmatickými koncentracemi celkového ghrelinu a vybranými antropometrickými, hormonálními a biochemickými parametry ve skupině štíhlých zdravých subjektů a ve skupině zdravých jedinců s nadváhou/obezitou

	KS-S	KS-OB
Věk	NS	NS
BMI	NS	NS
Obsah tělesného tuku	NS	NS
Aktivní ghrelin	NS	NS
GH	NS	NS
IGF-I	NS	NS
GH/IGF-I	$r = 0,37, p < 0,01$	$r = 0,56, p < 0,01$
Volný IGF-I	NS	NS
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	$r = 0,32, p < 0,05$	NS
IGFBP-3	NS	NS
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	$r = -0,35, p < 0,05$	$R = -0,43, p < 0,05$
Prealbumin	NS	NS
Albumin	$r = 0,29, p < 0,05$	NS
Celková bílkovina	NS	NS
Urea	NS	NS
Kreatinin	$r = -0,29, p < 0,05$	NS
Celkový cholesterol	NS	NS
HDL cholesterol	$r = 0,52, p < 0,0001$	NS
LDL cholesterol	NS	NS
Triacylglyceroly	$r = -0,40, p < 0,01$	NS
Glukóza	NS	NS
WHR	$r = -0,30, p < 0,05$	NS

KS-S - kontrolní skupina štíhlých jedinců, KS-OB – kontrolní skupina jedinců s nadváhou/obezitou, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.

## 7.2. Plasmatické koncentrace ghrelinu u nemocných s akromegalií

Do studie jsme zařadili 21 nemocných s hormonálně aktivní akromegalií (8 mužů a 13 žen). U 10 nemocných byla akromegalie diagnostikována nově, 11 nemocných již podstoupilo operaci adenomu hypofýzy, ale přetrvávala hypersekrece GH z pooperačního rezidua adenomu. Diagnóza hormonálně aktivní akromegalie byla postavena na zjištění výrazně zvýšených koncentrací GH a IGF-I, nesupresibility koncentrací GH v orálním glukózovém testu a přítomnosti adenomu hypofýzy při vyšetření magnetickou resonancí. Žádný z nemocných nebyl léčen dopaminergními agonisty, analogy somatostatinu ani radioterapií. Kontrolní skupinu tvořilo 21 zdravých jedinců (8 mužů a 13 žen) odpovídajících pohlavím, věkem a BMI skupině nemocných.

Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu byly u nemocných s aktivní akromegalií nižší než u zdravých kontrol, tento rozdíl však nedosáhl statistickou významnost. Nemocní s akromegalií měli signifikantně vyšší koncentrace GH, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-3, inzulínu, prealbuminu a glukózy. Naopak obsah tělesného tuku a koncentrace IGFBP-1 byly oproti zdravým jedincům signifikantně nižší. Aktivní ghrelin představoval 2,7% z celkové koncentrace ghrelinu u akromegaliků a 2,8% u kontrolní skupiny (tabulka 5).

Koncentrace celkového ghrelinu korelovaly negativně s koncentracemi IGF-I ve skupině nemocných s akromegalií i zdravých kontrol, ve skupině nemocných navíc pozitivně korelovaly s koncentracemi celkového, HDL i LDL cholesterolu, prealbuminu a celkové bílkoviny, ve skupině kontrol korelovaly pozitivně s poměrem GH/IGF-I a negativně s koncentracemi aktivního ghrelinu a s WHR (tabulka 6). Nebyly zjištěny žádné korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a studovanými parametry ve skupině nemocných s akromegalií, ve skupině kontrol korelovaly koncentrace aktivního ghrelinu negativně s koncentracemi celkového ghrelinu a volného IGF-I a pozitivně s koncentracemi IGFBP-3 (tabulka 7).

Z analýzy pohlavních rozdílů vyplývá, že ženy s akromegalií měly vyšší obsah tělesného tuku a nižší WHR v porovnání s nemocnými muži. V koncentracích celkového či aktivního ghrelinu ani v dalších sledovaných parametrech nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi oběma pohlavími (tabulka 8). V kontrolní skupině žen jsme zaznamenali vyšší obsah tělesného tuku ( $p < 0,001$ ) a vyšší koncentrace IGFBP-3 ( $p < 0,05$ ) a leptinu ( $p < 0,01$ ) a nižší WHR ( $p < 0,01$ ) a koncentrace IGFBP-6 ( $p < 0,05$ ) a urey ( $p < 0,05$ ) v porovnání se zdravými muži.

Ke zjištění vlivu tělesného složení na koncentrace ghrelinu u nemocných s akromegalií jsme tuto skupinu rozdělili ve 2 podskupiny; jednak podskupinu štíhlých nemocných s akromegalií (1 muž a 4 ženy,  $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ), jednak podskupinu nemocných s nadváhou či obezitou (7 mužů a 9 žen,  $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ). Nemocní s nadváhou/obezitou měli významně vyšší koncentrace glukózy, IGFBP-3 a urey. Koncentrace celkového ghrelinu byly u obézních nemocných signifikantně sniženy, koncentrace aktivního ghrelinu a další sledované parametry se mezi oběma skupinami nelišily (tabulka 9).

## Tabulka 5

Vybrané antropometrické, hormonální a laboratorní parametry ve skupině nemocných s akromegalií a v kontrolní skupině

	A	KS
Věk (roky)	57,62±3,02	55,43±2,63
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29,31±0,97	29,47±1,02
Obsah tělesného tuku (%)	17,91±1,74 <sup>a</sup>	23,70±2,05
Celkový ghrelin (ng/ml)	1,76±0,16	1,99±0,19
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,05±0,01	0,06±0,01
GH (mIU/l)	55,02±15,58 <sup>c</sup>	3,66±1,52
IGF-I (μg/l)	1014,24±86,00 <sup>c</sup>	208,86±22,95
GH/IGF-I (mIU/ μg)	0,05±0,01	0,02±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	4,39±0,77 <sup>c</sup>	0,59±0,06
IGFBP-1 (μg/l)	14,28±2,34 <sup>b</sup>	26,51±3,84
IGFBP-2 (mg/l)	0,40±0,80	0,44±0,06
IGFBP-3 (mg/l)	6,74±0,29 <sup>c</sup>	4,28±0,21
IGFBP-6 (mg/l)	0,33±0,05	0,33±0,03
Leptin (ng/ml)	14,42±3,72	18,41±2,67
SLR (ng/ml)	19,29±1,31	19,93±1,66
Inzulín (μIU/ml)	45,39±7,37 <sup>b</sup>	22,32±2,48
Prealbumin (g/l)	0,32±0,01 <sup>c</sup>	0,25±0,01
Albumin (g/l)	43,11±0,67	42,4±0,50
Celková bílkovina (g/l)	71,72±0,80	73,22±0,90
Urea (mmol/l)	5,27±0,60	5,74±0,30
Kreatinin (μmol/l)	76,81±4,37	80,76±3,08
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,44±0,20	5,44±0,23
HDL cholesterol (mmol/l)	1,63±0,08	1,52±0,08
LDL cholesterol (mmol/l)	3,02±0,12	3,21±0,20
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,75±0,13	1,58±0,19
Glukóza (mmol/l)	6,04±0,18 <sup>d</sup>	5,27±0,13
WHR	0,88±0,02	0,89±0,02

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, A – skupina nemocných s akromegalií, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-I, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p<0,05, <sup>b</sup> p<0,01, <sup>c</sup> p=0,001, <sup>d</sup> p<0,001, <sup>e</sup> p<0,0001 vs. kontroly.



## Tabulka 6

Vztah plasmatických koncentrací celkového ghrelinu a vybraných antropometrických, hormonálních a biochemických parametrů ve skupině nemocných s akromegalií a v kontrolní skupině

	A	KS
Věk	NS	NS
BMI	NS	NS
Obsah tělesného tuku	NS	NS
Aktivní ghrelin	NS	$r = -0,44, p < 0,05$
GH	NS	NS
IGF-I	$r = -0,46, p < 0,05$	$r = -0,44, p < 0,05$
GH/IGF-I	NS	$r = 0,42, p < 0,05$
Volný IGF-I	NS	NS
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS
IGFBP-3	NS	NS
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS
Prealbumin	$r = 0,56, p < 0,05$	NS
Albumin	NS	NS
Celková bílkovina	$r = 0,50, p < 0,05$	NS
Urea	NS	NS
Kreatinin	NS	NS
Celkový cholesterol	$r = 0,65, p < 0,01$	NS
HDL cholesterol	$r = 0,71, p < 0,0001$	NS
LDL cholesterol	$r = 0,46, p < 0,05$	NS
Triacylglyceroly	NS	NS
Glukóza	NS	NS
WHR	NS	$r = -0,50, p < 0,05$

A – skupina nemocných s akromegalií, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl,  $r$  – korelační koeficient,  $p$  – hladina významnosti.

## Tabulka 7

Vztah plasmatických koncentrací aktivního ghrelinu a vybraných antropometrických, hormonálních a biochemických parametrů ve skupině nemocných s hormonálně aktivní akromegalií a v kontrolní skupině

	A	KS
Věk	NS	NS
BMI	NS	NS
Obsah tělesného tuku	NS	NS
Celkový ghrelin	NS	r= -0,44, p= 0,05
GH	NS	NS
IGF-I	NS	NS
GH/IGF-I	NS	NS
Volný IGF-I	NS	r= -0,50, p< 0,05
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS
IGFBP-3	NS	r= 0,61, p< 0,01
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS
Prealbumin	NS	NS
Albumin	NS	NS
Celková bílkovina	NS	NS
Urea	NS	NS
Kreatinin	NS	NS
Celkový cholesterol	NS	NS
HDL cholesterol	NS	NS
LDL cholesterol	NS	NS
Triacylglyceroly	NS	NS
Glukóza	NS	NS
WHR	NS	NS

A – skupina nemocných s akromegalií, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.

## Tabulka 8

Srovnání koncentrací celkového a aktivního ghrelinu a vybraných parametrů mezi skupinou mužů a žen s hormonálně aktivní akromegalií

	A-M	A-Ž
Věk (roky)	61,00±5,04	55,54±3,81
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29,96±1,69	28,90±1,22
Obsah tělesného tuku (%)	11,20±2,35 <sup>a</sup>	22,03±1,57
Celkový ghrelin (ng/ml)	2,56±1,03	1,87±0,22
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,05±0,01	0,05±0,01
GH (mIU/l)	36,34±15,49	53,66±18,44
IGF-I (μg/l)	1157,50±193,18	926,08±69,41
Volný IGF-I (μg/l)	3,36±1,04	5,03±1,06
GH/IGF-I (mIU/ μg)	0,03±0,01	0,05±0,02
IGFBP-1 (μg/l)	10,89±2,86	16,36±3,30
IGFBP-2 (mg/l)	0,26±0,05	0,48±0,12
IGFBP-3 (mg/l)	6,75±0,61	6,74±0,30
IGFBP-6 (mg/l)	0,29±0,06	0,36±0,08
Leptin (ng/ml)	8,45±2,76	18,10±5,62
SLR (ng/ml)	19,84±2,15	18,95±1,71
Inzulín (μIU/ml)	43,15±10,34	46,77±10,36
Prealbumin (g/l)	0,31±0,01	0,33±0,01
Albumin (g/l)	42,81±0,65	43,30±1,02
Celková bílkovina (g/l)	71,24±1,12	72,02±1,12
Urea (mmol/l)	5,06±0,53	5,40±0,93
Kreatinin (μmol/l)	80,50±1,73	74,54±7,01
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,19±0,27	5,59±0,28
HDL cholesterol (mmol/l)	1,59±0,13	1,65±0,10
LDL cholesterol (mmol/l)	2,92±0,13	3,08±0,18
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,5±0,21	1,9±0,16
Glukóza (mmol/l)	5,59±0,21	6,32±0,24
WHR	0,97±0,02 <sup>b</sup>	0,81±0,01

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, A-M – skupina mužů s akromegalií, A-Ž – skupina žen s akromegalií, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p < 0,001, <sup>b</sup> p < 0,0001 vs. ženy s akromegalií.

## Tabulka 9

Srovnání vybraných antropometrických a laboratorních parametrů mezi skupinami štíhlých nemocných s akromegalií a nemocných s nadváhou/obezitou

	A-S	A-OB
Věk (roky)	56,12±6,03	58,00±4,67
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,99±0,62 <sup>b</sup>	30,96±0,92
Obsah tělesného tuku (%)	15,90±2,86	18,53±2,03
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,55±1,59 <sup>a</sup>	1,69±0,16
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,05±0,01	0,05±0,01
GH (mIU/l)	57,90±27,69	43,77±14,69
IGF-I (μg/l)	781,60±110,64	1086,94±102,20
GH/IGF-I (mIU/μg)	0,06±0,02	0,04±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	5,52±2,58	4,04±0,67
IGFBP-1 (μg/l)	21,03±5,73	12,06±2,37
IGFBP-2 (mg/l)	0,33±0,04	0,42±0,10
IGFBP-3 (mg/l)	5,93±0,57 <sup>a</sup>	7,00±0,32
IGFBP-6 (mg/l)	0,34±0,06	0,33±0,07
Leptin (ng/ml)	6,24±1,89	16,98±4,70
SLR (ng/ml)	23,58±0,89	17,95±1,55
Inzulín (μIU/ml)	23,56±3,79	52,21±8,99
Prealbumin (g/l)	0,34±0,01	0,32±0,01
Albumin (g/l)	44,54±1,55	42,67±0,72
Celková bílkovina (g/l)	74,02±2,32	71,00±0,73
Urea (mmol/l)	3,46±0,38 <sup>a</sup>	5,84±0,73
Kreatinin (μmol/l)	70,00±5,40	78,94±5,45
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,40±0,59	5,44±0,20
HDL cholesterol (mmol/l)	1,62±0,19	1,61±0,08
LDL cholesterol (mmol/l)	3,08±0,39	3,00±0,11
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,40±0,09	1,86±0,16
Glykémie (mmol/l)	5,30±0,15 <sup>a</sup>	6,27±0,21
WHR	0,86±0,05	0,89±0,02

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, A-S – skupina štíhlých nemocných s akromegalií, A-OB – skupina nemocných s akromegalií s nadváhou/obezitou, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p < 0,05, <sup>b</sup> p < 0,001 vs. obézní nemocní s akromegalií.

### 7.3. Ghrelin u nemocných s deficitem růstového hormonu

Skupina nemocných s deficitem růstového hormonu (GHD) zahrnovala 9 subjektů (8 mužů a 1 žena). U 8 nemocných se jednalo o sekundární deficit GH po operaci afunkčního adenomu hypofýzy, u 1 nemocného o idiopatický GHD vzniklý v dětství. Všichni nemocní splňovali kritéria těžkého deficitu GH při provedení testu s inzulinem indukovanou hypoglykemií. Žádný z nemocných nebyl v posledních 5 letech léčen rhGH. Ostatní hormonální deficity byly adekvátně substituovány.

Kontrolní skupinu tvořilo 9 zdravých jedinců (8 mužů a 1 žena) odpovídajících pohlavím, věkem a BMI skupině nemocných.

Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v koncentracích celkového ani aktivního ghrelinu mezi nemocnými s GHD a zdravými kontrolami. Koncentrace celkového ghrelinu sice byly ve skupině nemocných s GHD nižší ve srovnání s kontrolní skupinou, tento rozdíl však nebyl statisticky významný. Nemocní s GHD měli nižší koncentrace GH, IGF-I a volného IGF-I v porovnání se zdravými kontrolami. V ostatních sledovaných hormonálních, antropometrických a laboratorních parametrech se tyto skupiny nelišily (tabulka 10). Koncentrace aktivního ghrelinu představovala 3,6 % z celkové koncentrace ghrelinu u GHD a 2,8 % v kontrolní skupině.

Ve skupině nemocných s GHD nebyly nalezeny žádné korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a sledovanými parametry, ve skupině kontrol korelovaly koncentrace celkového ghrelinu pozitivně s koncentracemi IGFBP-1, IGFBP-2 a poměrem GH/IGF-I a negativně s obsahem tělesného tuku (tabulka 11).

Koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly u nemocných s GHD pozitivně s koncentracemi IGF-I, prealbuminu a glukózy a negativně s poměrem GH/IGF-I, u kontrolní skupiny koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly pozitivně s koncentracemi kreatininu a negativně s koncentracemi IGF-I (tabulka 12, graf 3).

Ani ve skupině nemocných s GHD ani u zdravých kontrol nebyl nalezen statisticky významný vztah mezi koncentracemi celkového či aktivního ghrelinu a GH.

## Tabulka 10

Vybrané antropometrické, hormonální a laboratorní parametry ve skupině nemocných s deficitem růstového hormonu a v kontrolní skupině

	GHD	KS
Věk (roky)	39,56±6,66	48,67±5,73
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28,98±2,46	28,91±2,18
Obsah tělesného tuku (%)	20,16±2,93	15,84±2,19
Celkový ghrelin (ng/ml)	1,70±0,17	1,85±0,28
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,06±0,01	0,05±0,01
GH (mIU/l)	0,54±0,12 <sup>a</sup>	3,79±3,05
IGF-I (μg/l)	96,33±13,26 <sup>b</sup>	181,78±18,07
GH/IGF-I (mIU/ μg)	0,01±0,01	0,02±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	0,17±0,04 <sup>c</sup>	0,47±0,06
IGFBP-1 (μg/l)	28,90±8,79	24,51±7,15
IGFBP-2 (mg/l)	0,50±0,16	0,35±0,06
IGFBP-3 (mg/l)	3,66±0,38	4,12±0,25
IGFBP-6 (mg/l)	0,41±0,06	0,42±0,04
Leptin (ng/ml)	15,29±3,43	12,81±2,47
SLR (ng/ml)	18,74±2,96	22,17±1,57
Inzulín (μIU/ml)	38,92±21,59	25,99±4,96
Prealbumin (g/l)	0,23±0,02	0,27±0,02
Albumin (g/l)	43,09±1,40	43,49±0,73
Celková bílkovina (g/l)	70,99±1,25	74,39±1,44
Urea (mmol/l)	5,29±0,35	5,77±0,41
Kreatinin (μmol/l)	104,38±6,67	87,44±5,08
Celkový cholesterol (mmol/l)	5,21±0,31	5,34±0,34
HDL cholesterol (mmol/l)	1,42±0,09	1,33±0,08
LDL cholesterol (mmol/l)	3,11±0,26	3,22±0,33
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,50±0,36	1,76±0,34
Glukóza (mmol/l)	4,93±0,34	5,14±0,27
WHR	0,87±0,05	0,94±0,04

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, GHD – skupina nemocných s deficitem růstového hormonu, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p<0,05, <sup>b</sup> p<0,01, <sup>c</sup> p<0,001 vs. kontrolní skupina..

## Tabulka 11

Vztah plasmatických koncentrací celkového ghrelinu a vybraných antropometrických, hormonálních a biochemických parametrů u nemocných s deficitem růstového hormonu a v kontrolní skupině

	GHD	KS
Věk	NS	NS
BMI	NS	NS
Obsah tělesného tuku	NS	$r = -0,79, p < 0,05$
Aktivní ghrelin	NS	NS
GH	NS	NS
IGF-I	NS	NS
GH/IGF-I	NS	$r = 0,42, p < 0,05$
Volný IGF-I	NS	NS
IGFBP-1	NS	$r = 0,79, p < 0,05$
IGFBP-2	NS	$r = 0,89, p = 0,001$
IGFBP-3	NS	NS
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS
Prealbumin	NS	NS
Albumin	NS	NS
Celková bílkovina	NS	NS
Urea	NS	NS
Kreatinin	NS	NS
Celkový cholesterol	NS	NS
HDL cholesterol	NS	NS
LDL cholesterol	NS	NS
Triacylglyceroly	NS	NS
Glukóza	NS	NS
WHR	NS	NS

*GHD – skupina nemocných s deficitem růstového hormonu, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

## Tabulka 12

Vztah plasmatických koncentrací aktivního ghrelinu a vybraných antropometrických, hormonálních a biochemických parametrů u nemocných s deficitem růstového hormonu a v kontrolní skupině

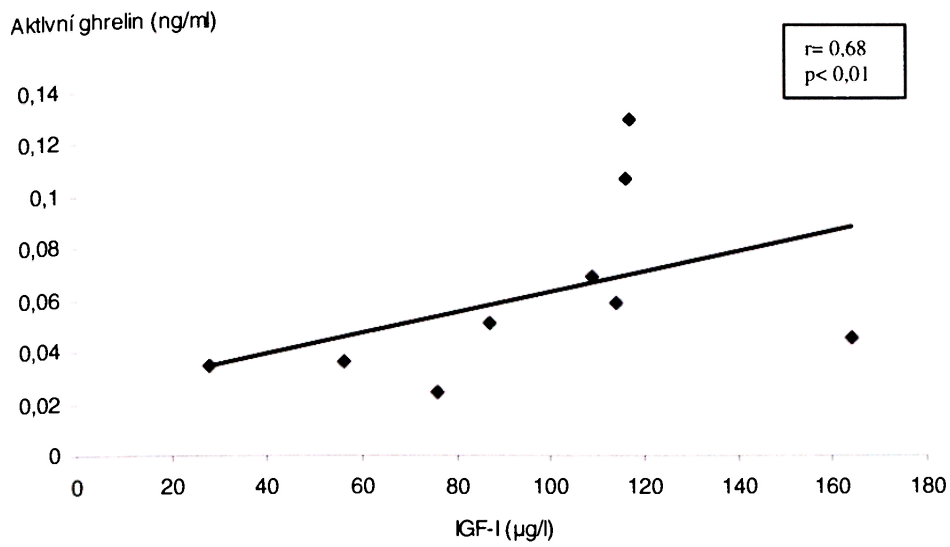
	GHD	KS
Věk	NS	NS
BMI	NS	NS
Obsah tělesného tuku	NS	NS
Celkový ghrelin	NS	NS
GH	NS	NS
IGF-I	$r = 0,68, p < 0,05$	$r = -0,74, p < 0,05$
GH/IGF-I	$r = -0,88, p < 0,01$	NS
Volný IGF-I	NS	NS
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS
IGFBP-3	NS	NS
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS
Prealbumin	$r = 0,83, p = 0,01$	NS
Albumin	NS	NS
Celková bílkovina	NS	NS
Urea	NS	NS
Kreatinin	NS	$r = 0,68, p < 0,05$
Celkový cholesterol	NS	NS
HDL cholesterol	NS	NS
LDL cholesterol	NS	NS
Triacylglyceroly	NS	NS
Glukóza	$r = 0,72, p < 0,05$	NS
WHR	NS	NS

GHD – skupina nemocných s deficitem růstového hormonu, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-I, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl,  $r$  – korelační koeficient,  $p$  – hladina významnosti.



### Graf 3

Korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a IGF-I ve skupině nemocných s GHD



## 7.4. Ghrelin u nemocných s porušenou funkcí ledvin

### 7.4.1. Koncentrace celkového a aktivního ghrelinu a dalších hormonálních a nutričních parametrů u nemocných s renální insuficiencí

Do studie jsme zařadili 40 nemocných s různým stupněm renální insuficience/renálního selhání (RI/RS) (19 mužů a 21 žen, kreatinin 131-1115  $\mu\text{mol/l}$ ) na podkladě primární glomerulonefritidy ( $n=2$ ), tubulointersticiální nefritidy ( $n=17$ ), polycystózy ledvin ( $n=11$ ), diabetické nefropatie ( $n=6$ ) a vaskulární nefrosklerózy ( $n=4$ ). Kontrolní skupinu tvořilo 34 zdravých dobrovolníků (17 mužů a 17 žen) odpovídajících pohlavím, věkem a BMI skupině nemocných.

Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu byly u nemocných s RI/RS signifikantně zvýšeny. Nemocní měli vyšší obsah tělesného tuku, vyšší koncentrace GH, IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-6, leptinu, triacylglycerolů, glukózy, prealbuminu, urey a kreatininu a naopak nižší koncentrace HDL cholesterolu a albuminu ve srovnání se zdravými kontrolami (tabulka 13, graf 4,5). Aktivní ghrelin představoval 2,8% z celkové koncentrace ghrelinu u nemocných s RI/RS a 3,72% ve skupině zdravých kontrol.

Z analýzy pohlavních rozdílů vyplývá, že nemocné ženy měly vyšší obsah tělesného tuku, koncentrace celkového i aktivního ghrelinu, IGFBP-3, leptinu a HDL cholesterolu a nižší koncentrace SLR a WHR ve srovnání s nemocnými muži. V ostatních sledovaných parametrech nebyly nalezeny pohlavní rozdíly (tabulka 14). V kontrolní skupině žen jsme prokázali zvýšený obsah tělesného tuku ( $p < 0,0001$ ), koncentrace IGFBP-3 ( $p < 0,001$ ) a leptinu ( $p < 0,001$ ) a nižší WHR ( $p < 0,01$ ) a koncentrace kreatininu ( $p < 0,05$ ) oproti mužům. Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu byly u kontrolních žen vyšší v porovnání s muži, avšak statistickou významnost dosáhl pouze rozdíl v koncentracích aktivního ghrelinu ( $p < 0,05$ ).

Skupinu nemocných s RI/RS jsme dále rozdělili na podskupinu štíhlých nemocných s porušenou funkcí ledvin ( $\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ ) a skupinu nemocných s nadváhou/obezitou ( $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ). Štíhlí nemocní měli vyšší koncentrace GH, IGFBP-1 a SLR a nižší WHR a koncentrace leptinu a albuminu. Mezi oběma skupinami nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v koncentracích celkového ani aktivního ghrelinu (tabulka 15).

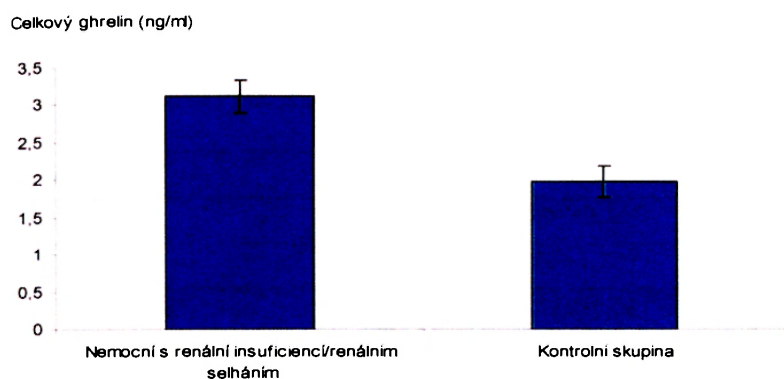
Ve skupině nemocných s RI/RS koncentrace celkového ghrelinu korelovaly pozitivně s koncentracemi aktivního ghrelinu, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-6 a kreatininu a negativně s věkem. Naproti tomu ve skupině zdravých kontrolních subjektů koncentrace celkového ghrelinu korelovaly pozitivně s koncentracemi GH, IGFBP-1, HDL cholesterolu, albuminu a s poměrem GH/IGF-I a negativně s BMI, WHR a koncentracemi inzulínu (tabulka 16). Při přepočtu zkoumaných hormonálních parametrů na koncentrace kreatininu jsme ve skupině nemocných s RI/RS zaznamenali pouze pozitivní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a koncentracemi

aktivního ghrelinu a volného IGF-1. U kontrolní skupiny při přepočtu parametrů na koncentrace kreatininu korelovaly koncentrace celkového ghrelinu pozitivně s koncentracemi GH (tabulka 18).

Plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly pozitivně s IGFBP-3 v obou skupinách, ve skupině nemocných s RI/RS na rozdíl od kontrol byly navíc zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a obsahem tělesného tuku, koncentracemi celkového ghrelinu, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-2, urey, kreatininu a negativní korelace s věkem a koncentracemi celkové bílkoviny (tabulka 17, graf 6). Při přepočtu hormonálních parametrů na koncentrace kreatininu korelovaly koncentrace aktivního ghrelinu u RI/RS pouze s koncentracemi celkového ghrelinu a IGF-I. U kontrolních subjektů byly přítomny pouze pozitivní korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a IGFBP-3 (tabulka 19).

## Graf 4

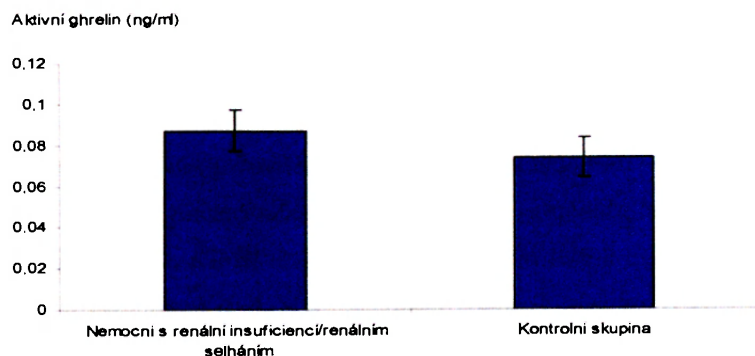
Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu ve skupině nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a v kontrolní skupině



Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměry  $\pm$  střední chyba průměru,  $p < 0,001$ .

## Graf 5

Plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu ve skupině nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a v kontrolní skupině



Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměry  $\pm$  střední chyba průměru,  $p < 0,01$ .

## Tabulka 13

Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a v kontrolní skupině

	RI/RS	KS
Věk (roky)	62,45±2,19	60,37±2,59
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,57±0,73	27,55±0,79
Obsah tělesného tuku (%)	24,14±1,25 <sup>a</sup>	19,38±1,85
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,11±0,21 <sup>c</sup>	1,99±0,21
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,09±0,01 <sup>b</sup>	0,07±0,01
GH (mIU/l)	5,16±0,92 <sup>a</sup>	3,36±0,96
IGF-I (μg/l)	298,74±22,61 <sup>c</sup>	190,18±16,12
GH/IGF-I (mIU/ μg)	0,03±0,01	0,02±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	0,77±0,10	0,55±0,04
IGFBP-1 (μg/l)	73,67±5,66 <sup>d</sup>	30,38±3,74
IGFBP-2 (mg/l)	2,18±0,24 <sup>d</sup>	0,47±0,05
IGFBP-3 (mg/l)	4,61±0,26	4,21±0,17
IGFBP-6 (mg/l)	2,67±0,25 <sup>d</sup>	0,36±0,03
Leptin (ng/ml)	30,66±4,58 <sup>b</sup>	14,33±1,94
SLR (ng/ml)	20,86±1,48	22,22±1,57
Inzulín (μIU/ml)	25,69±2,16	20,65±1,75
Urea (mmol/l)	19,63±1,12 <sup>d</sup>	5,62±0,25
Kreatinin (μmol/l)	544,43±51,64 <sup>d</sup>	86,15±2,69
Prealbumin (g/l)	0,30±0,01 <sup>c</sup>	0,23±0,01
Albumin (g/l)	38,71±0,73 <sup>d</sup>	42,52±0,45
Celková bílkovina (g/l)	71,86±0,87	72,47±0,70
Glykémie (mmol/l)	6,03±0,33 <sup>a</sup>	5,20±0,09
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,85±0,18	5,27±0,02
HDL cholesterol (mmol/l)	1,20±0,03 <sup>c</sup>	1,48±0,37
LDL cholesterol (mmol/l)	2,78±0,15	3,11±0,83
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,93±0,17 <sup>a</sup>	1,51±0,84
WHR	0,93±0,01	0,89±0,10

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RI/RS – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p < 0,05, <sup>b</sup> p < 0,01, <sup>c</sup> p < 0,001, <sup>d</sup> p < 0,0001 oproti kontrolní skupině.

## Tabulka 14

Srovnání koncentrací ghrelinu a vybraných parametrů mezi skupinou mužů a žen s renální insuficiencí/renálním selháním

	RI/RS-M	RI/RS-Ž
Věk (roky)	63,21±3,04	61,76±3,19
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,42±0,92	28,62±1,09
Obsah tělesného tuku (%)	18,70±1,25 <sup>c</sup>	28,80±1,41
Celkový ghrelin (ng/ml)	2,61±0,21 <sup>a</sup>	3,57±0,34
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,07±0,01 <sup>a</sup>	0,11±0,01
GH (mIU/l)	4,69±1,37	5,58±1,26
IGF-I (μg/l)	270,35±32,01	324,43±31,54
GH/IGF-I (mIU/ μg)	0,04±0,02	0,02±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	0,65±0,09	0,88±0,17
IGFBP-1 (μg/l)	78,85±9,34	68,98±6,78
IGFBP-2 (mg/l)	2,28±0,38	2,09±0,30
IGFBP-3 (mg/l)	3,98±0,29 <sup>a</sup>	5,18±0,39
IGFBP-6 (mg/l)	2,83±0,37	2,52±0,35
Leptin (ng/ml)	14,94±3,27 <sup>b</sup>	44,89±6,92
SLR (ng/ml)	25,72±1,98 <sup>b</sup>	16,46±1,71
Inzulín (μIU/ml)	26,60±3,67	24,87±2,50
Prealbumin (g/l)	0,29±0,20	0,31±0,02
Albumin (g/l)	37,76±1,39	39,53±0,64
Celková bílkovina (g/l)	72,08±1,37	71,67±1,12
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,52±0,24	5,15±0,24
HDL cholesterol (mmol/l)	1,13±0,04 <sup>a</sup>	1,27±0,04
LDL cholesterol (mmol/l)	2,54±0,19	3,00±0,21
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,93±0,24	1,94±0,24
Urea (mmol/l)	20,91±1,48	18,47±1,66
Kreatinin (μmol/l)	603,95±72,20	490,57±73,16
Glykémie (mmol/l)	6,12±0,47	5,96±0,80
WHR	0,98±0,02 <sup>b</sup>	0,89±0,02

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RI/RS-M - skupina nemocných mužů s renální insuficiencí/renálním selháním, RI/RS-Ž - skupina nemocných žen s renální insuficiencí/renálním selháním, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-I, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p<0,05, <sup>b</sup> p<0,001, <sup>c</sup> p<0,0001 vs. ženy.

## Tabulka 15

Srovnání vybraných antropometrických, hormonálních a laboratorních parametrů mezi skupinami štíhlých nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a nemocných s nadváhou/obezitou

	RI/RS-S	RI/RS-OB
Věk (roky)	62,42±4,87	62,46±2,39
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22,70±0,52 <sup>c</sup>	29,66±0,72
Obsah tělesného tuku (%)	20,27±2,18	25,66±1,43
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,62±0,45	2,89±0,24
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,09±0,02	0,08±0,01
GH (mIU/l)	9,37±2,31 <sup>b</sup>	3,35±0,64
IGF-I (μg/l)	298,80±32,96	298,71±29,41
GH/IGF-I (mIU/μg)	0,03±0,02	0,02±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	0,78±0,12	0,76±0,14
IGFBP-1 (μg/l)	95,58±10,19 <sup>b</sup>	64,28±6,11
IGFBP-2 (mg/l)	2,75±0,58	1,94±0,22
IGFBP-3 (mg/l)	4,67±0,47	4,59±0,32
IGFBP-6 (mg/l)	3,06±0,38	2,50±0,32
Leptin (ng/ml)	16,46±4,75 <sup>a</sup>	36,75±5,80
SLR (ng/ml)	26,76±2,42 <sup>b</sup>	18,33±1,65
Inzulín (μIU/ml)	27,23±5,21	25,04±2,20
Urea (mmol/l)	21,02±2,10	19,03±1,34
Kreatinin (μmol/l)	546,29±90,88	514,54±64,24
Prealbumin (g/l)	0,30±0,03	0,30±0,02
Albumin (g/l)	35,73±1,57 <sup>a</sup>	40,04±0,68
Celková bílkovina (g/l)	70,50±1,49	72,45±1,06
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,65±0,30	4,94±0,22
HDL cholesterol (mmol/l)	1,23±0,07	1,19±0,03
LDL cholesterol (mmol/l)	2,52±0,23	2,91±0,19
Triacylglyceroly (mmol/l)	2,01±0,28	1,90±0,21
Glykémie (mmol/l)	6,52±0,84	5,83±0,31
WHR	0,88±0,03 <sup>a</sup>	0,95±0,01

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RI/RS-S – skupina štíhlých nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, RI/RS-OB – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a nadváhou/obezitou, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup> p<0,05, <sup>b</sup> p<0,01, <sup>c</sup> p<0,001 vs. obézní.

## Tabulka 16

Vztah plasmatických koncentrací celkového ghrelinu a vybraných antropometrických, hormonálních a biochemických parametrů u nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a u kontrolní skupiny

	RI/RS	KS
Věk	$r = -0,35, p < 0,05$	NS
BMI	NS	$r = -0,35, p < 0,05$
Obsah tělesného tuku	NS	NS
Aktivní ghrelin	$r = 0,66, p < 0,0001$	NS
GH	NS	$r = 0,47, p < 0,01$
IGF-I	$r = 0,43, p < 0,01$	NS
GH/IGF-I	NS	$r = 0,51, p < 0,01$
Volný IGF-I	$r = 0,56, p < 0,0001$	NS
IGFBP-1	NS	$r = 0,35, p < 0,05$
IGFBP-2	$r = 0,31, p < 0,05$	NS
IGFBP-3	$r = 0,47, p < 0,01$	NS
IGFBP-6	$r = 0,40, p < 0,05$	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	$r = -0,36, p < 0,05$
Prealbumin	NS	NS
Albumin	NS	$r = 0,38, p < 0,05$
Celková bílkovina	NS	NS
Urea	NS	NS
Kreatinin	$r = 0,37, p < 0,05$	NS
Celkový cholesterol	NS	NS
HDL cholesterol	NS	$r = 0,36, p < 0,05$
LDL cholesterol	NS	NS
Triacylglyceroly	NS	NS
Glukóza	NS	NS
WHR	NS	$r = -0,45, p < 0,05$

RI/RS – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl,  $r$  – korelační koeficient,  $p$  – hladina významnosti.

## Tabulka 17

Vztah plasmatických koncentrací aktivního ghrelinu a vybraných antropometrických, hormonálních a biochemických parametrů u nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a u kontrolní skupiny

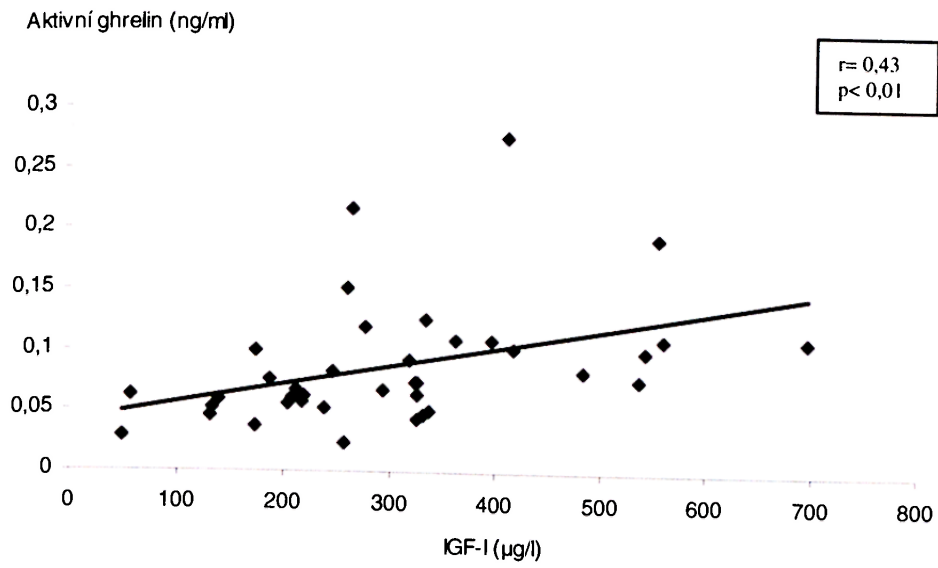
	RI/RS	KS
Věk	$r = -0,42, p < 0,01$	NS
BMI	NS	NS
Obsah tělesného tuku	$r = 0,38, p < 0,05$	NS
Celkový ghrelin	$r = 0,66, p < 0,0001$	NS
GH	NS	NS
IGF-I	$r = 0,43, p < 0,01$	NS
GH/IGF-I	NS	NS
Volný IGF-I	$r = 0,30, p < 0,05$	NS
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	$r = 0,38, p < 0,05$	NS
IGFBP-3	$r = 0,39, p < 0,05$	$r = 0,50, p < 0,0001$
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS
Prealbumin	NS	NS
Albumin	NS	NS
Celková bílkovina	$r = -0,42, p < 0,01$	NS
Urea	$r = 0,34, p < 0,05$	NS
Kreatinin	$r = 0,43, p < 0,01$	NS
Celkový cholesterol	NS	NS
HDL cholesterol	NS	NS
LDL cholesterol	NS	NS
Triacylglyceroly	NS	NS
Glukóza	NS	NS
WHR	NS	NS

RI/RS – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl,  $r$  – korelační koeficient,  $p$  – hladina významnosti.



## Graf 6

Korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a IGF-I ve skupině nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním



## Tabulka 18

Vztah plasmatických koncentrací celkového ghrelinu a parametrů osy GH/IGF-I nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a u kontrolní skupiny – přepočteno na koncentrace kreatininu (parciální korelace)

	RI/RS	KS
Aktivní ghrelin	$r= 0,47, p< 0,01$	NS
GH	NS	$r= 0,49, p< 0,01$
IGF-I	NS	NS
Volný IGF-I	$r= 0,53, p< 0,001$	NS
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS
IGFBP-3	NS	NS
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS

*RI/RS – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-1, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

## Tabulka 19

Vztah plasmatických koncentrací aktivního ghrelinu a parametrů osy GH/IGF-I u nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a u kontrolní skupiny – přepočet na koncentrace kreatininu (parciální korelace)

	RI/RS	KS
Celkový ghrelin	$r= 0,47, p< 0,01$	NS
GH	NS	NS
IGF-I	$r= 0,34, p< 0,05$	NS
Volný IGF-I	NS	NS
IGFBP-1	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS
IGFBP-3	NS	$r= 0,46, p< 0,01$
IGFBP-6	NS	NS
Leptin	NS	NS
SLR	NS	NS
Inzulín	NS	NS

*RI/RS – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-I, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, WHR – poměr pas/boky, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

#### 7.4.2 Změny koncentrací celkového a aktivního ghrelinu vlivem hemodialyzační léčby

Do studie bylo zařazeno 16 nemocných s renálním selháním (RS) vyžadujícím pravidelnou hemodialyzační léčbu (8 mužů a 8 žen, sérový kreatinin 603-1115  $\mu\text{mol/l}$ ). Kontrolní skupinu jedinců odpovídajících pohlavím, věkem a BMI, tvořilo 16 zdravých dobrovolníků (8 mužů a 8 žen).

Koncentrace celkového ghrelinu, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-6, inzulinu a urey byly u nemocných ve stádiu RS statisticky významně vyšší oproti kontrolní skupině a to před i po hemodialýze. Predialyzačně měli nemocní s RS navíc vyšší plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu, kreatininu, prealbuminu a triacylglycerolů a nižší sérové koncentrace celkového, HDL i LDL cholesterolu, albuminu a celkové bílkoviny. Po skončení hemodialýzy měli nemocní s RS k signifikantně nižší koncentrace GH oproti zdravým kontrolám (tabulka 20, 21, graf 7,8).

Hemodialýza vedla ke statisticky významnému poklesu koncentrací celkového i aktivního ghrelinu, GH, IGF-I a urey, naopak koncentrace volného IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-6 a SLR vzrostly. Koncentrace IGFBP-2, IGFBP-3, leptinu a inzulinu zůstaly neovlivněny (tabulka 22). Hemodialýzou bylo odstraněno 17,37% celkového a 30,51% aktivního ghrelinu.

Koncentrace celkového ghrelinu korelovaly pozitivně s koncentracemi aktivního ghrelinu a IGFBP-3 ve skupině nemocných s RS před i po hemodialýze na rozdíl od zdravých kontrol. Ve skupině nemocných s RS koncentrace celkového ghrelinu korelovaly navíc pozitivně s obsahem tělesného tuku ( $r= 0,62$ ,  $p< 0,05$ ) a negativně s koncentracemi LDL cholesterolu ( $r= -0,55$ ,  $p< 0,05$ ) před hemodialýzou, po dialýze došlo ke ztrátě těchto korelací, ale objevily se významné pozitivní korelace s koncentracemi IGF-I i volného IGF-I a negativní korelace s koncentracemi SLR. U kontrolní skupiny byly prokázány pouze negativní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a triacylglycerolů ( $r= -0,61$ ,  $p< 0,05$ ) (tabulka 23).

Koncentrace aktivního ghrelinu pozitivně korelovaly s koncentracemi celkového ghrelinu u nemocných s RS před i po dialýze na rozdíl od zdravých kontrol. U nemocných s RS koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly pozitivně s obsahem tělesného tuku ( $r= 0,53$ ,  $p< 0,05$ ) a negativně s koncentracemi SLR před dialýzou, po hemodialýze došlo ke ztrátě těchto korelací, prokázali jsme však pozitivní korelace s koncentracemi volného IGF-I. V kontrolní skupině koncentrace aktivního ghrelinu v plasmě překvapivě korelovaly pozitivně s BMI ( $r= 0,52$ ,  $p< 0,05$ ), obsahem tělesného tuku ( $r= 0,57$ ,  $p< 0,05$ ) a koncentracemi IGF-I, IGFBP-3 a leptinu a negativně s koncentracemi IGFBP-2 (tabulka 24).

## Tabulka 20

Biochemické a antropometrické parametry u nemocných s renálním selháním a u kontrolní skupiny

	RS	KS
Věk (roky)	57,50±3,46	59,19±3,84
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,34±0,77	26,27±0,75
Obsah tělesného tuku (%)	25,23±1,93	18,97±2,76
Urea (mmol/l)	23,56±1,53 <sup>d</sup>	5,56±0,37
Kreatinin (μmol/l)	889,31±40,35 <sup>d</sup>	88,07±3,77
Prealbumin (g/l)	0,32±0,02 <sup>b</sup>	0,23±0,01
Albumin (g/l)	38,00±0,71 <sup>d</sup>	42,99±0,62
Celková bílkovina (g/l)	70,19±1,03 <sup>a</sup>	73,41±1,01
Glykémie (mmol/l)	5,37±0,17	5,13±0,10
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,58±0,29 <sup>a</sup>	5,30±0,21
HDL cholesterol (mmol/l)	1,18±0,07 <sup>a</sup>	1,47±0,10
LDL cholesterol (mmol/l)	2,49±0,19 <sup>b</sup>	3,27±0,20
Triacylglyceroly (mmol/l)	1,87±0,27 <sup>a</sup>	1,26±0,18
WHR	0,95±0,01	0,91±0,03

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RS – nemocní s renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, WHR – poměr pas/boky, <sup>a</sup>  $p < 0,05$ , <sup>b</sup>  $p < 0,01$ , <sup>c</sup>  $p < 0,001$ , <sup>d</sup>  $p < 0,0001$  oproti kontrolní skupině.

## Tabulka 21

Vybrané hormonální parametry ve skupině nemocných s renálním selháním a v kontrolní skupině

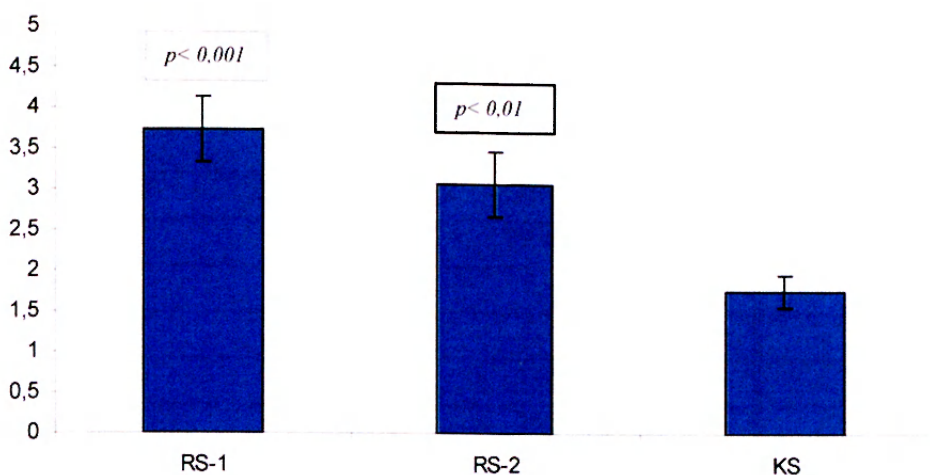
	RS-1	RS-2	KS
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,72±0,41 <sup>c</sup>	3,08±0,40 <sup>b</sup>	1,78±0,21
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,12±0,02 <sup>b</sup>	0,08±0,01	0,06±0,01
GH (mU/l)	5,49±1,29	0,59±0,09 <sup>a</sup>	3,10±1,01
IGF-I (μg/l)	404,75±35,72 <sup>d</sup>	350,31±42,09 <sup>b</sup>	190,88±25,10
GH/IGF-I (mlU/ μg)	0,02±0,01	0,001±0,01	0,02±0,01
Volný IGF-I (μg/l)	1,28±0,17 <sup>c</sup>	2,04±0,42 <sup>b</sup>	0,52±0,05
IGFBP-1 (μg/l)	89,40±9,64 <sup>d</sup>	140,81±8,60 <sup>d</sup>	30,77±3,95
IGFBP-2 (mg/l)	2,96±0,39 <sup>d</sup>	3,38±0,53 <sup>d</sup>	0,54±0,07
IGFBP-3 (mg/l)	5,73±0,48 <sup>b</sup>	5,96±0,45 <sup>b</sup>	4,19±0,24
IGFBP-6 (mg/l)	3,65±0,37 <sup>d</sup>	5,50±0,46 <sup>d</sup>	0,38±0,04
Leptin (ng/ml)	28,01±7,43	26,93±8,08	14,08±3,20
SLR (ng/ml)	21,63±2,33	24,69±2,82	23,14±2,70
Inzulín (μIU/ml)	27,69±2,71 <sup>a</sup>	25,63±5,70 <sup>a</sup>	21,13±2,22
Urea (mmol/l)	23,56±1,53 <sup>d</sup>	7,52±0,64 <sup>a</sup>	5,56±0,37

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RS-1 – nemocní s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – nemocní s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-I, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, <sup>a</sup>  $p < 0,05$ , <sup>b</sup>  $p < 0,01$ , <sup>c</sup>  $p < 0,001$ , <sup>d</sup>  $p < 0,0001$  oproti kontrolní skupině.

## Graf 7

Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu ve skupině nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a v kontrolní skupině

Celkový ghrelin (ng/ml)

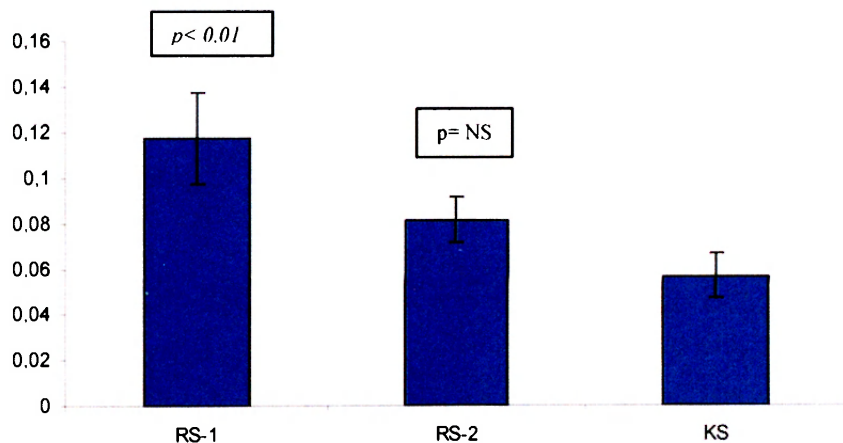


Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměry  $\pm$  střední chyba průměru, RS-1 – nemocní s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – nemocní s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina,  $p$  – hladina významnosti při vyjádření statisticky významné odlišnosti od kontrolní skupiny.

## Graf 8

Plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu ve skupině nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a v kontrolní skupině

Aktivní ghrelin (ng/ml)



Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměr  $\pm$  střední chyba průměru, RS-1 – nemocní s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – nemocní s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina,  $p$  – hladina významnosti při vyjádření statisticky významné odlišnosti od kontrolní skupiny.

## Tabulka 22

Vliv hemodialýzy na koncentrace celkového, aktivního ghrelinu a další hormonální parametry u nemocných se selháním ledvin

	RS-1	RS-2
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,72±0,41 <sup>b</sup>	3,08±0,40
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,12±0,02 <sup>c</sup>	0,08±0,01
GH (mU/l)	5,49±1,29 <sup>c</sup>	0,59±0,09
IGF-I (μg/l)	404,75±35,72 <sup>a</sup>	350,31±42,09
Volný IGF-I (μg/l)	1,28±0,17 <sup>a</sup>	2,04±0,42
IGFBP-1 (μg/l)	89,40±9,64 <sup>c</sup>	140,81±8,60
IGFBP-2 (mg/l)	2,96±0,39	3,38±0,53
IGFBP-3 (mg/l)	5,73±0,48	5,96±0,45
IGFBP-6 (mg/l)	3,65±0,37 <sup>d</sup>	5,50±0,46
Leptin (ng/ml)	28,01±7,43	26,93±8,08
SLR (ng/ml)	21,63±2,33 <sup>b</sup>	24,69±2,82
Inzulín (μIU/ml)	27,69±2,71	25,63±5,70
Urea (mmol/l)	23,56±1,53 <sup>d</sup>	7,52±0,64

Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RS-1 – nemocní s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – nemocní s renálním selháním po hemodialýze, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, <sup>a</sup>  $p < 0,05$ , <sup>b</sup>  $p < 0,01$ , <sup>c</sup>  $p < 0,001$ , <sup>d</sup>  $p < 0,0001$  oproti stavu po hemodialýze.



## Tabulka 23

Vztah plasmatických koncentrací celkového ghrelinu a vybraných hormonálních a biochemických parametrů u nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a u kontrolní skupiny

	RS-1	RS-2	KS
Aktivní ghrelín	$r = 0,75, p < 0,001$	$r = 0,70, p < 0,01$	NS
GH	NS	NS	NS
IGF-I	NS	$r = 0,54, p < 0,05$	NS
GH/IGF-I	NS	NS	NS
Volný IGF-I	NS	$r = 0,58, p < 0,05$	NS
IGFBP-1	NS	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS	NS
IGFBP-3	$r = 0,52, p < 0,05$	$r = 0,61, p < 0,05$	NS
IGFBP-6	NS	NS	NS
Leptin	NS	NS	NS
SLR	NS	$r = -0,53, p < 0,05$	NS
Inzulín	NS	NS	NS
Úrea	NS	NS	NS

*RS-1 – skupina nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – skupina nemocných s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

## Tabulka 24

Vztah plasmatických koncentrací aktivního ghrelinu a vybraných hormonálních a biochemických parametrů u nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a u kontrolní skupiny

	RS-1	RS-2	KS
Celkový ghrelin	$r= 0,75, p< 0,001$	$r= 0,70, p< 0,01$	NS
GH	NS	NS	NS
IGF-I	NS	NS	$r= 0,91, p< 0,0001$
GH/IGF-I	NS	NS	NS
Volný IGF-I	NS	$r= 0,50, p< 0,05$	NS
IGFBP-1	NS	NS	NS
IGFBP-2	NS	NS	$r= -0,58, p< 0,05$
IGFBP-3	NS	NS	$r= 0,79, p= 0,01$
IGFBP-6	NS	NS	NS
Leptin	NS	NS	$r= 0,56, p< 0,05$
SLR	$r= -0,64, p< 0,01$	NS	NS
Inzulín	NS	NS	NS
Urea	NS	NS	NS

RS-1 – skupina nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – skupina nemocných s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podobný růstový faktor-I, IGFBP-1 – vazebný protein pro IGF-1, IGFBP-2 – vazebný protein pro IGF-2, IGFBP-3 – vazebný protein pro IGF-3, IGFBP-6 – vazebný protein pro IGF-6, SLR – solubilní leptinový receptor, NS – nesignifikantní rozdíl,  $r$  – korelační koeficient,  $p$  – hladina významnosti.

## 8. Diskuse

### 8.1. Plasmatické koncentrace ghrelinu u zdravých jedinců

#### 8.1.1. Vztah ghrelinu k parametrům osy GH/IGF-I a k základním laboratorním a antropometrickým parametrům u zdravých jedinců a v závislosti na pohlaví

Ghrelin byl izolován z tkáně krysího žaludku při pátrání po endogenním ligandu GHS-R. Po exogenním podání stimuluje ghrelin sekreci GH z buněk adenohypofýzy in vitro i in vivo. Ghrelin je dokonce silnějším stimulem sekrece GH než samotný GHRH (Kojima a kol. 1999, Arvat a kol.

2000, Arvat a kol. 2001a). Přes tyto jednoznačné výsledky není dosud jeho role v endogenní sekreci GH jasně objasněna.

Výsledky některých experimentů podporují hypotézu, že endogenní ghrelin je významnou měrou zapojen do fyziologické regulace sekrece GH a že tato regulace má charakter klasické zpětné vazby (Toshinai a kol. 2001, Kamegai a kol. 2004, Muller a kol. 2002, Dall a kol. 2002, Freda a kol. 2003). Jiné studie ovšem tento předpoklad nepotvrzují (Janssen a kol. 2001, Barkan a kol. 2003). Navíc ve studiích na myších s knockoutovaným ghrelinovým genem či genem pro jeho receptor nebyly zjištěny rozdíly ve velikosti, rychlosti růstu, tělesné kompozici ani koncentracích IGF-I oproti zdravé kontrolní skupině (Sun a kol. 2003, Sun a kol. 2004).

Situace je dále komplikována faktem, že uvedené studie dosud zkoumaly pouze koncentrace celkového ghreluinu a ne aktivního ghreluinu, který jediný vykazuje endokrinologické působení. Koncentrace celkového ghreluinu v plasmě je součtem koncentrací aktivního acylovaného ghreluinu a des-acyl ghreluinu, který nemá schopnost stimulovat sekreci GH. Acylovaný ghrelin představuje 4,03% celkové koncentrace ghreluinu u zdravých jedinců, des-acyl ghrelin tedy v plasmě výrazně převažuje. Koncentrace ghreluinu v plasmě, které jsou běžně detekovatelné komerčními kity, navíc odráží největší měrou jeho produkci v žaludku (Dornonville de la Cour a kol. 2001). Pouze malé procento představuje syntéza ghreluinu v dalších tkáních včetně hypofýzy a hypotalamu (Date a kol. 2000a, Papotti a kol. 2000, Kršek a kol. 2002, Wierup a kol. 2002).

Cílem této studie bylo určení koncentrací celkového i aktivního ghreluinu u zdravých jedinců a jejich vztahu k endogenní sekreci GH a parametrům somatotropní osy, porovnat pohlavní rozdíly v koncentracích ghreluinu a ověřit vliv tělesné kompozice na koncentrace ghreluinu u zdravých subjektů. Naše hypotéza vycházela z předpokladu existence negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a parametry somatotropní osy.

V případě aktivního ghreluinu nebyla překvapivě prokázána žádná korelace s komponentami osy GH/IGF-I a přitom pouze aktivní ghrelin má schopnost stimulovat sekreci GH. Dosud nebyla publikována studie, která by se zabývala stanovením tohoto parametru u zdravých jedinců a zkoumáním jeho vztahu ke komponentám somatotropní osy, naše studie je tedy první studií zabývající se tímto problémem.

Pokud se týče celkového ghreluinu, nenašli jsme jasnou korelaci mezi ním a koncentracemi GH u zdravých jedinců, podobně jako ve většině jiných studií (Cappiello a kol. 2002, Dall a kol. 2002, Torsello a kol. 2002). Plasmatické koncentrace celkového ghreluinu však pozitivně korelovaly s poměrem GH/IGF-I v celé kontrolní skupině a v podskupině zdravých žen a tato korelace byla zachována i ve skupinách štíhlých jedinců a jedinců s nadváhou/obezitou. Problémem stanovení GH je pulsilita jeho sekrece a krátký sérový poločas, což neumožňuje vždy jasnou interpretaci výsledků. I když tomuto fenoménu jsme se snažili vyhnout opakovaným odběrem krve a stanovením průměrných koncentrací GH u všech subjektů získaných ze 3 odběrů krve, u většiny jedinců byly koncentrace GH detekované při ranním odběru ve všech vzorcích na dolní hranici citlivosti použitého kitu. To mohlo

vést k zastření event. přítomného vztahu mezi koncentracemi ghrelinu a GH. Koncentrace celkového ghrelinu v plasmě oscilují v rámci diurnálního rytmu a v závislosti na příjmu potravy. Tento rytmus připomíná denní rytmus sekrece GH, změny v koncentracích ghrelinu jsou však pozvolné bez výraznějších rozkolísání jeho hladin.

Dále byly zjištěny významné negativní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a IGF-I v celé skupině zdravých jedinců i v podskupině zdravých žen. Toto pozorování podporuje možnost existence negativní vzájemné regulace obou parametrů a bylo zjištěno i ve studii Engströma a kol. (2003). Na druhé straně v podskupině zdravých mužů a při analýze podskupin štíhlých a obézních jedinců tyto korelace prokázány nebyly. Podobně i Giavoliová ve své studii tento vztah nepozorovala, avšak uzavírá, že IGF-I v suprafyziologických koncentracích a krátkodobě může inhibovat výdej ghrelinu (Giavoli a kol. 2004). Vzhledem k tomu, že des-acyl ghrelin, který tvoří majoritní podíl na koncentraci celkového ghrelinu, nevykazuje schopnost stimulace sekrece GH, není patofyziologický význam tohoto nálezu jasný.

Na základě těchto výsledků usuzujeme, že plasmatická koncentrace ghrelinu není hlavním regulátorem sekrece GH u zdravých jedinců. Produkce a koncentrace ghrelinu lokálně v hypotalamu/hypofýze je ovšem obtížně stanovitelná a závěry získané na základě rozboru plasmatických hodnot nelze jednoduše extrapolovat i pro situaci lokální v hypotalamo-hypofyzární oblasti. Proto i nedostatek důkazů pro existenci negativní zpětné vazby mezi plasmatickou koncentrací ghrelinu a osou GH/IGF-I ještě nevyklučuje možnost existence této vazby na hypotalamo-hypofyzární úrovni.

Štíhlí zdraví jedinci měli v naší studii podle očekávání statisticky významně vyšší koncentrace ghrelinu v porovnání s obézními subjekty, avšak tento rozdíl byl prokázán pouze pro koncentrace celkového, nikoliv aktivního ghrelinu. U zdravých jedinců jsme dle předpokladu také prokázali negativní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a BMI a při analýze skupin mužů i žen zvláště byly v obou podskupinách prokazatelné též negativní korelace s obsahem tělesného tuku. Tato pozorování jsou opět v souladu s publikovanými výsledky jiných autorů (Tschöp a kol. 2001) ukazujícími na vliv chronických změn nutričního stavu na plasmatickou koncentraci celkového ghrelinu. Koncentrace aktivního ghrelinu v naší studii nekorelovaly s žádným z těchto parametrů a proto nepředpokládáme, že stejný typ regulace je přítomen i v případě aktivního ghrelinu.

S rostoucími koncentracemi inzulínu klesaly koncentrace ghrelinu v naší studii i u jiných autorů (Saad a kol. 2002), ale opět byly tyto závislosti prokázány pouze v případě celkového ghrelinu.

Neprokázáli jsme žádný statisticky významný vztah mezi koncentracemi aktivního ani celkového ghrelinu a leptinu, koncentrace leptinu byly podle očekávání zvýšené u obézních subjektů. Některé studie naznačují, že leptin a ghrelin mohou být funkčními antagonisty v regulaci příjmu potravy ovlivněním systému NPY/AGRP na úrovni hypotalamu (Nakazato a kol. 2001, Shintani a kol. 2001), četné studie prokázaly negativní korelace mezi koncentracemi ghrelinu a leptinu (Cappiello a kol. 2002) nicméně i chybění těchto korelací bylo již jinými autory publikováno (Giavoli a kol. 2004,

Malik a kol. 2004, Ronchi a kol. 2004). Navíc recentní výsledky studií na myších s vyřazením ghrelinového či GHS-R genu naznačují, že vzájemná regulace těchto dvou hormonů je komplexnější a zahrnuje i spolupodíl dalších regulačních mechanismů. V tomto případě nedochází ke změně fyziologické sekrece leptinu i přes to, že koncentrace ghrelinu jsou buď minimální, anebo je jeho působení přes GHS-R zablokováno (Sun a kol. 2003, Sun a kol. 2004). Navíc regulační mechanismy, které se uplatňují na plasmatické úrovni se mohou lišit od mechanismů uplatňovaných na úrovni hypotalamu/hypofýzy kde se oba působky uplatňují v řízení aktivity systému NPY/AGRP.

V sekreci GH existuje pohlavní dimorfismus (Jaffe a kol. 1998) a ačkoli celkový denní výdej GH se neliší mezi muži a ženami, existují pohlavní rozdíly v charakteru sekrece GH. Ženy mají vyšší bazální koncentrace GH a vykazují částečnou rezistenci či menší citlivost na působení GH na receptorové úrovni. Uvažuje se, že na udržení vyšších koncentrací GH u žen se podílí rozdílná citlivost hypofýzy k GHRH u obou pohlaví a rozdílný vliv somatostatinu a negativní zpětné vazby IGF-I při ovlivnění sekrece GH (Jessup a kol. 2003). Barkan a spolupracovníci zvažují možnou roli ghrelinu v udržení vyšších koncentrací GH u žen (Barkan a kol. 2003), Purnell ve své studii vyšší koncentrace ghrelinu u žen nepozoroval (Purnell a kol. 2003).

I my jsme v naší studii prokázali vyšší koncentrace celkového ghrelinu u zdravých žen v porovnání s muži. Koncentrace GH a IGFBP-3 byly též statisticky významně vyšší, v koncentracích aktivního ghrelinu pohlavní rozdíl prokázán nebyl. Zřejmě se nejedná o vliv antropometrických rozdílů ani supresní účinek inzulínu či leptinu na koncentrace ghrelinu, protože u žen byl prokázán vyšší obsah tělesného tuku a vyšší koncentrace leptinu oproti mužům, v koncentracích inzulínu se obě skupiny nelišily. Koncentrace celkového ani aktivního ghrelinu nekorelovaly u žen s GH, byly však prokázány pozitivní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a poměrem GH/IGF-I, koncentracemi volného IGF-I a negativní korelace s koncentracemi IGF-I. Vzhledem k absenci GH-sekrecního účinku des-acyl ghrelinu není význam těchto nálezů jasný a nepředpokládáme, že se ghrelin výrazněji měrou podílí na ovlivnění pohlavních rozdílů v sekreci GH.

## **8.2. Plasmatické koncentrace ghrelinu u nemocných s akromegalií**

Cílem této studie bylo stanovení koncentrací celkového a aktivního ghrelinu u akromegalie, zjištění jejich vztahu k vybraným antropometrickým, hormonálním a biochemickým parametrům a ověření hypotézy o existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a parametry osy GH/IGF-I u tohoto onemocnění. Vzhledem ke zvýšené sekreci GH jsme předpokládali supresi koncentrací ghrelinu.

Dosud publikované práce zabývající se stanovením plasmatických koncentrací ghrelinu u tohoto onemocnění jsou spíše ojedinělé. Některé práce prokázaly u nemocných s akromegalií nižší koncentrace ghrelinu (Cappiello a kol. 2002, Freda a kol. 2003, Ronchi a kol. 2004), v jiných studiích

nebyl zjištěn rozdíl v koncentracích ghrelinu mezi nemocnými s akromegalií a zdravými subjekty (Norrelund a kol. 2002, Barkan a kol. 2003). Ve všech dosud publikovaných studiích byly však vždy zjišťovány pouze plasmatické koncentrace celkového, ne aktivního ghrelinu, problémem některých studií byl i velmi nízký počet subjektů event. charakter zvolené kontrolní skupiny umožňující uplatnění více regulačních vlivů (např. tělesného složení) na koncentrace ghrelinu. Primárně se tyto studie patofyziologickým významem ghrelinu u akromegalie a jeho vztahem k sekreci GH a parametřům somatotropní osy nezabývaly.

Zajímavé poznatky přinesla studie Fredové a kol. (2003), která prokázala nárůst koncentrací celkového ghrelinu u nemocných s akromegalií léčených operací hypofýzy a naopak pokles koncentrací ghrelinu u nemocných léčených analogy somatostatinu. Supresní vliv analog somatostatinu na koncentrace celkového ghrelinu byl prokázán i u jiných studií (Norrelund a kol. 2002), předpokládá se přímý vliv na sekreci ghrelinu endokrinními buňkami žaludeční sliznice. Normalizace koncentrací ghrelinu u nemocných vyléčených operací adenomu secernujícího GH by tedy mohla být důkazem negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a osou GH/IGF-I.

Původně jsme předpokládali, že plasmatické koncentrace ghrelinu budou u nemocných s akromegalií suprimovány. V naší studii jsme sice prokázali nižší koncentrace celkového i aktivního ghrelinu než u kontrolních subjektů, avšak tento rozdíl nedosáhl statistickou významnost. Naše studie byla první studií určující koncentrace aktivního ghrelinu u akromegalie.

Ve skupině nemocných s akromegalií byly zjištěny negativní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a IGF-I připouštějící možnost vzájemné negativní regulace obou hormonů. Tuto možnost připouštějí i jiní autoři ve svých studiích (Cappiello a kol. 2002, Muller a kol. 2002). Na druhé straně jsme však neprokázali žádný statisticky významný vztah mezi koncentracemi ghrelinu a GH event. poměrem GH/IGF-I, podobně jako jiní autoři (Cappiello a kol. 2002, Freda a kol. 2003). Nebyl nalezen žádný statisticky významný vztah mezi sledovanými parametry včetně IGF-I a volného IGF-I a koncentracemi aktivního ghrelinu, který jediný v experimentu stimuluje sekreci GH a proto ve shodě s jinými publikovanými pracemi nepovažujeme ghrelin za faktor, který by významněji ovlivňoval koncentrace GH u akromegalie ani neprokazujeme existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a osou GH/IGF-I a platnost vlastní hypotézy. Tyto nálezy opět nic nevyovídají o lokálních koncentracích uvedených působků v hypotalamu/adenohypofýze, kde může být situace jiná. Regulace plasmatické koncentrace ghrelinu u tohoto onemocnění je komplexnější a opět zahrnuje vliv dalších faktorů.

Jedním z nich je stupeň adipozity. Nemocní s akromegalií měli v naší studii podle očekávání nižší obsah tělesného tuku odpovídající nálezům jiných autorů (Cappiello a kol. 2002, Freda a kol. 2003). Podobně jako u zdravých jedinců jsme i u hormonálně aktivní akromegalie prokázali nižší koncentrace celkového ghrelinu u nemocných subjektů s nadváhou/obezitou v porovnání se štíhlými nemocnými a to i přes absenci korelací mezi koncentracemi ghrelinu a BMI či obsahem tělesného tuku. Tento nález připouští možnost, že i v případě akromegalie zůstává zachována regulace

koncentrace celkového ghrelinu vlivem nutričního stavu resp. stupně adipozity. Tento regulační mechanismus by plasmatickou koncentrací ghrelinu reguloval v opačném směru než zvažovaná negativní zpětná vazba s GH/IGF-I a mohl vysvětlit výsledky, které jsme obdrželi. V případě aktivního ghrelinu jsme podobně jako u zdravých jedinců neprokázali změny jeho koncentrací v závislosti na stupni adipozity ani korelaci s BMI.

U nemocných s akromegalií jsme prokázali vyšší koncentrace inzulínu, avšak žádné korelace mezi koncentracemi ghrelinu a inzulínu, podobně jako v dalších studiích u nemocných s akromegalií (Cappiello a kol. 2002, Freda a kol. 2003), prokázány nebyly. Koncentrace leptinu u nemocných se v naší studii nelišily od nálezů získaných v kontrolní skupině a nekorelovaly s koncentracemi ghrelinu a proto stejně jako v případě inzulínu nepředpokládáme větší význam těchto hormonů ve fyziologické regulaci koncentrací celkového ghrelinu.

V případě aktivního ghrelinu je situace složitější a naše výsledky neumožňují vyčlenit regulační faktory uplatňující se v řízení jeho koncentrací. Domníváme se, že tyto mechanismy jsou alespoň částečně odlišné od těch, které určují koncentrace celkového ghrelinu.

Barkan a spolupracovníci (2003) pozorovali pohlavní dimorfismus v koncentracích ghrelinu u nemocných s akromegalií, s vyššími koncentracemi ghrelinu u žen. Tato studie se však zabývala malým počtem subjektů a studie Cappiella a spolupracovníků (2002) žádné pohlavní rozdíly v koncentracích ghrelinu u nemocných s akromegalií neprokázala. V naší studii jsme ve skupině pacientů ani v kontrolní skupině subjektů, kteří byli vybráni na základě srovnání věku a BMI, taktéž neprokázali pohlavní rozdíly v koncentracích ghrelinu. Při analýze kontrolní skupiny zdravých jedinců čítající větší množství subjektů (viz kap. 7.1.) byly ovšem koncentrace ghrelinu u žen přesvědčivě statisticky významně vyšší. Zdá se, že mechanismy určující pohlavní rozdíly v koncentracích ghrelinu v případě normálního sekrečního stavu GH a akromegalie se liší a u žen s akromegalií se nejspíše uplatňují i další regulační vlivy.

### **8.3. Ghrelin u nemocných s deficitem růstového hormonu**

Ve skupině nemocných s GHD jsme testovali hypotézu, zda vede nedostatek endogenního GH k zpětnovazebné elevaci plasmatických koncentrací ghrelinu.

Změnami koncentrací ghrelinu u GHD a existencí zvažované zpětné vazby mezi koncentracemi ghrelinu a parametry osy GH/IGF-I se zabývalo několik recentních studií. Někteří autoři nedetekovali rozdíly v koncentracích ghrelinu u nemocných s GHD ve srovnání se zdravými subjekty (Janssen a kol. 2002, Malik a kol. 2004), jinými autory byly zachyceny nižší koncentrace ghrelinu než u zdravých kontrol (Giavoli a kol. 2004, Dall a kol. 2004). Problémem těchto studií však byl fakt, že některé zahrnovaly malé počty subjektů, event. srovnávaly nemocné s kontrolní skupinou

bez zohlednění antropometrických charakteristik subjektů a všechny studie se zabývaly určením pouze koncentrací celkového ghrelinu.

Odpověď na otázku, zda je endogenní ghrelin zapojen do sekrece GH nepřinesly ani studie s léčbou pacientů s GHD pomocí rhGH. Při léčbě byl pozorován vzestup (Giavoli a kol. 2004) či pokles koncentrací GH (Engström a kol. 2003), event. nedošlo k jejich změně (Janssen a kol. 2001), ale opět se jednalo vždy o koncentrace celkového ghrelinu. Zajímavá v tomto ohledu je studie Giavoliové a kol. (2004), ve které došlo při dlouhodobé léčbě GHD k elevaci koncentrací ghrelinu, zatímco krátkodobé podání rhGH způsobilo jeho supresi.

V naší sestavě měli nemocní s GHD nižší koncentrace celkového ghrelinu, ale ani v případě celkového ani v případě aktivního ghrelinu nedosáhl rozdíl koncentrací oproti kontrolní skupině statistickou významnost. Naše studie byla opět první studií zabývající se stanovením koncentrací aktivního ghrelinu u nemocných s GHD. Žádný statisticky významný vztah nebyl ve skupině nemocných prokázán mezi koncentracemi celkového či aktivního ghrelinu a GH, naproti tomu byly zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a IGF-I a negativní korelace s poměrem GH/IGF-I, zatímco v kontrolní skupině korelovaly koncentrace aktivního ghrelinu s koncentracemi IGF-I negativně a koncentrace celkového ghrelinu s poměrem GH/IGF-I pozitivně. Na základě těchto výsledků uzavíráme, že v případě GHD jsme neprokázali jednoznačně roli endogenního ghrelinu v sekreci GH ani existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a komponentami somatotropní osy a tedy platnost naší hypotézy. Na druhé straně nelze vyloučit určitý stupeň regulace sekrece IGF-I přímo či nepřímo působením aktivního ghrelinu u nemocných s GHD. Situace může být však opět komplikována uplatněním dalších regulačních mechanismů.

Vzhledem k tomu, že skupiny nemocných s GHD a zdravých kontrol byly srovnatelné v BMI i obsahu tělesného tuku, nebyly zachyceny rozdíly v koncentracích leptinu mezi oběma skupinami. Podobně jako v jiných studiích nebyly zjištěny žádné korelace mezi koncentracemi ghrelinu a leptinu (Malik a kol. 2004, Giavoli a kol. 2004) inzulínu (Engström a kol. 2003, Giavoli a kol. 2004) ani BMI (Janssen a kol. 2001) ve skupině nemocných s GHD.

Závěrem lze říci, že regulace plasmatických koncentrací celkového i aktivního ghrelinu u GHD není dosud jednoznačně objasněna a uplatňují se další dosud nepoznané regulační vlivy. Limitací naší studie je nízký počet subjektů, z tohoto důvodu jsme neprováděli analýzy pohlavních rozdílů v koncentracích ghrelinu ani rozdílů mezi skupinou nemocných s nadváhou/obezitou a skupinou štíhlých nemocných.



## 8.4. Ghrelin u nemocných s porušenou funkcí ledvin

### 8.4.1. Koncentrace celkového a aktivního ghrelinu a dalších hormonálních a nutričních parametrů u nemocných s renální insuficiencí

Pokročilá fáze chronického renálního selhání je charakterizována rezistencí resp. změnou biologické dostupnosti komponent GH/IGF-I osy. Dochází k elevaci koncentrací GH v důsledku jeho zvýšené sekrece hypofýzou a porušené clearance ledvinami. Koncentrace IGF-I jsou normální či mírně elevované, avšak vzhledem ke kumulaci vazebných proteinů pro IGF v séru je jeho biologická dostupnost snížena a mimo jiné zpětnovazebně vede ke stimulaci sekrece GH. K tomu přistupuje i zvažovaná rezistence na úrovni receptorů pro GH a IGF-I (Roelfsema a kol. 2001).

Ghrelin je velmi silným stimulatorem sekrece GH. Jeho produkce je největší v žaludku, avšak byla prokázána i v jiných tkáních včetně ledvin (Mori a kol. 2000). Cílem naší práce bylo charakterizovat koncentrace celkového a aktivního ghrelinu u onemocnění doprovázených poruchou ledvinové funkce. Předpokládali jsme existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a osou GH/IGF-I a proto supresi koncentrací ghrelinu, na které by se podílela i snížená sekrece ghrelinu ledvinami při poruše jejich funkce.

V průběhu sběru dat pro naši studii bylo publikováno několik prací, které se zabývaly zjištěním regulačních mechanismů ovlivňujících koncentrace ghrelinu u renální insuficience. Ve všech případech byly uniformně zjištěny významně elevované koncentrace celkového ghrelinu (Pérez-Fontán a kol. 2004, Rodriguez Ayala a kol. 2004, Schmidt a kol. 2004), ale pouze v jedné z nich (Yoshimoto a kol. 2002) byly sledovány i koncentrace aktivního ghrelinu, které v této studii nebyly zvýšeny. Bylo zjištěno, že ženy s RS mají vyšší koncentrace ghrelinu než muži (Rodriguez Ayala a kol. 2004), stejně jako je tomu u zdravých jedinců.

V naší studii jsme se zaměřili na stanovení koncentrací celkového i aktivního ghrelinu u nemocných v různých stadiích RI/RS, tedy jednak pacientů s mírnějším postižením, jednak nemocných vyžadujících pravidelnou dialyzační léčbu. I my jsme u nemocných s RI/RS prokázali signifikantně zvýšené koncentrace celkového ghrelinu a jejich redukci při hemodialýze. Koncentrace aktivního ghrelinu byly též statisticky významně vyšší v porovnání s kontrolní skupinou, což je v rozporu s výsledky dosud jediné studie, která se zabývala stanovením také tohoto parametru (Yoshimoto a kol. 2002). Vzhledem k tomu, že uvedená studie obsahovala pouze nemocné s onemocněním ledvin, i když jejich část měla normální hodnotu sérového kreatininu (my jsme výsledky srovnávali s kontrolní skupinou zdravých jedinců bez onemocnění ledvin), nelze vyloučit, že i samotné onemocnění ledvin bez poruchy funkce ovlivnilo koncentrace aktivního ghrelinu. V naší studii jsme nemocné pacienty srovnávali se skupinou zdravých osob, kteří odpovídali věkem, pohlavím i BMI skupině nemocných, ve studii Yoshimota a spolupracovníků údaj o srovnání subjektů

na základě antropometrických charakteristik chybí. Nelze tedy vyloučit, že i vliv event. přítomných rozdílů v tělesném složení se podílel na rozdílech výsledků obou pozorování.

Nemocné ženy v naší studii měly vyšší koncentrace aktivního i celkového ghrelinu, avšak u kontrolní podskupiny žen jsme prokázali signifikantně vyšší koncentrace pouze v případě aktivního ghrelinu. Naproti tomu ve větším souboru zdravých žen (viz odd. 7.1.) jsme zaznamenali signifikantně vyšší koncentrace celkového ghrelinu oproti mužům. Příčina této diskrepance není jasná, nejspíše se podílí malý počet subjektů v podskupině ženských kontrol.

Při porovnání absolutních hodnot jsme u nemocných s RI/RS neprokázali korelace mezi koncentracemi ghrelinu a GH či poměrem GH/IGF-I. Signifikantně pozitivní korelace však byly přítomny mezi koncentracemi celkového i aktivního ghrelinu na jedné straně a IGF-I, volného IGF-I i IGFBP-3 na straně druhé ve skupině nemocných. Při přepočtu dat na koncentrace kreatininu zůstaly nicméně zachovány pouze pozitivní korelace mezi koncentracemi aktivního a celkového ghrelinu navzájem, koncentrace celkového ghrelinu nadále korelovaly s koncentracemi volného IGF-I a koncentrace aktivního ghrelinu s koncentracemi IGF-I. V kontrolní skupině jsme prokázali pozitivní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a GH a poměrem GH/IGF-I, koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly pozitivně pouze s IGFBP-3. Po zhodnocení vlastních výsledků uzavíráme, že v případě chronického onemocnění ledvin se mohou elevované koncentrace aktivního ghrelinu spolupodílet na zvýšení koncentrací IGF-I, společně s jejich kumulací v organismu při porušené funkci ledvin a event. s dalšími regulačními mechanismy. Výsledky naší studie nenasvědčují pro jednoduchý negativní zpětnovazebný vztah mezi parametry somatotropní osy a koncentracemi ghrelinu a nepotvrzují naši předběžnou hypotézu. Všechny výsledky jsou však ve velké míře ovlivněny poruchou exkreční funkce ledvin způsobující kumulaci látek v organismu.

U nemocných s RI/RS koncentrace celkového i aktivního ghrelinu pozitivně korelovaly s koncentracemi kreatininu, jak bylo již dříve publikováno, hemodialýza vedla k jejich signifikantnímu poklesu (Yoshimoto a kol. 2002). Podle předpokladu měli naši pacienti též signifikantně zvýšené koncentrace GH i IGFBP-1,2,3 a 6 oproti zdravým kontrolám, což je způsobeno kumulací těchto látek v organismu při poruše ledvinové funkce. Koncentrace GH a kreatininu sice vzájemně nekorelovaly, nicméně hemodialýza vedla k signifikantnímu poklesu elevovaných koncentrací GH (viz níže). Z těchto výsledků usuzujeme, že na elevaci koncentrací ghrelinu i GH se významnou měrou podílí porucha jejich clearance a/nebo metabolismu ledvinami.

U nemocných s RI/RS koncentrace celkového i aktivního ghrelinu nekorelovaly s BMI, koncentracemi inzulínu ani leptinu, pouze koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly pozitivně s obsahem tělesného tuku. Na rozdíl od většiny studií u zdravých subjektů i jedné studie pacientů s RS (Schmidt a kol. 2004) jsme v případě onemocnění ledvin neprokázali rozdíly v koncentracích ghrelinu u štíhlých a obézních jedinců. Zdá se, že regulační vliv tělesného složení resp. stupně adipozity a koncentrací inzulínu a leptinu na regulaci koncentrací celkového ghrelinu je v případě onemocnění ledvin menší, nebo se více uplatňují další regulační mechanismy. V případě aktivního ghrelinu je

možno na základě našich výsledků zvažovat kausální souvislost mezi jeho zvýšenými koncentracemi u nemocných s RI/RS a zvýšeným obsahem tělesného tuku u těchto nemocných, pro tuto hypotézu svědčí i kasuistiky nemocných s ghrelinomy, u nichž byl zjištěn vyšší BMI a vyšší obsah tělesného tuku (Corbetta a kol. 2003, Tsolakis a kol. 2004).

#### **8.4.2 Změny koncentrací celkového a aktivního ghrelinu vlivem hemodialyzační léčby**

Ghrelin je peptid obsahující 28 aminokyselin o molekulové váze 3315 Da. Jeho plasmatické koncentrace jsou u nemocných ve stádiu RS signifikantně zvýšeny a jeho efektivní odstranění z cirkulace hemodialýzou bylo popsáno v několika studiích a potvrzeno i vlastními předběžnými výsledky (Yoshimoto a kol. 2002, Schmidt a kol. 2004, Jarkovská a kol. 2005). Celkový, stejně jako aktivní ghrelin byl detekován ve významném množství v moči zdravých subjektů (Yoshimoto a kol. 2002).

Signifikantně vyšší koncentrace celkového i aktivního ghrelinu u nemocných s RS v dialyzačním programu byly přítomny i v této studii. Podle očekávání byly vyšší též koncentrace GH. Po hemodialýze došlo k poklesu koncentrací celkového, aktivního ghrelinu i GH, koncentrace aktivního ghrelinu po skončení hemodialýzy klesly na hodnoty zjištěné u zdravých jedinců. Koncentrace GH byly na konci hemodialýzy dokonce statisticky významně nižší v porovnání se zdravými subjekty. Hemodialýza vedla k odstranění 17,37% celkového, 30,51 % aktivního ghrelinu a 89,25% GH.

U nemocných s RS jsme nenalezli korelace mezi koncentracemi celkového či aktivního ghrelinu a GH, kreatininu či poměrem GH/IGF-I, avšak absence těchto vztahů v tomto případě může být způsobena výběrem pacientů představující relativně úzké rozmezí koncentrací kreatininu. V širší skupině nemocných obsahující i subjekty s mírným stupněm RI (a tedy větší rozptýl hodnot kreatininu) jsme prokázali pozitivní korelace mezi koncentracemi celkového a aktivního ghrelinu a koncentracemi kreatininu.

Ve studii Yoshimota a spolupracovníků byla též prokázána redukce koncentrací celkového i aktivního ghrelinu, v této studii však hemodialýza vedla k odstranění významnějšího množství hormonů než v případě našeho pozorování (pro celkový ghrelin redukce koncentrace o 53,3%, pro aktivní ghrelin redukce koncentrace o 73,8% v uvedené studii). Příčiny této diskrepance nejsou jasné, jednou z možností je rozdíl v metodice stanovení ghrelinu. Yoshimoto užíval vlastní RIA metodu používající polyklonální králičí protilátky. Nelze vyloučit, že touto metodou mohou být oproti komerčnímu RIA kitu použitému v našem případě detekovány i fragmenty ghrelinové molekuly, které jsou následně efektivně odfiltrány hemodialýzou.

Yoshimoto ve své studii též prokázal signifikantní vzestup koncentrací ghrelinu u krys po nefrektomii, což dále podporuje fakt, že změny plasmatických koncentrací ghrelinu u RI/RS jsou v první řadě způsobeny poruchou metabolismu/clearance ghrelinu ledvinami.

U nemocných s RS koncentrace ghrelinu nekorelovaly s BMI, koncentracemi inzulínu ani leptinu, překvapivě byly u nemocných predialyzačně zjištěny pozitivní korelace mezi koncentracemi celkového i aktivního ghrelinu a obsahem tělesného tuku, což je v rozporu s nálezy u zdravých jedinců. Zdá se, že vliv tělesného složení a koncentrací inzulínu event. leptinu regulujících koncentrace celkového ghrelinu za fyziologického stavu je v případě RS porušen.

## 9. Závěr

Ghrelin je proteohormon s výrazným stimulačním účinkem na sekreci GH. Patří do skupiny GHS, je prvním izolovaným endogenním ligandem receptoru pro GHS. Ačkoliv byly první látky z této skupiny syntetizovány již v roce 1977, izolace receptoru i samotného ghrelinu je záležitostí posledního desetiletí.

V naší studii jsme se zabývali zkoumáním fyziologické role endogenního ghrelinu u vybraných patologických stavů a studiem vztahů mezi koncentracemi celkového a aktivního ghrelinu a parametry osy GH/IGF-I. Naše studie je první studií, jež se zabývala stanovením koncentrací nejen celkového, ale i aktivního ghrelinu u vybraných skupin nemocných. Předpokládali jsme, že sekrece ghrelinu je modulována sekrečním stavem GH.

U nemocných s akromegalií jsme očekávali snížené plasmatické koncentrace ghrelinu (hypotéza 1) a u nemocných s GHD jsme předpokládali jejich zvýšení (hypotéza 2) jakožto výsledek uplatnění negativní zpětné vazby při změnách sekrece růstového hormonu. Naše pozorování však tyto hypotézy nepotvrdilo. Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu se u těchto nemocných nelišily v porovnání se zdravými subjekty. V případě těchto chorobných stavů nepředpokládáme významnější roli ghrelinu v ovlivnění sekrece GH ani existenci negativní zpětné vazby mezi těmito působky.

Syntéza ghrelinu byla nalezena též v tkáni lidské ledviny. Proto jsme u nemocných s porušenou funkcí ledvin očekávali snížení plasmatických koncentrací ghrelinu v důsledku jeho snížené tvorby při onemocnění ledvin a zároveň v důsledku uplatnění negativně zpětnovazebné regulace zvýšenými koncentracemi GH (hypotéza 3). Tuto hypotézu ani existenci negativní zpětné vazby mezi ghrelinem a GH jsme nepotvrdili. Na zvýšení koncentrací ghrelinu se zřejmě primárně podílí porucha clearance a/nebo metabolismu ghrelinu v ledvině.

Acylovaný ghrelin je sice dosud nejsilnějším známým stimulatorem sekrece GH in vitro i in vivo, ale naše výsledky v souladu s jinými publikovanými poznatky nesvědčí pro jeho unikátní roli v endogenní sekreci GH ani pro vzájemné zpětnovazebné působení těchto dvou látek. Ghrelin je

společně s GHRH, somatostatinem a působením negativní zpětné vazby IGF-I i vlastního GH patrně pouze jedním z řady regulátorů sekrece GH.

I naprostá absence ghrelinu v experimentu u laboratorních zvířat nevede ke změnám v tělesné kompozici ani koncentracích jednotlivých komponent osy GH/IGF-I. Toto pozorování ukazuje na vliv kompenzačních změn, které za fyziologického stavu mohou zcela nahradit funkci ghrelinu v organismu, který je tedy v tomto případě redundantním. Tato situace je nejspíše zachována i v případě akromegalie či GHD, jak vyplývá z našich pozorování i výsledků dalších studií. Koncentrace ghrelinu v těchto případech nejsou ovlivněny sekrečním stavem růstového hormonu. Regulace koncentrací ghrelinu u těchto onemocnění je komplexní, v případě celkového ghrelinu zahrnuje chronický nutriční stav resp. stupeň adipozity a v případě aktivního ghrelinu dosud nepoznané mechanismy. U nemocných s porušenou funkcí ledvin je hlavním mechanismem elevovaných koncentrací GH i ghrelinu nejspíše retence obou látek v organismu při porušení jejich clearance a/nebo metabolismu v ledvině.

Problémem studia fyziologických účinků ghrelinu ve vztahu k somatotropní ose obecně je nemožnost jeho přímého stanovení v oblasti hypofýzy/hypotalamu. Výsledky získané rozbořením plasmatických 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.

Na základě velkého množství studií lze s jistotou říci, že koncentrace celkového ghrelinu jsou ovlivněny akutními i chronickými změnami nutričního stavu a koncentracemi inzulínu. Koncentrace celkového ghrelinu negativně korelují s BMI event. i s obsahem tělesného tuku, jsou sniženy u obézních a naopak elevovány u štíhlých či kachektických jedinců. Normalizace hmotnosti vede k normalizaci koncentrací ghrelinu a k obnovení jeho diurnálního rytmu. Jedná se však o fyziologickou regulaci koncentrací celkového ghrelinu a na základě našich výsledků nepředpokládáme, že stejný typ regulace se uplatňuje i v případě aktivního ghrelinu.

Exogenně podaný ghrelín vede u krys ke stimulaci příjmu potravy a k nárůstu hmotnosti v důsledku signifikantního zvýšení množství tukové tkáně. Snižuje využití sacharidů jako metabolického substrátu pro získávání energie. Tento efekt ghrelinu se zdá být nezávislým na působení GH, protože GH zvyšuje výdej energie a snižuje množství tělesného tuku v důsledku stimulace lipolýzy. Orexigenní a celkově anabolický efekt ghrelinu je možno chápat jako biologický adaptační mechanismus doplňující působení GH a zajišťující metabolický substrát pro růst.

Mezi základní činitele uplatňující se v sekreci ghrelinu nejen za fyziologického stavu patří inzulín. V mnohých studiích byly prokázány negativní korelace mezi koncentracemi ghrelinu a inzulínu, hyperinzulinémie snižuje plasmatické koncentrace ghrelinu. I když vzájemný vztah obou hormonů není do podrobností objasněn je pravděpodobné, že inzulín přímo či nepřímo prostředkovává vliv nutriční či aktuální energetické bilance na plasmatické koncentrace ghrelinu a

naopak. Pokles koncentrací inzulínu při hladovění vede k elevaci koncentrací ghrelinu, zatímco postprandiální hyperinzulinismus způsobuje jev opačný. Chronický hyperinzulinismus u obézních jedinců a nízké koncentrace inzulínu u kachexie pravděpodobně stejným mechanismem ovlivňují plasmatické koncentrace ghrelinu u chronických nutričních změn. Recipročně hyperghrelinémie při hladovění patrně snižuje syntézu inzulínu a tímto mechanismem udržuje koncentraci glukózy v normálním rozmezí, naopak postprandiální hyperinzulinémie by mohla být následkem poklesu sekrece ghrelinu.

Zprvu se zvažoval možný kauzální vliv ghrelinu na rozvoj prosté obezity. Studie u obézních nemocných však prokázaly, že jeho koncentrace nejsou v případě obezity zvýšeny, naopak jsou vyšší u jedinců kachektických. Předpokládáme, že zde dochází k uplatnění negativní zpětné vazby, kdy zvýšené koncentrace inzulínu tlumí syntézu ghrelinu. Domníváme se však na základě vlastních výsledků, že jiná může být situace v případě patologické nadprodukce nebo nadbytku ghrelinu, který nelze ovlivnit zpětnou vazbou. Exogenně podaný ghrelin má u laboratorních zvířat orexigenní účinky a vede ke zvýšení obsahu tělesného tuku. Také u nemocných s nádorem gastrointestinálního traktu s patologickou sekrecí ghrelinu (ghrelinomem) a u nemocných s Praderovým-Willyho syndromem, kde by bylo možno předpokládat vysokou autonomní sekreci ghrelinu v CNS, byly zjištěny vysoké koncentrace ghrelinu, jež jsou spojeny s vyšším BMI a vyšším obsahem tuku v organismu. Naši nemocní s renální insuficiencí/selháním ledvin měli vyšší koncentrace aktivního ghrelinu nejspíše v důsledku jeho snížené clearance ledvinami a tedy neovlivnitelné zpětnou vazbou uplatněním inzulínu. Současně měli tito nemocní i zvýšený obsah tělesného tuku, a zvýšené koncentrace aktivního ghrelinu pozitivně korelovaly s obsahem tělesného tuku. Vzhledem k těmto nálezům nelze vyloučit kausální roli patologicky vysokých koncentrací ghrelinu v etiopatogenezi tvorby tukové tkáně u těchto stavů. Ghrelin v tomto případě může mít až diabetogenní účinky zvýšením glukoneogenezy a potlačěním sekrece inzulínu, jak bylo prokázáno u nemocných s ghrelinomy a u laboratorních zvířat.

Ghrelin je v současné době mnohými autory považován za orexigenní signál pocházející ze žaludku, jehož koncentrace jsou dynamicky ovlivňovány příjmem potravy a koncentracemi inzulínu, který doplňuje proteosyntetické působení GH. U myší, u kterých byl ghrelinový gen knockoutován, nebyly nicméně zjištěny významné odchylky v množství přijímané potravy, tělesné kompozici, velikosti, rychlosti růstu ani ve schopnosti reprodukce. I když i u těchto myší stimuluje podání ghrelinu příjem potravy, jeho úplný nedostatek nevede k anorexii, a proto ani jeho orexigenní působení v organismu není nenahraditelné a absence ghrelinu vede k zapojení kompenzačních mechanismů, které jeho funkci nahradí. Nejeví se tedy jako hlavní orexigenní faktor v případě fyziologické regulace. Jiná situace však může být přítomna u stavů spojených s vysokými koncentracemi ghrelinu, které nejsou ovlivnitelné zpětnou vazbou uplatněním inzulínu (experimentální podání ghrelinu u zvířat, Praderův-Willyho syndrom, bulimia nervosa, ghrelinom, a

podle našeho zjištění i renální insuficience), kde se může uplatňovat jeho adipogenní a event. až diabetogenní účinek.

## 10. Literatura

1. Adeghate E, Ponery AS: Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 14: 555-60, 2002
2. Ariyasu H, Takaya K, Hosoda H, Iwakura H, Ebihara K, Mori K, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K.: Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: evidenced by a specific RIA for the active form of ghrelin. *Endocrinology* 143: 3341-50, 2002
3. Arosio M, Ronchi CL, Gebbia C, Pizzinelli S, Conte D, Cappiello V, Epaminonda P, Cesana BM, Beck-Peccoz P, Peracchi M.: Ghrelin administration affects circulating pituitary and gastro-entero-pancreatic hormones in acromegaly. *Eur J Endocrinol.*150: 27-32, 2004
4. 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
5. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E. a kol.: Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1169-74, 2001a
6. 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, 2001b
7. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Niiijima A, Fujino MA, Kasuga M: Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 120: 337-45, 2001
8. Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Maness LM: Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides* 17: 305- 311, 1996
9. Banks WA, Tschop M, Robinson SM, Heiman ML: Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 302:822-7, 2002
10. 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
11. Becker AE, Grinspoon SK, Klibanski A, Herzog DB: Eating disorders. *N Engl. J. Med.* 340, 1092-1098, 1999

12. 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
13. 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
14. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Hong A: On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology* 114: 1537-1545, 1984
15. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E: Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5083-6, 2001
16. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Prodham 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, 2002a
17. Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodham F, Grottoli S, Tassone F, Maccario M, Casanueva FF, Dieguez C, Deghenghi R, Ghigo E, Arvat E: Effects of glucose, free fatty acids or arginine load on the GH-releasing activity of ghrelin in humans. *Clin Endocrinol* 57: 265-71, 2002b
18. 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
19. 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
20. Chapman IM: Endocrinology of anorexia of ageing. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 18: 437-52, 2004
21. 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
22. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ: Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 346: 1623-30, 2002
23. 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
24. Damjanovic SS, Petakov MS, Raicevic S, Mici D, Marinkovic J, Dieguez C, Casanueva FF, Popovic V: Serum leptin levels in patients with acromegaly before and after correction of hypersomatotropism by trans-sphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 147-154, 2000
25. 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
26. 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
  27. 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: 124-9, 2002
  28. Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Ghigo E, Arvat E: The GH-releasing effect of ghrelin, a natural GH secretagogue, is only blunted by the infusion of exogenous somatostatin in humans. *Clin Endocrinol* 56: 643-8, 2001
  29. Dornonville de la Cour C, Bjorkqvist M, Sandvik AK, Bakke I, Zhao CM, Chen D, Hakanson R: A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul Pept* 99: 141-50, 2001
  30. Egido EM, Rodriguez-Gallardo J, Silvestre RA, Marco J: Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 146: 241-4, 2002
  31. English PJ, Ghatei MA, Malik IA, Bloom SR, Wilding JP: Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2984, 2002
  32. Engström BE, Burman P, Holdstock C, Karlsson FA: Effects of Growth Hormone (GH) on Ghrelin, Leptin, and Adiponectin in GH-Deficient Patients. *Obstet Gynecol Surv* 59: 435-7, 2004
  33. Freda PU, Reyes CM, Conwell IM, Sundeen RE, Wardlaw SL: Serum ghrelin levels in acromegaly: effects of surgical and long-acting octreotide therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 88: 037- 044, 2003
  34. Gauna C, Meyler FM, Janssen JA, Delhanty PJ, Abribat T, van Koetsveld P, Hofland LJ, Broglio F, Ghigo E, van der Lely AJ: Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity whereas the combination of acylated plus unacylated ghrelin strongly improves insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 5035 – 42, 2004
  35. Ghigo E, Arvat E, Giordano R, Broglio F, Gianotti L, Maccario M, Bisi G, Graziani A, Papotti M, Muccioli G, Deghenghi R, Camanni F: Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine* 14: 87-93, 2001
  36. 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
  37. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM: Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269: 543 – 546, 1995
  38. Haluzík M, Haluzíková D, Svobodová J, Kotrlíková E, Kábrt J, Nedvídková J: Změny koncentrace leptinu u malnutričních stavů, příčina nebo důsledek? *DMEV* 1: 13-16, 1999

39. Haluzik M, Sulková S, Svobodová J, Bedárová V, Bodláková B, Marková M, Turková G, Jiskra J, Haas T: Serum leptin levels in diabetic patients on hemodialysis: the relationship to parameters of diabetes metabolic control. *Endocr Res* 26: 303-317, 2000
40. Hána V, Šilha JV, Justová V, Lacinová Z, Štěpán JJ, Murphy LJ: The effects of GH replacement in adult GH-deficient patients: changes in body composition without concomitant changes in the adipokines and insulin resistance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 60: 442-450, 2004
41. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschop M : Ghrelin and the regulation of energy homeostasis: a hypothalamic perspective. *Endocrinology* 142: 4163-4169, 2001
42. 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: 21995-2000, 2000a
43. 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
44. Howard HD, Feighner SD, Cully DF: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273 : 974 – 976, 1996
45. Hoybye C: Endocrine and metabolic aspects of adult Prader-Willi syndrome with special emphasis on the effect of growth hormone treatment. *Growth Horm IGF Res* 14:1-15, 2004
46. Iglesias P, Diez JJ, Fernandez-Reyes MJ a kol.: Growth hormone, IGF-I and its binding proteins (IGFBP-1 and -3) in adult uraemic patients undergoing peritoneal dialysis and haemodialysis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 60:741-9, 2004
47. Isozaki O, Tsushima T, Miyakawa M, Demura H, Seki H: Interaction between leptin and growth hormone (GH)/IGF-I axis. *Endocr J* 46: S17-24, 1999
48. Jaffe CA, Ocampo-Lim B, Guo W, Krueger K, Sugahara I, DeMott-Friberg R, Bermann M, Barkan AL: Regulatory mechanisms of growth hormone secretion are sexually dimorphic. *J Clin Invest* 102: 153-64, 1998
49. Janssen JA, van der Toorn FM, Hofland LJ, van Koetsveld P, Broglio F, Ghigo E, Lamberts SW, Jan van der Lely A: Systemic ghrelin levels in subjects with growth hormone deficiency are not modified by one year of growth hormone replacement therapy. *Eur J Endocrinol* 145:711-6, 2001
50. Jarkovská Z, Rosická M, Kršek M, Sulková S, Haluzík M, Justová V, Lacinová Z, Marek J: Plasma ghrelin levels in patients with end-stage renal disease. *Physiol Res* 54: 403-408, 2005
51. Jehle PM, Ostertag A, Schulten K a kol.: Insulin-like growth factor system components in hyperparathyroidism and renal osteodystrophy. *Kidney Int.* 57:423-36, 2000
52. Jessup SK, Dimaraki EV, Symons KV, Barkan AL: Sexual dimorphism of growth hormone (GH) regulation in humans: endogenous GH-releasing hormone maintains basal GH in women but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 4776-80, 2003
53. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S : Regulation of the ghrelin gene: growth hormone-releasing hormone upregulates ghrelin mRNA in the pituitary. *Endocrinology* 142:4154-7, 2001
54. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Tatsuguchi A, Sugihara H, Oikawa S, Kineman RD: The role of pituitary ghrelin in growth hormone (GH) secretion: GH-Releasing hormone-dependent

- regulation of pituitary ghrelin gene expression and peptide content. *Endocrinology* 145: 3731 – 3738, 2004
55. 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
  56. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB: The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 881-7, 2001
  57. 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. *Endocr Res* 28: 27-33, 2002
  58. Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, Boden G, Nolan JJ, Henry R, Mudaliar SR, Olefsky J, Caro JF: Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans: Studies in vivo and in vitro. *Diabetes* 45: 699 – 701, 1996
  59. Lammert A, Kierss W, Bottner A, Glasow A, Kratzch J: Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. *Biophys Res Commun* 283: 982 – 988, 2001
  60. Lissett CA, Clayton PE, Shalet SM: The acute leptin response to GH. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4412-5, 2001
  61. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C, De Cicco A, Parlanti N, Fanelli C, Santeusano F, Bolli GB, De Feo P: Ghrelin is not necessary for adequate hormonal counterregulation of insulin-induced hypoglycemia. *Diabetes* 51: 2911-4, 2002
  62. Maccario M, Tassone F, Grottoli S, Rossetto R, Gauna C, Ghigo E: Neuroendocrine and metabolic determinants of the adaptation of GH/IGF-I axis to obesity. *Ann Endocrinol* 63: 140-4, 2002
  63. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Z, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S: Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weigh-reduced subjects. *Nat Med* 1: 1155-1161, 1995
  64. Maheshwari HG, Pezzoli SS, Rahim A, Shalet SM, Thorner MO, Baumann G: Pulsatile growth hormone secretion persists in genetic growth hormone- releasing hormone resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282: E943-51, 2002
  65. Malik IA, English PJ, Ghatei MA, Bloom SR, MacFarlane IA, Wilding JP: The relationship of ghrelin to biochemical and anthropometric markers of adult growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 60: 137 – 141, 2004
  66. 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
  67. Marzullo P, Buckway C, Pratt KL, Colao A, Guevara-Aguirre J, Rosenfeld RG: Leptin concentrations in GH deficiency: the effect of GH insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 540-545, 2002
  68. McCowen KC, Maykel JA, Bistran BR, Ling PR: Circulating ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents. *Endocrinol* 175: R7-R11, 2002

69. McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk DL, Tan CP, Phillips MS, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD: Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol Endocrinol* 11:415-23, 1997
70. 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
71. Muller AF, Lamberts SW, Janssen JA, Hofland LJ, Koetsveld PV, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Ghigo E, Van der Lely AJ: Ghrelin drives GH secretion during fasting in man. *Eur J Endocrinol.* 146: 203-7, 2002
72. Nakagawa E, Nagaya N, Okumura H, Enomoto M, Oya H, Ono F, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K: Hyperglycaemia suppresses the secretion of ghrelin, a novel growth-hormone-releasing peptide: responses to the intravenous and oral administration of glucose. *Clin Sci* 103:325-8, 2002
73. 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
74. 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
75. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R: Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3909 – 3913, 1996
76. 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
77. 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
78. Peino R, Baldelli R, Rodriguez-Garcia J, Rodriguez-Segade S, Kojima M, Kangawa K, Arvat E, Ghigo E, Dieguez C, Casanueva FF: Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. *Eur J Endocrinol* 143: R11-4, 2000
79. Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodriguez-Carmona A, Peteiro J, Garcia-Naveiro R, Garcia-Buela J: Plasma ghrelin levels in patients undergoing haemodialysis and peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 19: 2095 – 2100, 2004
80. 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
81. 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
82. Randevara HS, Murray RD, Lewandowski KC, O'Callaghan CJ, Horn R, O'Hare P, Brabant G, Hillhouse EW, Shalet SM: Differential effects of GH replacement on the components of the leptin system in GH-deficient individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 798- 804, 2002

83. 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
84. Rodriguez Ayala E, Pecoits-Filho R, Heimburger O, Lindholm B, Nordfors L, Stenvinkel P: Associations between plasma ghrelin levels and body composition in end-stage renal disease: a longitudinal study. *Nephrol Dial Transplant* 19: 421 – 6, 2004
85. Ronchi CL, Corbetta S, Cappiello V, Morpurgo PS, Giavoli C, Beck-Peccoz P, Arosio M, Spada A: Circulating adiponectin levels and cardiovascular risk factors in acromegalic patients. *Eur J Endocrinol* 150: 663-669, 2004
86. Roelfsema V, Clark RG: The Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor Axis: Its Manipulation for the Benefit of Growth Disorders in Renal Failure. *J Am Soc Nephrol* 12:1297-1306, 2001
87. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, Boyadjian R: Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3997-4000, 2002
88. Scarpace PJ., Matheny M., Pollock BH., Tumer N.: Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. *Am J Physiol* 273: E 226-30, 1997
89. Seoane LM, Tovar S, Baldelli R, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF, Dieguez C: Ghrelin elicits a marked stimulatory effect on GH secretion in freely-moving rats. *Eur J Endocrinol* 143: R7-9, 2000
90. Sharma K, Considine RV, Mechael B, Dunn SR, Weisberg LS, Kurnik BRC, Kurnik PB, O'Connor J, Sinha M, Caro JF: Plasma leptin is partly cleared by the kidney and is elevated in hemodialysis patients. *Kidney Int* 51: 1980 – 1985, 1997
91. Shiiya 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
92. 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
93. Shuto Y, Shibasaki T, Wada K, Parhar I, Kamegai J, Sugihara H, Oikawa S, Wakabayashi I: Generation of polyclonal antiserum against the growth hormone secretagogue receptor (GHS-R): evidence that the GHS-R exists in the hypothalamus, pituitary and stomach of rats. *Life Sci* 68: 991-6, 2001
94. Schaller G, Schmidt A, Pleiner J, Woloszczuk W, Wolzt M, Luger A: Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes* 52:16-20, 2003
95. Schmidt A, Fabrizii V, Maiger C, Riedl M, Schmidt A, Kotzmann H, Geyer G, Luger A: Normal regulation of elevated plasma ghrelin concentrations in dialysis patients. *Wien Klin Wochenschr* 116: 235-9, 2004

96. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Magosin S, Marco C, Caro JF: Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* 97: 1344-7, 1996
97. Sinha MK, Caro JF: Clinical aspects of leptin. *Vitam Horm* 24: 1 – 30, 1998
98. Smith RG, Van der Ploeg LHT, Howard AD, Freighner SD, Cheng K, Hickey GH: Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocrine Reviews* 18: 621-645, 1997
99. Stenvinkel P, Lindholm B, Lonnqvist F, Katzarski K, Heimbürger O: Increases in serum leptin during peritoneal dialysis are associated with inflammation and a decrease in lean body mass. *J Am Soc Nephrol* 11: 1303-9, 2000
100. Sun Y, Ahmed S, Smith RG: Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite. *Mol Cell Biol* 23:7973-81, 2003
101. Sun Y, Wang P, Zheng H, Smith RG: Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 4679-84, 2004
102. Sun Y, Hicks LM, Smith RG: Characterization of ghrelin and leptin double knockout mice - Ghrelin's role in glucose homeostasis. 87th Annual Meeting of the Endocrine Society, San Diego, June 4-7, OR 36-6, Abstract book: 128, 2005
103. Tan KC, Tso AW, Lam KS: Effect of Sandostatin LAR on serum leptin levels in patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 54: 31-5, 2001
104. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K : Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4908-11, 2000
105. Tanaka M, Naruo T, Muranaga T, Yasuhara D, Shiiya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S : Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. *Eur J Endocrinol* 146: R1-3, 2002
106. Tannenbaum GS, Bowers CY: Interactions of growth hormone secretagogues and growth hormone-releasing hormone/somatostatin. *Endocrine* 14: 21-7, 2001
107. Tauber M, Conte Auriol F, Moulin P, Molinas C, Delagnes V, Salles JP: Hyperghrelinemia is a common feature of Prader-Willi syndrome and pituitary stalk interruption: a pathophysiological hypothesis *Horm Res* 62:49-54, 2004
108. Tolle V, Zizzari P, Tomasetto C, Rio MC, Epelbaum J, Bluet-Pajot MT: In vivo and in vitro effects of ghrelin/motilin-related peptide on growth hormone secretion in the rat. *Neuroendocrinology* 73: 54-61, 2001
109. Torsello A, Bresciani E, Avallone R, Locatelli V: Ghrelin and GH secretion. *Minerva endocrinol* 27: 257-264, 2002
110. Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S: Upregulation of Ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. *Biochem Biophys Res Commun* 281: 1220-5, 2001
111. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML: Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908 – 13, 2000

112. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML: Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50: 707-9, 2001
113. 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
114. van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E: Biological, physiological, pathophysiological and pharmacological aspects of Ghrelin. *Endocrine Reviews* 25: 426-457, 2004
115. White HD, Ahmad AM, Guzder R, Wallace AM, Fraser WD, Vora JP: Gender variation in leptin circadian rhythm and pulsatility in adult growth hormone deficiency: effects of growth hormone replacement. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58: 482-8, 2003
116. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F: The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 107: 63-9, 2002
117. Wiesholzer M, Harm F, Hauser AC, Pribasnik A, Balcke P: Inappropriately high plasma leptin levels in obese hemodialysis patients can be reduced by high flux haemodialysis and haemofiltration. *Clin Sci* 94: 431-5, 1998
118. Wortley KE, Anderson KD, Garcia K, Murray JD, Malinova L, Liu R, Moncrieffe M, Thabet K, Cox HJ, Yancopoulos GD, Wiegand SJ, Sleeman MW: Genetic deletion of ghrelin does not decrease food intake but influences metabolic fuel preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 8227-32, 2004
119. 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
120. Yoshihara F, Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, Kangawa K: Ghrelin: a novel peptide for growth hormone release and feeding regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5: 391-5, 2002
121. Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T, Takaya K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K: Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 13: 2748-52, 2002
122. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372:425-432, 1994

## 11. Autorčiny publikace

1. Adamcová Z, Rosická M, Marek J, Kršek M: Ghrelin jako regulační komponenta somatotropní osy. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa* 4: 201-205, 2001
2. Jarkovská Z, Štulc T, Holaj R: Recidivující transitorní ischemické ataky při kritické stenóze vnitřní karotické tepny. *Kapitoly z kardiologie* 4: 146-147, 2002
3. Jarkovská Z, Kršek M, Rosická M, Marek J, Justová V, Lacinová Z, Haluzík M, Sulková S, Bednářová V: Vliv chronické renální insuficience na plasmatické hladiny ghrelinu. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa* 6: 50, 2003

4. Jarkovská Z, Kršek M, Rosická M, Marek J: Endocrine and metabolic activities of a recently isolated peptide hormone ghrelin, an endogenous ligand of the growth hormone secretagogue receptor. *Endocr regul*: 38, 80-86, 2004
5. Jarkovská Z, Rosická M, Kršek M, Sulková S, Haluzík M, Justová V, Lacinová Z, Marek J: Plasma ghrelin levels in patients with end-stage renal disease. *Physiol Res* 54: 403-408, 2005
6. Jarkovská Z, Hodková M, Sazamová M, Rosická M, Sulková-Dusilová 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: 369-376, 2005
7. Jarkovská Z, Rosická M, Marek J, Háva V, Weiss V, Justová V, Lacinová Z, Haluzík M, Kršek M: Plasma levels of total and active ghrelin in acromegaly and growth hormone deficiency. *Physiol Res* 2005, v tisku
8. Jarkovská Z, Hodková M, Sazamová M, Rosická M, Marek J, Sulková-Dusilová S, Justová V, Lacinová Z, Haluzík M, Kršek M: Plasma levels of total and active ghrelin in renal failure; the effect of hemodialysis. *European Congress of Endocrinology, Göteborg, Sweden, September 3-7, Abstract Book*, P1-137, s. 113, 2005
9. Jarkovská Z, Rosická M, Marek J, Háva V, Weiss V, Justová V, Lacinová Z, Kršek M: Plasma levels of total and active ghrelin in acromegaly and growth hormone deficiency. *European Congress of Endocrinology, Göteborg, Sweden, September 3-7, Abstract Book*, P1-141, s. 114, 2005
10. Jarkovská Z, Rosická M, Marek J, Háva V, Weiss V, Haluzík M, Kršek M: Koncentrace ghrelinu u akromegalie a deficitu růstového hormonu. XXVIII. *Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, říjen 20-22, Kniha abstrakt, P 38, s. 179, 2005*
11. Jarkovská Z, Hodková M, Sazamová M, Rosická M, Marek J, Dusilová-Sulková S, Haluzík M, Kršek M: Ghrelin u pacientů s chronickou renální insuficiencí a vliv dialyzační léčby. XXVIII. *Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, říjen 20-22, Kniha abstrakt, P 39, s. 180, 2005*

Spoluautor:

1. Kršek M, Rosická M, Haluzík M, Svobodová J, Kotlíková E, Justová V, Lacinová, Jarkovská Z: Plasma ghrelin levels in patients with short bowel syndrome. *Endocr Res* 28: 27 – 33, 2002
2. Kršek M, Rosická M, Papežová H, Haluzík M, Křížová J, Jarkovská Z, Justová V, Lacinová Z: Ghrelin: současné poznatky a některé vlastní výsledky. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa* 5: 17, 2002
3. 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. *Vnitřní Lékařství* 48: 948 – 951, 2002
4. Křížová J, Jarkovská Z: Význam léčby hyperlipoproteinémie u pacientky s metabolickým syndromem. *Medicína po promoci* 6: 15-16, 2002
5. Rosická M, Kršek M, Jarkovská Z, Marek J, Schreiber V: Ghrelin – a new endogenous growth hormone secretagogue. *Physiol Res* 51: 435 – 441, 2002



6. Rosická M, Kršek M, Matoulek M, Jarkovská Z, Marek J, Justová V, Lacinová Z: Serum ghrelin levels in obese patients: The relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptor levels. *Physiol Res* 52: 61 – 66, 2003
7. Ježková J, Marek J, Prázný M, Kršek M, Malíčková K, Rosická M, Jarkovská Z, Pecen L: Vliv hyperkortizolismu na vznik a vývoj aterosklerotických cévních změn. *Vnitřní Lékařství* 49: 656 – 667, 2003
8. Ježková J, Marek J, Prázný M, Kršek M, Malíčková K, Rosická M, Jarkovská Z, Pecen L.: Vliv hyperkortizolismu na rozvoj aterosklerotických cévních změn. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa* 6: 30, 2003
9. 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: 207 – 211, 2003
10. Marek J, Ježková J, Prázný 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. Abstract book. Abstract P0014.
11. Rosická M, Kršek M, Matoulek M, Jarkovská Z, Lacinová Z, Justová V, Marek J: Sledování změn vybraných neuropeptidů u pacientů s těžkou obezitou během desetidenní redukční hladovky. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa* 6: 51, 2003
12. Rosická M, Kršek M, Jarkovská Z, Matoulek M, Lacinová V, Justová V, Marek J: Změny ghrelinu, GH, IGF-I a jeho vazebných proteinů v závislosti na změnách nutričního stavu. *Interná Medicína* 4: 22S, 2004
13. Šilha JV, Kršek M, Hána V, Marek J, Weiss V, Ježková J, Rosická M, Jarkovská Z, Murphy LJ: The effects of growth hormone status on circulating levels of vascular growth factors. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 63: 79 – 86, 2005
14. Šilha J, Kršek M, Hána V, Marek J, Weiss V, Ježková J, Rosická M, Jarkovská Z, Murphy LJ: Vliv růstového hormonu na koncentrace cévních růstových faktorů v cirkulaci. XXVIII. Endokrinologické dny s mezinárodní účastí, Olomouc, říjen 20-22, Kniha abstrakt, P 41, s. 182, 2005
15. Seidl Z, Vaněčková M, Hána V, Viták T, Mašek M, Marek J, Peterová V, Jarkovská Z: Retrospektivní sledování role agonistů D2 receptorů na krvácení do makroprolaktinomů v obraze MR a jejich klinické projevy. *Čes a slov Neurol Neurochir* 68/101: 34-38, 2005