

3 - 3825

Univerzita Karlova v Praze  
I. lékařská fakulta

Autoreferát 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

Disertační práce byla vypracována v rámci doktorského studijního programu v biomedicíně na III. Interní klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Autor: MUDr. Zuzana Jarkovská-Adamcová

Školitel: Prof. MUDr. Josef Marek, DrSc.

Adresa: III. Interní klinika VFN a 1. LF UK  
U Nemocnice 1  
128 08, Praha 2

Obor: Normální a patologická fyziologie člověka

Oponenti:.....  
.....  
.....

Autoreferát byl rozeslán dne .....

Obhajoba disertace se koná dne ..... v .....hodin

Před komisí pro obhajoby doktorských disertací.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátě 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Kateřinská 32, Praha 2, 121 08

Předseda komise pro obhajobu:

Prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.

Fyziologický ústav 1. LF UK

Albertov 5

Praha 2, 128 00

## Obsah:

Seznam zkratk.....	4
1. Úvod.....	5
2. Ghrelin.....	5
2.1. Fyziologická role ghrelu – sekrece růstového hormonu.....	5
2.2. Faktory ovlivňující plasmatické koncentrace ghrelu.....	7
2.3. Centrální metabolické působení ghrelu, poruchy příjmu potravy.....	8
2.4. Ghrelin u nemocných s akromegalií.....	9
2.5. Ghrelin u nemocných s deficitem růstového hormonu.....	10
2.6. Ghrelin u nemocných s porušenou funkcí ledvin.....	10
3. Cíl projektu.....	11
4. Metody.....	12
5. Výsledky.....	14
5.1. Plasmatické koncentrace ghrelu u zdravých jedinců.....	14
5.1.1. Vztah ghrelu k parametrům osy GH/IGF-I a k základním laboratorním a antropometrickým parametrům u zdravých jedinců a v závislosti na pohlaví.....	14
5.1.2. Vliv tělesné kompozice na plasmatické koncentrace ghrelu u zdravých subjektů.....	16
5.2. Plasmatické koncentrace ghrelu u nemocných s akromegalií.....	18
5.3. Ghrelin u nemocných s deficitem růstového hormonu.....	19
5.4. Ghrelin u nemocných s porušenou funkcí ledvin.....	21
5.4.1. Koncentrace celkového a aktivního ghrelu a dalších hormonálních a nutričních parametrů u nemocných s renální insuficiencí.....	21
5.4.2. Změny koncentrací celkového a aktivního ghrelu vlivem hemodialyzační léčby.....	26
6. Závěr.....	30
7. Summary.....	33
8. Literatura.....	35
9. Autorčiny publikace.....	40

## Seznam zkratek

$\alpha$ MSH.....	$\alpha$ melanocyty stimulujiící 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 stimulujiící sekreci GH (growth hormone-releasing peptide-6)
GHS.....	sekretagogum růstového hormonu (growth hormone secretagogue)
GIT.....	gastrointestinální trakt
IGF-I.....	inzulinu podobný růstový faktor-I (insulin-like growth factor-I)
IGFBP.....	vazebný protein pro IGF (insulin-like growth factor binding protein)
MRI.....	nukleární magnetická rezonance (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

Ghrelin je proteinový hormon, který byl izolován v roce 1999 jako endogenní ligand receptoru pro sekretogoga růstového hormonu (GHS) (Kojima a kol. 1999). Je silným stimulatorem sekrece růstového hormonu (GH) u krys i u člověka (Kojima a kol. 1999, Arvat a kol. 2000).

Ghrelin je převážně produkován v žaludku v endokrinních buňkách žaludečních žlázek (Date a kol. 2000a, Dornonville de la Cour a kol. 2001), i když menší produkce byla objevena i ve střevě, pankreatu, ledvině, placentě, nadledvinách, vaječnících, varlatech, leukocytech, hypofýze a hypothalamu (Date a kol. 2000a, Papotti a kol. 2000, Wierup a kol. 2002).

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 endokrinní působení ghrelinu a hraje roli zřejmě i v transportu molekuly přes hematoencefalickou bariéru (Bednarek a kol. 2000, Matsumoto a kol. 2001). Později byl v plasmě izolován též des-acyl ghrelin, který postrádá hydrofobní substituci v pozici 3. Des-acyl ghrelin významně převažuje nad acylovaným ghrelinem svou koncentrací v plasmě (Hosoda a kol. 2000, Yoshimoto a kol. 2002), avšak nevykazuje endokrinní účinky jako vlastní acylovaný ghrelin, i když není 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), což platí i u lidí (Arvat a kol. 2000). Ghrelin, na rozdíl od GHRH, vede přímo pouze ke stimulaci sekrece, ne však syntézy GH (Tolle a kol. 2001, Kamegai a kol. 2001).

Jaká je však fyziologická role endogenního ghrelinu ve vztahu k sekreci GH není zatím vůbec jasná. Možnost, zda se ghrelin uplatňuje i za fyziologických podmínek v 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/hypothalamem v závislosti na změnách koncentrací GH je velmi malá a obtížně stanovitelná. Nižší 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 podporují. Například kontinuální periferní podání GH u kryš 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 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 kryš se nicméně ukazuje, že ghrelin není kriticky nutný pro sekreci GH. Krysy, u kterých byl ghrelinový gen knockoutován, vykazují normální růst, tělesnou kompozici a normální koncentrace IGF-I (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 deficitem GH (GHD) (Jausse a kol. 2001) nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v koncentracích ghrelinu oproti zdravým kontrolám, přestože koncentrace GH se mezi těmito skupinami subjektů výrazně lišily a eventuelní jednoduchá zpětná vazba ghrelinu/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 rozporupné výsledky. Zde sice došlo k supresi koncentrací ghrelinu u nemocných s GHD po podání rhGH, avšak aerobní cvičení zdravých subjektů nevedlo k žádným změnám koncentrací ghrelinu, přestože došlo k elevaci koncentrací GH (Dall a kol. 2002).

Některá pozorování naznačují, že exprese ghrelinu i jeho stimulační vliv na sekreci GH v adenohipofýze jsou alespoň částečně závislé na GHRH (Kamegai a kol. 2001). V experimentálních podmínkách u kryš, ve kterých dochází ke zvýšení exprese hypotalamického GHRH dochází ke zvýšené produkci ghrelinu v adenohipofýze. Obdobně při snížení exprese hypotalamického GHRH dochází ke snížení množství ghrelinové mRNA i ghrelinu samotného v hypofýze (Kamegai a kol.

2004). V některých studiích podání antagonisty GHRH receptoru u kryš 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 signifikantně snížilo produkci GH stínulovanou 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 více denních pulsů výdeje GH než muži, jejichž amplituda je relativně uiformní a bazální a střední koncentrace GH v mezidobí jsou vyšší v porovnání s muži. U mužů více převládá noční sekrece GH. Uvažuje se, že na udržení vyšších koncentrací GH u žen se podílí zvýšená citlivost hypofýzy k GHRH, pohlavní dimorfismus v působení somatostatinu a v síle negativní zpětné vazby IGF-I potlačující sekreci GH (Jessup a kol. 2003). Barkan na základě výsledků své studie zvažuje i 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.

Buňky produkující ghrelin byly prokázány v adenohipofýze i hypotalamu. V současné době někteří autoři na základě svých pozorování uzavírají, že endogenní sekrece GH je parakrinně řízena ghrelinem přítomným v adenohipofýze (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, 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. Faktory ovlivňující plasmatické koncentrace ghrelinu

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

Vzestup koncentrací ghrelinu při hladovění a jeho postupný pokles po nasycení byl zjištěn i u lidí. Plasmatické koncentrace ghrelinu negativně korelují s BMI a obsahem tělesného tuku (Cappiello a kol. 2002), 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 kachektických

jedinců a snižují se po dietní intervenci vyúsťující v nárůst hmotnosti (Becker a kol. 1999, Otto a kol. 2001).

Podání glukózy vede podle většiny autorů k supresi plasmatických koncentrací ghrelinu u krys i u člověka (Nakagawa a kol. 2002, Shiya a kol. 2002). Hyperinzulinémie, níž se současnou hypoglykémii či v euglykemickém clampu, též snižuje plasmatickou koncentraci ghrelinu (McCowen a kol. 2002, Saad a kol. 2002). Podobně podání ghrelinu vedlo k potlačení sekrece inzulinu u lidí (Broglia a kol. 2001) i u krys (Egido a kol. 2002). Na základě těchto pozorování autoři uvedených studií uzavírají, že změny koncentrací ghrelinu by mohly být hormonální odpovědí na hladovění udržující koncentrace glukózy v normálním rozmezí inhibicí sekrece inzulinu, event. že inzulin přímo či nepřímo zprostředkovává vliv nutriční či akutní i chronické energetické bilance na plasmatické koncentrace ghrelinu. Pokles koncentrací inzulinu při hladovění a u kachexie by vedl k vzestupu koncentrací ghrelinu, zatímco postprandiální hyperinzulinismus a chronický hyperinzulinismus obězích by způsobil jev opačný. Nicméně ani zde nepauze naprostá shoda mezi autory, v recentní studii Schallera a kol. (2003) došlo k supresi koncentrací ghrelinu u lidí pouze po podání suprafyziologických dávek inzulinu, fyziologický hyperinzulinismus plasmatické koncentrace ghrelinu neovlivnil. Navíc u krys byla v jedné studii pozorována stimulace sekrece ghrelinu po podání inzulinu (Toshinai a kol. 2001) a v jiných studiích stimulace sekrece inzulinu po podání ghrelinu (Adeghate a Ponery 2002, Date a kol. 2002).

Podání leptinu u krys vedlo ke snížení koncentrací ghrelinu a podobně po podání ghrelinu došlo k supresi koncentrací leptinu (Toshinai a kol. 2001). Koncentrace leptinu a ghrelinu vzájemně negativně korelovaly v řadě studií (Tschöp a kol. 2001, Cappelletto a kol. 2002), nicméně recentní výsledky experimentů na myších nepodporují hypotézu, že tyto působky vzájemně negativně ovlivňují svou sekreci, jejich vzájemný vztah je složitější a v tomto ohledu bude zapotřebí dalšího výzkumu (Sun a kol. 2003, Sun a kol. 2004).

K dalším působkům ovlivňujícím koncentrace ghrelinu patří somatostatin, který vede k jejich supresi (Broglia a kol. 2002, Norrelund a kol. 2002, Barkan a kol. 2003), 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).

### 2.3. Centrální metabolické působení ghrelinu, poruchy příjmu potravy

Exogenně podaný ghrelin vede u krys ke stimulaci příjmu potravy, která způsobuje nárůst hmotnosti a adipozity. Orexigenní působení ghrelinu je zprostředkováno stimulací sekrece NPY a AGRP v hypothalamu (Nakazato a kol. 2001, Shintani a kol. 2001). Tento jeho orexigenní efekt se zdá být nezávislým na působení GH (Nakazato a kol. 2001, Wren a kol. 2000), někteří autoři jej chápou jako biologický adaptační mechanismus zajišťující substrát růstu pro působení GH (Tschöp a kol.

2000). U krys, u kterých byl ghrelinový gen knockoutován, nebyly nicméně zjištěny významné odchylky ve velikosti, tělesné kompozici ani v rychlosti růstu a příjmu stravy oproti zdravým kontrolám, což nepotvrzuje hlavní ani unikátní roli ghrelinu ve stimulaci příjmu potravy a ukazuje na významné uplatnění dalších regulačních faktorů (Sun a kol. 2003).

V některých studiích plasmatické koncentrace ghrelinu vykazovaly určitý diurnální profil podobný profilu sérových koncentrací GH. Bylo zjištěno, že koncentrace ghrelinu stoupají 1-2 hodiny před každým jídlem a po najezení klesají na bazální hodnoty. U zdravých dobrovolníků podaný ghrelin vyvolal pocit hladu, a proto nárůst jeho koncentrací před jídlem může hrát roli v iniciaci příjmu potravy (Cummings a kol. 2002, Shiya a kol. 2002). Tato pozorování, současně se zjištěním výrazného orexigenního působení ghrelinu vedla k úvahám o možné kauzální roli ghrelinu v etiopatogenezi obezity. Plasmatické koncentrace ghrelinu jsou nicméně u obězích oproti původnímu předpokladu sníženy a vzrůstají po redukcii hmotnosti (Cappiello a kol. 2001, Tschöp a kol. 2001) a v převážně většině studií negativně koreluje s body mass indexem (BMI) popř. obsahem tělesného tuku. Nemocní s mentální anorexií naopak mají vysoké koncentrace ghrelinu (Becker a kol. 1999), které po nárůstu hmotnosti významně klesají (Otto a kol. 2001).

U prosté obezity tedy ghrelin zřejmě není hledaným kauzálním orexigenním faktorem. Jiná situace však může být u nemocných s Praderovým-Willyho syndromem (PWS), jež je charakterizován excesivním přejídáním a výraznou obezitou, kde nacházíme vysoké koncentrace ghrelinu, které jsou spojeny s pozitivními korelacemi se subjektivními pocity hladu (Delparigi a kol. 2002) a u nemocných s bulimií nervosa (Tanaka a kol. 2002), kde ghrelin může hrát roli iniciátoru hyperfágie. 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, Tsolakís a kol. 2004).

### 2.4. Ghrelin u nemocných s akromegalíí

Akromegalie je onemocněním 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. Laboratorně jsou prokazatelné vysoké koncentrace GH, IGF-I, IGFBP-3 a nesupresibilita elevovaných koncentrací GH k bazálnímu hodnotám při orálním glukózovém testu.

V době sbírání dat pro naši studii bylo publikováno několik prací zabývajících se stanovou plasmatických koncentrací ghrelinu u akromegalie, avšak tyto studie nepřinesly jednoznačné výsledky, které by objasnily patofyziologickou úlohu ghrelinu v endogenní sekreci GH u tohoto onemocnění. Někteří autoři detekovali nižší koncentrace ghrelinu oproti zdravým kontrolám (Cappiello a kol. 2002,

Freda a kol. 2003), v jiných studiích se koncentrace ghrelinu od zdravých subjektů nelišily (Norrelund a kol. 2002, Barkau a kol. 2003). Žádný statisticky významný vztah mezi koncentracemi ghrelinu a GH či IGF-I v daných studiích zjištěn nebyl. Při zkoumání vlivu různých léčebných modalit bylo zjištěno, že léčba neurochirurgickou operací vedla k normalizaci koncentrací GH i IGF-I a k výraznému zvýšení koncentrací ghrelinu, naopak u pacientů léčených somatostatinovými analogy koncentrace ghrelinu klesly (Freda a kol. 2003, Norrelund a kol. 2002).

Problémem těchto prací je fakt, že autoři v nich dosud stanovovali pouze koncentrace celkového ghrelinu, ne biologicky aktivní frakce (acylovaného ghrelinu) představující minoritní podíl v plasmě, jehož plasmatické změny nemusejí odrážet změny koncentrací celkového ghrelinu.

## 2.5. Ghrelin u nemocných s deficitem růstového hormonu

Deficit růstového hormonu (GHD) se může vyvinout následkem celé řady patologických stavů. Nejčastějšími příčinami jsou tumory hypotalamo-hyofyziárního systému a jejich terapie, ozáření, trauma, vaskulární příhody, infekce a infiltrativní choroby. Laboratorně prokazujeme nízké koncentrace GH i IGF-I. Diagnóza je postavena na základě provedení stimulačních testů, nejčastěji jsou využívány test s inzulínem indukovanou hypoglykemií a argininový test, při kterých nedochází k adekvátnímu vzestupu koncentrací GH.

U nemocných s GHD byly v průběhu provádění naší studie různými autory postupně zjištěny a publikovány ve studiích různé koncentrace ghrelinu - stejně 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 rekombinantním lidským GH (rhGH) a výsledky jsou opět rozporuplné. Ve studii Janssen nedošlo po dlouhodobém podávání rhGH k signifikantním změnám v koncentracích ghrelinu, naproti tomu ve studii Engströmové vedla terapie rhGH k jejich poklesu (Janssen a kol. 2002, Engström a kol. 2004). Rozporuplné výsledky pozorovala i Giavoliová a spolupracovníci (2004). V této studii došlo ke vzestupu koncentrací ghrelinu po ročním podávání rhGH, zatímco po krátkodobém týdenním podání vysokých dávek rhGH koncentrace ghrelinu klesly (Giavoli a kol. 2004). Opět je komplikujícím faktem to, že uvedené studie stanovovaly pouze koncentrace celkového, ne biologicky aktivního ghrelinu.

## 2.6. 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. Tyto změny

postihují i somatotropní osu. Při poruše funkce ledvin dochází k vzestupu pulsatilní sekrece GH, což ve spojení se sníženou clearancou resultuje ve zvýšení sérových koncentrací GH. Na druhé straně bývá postižena sekrece IGF-I v játrech při urémii a proto jsou koncentrace IGF-I normální či mírně elevované (Roelfsema a kol. 2001).

V buňkách glomerulu i ledvinových tubulů byla zjištěna exprese genu pro ghrelin i pro GHS-R, avšak patofyziologický význam produkce ghrelinu ledvinami není znám (Mori a kol. 2000). V průběhu sbírání dat naší studie bylo publikováno několik prací, jež zjišťovaly změny plasmatických koncentrací ghrelinu u nemocných s porušenou funkcí ledvin. U těchto nemocných 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 jeho vztah k sekreci GH/IGF-I u renálních onemocnění nejsou zcela objasněné.

Jedním z faktorů podílejících se na regulaci koncentrací ghrelinu u RI/RS je porucha ledvinné 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 (Schmidt a kol. 2004) i acylovaného ghrelinu (Yoshimoto a kol. 2002). Při studiích u krys 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).

Koncentrace GH jsou při porušené funkci ledvin zvýšené a hemodialýza vede k jejich poklesu. Mezi koncentracemi ghrelinu a GH byly nalezeny pozitivní korelace ve dvou studiích (Yoshimoto a kol. 2002, Pérez-Fontán a kol. 2004), Yoshimoto a spolupracovníci zkoumali též plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu, které také s koncentracemi GH pozitivně korelovaly. V jiných studiích žádné asociace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a GH potvrzeny nebyly.

## 3. Cíl projektu

Cílem naší studie bylo rozšíření poznání fyziologické role ghrelinu. Ghrelin je nejlínější 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 akromegalii jsme původně očekávali snížené plasmatické koncentrace ghrelinu jako 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

## 4. 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 renální insuficiencí/selháním ledvin. 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. Koncentrace GH byly určeny jako aritmetický průměr celkem ze 3 vzorků získaných odběrem v odstupu 30 min. U nemocných v dialyzačním programu jsme navíc provedli další odběr krve po skončení rutinní hemodialýzy. 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 změněna tělesná výška, obvod pasu v úrovni pupku a obvod boků v nejširším místě. Z vybraných parametrů jsme vypočítali body mass index (BMI) a poměr pas/boky (WHR). Obsah tělesného tuku byl stanoven změněním tloušťky 4 kožních řas Bestovým kaliperem na nedominantní straně těla (nad bicepsem, tricepssem, spina iliaca anterior superior, pod lopatkou).

Sérové 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 inzulínu pomocí RIA kitu (Solupharm, ČR). 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). Ke zjištění koncentrací IGFBP-2 a IGFBP-6 byly použity RIA kity (DSL, USA). Ostatní sérové

parametry 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 nepřímo 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 sestrojené pomocí standardů.

ELISA metoda (enzyme-linked immunosorbent assay) je imunoenzymatické stanovení sendvičového typu. Na stěně jaňek ELISA kitů je adsorbována specifická monoklonální protilátka vázající zkoumané antigeny v testovaném vzorku tekutiny. Po vymytí zbytku vzorku se přidá polyklonální protilátka, taktéž specifická pro daný antigen, na které je navázaný enzym (křesová peroxidáza). Dalším promytím se odstraní tato polyklonální nenavázaná protilátka a po přidání chromogenního substrátu (tetramethylbenzidín) dojde k enzymatické reakci, která je provázána barevnou změnou úměrnou koncentraci detekovaného antigenu ve zkumavkách. Intenzita barvy je pak změřena 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 neunormálně (ne-Gaussovsky) rozložena byla před použitím analýzy kovariance logaritmována. Vzhledem k podezření, že vztah mezi některými proměnnými je způsobem renálního selhání byly rovněž počítány parciální korelace, které tento případuý vliv kontroloují event. eliminují.

## 5. Výsledky

### 5.1. Plasmatické koncentrace ghrelinu u zdravých jedinců

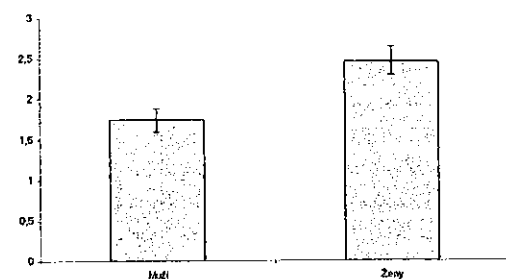
#### 5.1.1. Vztah ghrelinu k parametrům osy GH/IGF-I a k základním laboratorním a antropometrickým parametrům u zdravých jedinců a v závislosti na pohlaví

Do studie bylo zařazeno celkem 79 subjektů (33 mužů a 46 žen). Bylo zjištěno, že obsah tělesného tuku, koncentrace celkového ghrelinu, GH, IGFBP-3 a leptinu byly signifikantně vyšší u žen, naopak muži měli statisticky významně vyšší WHR a koncentrace IGFBP-6 (graf 1, tabulka 1).

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

Dále byl zkoumán vztah koncentrací ghrelinu ke sledovaným parametrům zvláště v 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 IGFBP-1 a IGFBP-2. U žen byly nalezeny pozitivní korelace s koncentracemi volného IGF-I, poměrem GH/IGF-I a negativní korelace s koncentracemi IGF-I. Koncentrace aktivního ghrelinu nekorelovaly s žádnými studovanými parametry ani u jednoho pohlaví (tabulka 2).

Číselný ghrelin (ng/ml)



Graf 1. Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu ve skupině zdravých mužů a žen. Údaje v grafu jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru,  $p < 0,01$ .

	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 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±17,29	191,22±10,31
Poměr 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±5,30	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>	0,30±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	20,92±1,51	19,85±2,27
WHR	0,83±0,01	0,91±0,01 <sup>d</sup>	0,77±0,01

Tabulka 1. Vybrané antropometrické a hormonální parametry ve skupině zdravých subjektů. 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 podávaný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulínu podávaný 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>  $p < 0,0001$  vs. kontrolní skupina žen.

	KS	KS-M	KS-Ž
BMI	$r = -0,36$ , $p = 0,001$	$r = -0,55$ , $p = 0,001$	$r = -0,31$ , $p < 0,05$
Obsah 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	$r = -0,29$ , $p = 0,01$	$r = -0,40$ , $p < 0,05$	$r = -0,40$ , $p < 0,01$
WHR	$r = -0,37$ , $p = 0,001$	NS	NS

Tabulka 2. Vztah mezi plasmatickými koncentracemi celkového ghrelinu a vybranými antropometrickými a hormonálními parametry ve skupině zdravých subjektů. 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-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.

### 5.1.2. Vliv tělesné kompozice 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 kg/m<sup>2</sup>) a na podskupinu jedinců s nadváhou/obezitou (n = 28, BMI ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>).

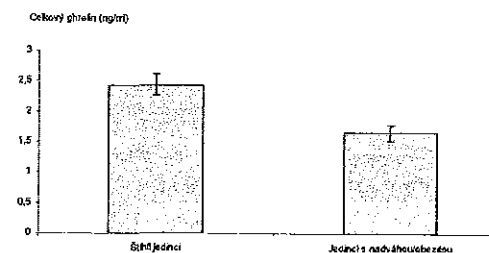
Koncentrace celkového ghrelinu byly signifikantně vyšší ve skupině štíhlých jedinců, v koncentracích aktivního ghrelinu se obě skupiny nelišily. BMI, obsah tělesného tuku, WHR, sérové koncentrace leptinu a inzulínu byly statisticky významně vyšší ve skupině jedinců s nadváhou/obezitou, naproti tomu ve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

Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu korelovaly u obou skupin pozitivně s poměrem GH/IGF-I (r = 0,37, p < 0,01 u štíhlých, r = 0,56, p < 0,01 u obézních) a negativně s koncentracemi inzulínu (r = -0,35, p < 0,05 u štíhlých, r = -0,43, p < 0,05 u obézních). Na rozdíl od jedinců s nadváhou/obezitou koncentrace celkového ghrelinu korelovaly ve skupině štíhlých individuí pozitivně s koncentracemi IGFBP-2 (r = 0,32, p < 0,05) a negativně s WHR (r = -0,3, p < 0,05).

V případě aktivního ghrelinu byly nalezeny pouze pozitivní korelace 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.

	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 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
Poměr 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
WHR	0,78±0,01 <sup>d</sup>	0,93±0,02

Tabulka 3. Výbrané antropometrické a hormonální parametry ve skupině zdravých jedinců s normální váhou a ve skupině jedinců s nadváhou/obezitou. 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-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 < 0,0001 vs. kontrolní skupina obézních.



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 ± střední chyba průměru, p < 0,01.

## 5.2. 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, zbylých 11 z těchto nemocných již podstoupilo operaci adenomu hypofýzy, ale přetrvávala hypersekrece GH z pooperačního rezidua adenomu. Žádný z nemocných nebyl dosud léčen dopaminergními agonisty, somatostatinovými analogy ani radioterapií. Kontrolní skupinu tvořilo 21 zdravých jedinců odpovídajících pohlavím, věkem a BMI skupině nemocných (8 mužů a 13 žen).

Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu byly u nemocných s aktivní akromegalií nižší než u zdravých kontrol, tento rozdíl však nedosáhl statistické významnosti. Nemocní s akromegalií měli signifikantně vyšší koncentrace GH, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-3 a inzulínu. Naopak obsah tělesného tuku a koncentrace IGFBP-1 byly oproti zdravým jedincům signifikantně sniženy. V ostatních studovaných parametrech se obě skupiny nelišily (tabulka 4). Aktivní ghrelin představoval 2,7% z celkové koncentrace ghrelinu u akromegaliků a 2,8% u kontrolní skupiny.

Koncentrace celkového ghrelinu korelovaly negativně s koncentracemi IGF-I ve skupině nemocných s akromegalií ( $r = -0,46$ ,  $p < 0,05$ ) i zdravých kontrol ( $r = -0,44$ ,  $p < 0,05$ ), ve skupině kontrol korelovaly navíc pozitivně s poměrem GH/IGF-I ( $r = 0,42$ ,  $p < 0,05$ ) a negativně s koncentracemi aktivního ghrelinu ( $r = -0,44$ ,  $p < 0,05$ ) a s WHR ( $r = -0,50$ ,  $p < 0,05$ ). Nebyl zjištěn žádný signifikantně významný vztah mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a studovanými parametry ve skupině nemocných s akromegalií, ve skupině kontrol korelovaly koncentrace aktivního ghrelinu negativně s koncentracemi celkového ghrelinu ( $r = -0,44$ ,  $p = 0,05$ ) a volného IGF-I ( $r = -0,50$ ,  $p < 0,05$ ) a pozitivně s koncentracemi IGFBP-3 ( $r = 0,61$ ,  $p < 0,01$ ). Jiné korelace mezi koncentracemi celkového a aktivního ghrelinu a dalšími parametry nebyly nalezeny.

Z analýzy pohlavních rozdílů vyplývá, že ženy s akromegalií měly vyšší obsah tělesného tuku ( $p < 0,001$ ) a nižší WHR ( $p < 0,001$ ) v porovnání s nemocnými muži. V koncentracích celkového či aktivního ghrelinu ani v dalších sledovaných parametrech nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi oběma pohlavími. 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 tělesné kompozice 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 IGFBP-3 ( $p < 0,05$ ), koncentrace celkového ghrelinu byly u těchto obézních nemocných signifikantně sniženy ( $p < 0,05$ ), koncentrace aktivního ghrelinu podobně jako další sledované parametry se mezi oběma skupinami nelišily.

	A	KS
Věk (roky)	57,62±3,02	55,43±2,63
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	29,31±0,97	29,47±1,02
Obsah 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>e</sup>	3,66±1,52
IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	1014,24±86,00 <sup>e</sup>	208,86±22,95
GH/IGF-I (mIU/ $\mu\text{g}$ )	0,05±0,01	0,02±0,01
Volný IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	4,39±0,77 <sup>a</sup>	0,59±0,06
IGFBP-1 ( $\mu\text{g/l}$ )	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>a</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 ( $\mu\text{IU/ml}$ )	45,39±7,37 <sup>b</sup>	22,32±2,48
WHR	0,88±0,02	0,89±0,02

Tabulka 4. Vybrané antropometrické a hormonální parametry ve skupině nemocných s akromegalií a v kontrolní skupině. 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.

## 5.3. 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 v dospělosti, u 1 nemocného o idiopatický GHD vzniklý v dětství. Žádný z nemocných nebyl v posledních 5 letech léčen rhGH, ostatní hormonální deficity byly adekvátně substituovány. Kontrolní skupinu tvořilo 9 zdravých jedinců odpovídajících pohlavím, věkem a BMI (8 mužů a 1 žena).

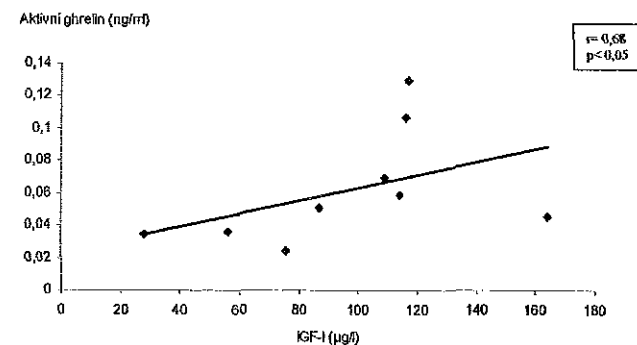
Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v koncentracích celkového ani aktivního ghrelinu mezi nemocnými s GHD a zdravými kontrolami. Nemocní s GHD měli nižší koncentrace GH, IGF-I a volného IGF-I v porovnání se zdravými kontrolami, v ostatních parametrech se tyto skupiny nelišily (tabulka 5). Koncentrace aktivního ghrelinu představovala 3,6 % z celkové koncentrace ghrelinu u nemocných s 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 ( $r = 0,79$ ,  $p < 0,05$ ), IGFBP-2 ( $r = 0,89$ ,  $p = 0,001$ ) a poměrem GH/IGF-I ( $r = 0,42$ ,  $p < 0,05$ ) a negativně s obsahem tělesného tuku ( $r = -0,79$ ,  $p < 0,05$ ).

Koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly u nemocných s GHD pozitivně s koncentracemi IGF-I ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,05$ , graf 3) a negativně s poměrem GH/IGF-I ( $r = -0,88$ ,  $p < 0,01$ ), u kontrolní skupiny koncentrace aktivního ghrelinu korelovaly negativně s koncentracemi IGF-I ( $r = -0,74$ ,  $p < 0,05$ ).

	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 tuku (%)	20,16±2,93	15,84±2,19
Celkový ghrelín (ng/ml)	1,70±0,17	1,85±0,28
Aktivní ghrelín (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
WHR	0,87±0,05	0,94±0,04

Tabulka 5. Vybrané antropometrické a hormonální parametry nemocných s deficitem růstového hormonu a kontrolní skupiny. 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.



Graf 3. Korelace mezi koncentracemi aktivního ghrelinu a IGF-I ve skupině nemocných s GHD.

## 5.4. Ghrelin u nemocných s porušenou funkcí ledvin

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

Do studie jsme zařadili 40 nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním (RI/RS) (19 mužů a 21 žen, kreatinin 131-1115 µmol/l) na podkladě diabetické nefropatie (n=6), primární glomerulonefritidy (n=2), tubulointersticiální nefritidy (n=17), polycystózy ledvin (n=11) a vaskulární nefrosklerózy (n=4). Kontrolní skupinu tvořilo 34 zdravých dobrovolníků (17 mužů a 17 žen).

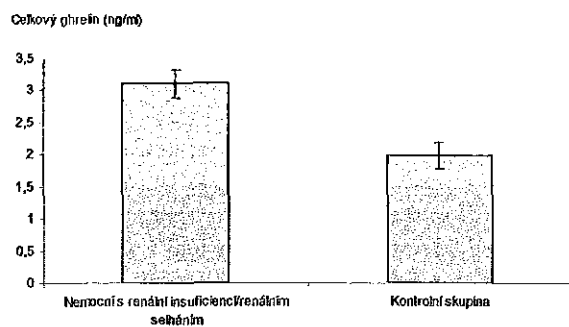
Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu byly u nemocných s RI/RS signifikantně zvýšeny (graf 4,5). Nemocní měli vyšší obsah tělesného tuku, koncentrace GH, IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-6, leptinu, urey a kreatininu ve srovnání se zdravými kontrolami (tabulka 6). Aktivní ghrelin představoval 2,8%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

Z analýzy pohlavních rozdílů vyplývá, že nemocné ženy měly vyšší obsah tělesného tuku ( $p < 0,0001$ ), koncentrace celkového ( $p < 0,05$ ) i aktivního ghrelinu ( $p < 0,05$ ), IGFBP-3 ( $p < 0,05$ ) a leptinu ( $p < 0,001$ ) a nižší WHR ( $p < 0,001$ ) a koncentrace SLR ( $p < 0,001$ ) ve srovnání s nemocnými muži. 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 skupině mužů. Koncentrace celkového i aktivního ghrelinu byly v kontrolní skupině žen vyšší v porovnání s muži, avšak statistickou významnost dosáhl pouze rozdíl v koncentracích aktivního ghrelinu ( $p < 0,05$ ).

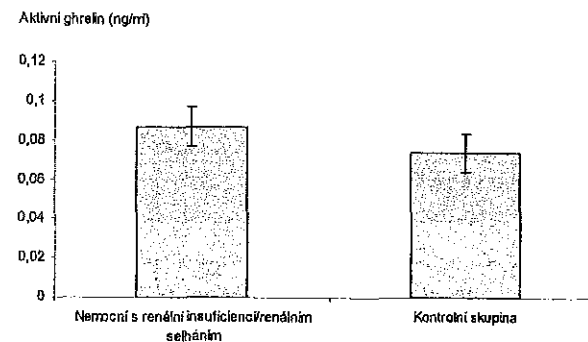
Skupinu nemocných s RI/RS jsme dále rozdělili na podskupinu štíblých nemocných s porušenou funkcí ledvín ( $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ) a skupinu nemocných s nadváhou/obezitou ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ). Štíhlí nemocní měli vyšší koncentrace GH ( $p < 0,01$ ), IGFBP-1 ( $p < 0,01$ ) a SLR ( $p < 0,01$ ) a nižší WHR ( $p = 0,01$ ) a koncentrace leptinu ( $p < 0,05$ ). Mezi oběma skupinami nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v koncentracích celkového ani aktivního ghrelinu.

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 ( $r = 0,37$ ,  $p < 0,05$ ) a negativně s věkem ( $r = -0,35$ ,  $p < 0,05$ ), při přepočtu zkoumaných hormonálních parametrů na koncentrace kreatininu jsme ve skupině nemocných zaznamenali pouze pozitivní korelace mezi koncentracemi celkového ghrelinu a koncentracemi aktivního ghrelinu a volného IGF-I. Naproti tomu ve skupině zdravých kontrolních subjektů koncentrace celkového ghrelinu korelovaly pozitivně s koncentracemi GH, IGFBP-1 a poměrem GH/IGF-I a negativně s BMI ( $r = -0,35$ ,  $p < 0,05$ ), WHR ( $r = -0,45$ ,  $p < 0,05$ ) a koncentracemi inzulinu. U kontrolní skupiny při přepočtu parametrů na koncentrace kreatininu korelovaly koncentrace celkového ghrelinu pozitivně pouze s koncentracemi GH (tabulka 7).

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 ( $r = 0,38$ ,  $p < 0,05$ ), koncentracemi celkového ghrelinu, IGF-I, volného IGF-I, IGFBP-2, urey ( $r = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ), a kreatininu ( $r = 0,43$ ,  $p < 0,01$ ) a negativní korelace s věkem ( $r = -0,42$ ,  $p < 0,01$ ). 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 ( graf 6, tabulka 8).



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 ± 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 ± střední chyba průměru,  $p < 0,01$ .

	RI/RS	KS
Věk (roky)	62,45±2,19	60,37±2,59
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	27,57±4,62	27,55±4,60
Obsah tělesného tuku (%)	24,14±7,78 <sup>a</sup>	19,38±10,65
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,11±1,38 <sup>c</sup>	1,99±1,23
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,09±0,05 <sup>b</sup>	0,07±0,09
GH (mIU/l)	5,16±5,81 <sup>a</sup>	3,36±5,61
IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	298,74±142,98 <sup>c</sup>	190,18±94,02
GH/IGF-I (mIU/ $\mu\text{g}$ )	0,03±0,01	0,02±0,01
Volný IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,77±0,64	0,55±0,26
IGFBP-1 ( $\mu\text{g/l}$ )	73,67±35,84 <sup>d</sup>	30,38±21,46
IGFBP-2 (mg/l)	2,18±1,50 <sup>d</sup>	0,47±0,28
IGFBP-3 (mg/l)	4,61±1,66	4,21±0,98
IGFBP-6 (mg/l)	2,67±1,54 <sup>d</sup>	0,36±0,16
Leptin (ng/ml)	30,66±28,97 <sup>b</sup>	14,33±11,29
SLR (ng/ml)	20,86±9,38	22,22±9,15
Inzulin ( $\mu\text{IU/ml}$ )	25,69±13,65	20,65±10,23
Urea (mmol/l)	19,63±7,10 <sup>d</sup>	5,62±1,43
Kreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )	544,43±126,57 <sup>d</sup>	86,15±15,69
WHR	0,93±0,03	0,89±0,10

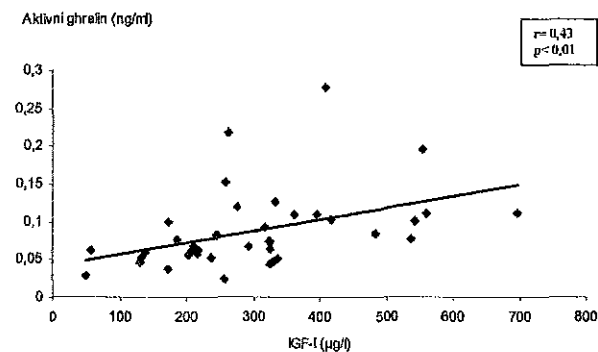
Tabulka 6. Vybrané antropometrické, hormonální a biochemické parametry ve skupině nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním a v kontrolní skupině. Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry ± střední chyba průměru, RI/RS – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, KS – kontrolní skupina, BMI – body mass index, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulínu podobný růstový faktor-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 oproti kontrolní skupině

	RI/RS	RI/RS-krea	KS	KS-krea
Aktivní ghrelin	r= 0,66, p< 0,0001	r= 0,47, p< 0,01	NS	NS
GH	NS	NS	r= 0,47, p< 0,01	r= 0,49, p< 0,01
IGF-I	r= 0,43, p< 0,01	NS	NS	NS
GH/IGF-I	NS	NS	r= 0,51, p< 0,01	NS
Volný IGF-I	r= 0,56, p< 0,0001	r= 0,53, p< 0,001	NS	NS
IGFBP-1	NS	NS	r= 0,35, p< 0,05	NS
IGFBP-2	r= 0,31, p< 0,05	NS	NS	NS
IGFBP-3	r= 0,47, p< 0,01	NS	NS	NS
IGFBP-6	r= 0,40, p< 0,05	NS	NS	NS
Leptin	NS	NS	NS	NS
SLR	NS	NS	NS	NS
Inzulín	NS	NS	r= -0,36, p< 0,05	NS

Tabulka 7. 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 – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, RI/RS-krea – přepočet parametrů u nemocných s RI/RS na koncentrace kreatininu (parciální korelace), KS – kontrolní skupina, KS-krea – přepočet parametrů u kontrolní skupiny na koncentrace kreatininu, 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, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.

	RI/RS	RI/RS-krea	KS	KS-krea
Celkový ghrelin	r= 0,66, p< 0,0001	r= 0,47, p< 0,01	NS	NS
GH	NS	NS	NS	NS
IGF-I	r= 0,43, p< 0,01	r= 0,34, p< 0,05	NS	NS
GH/IGF-I	NS	NS	NS	NS
Volný IGF-I	r= 0,30, p< 0,05	NS	NS	NS
IGFBP-1	NS	NS	NS	NS
IGFBP-2	r= 0,38, p< 0,05	NS	NS	NS
IGFBP-3	r= 0,39, p< 0,05	NS	r= 0,50, p< 0,0001	r= 0,46, p< 0,01
IGFBP-6	NS	NS	NS	NS
Leptin	NS	NS	NS	NS
SLR	NS	NS	NS	NS
Inzulín	NS	NS	NS	NS

Tabulka 8. 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 – skupina nemocných s renální insuficiencí/renálním selháním, RI/RS-krea – přepočet parametrů u nemocných s RI/RS na koncentrace kreatininu (parciální korelace), KS – kontrolní skupina, KS-krea – přepočet parametrů u kontrolní skupiny na koncentrace kreatininu, 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, 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.

#### 5.4.2 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 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 s RS statisticky významně vyšší oproti kontrolní skupině a to před i po hemodialýze. Predialyzačně měli nemocní s RS navíc vyšší plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu a kreatininu ( $p < 0,0001$ ). Po skončení hemodialýzy měli nemocní s RS signifikantně nižší koncentrace GH oproti zdravým kontrolám. 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 (tabulka 9,10, graf 7,8). Hemodialýzou bylo odstraněno 17,37% celkového a 30,51% aktivního ghrelinu.

Ve skupině nemocných s RS korelovaly koncentrace celkového ghrelinu pozitivně s koncentracemi aktivního ghrelinu a IGFBP-3 před i po hemodialýze, před hemodialýzou korelovaly pozitivně také s obsahem tělesného tuku ( $r = 0,62$ ,  $p < 0,05$ ), po dialýze se objevily pozitivní korelace s koncentracemi IGF-I i volného IGF-I a negativní korelace s koncentracemi SLR. U kontrolní skupiny nekorelovaly koncentrace celkového ghrelinu s žádným parametrem (tabulka 11).

Koncentrace aktivního ghrelinu pozitivně korelovaly s koncentracemi celkového ghrelinu u nemocných s RS před i po hemodialýze, před hemodialýzou navíc pozitivně korelovaly s obsahem tělesného tuku ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,05$ ) a negativně s koncentracemi SLR, po dialýze jsme prokázali pozitivní korelaci s koncentracemi volného IGF-I. V kontrolní skupině koncentrace aktivního ghrelinu v plasmě pozitivně korelovaly 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 negativně s koncentracemi IGFBP-2 (tabulka 12).

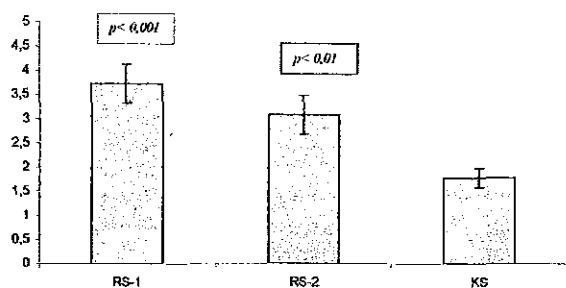
	RS-1	RS-2	KS
Celkový ghrelin (ng/ml)	3,72±0,41 <sup>b</sup>	3,08±0,40 <sup>b</sup>	1,78±0,21
Aktivní ghrelin (ng/ml)	0,12±0,02 <sup>b</sup>	0,08±0,01	0,06±0,01
GH (mU/l)	5,49±1,29	0,59±0,09 <sup>a</sup>	3,10±1,01
IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	404,75±35,72 <sup>d</sup>	350,31±42,09 <sup>b</sup>	190,88±25,10
Volný IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	1,28±0,17 <sup>c</sup>	2,04±0,42 <sup>b</sup>	0,52±0,05
IGFBP-1 ( $\mu\text{g/l}$ )	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
Inzulin ( $\mu\text{IU/ml}$ )	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

Tabulka 9. Vybrané hormonální a biochemické parametry ve skupině nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a v kontrolní skupině. Údaje v tabulce 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, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulinu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulinu 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.

	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 ( $\mu\text{g/l}$ )	404,75±35,72 <sup>a</sup>	350,31±42,09
Volný IGF-I ( $\mu\text{g/l}$ )	1,28±0,17 <sup>a</sup>	2,04±0,42
IGFBP-1 ( $\mu\text{g/l}$ )	89,40±9,64 <sup>a</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
Inzulin ( $\mu\text{IU/ml}$ )	27,69±2,71	25,63±5,70
Urea (mmol/l)	23,56±1,53 <sup>d</sup>	7,52±0,64

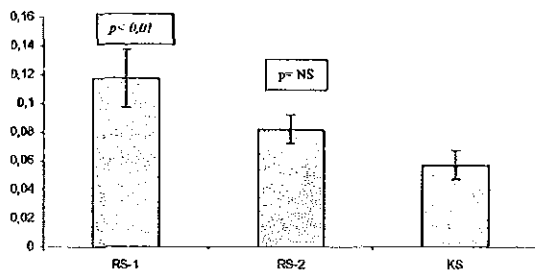
Tabulka 10. Vliv hemodialýzy na koncentrace celkového, aktivního ghrelinu a další hormonální parametry nemocných se selháním ledvin. Údaje v tabulce jsou vyjádřeny jako průměry  $\pm$  střední chyba průměru, RS-1 – nemocní s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – nemocní s renálním selháním po hemodialýze, GH – růstový hormon, IGF-I – inzulinu podobný růstový faktor-I, volný IGF-I – volný inzulinu 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 stavu po hemodialýze.

Celkový ghrelin (ng/ml)



Graf 7. Plasmatické koncentrace celkového ghrelinu ve skupině nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a v kontrolní skupině. Údaje v grafu 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, p – hladina významnosti při vyjádření statisticky významné odlišnosti od kontrolní skupiny.

Aktivní ghrelin (ng/ml)



Graf 8. Plasmatické koncentrace aktivního ghrelinu ve skupině nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, po hemodialýze a v kontrolní skupině. Údaje v grafu 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, p – hladina významnosti při vyjádření statisticky významné odlišnosti od kontrolní skupiny.

	RS-1	RS-2	KS
Aktivní ghrelin	r= 0,75, p< 0,001	r= 0,70, p< 0,01	NS
GH	NS	NS	NS
IGF-1	NS	r= 0,54, p< 0,05	NS
Volný IGF-1	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
Urea	NS	NS	NS

Tabulka 11. 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 – skupina nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – skupina nemocných s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina, GH – růstový hormon, IGF-1 – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-1 – 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, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.

	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-1	NS	NS	r= 0,91, p< 0,0001
Volný IGF-1	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
Úrea	NS	NS	NS

*Tabulka 12. 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 – skupina nemocných s renálním selháním před hemodialýzou, RS-2 – skupina nemocných s renálním selháním po hemodialýze, KS – kontrolní skupina, GH – růstový hormon, IGF-1 – inzulínu podobný růstový faktor-1, volný IGF-1 – 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, NS – nesignifikantní rozdíl, r – korelační koeficient, p – hladina významnosti.*

## 6. 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 modifikována 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 změně 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 ledvín očekávali snížení plasmatických koncentrací ghrelinu v důsledku jeho snížené tvorby při onemocnění ledvín 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 vzájemně 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 zíněmání v tělesné kompozici ani koncentracích jednotlivých komponent osy GH/IGF-I. Toto pozorování ukazuje na vliv kompenzačních změn, které za fyziologického stavu mohou zcela nabrzdit 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 u těchto onemocnění 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 ledvín 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 rozбором plasmatických koncentrací ghrelinu nelze jednoduše transformovat na oblast hypotalamu/hypofýzárny, 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 koreluje s BMI event. i s obsahem tělesného tuku, jsou sniženy u obézních a naopak elevované 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 ghrelin vede u kryš ke stimulaci příjmu potravy a k nárůstu hmotnosti v důsledku signifikantního zvýšení množství tukové tkáně. Snižuje utílčení tuku a upřednostňuje 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 podrobnosti objasněn je pravděpodobné, že inzulín přímo či nepřímo zprostředkovává vliv nutrice 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 tyto nemocní i zvýšený obsah tělesného tuku, a zvýšené koncentrace aktivního ghrelinu pozitivně korelovaly s obsahem tělesného tuku. Vzhledem k těmto nálezům nelze vyloučit kauzální roli patologicky vysokých koncentrací ghrelinu v etiopatogenezi tvorby tukové tkáně u těchto stavů. Ghrelin v tomto případě může mít až diabetogenní účinky zvýšením glukoneogenézy a potlačováním sekrece inzulínu, jak bylo prokázáno u nemocných s ghrelinomem 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 myši, 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 myši 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, bulimie nervosa, ghrelinom, a podle našeho zjištění i renální insuficience), kde se může uplatňovat jeho adipogenní a event. až diabetogenní účinek.

## 7. Summary

Ghrelin is a peptide hormone with a strong stimulatory effect on growth hormone (GH) secretion. Ghrelin was originally isolated from the rat stomach as an endogenous secretagogue for the growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). Although the first compounds of the group of growth hormone secretagogues were synthesized already in 1997, the isolation of the GHS-R and ghrelin is a matter of the last decade.

Our study was aimed at the determination of the physiological role of endogenous ghrelin in GH secretion in certain pathological conditions and its associations with the GH/IGF-I axis compounds. Our study was the first one detecting also active ghrelin concentrations. We assumed, that ghrelin secretion is affected by the GH secretory state.

In patients with acromegaly we expected low ghrelin concentrations (hypothesis 1) and in patients with GHD we presumed, that ghrelin concentrations will be elevated (hypothesis 2) in comparison with healthy subjects as an effect of the negative feedback regulation by GH. Our findings however did not support these hypotheses, active and total ghrelin concentrations did not differ between patients and healthy controls. These data do not support an important role for ghrelin in GH secretion in these conditions as well as the existence of a negative feedback regulation between these hormones.

Ghrelin production was also found in the kidney. Therefore we assumed, that in case of renal failure ghrelin concentrations will be decreased due to its diminished production and due to the supposed negative feedback regulation by elevated GH concentrations (hypothesis 3). Again we confirmed neither our hypothesis, nor the existence of a negative feedback regulation between ghrelin and GH. It is probably the impaired clearance and/or metabolism of ghrelin in the kidney in renal failure, which is responsible for high ghrelin concentrations.

Acylated ghrelin is the most potent stimulator of GH secretion in vitro as well as in vivo, but the data available so far do not support its unique role in GH secretion as well as the existence of a negative feedback regulation between ghrelin and GH. Even the total absence of ghrelin in experiments on laboratory animals does not cause any changes in body composition and concentrations of GH/IGF-I axis compounds. This is a result of compensatory processes, which substitute for ghrelin functions in the organism. Ghrelin is together with GHRH, somatostatin and a negative feedback regulation by IGF-I only one of regulators of GH secretion.

This situation is probably preserved also in case of acromegaly and GHD, which is supported by our results and observations of another authors. Ghrelin concentrations are in these conditions not affected by the secretion of GH and their regulation is more complex. It includes chronic nutritional state and the degree of adiposity in case of total ghrelin, and some so far unknown mechanisms in case of active ghrelin. On the other hand we can not exclude a possible role of ghrelin in GH secretion in

case of renal failure, although the main mechanism, which is causing the elevation of GH and ghrelin concentrations in this condition is the impairment of clearance of both compounds.

Problematic matter in the study of physiological functions of ghrelin in connection with the GH/IGF-I axis is the determination of ghrelin concentrations locally in hypothalamus/pituitary gland. Plasma concentrations of ghrelin may not reflect its concentrations in the hypothalamus/pituitary gland, where the role of ghrelin in GH secretion and the existence of a negative feedback regulation between ghrelin and GH may exist and further research is needed to confirm or exclude this hypothesis.

Based on many observations it is possible to conclude, that the total ghrelin concentrations are affected by acute and chronic changes of nutritional state and by insulin concentrations. Our results however do not support the view, that similar regulatory mechanisms are involved in case of active ghrelin concentrations. Total ghrelin concentrations correlate positively with BMI and body fat mass, are decreased in obese and elevated in lean or cachectic subjects. The normalization of body weight leads to the normalization of total ghrelin concentrations and a restoration of the diurnal rhythm of ghrelin.

Exogenously administered ghrelin leads in rodents to the stimulation of food ingestion and to weight gain, due to the increase in fat tissue. It decreases fat utilization and favors the utilization of saccharides as the main metabolic substrate in energetic metabolism. This effect of ghrelin seems to be independent of GH activities, since GH stimulates energy expenditure and decreases the amount of fat tissue due to the stimulation of lipolysis. The orexigenic and anabolic effects of ghrelin might represent an adaptation mechanism, which completes the effects of GH and ensures metabolic substrate for growth.

Insulin is one of the most important regulators of ghrelin secretion. Many experiments showed negative correlations between ghrelin and insulin concentrations, hyperinsulinaemia had been shown to lower ghrelin concentrations. Although the relationship between both hormones is not understood in detail so far, it is plausible, that insulin directly or indirectly mediates the effect of nutrition or actual energy state on plasma ghrelin concentrations and vice versa. The decrease of insulin concentrations in starving leads to the elevation of ghrelin concentrations, while postprandial hyperinsulinaemia causes an opposite effect. Chronic hyperinsulinism in obese subjects and low insulin concentrations in lean and cachectic individuals might affect ghrelin concentrations in chronic nutritional changes by the same mechanism. Reciprocally hyperghrelinemia in starving might decrease insulin synthesis and by this mechanism maintain glucose concentrations in normal range, and postprandial hyperinsulinaemia might be the effect of a decrease in ghrelin secretion.

After the discovery of ghrelin it was primarily thought, that ghrelin could be a key factor causing simple obesity in man. But studies in obese individuals have shown, that its concentrations are suppressed in obesity and elevated in lean and cachectic subjects. We suppose, that this is an effect of a negative feedback regulation between ghrelin and insulin, when ghrelin secretion is suppressed by

elevated insulin concentrations. Our own results let us presume, that a different situation occurs in case of pathologic overproduction of ghrelin, insusceptible to a negative feedback regulation. Exogenously administered ghrelin exerts orexigenic effects and leads to fat accumulation in laboratory animals. Also in patients with a GIT tumor secreting ghrelin (ghrelinoma) and in patients with Prader-Willy syndrome, where high ghrelin concentrations are probably caused by autonomous secretion of ghrelin in central nervous system, there are elevated ghrelin concentrations associated with a high BMI and body fat content. Our patients with renal failure had increased concentrations of active ghrelin, probably due to an impaired clearance in the kidney. These patients had a high body fat content at the same time and ghrelin concentrations correlated positively with body fat content. Elevated concentrations of active ghrelin might therefore play a role in the etiopathogenesis of fat tissue formation. Ghrelin thus could have diabetogenic effects due to an increase in gluconeogenesis and due to a suppression of insulin production, which was proved in patients with ghrelinomas and in laboratory animals.

At present ghrelin is considered by many authors to be an orexigenic signal from stomach, whose secretion is regulated by meal intake and insulin concentrations, which completes the proteosynthetic effects of GH. On the other hand in mice, where the ghrelin gene was knocked out, no significant abnormalities were observed in food intake, body composition, size, growth rate or reproduction. Even in these animals exogenously administered ghrelin stimulates food intake, but its endogenous total absence does not lead to anorexia. Therefore the orexigenic function of ghrelin is not irreplaceable and other compensatory mechanisms substituting for this function are involved in the regulation of food intake in ghrelin knocked out animals. In physiologic conditions ghrelin is not the main orexigenic factor. However in conditions associated with high ghrelin concentrations, which can not be down regulated by insulin (e.g. exogenous administration of ghrelin in animals, Prader-Willy syndrome, bulimia nervosa, ghrelinoma and according to our findings patients with renal insufficiency) ghrelin might exert adipogenic and diabetogenic effects.

## 8. Literatura

1. Adighate E, Ponery AS: Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 14: 555-60, 2002
2. Arvar 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
3. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Nijima A, Fujino MA, Kasuga M: Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 120: 337-45, 2001

4. Banks WA, Tschöp 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
5. 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
6. Becker AE, Grinspoon SK, Klíbarski A, Herzog DB: Eating disorders. *N Engl J Med* 340, 1092-1098, 1999
7. Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, Warren VA, Howard AD, Van Der Ploeg LH, Heck JV.: Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 43: 4370-6, 2000
8. 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
9. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Prodám F, Grottoli S, Papotti M, Muccioli G, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E: Endocrine activities of cortistatin-14 and its interaction with GHRH and ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3783-90, 2002
10. 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
11. 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
12. 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
13. Dall R, Kanaley J, Hansen TK, Møller N, Christiansen JS, Hosoda H, Kangawa K, Jørgensen JO: Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol* 147:65-70, 2002
14. 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
15. Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato: Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 275: 477-80, 2000b
16. 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
17. Dantonville de la Cour C, Björkqvist 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
18. Egido BM, Rodríguez-Gallardo J, Silvestre RA, Marco J: Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 146: 241-4, 2002
19. 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
20. 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
21. Freda PU, Reyes CM, Conwell IM, Stundeen RE, Wardlaw SL: Serum ghrelin levels in acromegaly: effects of surgical and long-acting octreotide therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 037-044, 2003
22. Gauna C, Meyler FM, Janssen JA, Delhanty PJ, Aribat 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
23. 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
24. 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, 2000
25. Howard HD, Feighner SD, Cully DF: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273 : 974 - 976, 1996
26. Jaffe CA, Ocampo-Lin 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
27. 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
28. 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
29. 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
30. Kanegai 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
31. Kanegai 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

32. 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
33. Kordonits 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
34. 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
35. 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
36. Marzullo P, Buckway C, Prutt 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
37. 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
38. 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
39. 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
40. 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
41. 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
42. Norrelund H, Hansen TK, Ørskov H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Weeke J, Møller N, Christiansen JS, Jørgensen JO: Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin. *Clin Endocrinol* 57: 539-46, 2002
43. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C, Riepl RL, Heinan 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
44. 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
45. Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodríguez-Carmona A, Peteiro J, García-Naveiro R, García-Buñela J: Plasma ghrelin levels in patients undergoing haemodialysis and peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 19: 2095 – 2100, 2004
46. 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
47. Rodriguez Ayala E, Pecoits-Filho R, Heinburger 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
48. 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
49. 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
50. 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
51. 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
52. Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyayama 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
53. 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
54. Schmidt A, Fabrizi V, Maier 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
55. Sun Y, Ahmed S, Smith RG: Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite. *Mol Cell Biol* 23:7973-81, 2003
56. 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
57. 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
58. Tannenbaum GS, Bowers CY: Interactions of growth hormone secretagogues and growth hormone-releasing hormone/somatostatin. *Endocrine* 14: 21-7, 2001
59. Torsello A, Bresciani E, Avallone R, Locatelli V: Ghrelin and GH secretion. *Minerva endocrinol* 27: 257-264, 2002

60. Toshimai 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
61. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML: Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908 – 13, 2000
62. 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
63. Tsolakis AV, Portela-Gomes GM, Stridsberg M, Grimelius L, Sundin A, Eriksson BK, Öberg KE, Janson ET: Malignant gastric ghrelinoma with hyperghrelinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3739-44, 2004
64. van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E: Biological, physiological, pathophysiological and pharmacological aspects of Ghrelin. *Endocrine Reviews* 25: 426-457, 2004
65. 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
66. 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
67. 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

## 9. 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, Štule 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 plazmatické 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, 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

7. Jarkovská Z, Hodková M, Szamová M, Rosická M, Sulková-Dusitová 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
8. Jarkovská Z, Hodková M, Szamová M, Rosická M, Marek J, Sulková-Dusitová 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, Szamová 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 Z, 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 hyperlipoproteinémií u pacientky s metabolickým syndromem. *Medicina pro praxi* 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, Pecan 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, Kotlíková 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, Matoušek 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, Matoušek M, Lacinová V, Justová V, Marek J: Změny ghrelinu, GH, IGF-I a jeho vazebných proteinů v závislosti na změnách nutričního stavu. *Interná Medicina* 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 Neuroi Neurochir* 68/101: 34-38, 2005