

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra fyziologie živočichů a vývojové biologie

**ÚLOHA RŮZNÝCH FOREM GHRELINU PO
PODÁNÍ SACHARIDOVÉ A PROTEINOVÉ
SNÍDANĚ U ZDRAVÝCH ŽEN**

Lenka Beranová

Diplomová práce

Praha 2006

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jara Nedvídková, CSc., Endokrinologický ústav
Odborný konzultant: Doc. RNDr. Stanislav Vybíral, CSc.

Ráda bych poděkovala Doc. RNDr. Stanislavu Vybíralovi, CSc. za jeho čas, podporu i cenné rady k mé diplomové práci.

Děkuji i RNDr. Jaře Nedvídkové, CSc., z Endokrinologického ústavu za poskytnutí zázemí a možnosti pracovat na tématu, které se mě osobně dotýká.

Také bych chtěla poděkovat mé kolegyni a přítelkyni RNDr. Daně Sedláčkové, která mi vždy dokázala poradit, pomoci a také mě rozesmát, když se vše nedařilo.

Děkuji Dianě Riegerové a Nadě Procházkové, našim laborantkám a velkým oporám při práci v laboratoři, a v neposlední řadě všem mým blízkým za projevenou trpělivost a toleranci.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury.

V Praze 23.4.2006

Lenka Beranová.....

Lenka Beranová

OBSAH:

1. ÚVOD	6
2. CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	7
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
1.0 Historie a objev ghrelinu	8
2.0 Produkce ghrelinu a její regulace	9
3.0 Ghrelin a nervová soustava	11
3.1 Orexigenní a anorexigenní signály	12
3.2 Transport ghrelinu	14
4.0 Struktura a formy ghrelinu	16
5.0 Rozdíly mezi acyl a desacyl ghrelinem	19
6.0 Ghrelin a jeho receptory	20
7.0 Fyziologické účinky ghrelinu	21
7.1 Hypotalamo-hypofyzární působení ghrelinu	22
7.1.1 Působení ghrelinu na uvolňování růstového hormonu	22
7.1.2 Působení ghrelinu na uvolňování prolaktinu a adrenokortikotropinu	22
7.2 Centrální působení ghrelinu	23
7.2.1 Vliv ghrelinu na příjem potravy	23
7.2.2 Vliv ghrelinu na spánek	24
7.2.3 Vliv ghrelinu na chování	24
7.3 Periferní působení ghrelinu	25
7.3.1 Účinek ghrelinu na gastrointestinální trakt	25
7.3.2 Vliv ghrelinu na kardiovaskulární systém	26
7.3.3 Vliv ghrelinu na modulaci a proliferaci neoplastických buněk	26
8.0 Předpokládané faktory v regulaci hladiny ghrelinu	26
8.1 Distenze žaludku	27
8.2 Množství přijatých kalorií	27
8.3 Ghrelin a makronutrienty	28
8.4 Vliv insulínu na hladiny ghrelinu	30
8.5 Změny v hladinách ghrelinu bez polknutí potravy	32
9.0 Vliv psychického stavu na příjem potravy	32
10.0 Poruchy příjmu potravy	32

4. METODIKA A MATERIÁL	34
4.1. Kritéria výběru probandek – kontrolních osob	34
4.2. Průběh vyšetření	34
4.3. Metody stanovení hormonů v plasmě	43
4.3.1 Stanovení total ghrelinu – RIA	43
4.3.2 Stanovení acyl a desacyl ghrelinu - ELISA	46
4.3.3 Stanovení insulinu a glukosy – analyzátor	50
4.4. Statistické zpracování výsledků	51
5. VÝSLEDKY	53
6. DISKUSE	91
7. ZÁVĚR	95
8. SEZNAM POUŽITÉ A CITOVANÉ LITERATURY	97
9. SEZNAM ZKRATEK	105
10. SEZNAM OBRÁZKŮ	107
11. SEZNAM GRAFŮ	108
12. SEZNAM TABULEK	110

1. ÚVOD

Tato práce se věnuje jednomu z nových hormonů, podílejících se na regulaci příjmu potravy - ghrelinu. Hlavní náplní je sledování vztahu jednotlivých forem ghrelinu k makronutrientům přijatým v potravě (sacharidům a proteinům).

Příjem potravy podmíněný pocity hladu a sytosti je složitý fyziologický proces. Hormony trávicího traktu, tukové tkáně a neuropeptidy centrálního nervového systému se společně podílejí na řízení příjmu potravy, a to včetně vyvolávání pocitů hladu či sytosti. Přitom dochází k uplatňování a vzájemnému prolínání signálů odrážejících aktuální energetický příjem a dlouhodobé zásoby organismu (Strader and Woods, 2005). Poruchy v této signalizaci se tak mohou podílet na vzniku poruch příjmu potravy, jako je anorexia nervosa, bulimia nervosa nebo obesita a jejich přetrvávání. Stejně významnou roli hrají psychobehaviorální faktory (Elfhag and Rösner et al., 2005).

U řady hormonů řídících příjem potravy jsou známy jejich odpovědi po podání potravy a byly provedeny i studie zkoumající vliv jednotlivých typů makronutrientů, tedy sacharidů, tuků a proteinů na postprandiální hladiny u některých z těchto hormonů. Důležitým hormonem účastnícím se regulace příjmu potravy je ghrelin. Tento orexigenní peptidický hormon je primárně produkován v žaludku a v menším množství ve střevech, slinivce, hypofýze, ledvinách a placentě (Lely et al., 2004). U ghrelinu byl dobře popsán jeho postprandiální pokles a byly provedeny i experimenty s odpovědí ghrelinu na různé typy makronutrientů. V otázce vlivu jednotlivých makronutrientů jsou však informace často protichůdné (Erdmann et al., 2004; Monteleone et al., 2003; Sanchez et al., 2004; Greenman et al., 2004). Pokles hladiny ghrelinu lze vyvolat i podáním vlákniny bez kalorického obsahu (Nedvídková et al., 2003), a také pouze žvýkáním potravy bez následného polknutí - tzv. sham feeding (Arosio et al., 2004). Sledování subjektivních pocitů hladu a sytosti do studií sledujících postprandiální hladiny hormonů bylo zařazeno jen zřídka (Bloom et al. 2005). Žádná dosavadní studie nesledovala komplexní změny v hladinách hormonů účastnících se příjmu potravy při příjmu isokalorické dávky jedné ze tří základních živin, doplněném o soubor psychobehaviorálních dat. Tato studie byla vytvořena, aby přispěla k objasnění regulace příjmu potravy u zdravých žen a následně byla využita u pacientek s poruchami příjmu potravy (anorexia nervosa, bulimia nervosa).

2. CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

1. Porovnat postprandiální změny v koncentracích jednotlivých forem ghrelinu (acyl, desacyl, total) po podání dvou typů makronutrientů - sacharidová a proteinová snídaně v isokalorické dávce.
2. Porovnat nalezené rozdíly v plasmatických hladinách glukosy a insulinu po podání dvou typů makronutrientů.
3. Porovnat případné rozdíly v pocitech hladu, sytosti a plnosti po podání dvou typů makronutrientů.
4. Přispět k objasnění fyziologické úlohy ghrelinu u zdravých osob a možnosti využít tyto výsledky při léčbě pacientů s poruchami příjmu potravy.

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

1.0 HISTORIE A OBJEV GHRELINU

Ghrelin je peptidický hormon objevený na konci 90. let a jeho objev byl úzce spojen s výzkumem regulace růstového hormonu (GH). Ghrelin se váže na receptory pro growth hormone secretagogue (GHS-R), které jsou přítomné v hypotalamo-hypofyzárním systému a má mimo jiné stimulační vliv na sekreci růstového hormonu (Malagon et al., 2003). Produkce a uvolňování růstového hormonu jsou ovlivňovány mnoha faktory, zejména dvěma hypotalamickými neuropeptidy: GH releasing hormonem (GHRH) a somatostatinem. GHRH je hypotalamický peptid stimující syntézu a uvolňování GH, somatostatin je hypotalamický peptid, který sekreci GH inhibuje (Ueno et al., 2005).

V roce 1999 byla popsána další možná cesta regulace sekrece GH přes GHSs-growth hormone secretagogues (Kojima et al., 2005a). GHSs je rodina syntetických bílkovinných a nebílkovinných molekul, které stimulují sekreci GH u různých druhů živočichů včetně člověka (Ueno et al., 2005).

První syntetické molekuly GHS byly deriváty met-enkefalinu zbavené opioidní aktivity, které měly slabý účinek na uvolňování GH z hypofýzy a připravili je Bowers a jeho kolegové v roce 1976 (Lely et al., 2004). Následující vývoj vedl k produkci několika dalších peptidů s rostoucím účinkem na sekreci GH. Byly to GHRP-6 (GH releasing peptid-6) a hexarelin, které jsou oba aktivní in vivo i in vitro. Ze struktury GHRP-6 vycházel Merc, který vyvinul nové nepeptidické molekuly s vysokým a dlouhotrvajícím účinkem na sekreci GH, např. MK-0677 (spirindolin) (Hosoda et al., 2002). Ukázalo se, že MK-0677 je vysoce biologicky účinný a dokáže zvýšit 24 hodinovou sekreci GH po orálním podání. Stal se tak kandidátem při léčbě dětí s GH deficitem (Lely et al., 2004). Objev MK-0677 vedl k následné identifikaci a klonování GHS receptorů (GHS-R) v roce 1996 Merckem a jeho kolegy (Hosoda et al., 2002). Další studie ukázaly jejich specifické koncentrace v hypotalamo-hypofyzární oblasti a také výskyt v dalších částech mozku i periferních tkáních (Lely et al., 2004).

Po identifikaci receptorů pro GHS se ukázalo, že jsou odlišné od receptorů, přes které působí GHRH. Zatímco GHRH používá dráhu přes GHRH-receptory a cAMP dependentní proteinkinázu A (Hosoda et al., 2002), GHS působí skrze specifické G-protein spřažené receptory (GPCR), označené jako GHS-receptory (GHS-R). GHS aktivuje fosfolipázu C, což vede ke zvýšení intracelulární hladiny vápenatých iontů a následně aktivaci inositoltrifosfátu (IP₃), který zprostředkovává přenos signálu (Hosoda et al., 2002).

Objev GHS-R zvýšil zájem o hledání přirozeného ligandu těchto receptorů (Ghigo, 2004). K pozorování změn v koncentracích intracelulárního vápníku v extraktech z krysích tkání využíval Kojima GHS-R produkující buňky z vaječníků čínského křečka. Největší aktivace hladiny GHS-R byly pozorovány v extraktech z žaludeční tkáně. Tento nález vedl v roce 1999 k objevení nového endogenního ligandu GHS-R, který byl pojmenován ghrelin. Název ghrelin vychází z proto-indo-evropského kořenového slova ghre, které znamená růst (anglicky ghrow), což mělo vystihovat jeho vztah s růstovým hormonem (Hosoda et al., 2002).

Při objevení ghrelinu metodou reverzní farmakologie, byl nejdříve nalezen syntetický analog GHS, poté receptor GHS-R a nakonec jeho aktivující hormon ghrelin (Ghigo, 2004; Ambrogi et al., 2003).

2.0 PRODUKCE GHRELINU A JEJÍ REGULACE

Ghrelin je nejvíce produkován v žaludku a v menším množství se nachází ve střevech, slinivce, hypofýze, ledvinách, placentě (Ambrogi et al., 2003), srdci, imunitním systému, vaječnicích a varlatech (Malagon et al., 2003). Obsah ghrelinu v CNS je nízký a je soustředěn zejména v oblasti nukleus arcuatus (ARC).

V žaludku je ghrelin produkován v X/A like buňkách, které nejsou ve spojení s žaludeční dutinou, ale jsou blízko kapilární sítě v lamina propria. Prenatálně je množství ghrelinu v žaludku velmi malé a vzrůstá v závislosti na věku. Postnatálně roste hladina ghrelinu v plasmě a zvyšuje se produkce ghrelinu v žaludku (Hosoda et al., 2002). Denní sekrece systémového ghrelinu v žaludku je asi 80% a je potlačena příjmem potravy a posílena nočním půstem (Ambrogi et al., 2003).

V oxyntické mukose žaludku byly nalezeny celkem 4 typy buněk: 1) ECL-enterochromaffin like buňky = 30%, 2) X/A like buňky = 20%, 3) D buňky – delta buňky = 22%, 4) EC buňky – enterochromaffin buňky = 7 %. Ghrelin produkující buňky jsou X/A like buňky (Ueno et al., 2005; Kojima et al., 2005). X/A like buňky tedy prezentují asi 20% endokrinních buněk v oxyntických žlázách v lamina propria. Tyto buňky jsou oválné, kompaktní a mají u různých druhů živočichů různý průměr, proto se také odlišně označují. Autoři Ambrogi a Inui označují buňky produkující ghrelin u člověka jako P/D1 buňky, u krys Ambrogi označuje buňky produkující ghrelin jako A buňky a u psů jako X buňky. (Ambrogi et al., 2003; Inui et al., 2004).

Vyjmutí žaludku nebo jeho části produkující kyselinu chlorovodíkovou (HCl) u krysu redukuje hladinu plasmatického ghrelinu přibližně o 80%, což podporuje představu, že žaludek je hlavním zdrojem ghrelinu (Lely et al., 2004). Produkce ghrelinu v žaludku je regulována stavem živin a hormonálně. Inhibičně působí: somatostatin, interleukin 1 beta, GH, vysokotučná dieta a tonus nervus vagus, zatímco půst a nízkoproteinová dieta vedou ke zvýšení exprese a plasmatických koncentrací ghrelinu (Inui et al., 2004).

Ghrelín-imunoreaktivní buňky jsou také v duodenu, jejunu, ileu a tračniku. Ve střevě koncentrace ghrelinu postupně klesá od dvanáctníku k tračniku (Kojima et al., 2005a), což je ve shodě s tím, že X/A like buňky nejsou striktně omezeny jen na oxyntickou mukosu (Lely et al., 2004).

Dalším orgánem produkujícím ghrelín je slinivka. Dosud není zcela jasné, jaký typ buněk ve slinivce je za produkci ghrelinu zodpovědný, zda jsou to alfa buňky, beta buňky, nově identifikované ostrůvky epsilon buněk nebo nějaký unikátní typ buněk (Kojima et al., 2005a). Ghrelín byl nalezen v ostrůvcích alfa buněk spolu s glukagonem u myši. Glukagon zvyšuje hladinu volných vápenatých iontů v cytosolu u alfa buněk a stimuluje sekreci insulinu. Normální myši pankreas obsahuje malou populaci buněk produkujících ghrelín, které byly označeny jako nové epsilon buňky v ostrůvkách. Tyto výsledky ukazují, že pankreatické beta a epsilon buňky mohou mít společný prekurzor a základní vliv na tvorbu insulinu a ghrelinu při regulaci metabolismu glukosy. Tento vliv může být podmíněn genetickým mechanismem (Ueno et al., 2005). Lely uvádí, že část vědců se domnívá, že produkce ghrelinu je v alfa buňkách a druhá část tvrdí, že v beta buňkách. Exprese ghrelinu ve slinivce je v prenatálním a neonatálním věku vyšší než v žaludku a pankreatické buňky produkující ghrelín zůstávají v dospělosti méně zastoupeny než u plodu (Lely et al., 2004). Hladiny pankreatického ghrelinu nejsou navíc ovlivněny půstem (Kojima et al., 2005a).

Exprese ghrelinu v hypotalamu a hypofýze (při použití C-koncové protilátky, která značí total ghrelín) je 1200 krát nižší než v žaludku, a exprese aktivních forem ghrelinu (N-koncově značené) není v těchto orgánech detekovatelná (Ghigo, 2004). Total ghrelín byl nalezen v hypotalamické oblasti nukleus arcuatus (ARC), což je oblast důležitá pro regulaci chuti k jídlu. Nedávné studie ukazují přítomnost ghrelinu v necharakteristických hypotalamických oblastech, přilehlých k třetí komoře mozkové mezi oblastí dorsální, ventrální, paraventrikulární a oblastí ARC. Tyto neurony obsahující ghrelín vysílají eferentní vlákna k neuronům obsahujícím neuropeptid Y (NPY) a agouti related protein

(AgRP) a stimulují uvolňování těchto orexigenních peptidů. Tento náález svědčí o roli ghrelinu při regulaci příjmu potravy, což potvrzuje i aplikace injekce ghrelinu do mozkových komor u krys, která stimuluje příjem potravy (Kojima et al., 2005a).

Produkce ghrelinu byla prokázána i v hypofýze, kde zřejmě ovlivňuje uvolňování GH, a to stimulací GH - releasing somatotropních buněk. Expresse ghrelinu v hypofýze je vyšší po narození a klesá v pubertě (Kojima et al., 2005a).

V lidské placentě byly ghrelin - imunoreaktivní buňky nalezeny v cytotrofoblastech v prvním trimestru těhotenství, ale ve třetím trimestru už nebyly detekovatelné. Dále byly nalezeny ve varlatech v intersticiálních Leydigových a Sertoliho buňkách. V ledvinách je ghrelinová mRNA exprimována hlavně v glomerulu a zdá se, že ledviny hrají roli při odstranění a/nebo při degradaci ghrelinu (Kojima et al., 2005a).

3.0 GHRELIN A NERVOVÁ SOUSTAVA

Přijem potravy a potravní chování je regulováno komplexem mechanismů v CNS, kde hlavním centrem pro udržení energetické homeostázy organismu je hypotalamus (Kojima et al., 2005a). Ten řídí příjem potravy, který závisí především na interakci dvou center, laterálního centra hladu, umístěného pod fasciculus telencephalicus medialis v místě jeho spojení s palidohypotalamickými vlákny a mediálního centra sytosti v nukleus ventromedialis (Ganong, 1995). Hlavní částí hypotalamu pro regulaci funkce ghrelinu je nukleus arcuatus (ARC), obloukovité jádro ve ventromediálním hypotalamu (Horvath et al., 2001).

Regulace příjmu potravy je řízena komplexní neuroendokrinní sítí, v níž probíhají aferentní a eferentní signály. Aferentní signály z periferie signalizují akutní a chronické změny v energetické bilanci, zatímco regulační okruhy v CNS jsou eferentní cestou k nastavení orexigenního působení, energetického výdeje a metabolismu živin. Ghrelin je považován za hormon významně zapojený do této neuroendokrinní sítě, regulující energetickou rovnováhu. Působí jako periferní posel z žaludku, který spolu s dalšími signály zajišťuje centrální kontrolu energetické rovnováhy o snížení zásob energie. (Lely et al., 2004).

3.1 OREXIGENNÍ A ANOREXIGENNÍ SIGNÁLY

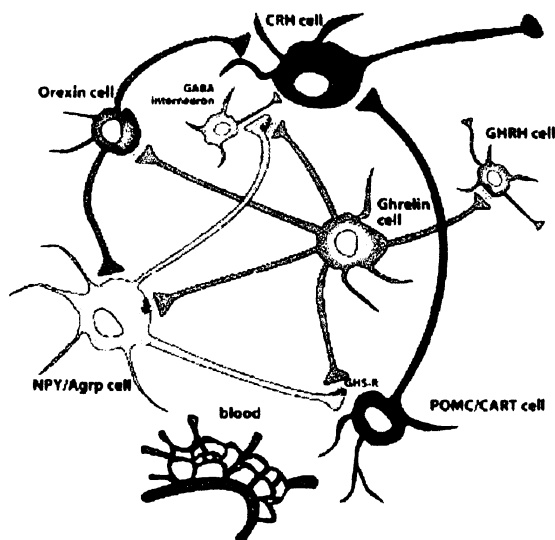
Eferentní neurony, produkující ghrelin v nukleus arcuatus, patří ke klíčovým místům v centrální regulaci energetické rovnováhy a mohou ovlivňovat aktivitu orexigenních NPY a AgRP a anorexigenních POMC neuronů (Lely et al., 2004).

Orexigenní molekuly NPY a AgRP jsou exprimovány ve stejných neuronech v mediálním ARC, zatímco anorexigenní molekuly POMC (pro-opiomelanocortin) a CART (cocain amphetamine regulated transkript) jsou exprimovány v laterálním ARC. AgRP je antagonistou melanocyty stimulujícího hormonu (alfa MSH), který je produkován v POMC neuronech (obr. č. 1) (Hosoda et al., 2002). Alfa-MSH se váže k MC-4 receptorům a inhibuje tak chuť k jídlu (Pffaf, 2004).

NPY a GABA jsou také uvolňované v PVN, kde aktivují Y1/Y5, respektive GABA-A receptory, za účelem zvýšení chuti k jídlu. A dále, NPY uvolňovaný uvnitř nucleus arcuatus, se váže k Y1 receptorům na neuronech POMC, což vede ke snížení syntézy alfa-MSH. NPY tedy stimuluje apetit přímým ovlivněním PVN a nepřímo potlačením neuronální aktivity POMC v nucleus arcuatus. AgRP, produkováný společně s NPY, stimuluje apetit tím, že se váže na MC-4 neurony v PVN a zabraňuje tak působení alfa-MSH. Další neuropeptidy jako melanin-concentrating hormon (MCH) a orexiny (ORX) z laterálního hypotalamu zvyšují apetit zvýšenou stimulací sítě NPY, a další neidentifikované signály z ventromediálního jádra (VMN) tuto síť inhibují (Pffaf, 2004).

Obrázek č. 1: Hypotalamické neurony ovlivněné ghrelinem (Korbonits et al., 2004)

Orexigenní: NPY-AgRP Anorexigenní : POMC-CART



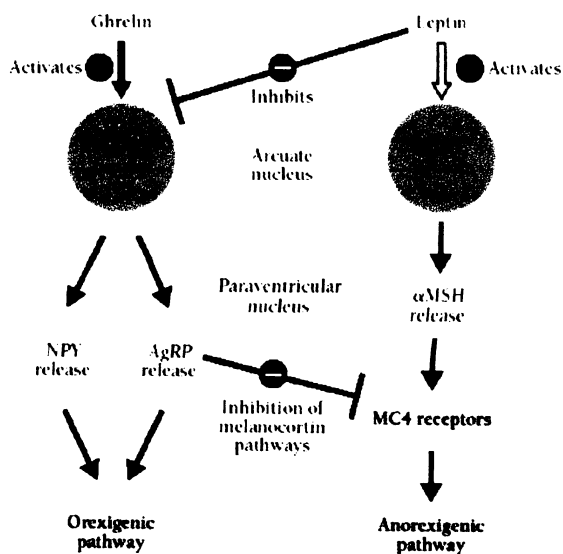
Apetit regulující osa v ARC a PVN je celkově modulována aferentními hormonálními signály, které přecházejí hematoencefalickou bariéru a vyvolávají protichůdné účinky. Příjem potravy je potlačen adipocytárním hormonem leptinem, který převádí do mozku signály, týkající se energetických zásob organismu. V podmínkách pozitivní energetické bilance se leptin váže na své receptory na NPY neuronech k potlačení syntézy a uvolňování NPY, a současně aktivuje receptory na POMC neuronech za účelem zvýšení produkce alfa-MSH. Cílovou tkání leptinu, hormonu produkovaného v tukové tkáni, je ARC. Většina neuronů produkujících NPY-AGRP a POMC-CART má tedy receptory pro leptin, takže oba typy těchto neuronů jsou regulovány leptinem i ghrelinem, ale opačným způsobem. Leptin inhibuje ghrelinem navozený příjem potravy (Hosoda et al., 2002). Pocit hladu je signalizován ghrelinem, jehož hladina v krvi stoupá v podmínkách negativní energetické bilance a zvyšuje apetit aktivací neuronální aktivity NPY v ARC (obr. č. 2) (Pfaff, 2004).

Po intravenózním podání ghreluinu dochází k produkci transkripčního faktoru c-fos v ARC a v dalších částech mozku. K expresi tohoto faktoru dochází i v nukleus paraventricularis, dorso a ventromediálních hypotalamických jádrech. (Hosoda et al., 2002). To potvrzuje, že ghrelin přispívá k centrální kontrole energetické homeostázy. Distribuce transkripčního faktoru se shoduje s distribucí receptorů GHS-R, jejichž mRNA je exprimována v 94% neuronů ležících v ARC (v 8% buněk exprimujících POMC, v 30% buněk exprimujících somatostatin a v 25% buněk exprimujících GHRH mRNA (Hosoda et al., 2002).

Obrázek č. 2: Hypotalamické neurony ovlivněné ghrelinem a leptinem (Hosoda et al., 2002)

Orexigenní: NPY-AgRP

Anorexigenní : POMC-CART



3.2 TRANSPORT GHRELINU

Hlavní cestu přepravy signálů hladovění, přenášených do mozku ghrelinem, zahrnují vlákna nervus vagus. Aferentní vlákna nervus vagus zajišťují spojení mezi žaludkem a nucleus tractus solitarius (NTS) v mozkovém kmeni. Nucleus tractus solitarius dále komunikuje s hypothalamem (obr. č. 3). Některá z těchto aferentních vláken nervus vagus, přítomná v gastrointestinální mukose a submukose, jsou umístěna tak, aby přinášela informace o obsahu v lumen (Pfaff, 2004).

Aktivací aferentních vláken n. vagus hormon cholecystokinin (CCK) inhibuje příjem potravy a vyprazdňování žaludku. Intravenózně podaný ghrelin signifikantně snižuje aktivitu nervus vagus v dávkách nižších, než které jsou nutné pro tvorbu CCK, což naznačuje, že účinky ghreluinu jsou silnější než účinky CCK (obr. č. 4) (Hosoda et al., 2002).

Centrálně nebo periferně podaný ghrelin může stimulovat žaludeční kontrakce a vyprazdňování žaludku u hlodavců a toto vyprazdňování signifikantně koreluje s vysokou hladinou ghreluinu v plasmě během půstu. Účinek ghreluinu na žaludeční kontrakce je pravděpodobně zprostředkován cholinergní cestou nervus vagus. Toto působení ghreluinu na příjem potravy a vyprazdňování žaludku cestou nervus vagus je opačné než u ostatních gastrointestinálních peptidů (Hosoda et al., 2002).

Studie podporující význam nervus vagus v přenosu signálů hladovění jsou následující :

- 1) Použití agonistů (pirenzepin) a antagonistů (pyridostigmin) cholinergních receptorů, které vedou ke zvýšení nebo snížení hladiny ghreluinu (Broglia et al., 2004b).
- 2) Provedení subdiafragmatické vagotomie u krys, které kompletně brání vzrůstu koncentrace ghreluinu vyvolanému potravní deprivací (Williams et al., 2003).
- 3) Blokáda aferentních vláken v žaludeční části nervus vagus vagotomií nebo perivagální aplikací capsaicinu zablokuje ghrelinem indukovaný příjem potravy a aktivaci NPY a GHRH produkujících neuronů (Kojima et al., 2005a).
- 4) Syntéza receptorů GHS-R v neuronech aferentních vláken nervus vagus v gangliích nodosae v oblasti žaludku (Asakawa et al., 2005).

Další možnost přenosu ghreluinu syntetizovaného v žaludku do nucleus arcuatus v hypothalamu je krevním řečištěm přes hematoencefalickou bariéru (Korbonits et al., 2005). Během transportu cirkulující krví se ghrelin pravděpodobně váže na sérové HDLs a další

proteiny, jako je například albumin (obr. č. 5) (Lely et al., 2004). Stále však není jisté, zda ghrelin musí k ovlivnění CNS postupovat hematoencefalickou bariérou. Pokusy, ve kterých intraperitoneální injekce ghreluinu u totálně vagotomizované myši nestimuluje příjem potravy, naznačují, že ghrelin tuto bariéru neprostupuje (St-Pierre et al., 2003). Jsou však studie, které tvrdí opak, např. z nálezů Bankse vyplývá, že lidský ghrelin je transportován tzv. saturable systémem - nasyceným mechanismem z mozku do krve a naopak. Rozsah a směr transportu přes hematoencefalickou bariéru je určen unikátní primární strukturou ghreluinu (Banks et al., 2002).

Ghrelin, který je syntetizovaný lokálně v hypotalamu, působí na neurony NPY/AgRP a další hypotalamické buňky (Pffaf, 2004). Tento peptid produkovaný také v dalších částech mozku uvnitř hematoencefalické bariéry působí zřejmě i na paraventriculární jádro (Horvath et al., 2001).

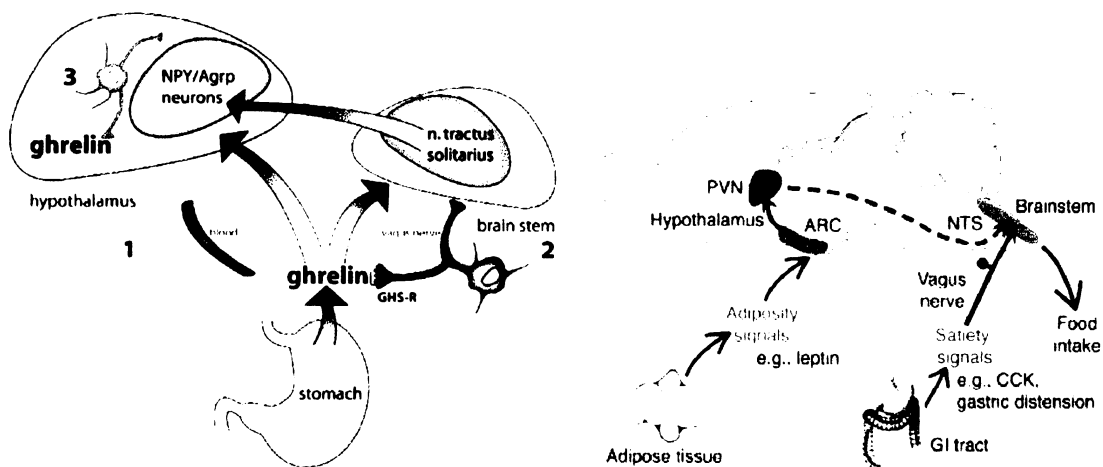
Obrázek č. 3 (vlevo): Možné cesty působení ghreluinu v hypotalamu I (Korbonits et al., 2004)

1. Transport ghreluinu krevním řečištěm do hypotalamu a jeho působení na NPY a AgRP neurony

2. Transport ghreluinu prostřednictvím nervus vagus do mozkového kmene, kde působí na nucleus tractus solitarius, které komunikuje s hypotalamem

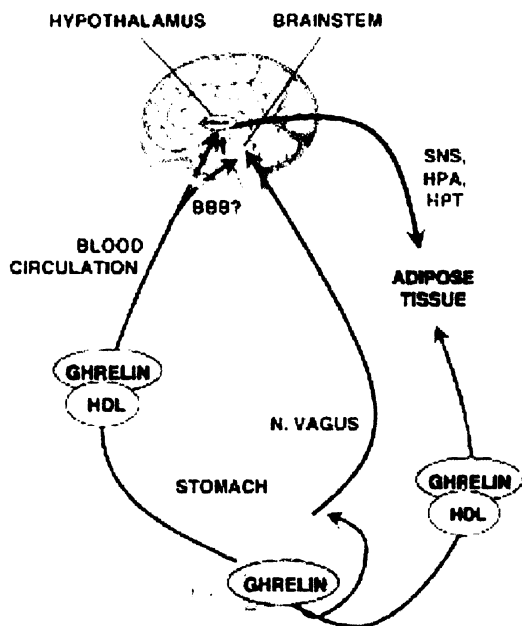
3. Působení ghreluinu produkovaného přímo v hypotalamu

Obrázek č. 4. (vpravo): Možné cesty působení ghreluinu v hypotalamu II



Obrázek č. 5: Možné cesty působení ghrelinu v hypotalamu a působení na tukovou tkáň (Lely et al., 2004)

- 1. Transport ghrelinu z žaludku prostřednictvím nervus vagus do mozkového kmene a následná komunikace mozkového kmene a hypotalamu – hnědá linie**
- 2. Transport ghrelinu navázaného na HDL krevním řečištěm přes hematoencefalickou bariéru do hypotalamu nebo mozkového kmene – červená linie vlevo**
- 3. Působení ghrelinu na zvýšené ukládání tuků – červená linie vpravo**



4.0 STRUKTURA A FORMY GHRELINU

Gen pro lidský ghrelin je umístěn na třetím chromozomu na lokusu 3p25-26 a skládá se ze 4 exonů a 3 intronů. Struktura genu pro ghrelin je identická i u myšního genu, který obsahuje 5 exonů a 4 introny (Ueno et al., 2005). Zralý protein je kódován v exonu 1 a 2 a prekursor lidského a krysího ghrelinu mají oba 117 aminokyselin. Tento prekurzor pro ghrelin vykazuje značnou homologii s prekurzorem pro motilin, takže by oba peptidy mohly mít společného předka. Genetický transkript pro ghrelin může být alternativně sestříhán, což poskytuje 2 různé mRNA a 2 různé výsledné proteiny: ghrelin a des-Gln(14)ghrelin (Ambrogi et al., 2003; Ueno et al., 2005).

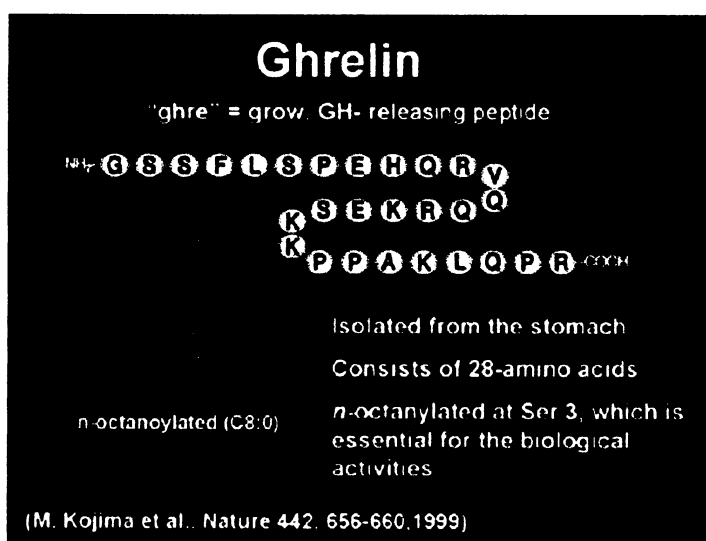
Des-Gln(14)ghrelin se liší od ghrelinu pouze tím, že na pozici 14 postrádá jeden glutamin (Lely et al., 2004; Ghigo, 2004) a je také endogenním ligandem pro ghrelinové receptory. Je to 27 aminokyselin dlouhý peptid s n-octanylem na 3. serinu a tvoří asi 10% z celkového ghrelinu v žaludku krys. Dokáže stejně jako ghrelin stimulovat vzrůst intracelulárního vápníku a sekreci GH (Ueno et al., 2005; Hosoda et al., 2002).

Finální sekvence lidského ghrelinu má 28 aminokyselin a liší se od krysího pouze ve dvou z nich. Ghrelin má dvě hlavní formy, a to acyl a desacyl ghrelin. Acyl ghrelin má unikátní posttranslační úpravu, kterou je hydroxylová skupina na 3. serinu, esterifikovaná kyselinou oktanovou (obr. č. 6). K esterifikaci dochází v cytoplazmě (obr. č. 7) (Ambrogi et al., 2003) a zdá se, že tento krok je zásadní pro funkci ghrelinu. Enzym, který katalyzuje acylaci aktivní formy ghrelinu, zatím nebyl nalezen (Kojima et al., 2005a). Acylovaná forma ghrelinu se také nazývá aktivní nebo n-octanoyl (Hosoda et al., 2002). Postranní řetězec na 3. serinu je nutný pro aktivaci ghrelinových receptorů, i když receptory pro ghrelin stejně efektivně jako ghrelin v celé délce aktivuje i krátký peptid, obsahující jen první 4 nebo 5 zbytků ghrelinu. Celá tato sekvence Gly-Ser-Ser(octanoyl)-Phe tedy představuje aktivní jádro molekuly potřebné pro vazbu na GHS-R 1a (Lely et al., 2002). Tento zkrácený peptid je schopen aktivovat receptory a zvýšit tak hladinu intracelulárních vápenatých iontů, přesto se však nezdá, že by stimuloval sekreci GH (Ambrogi et al., 2003; Lely et al., 2004).

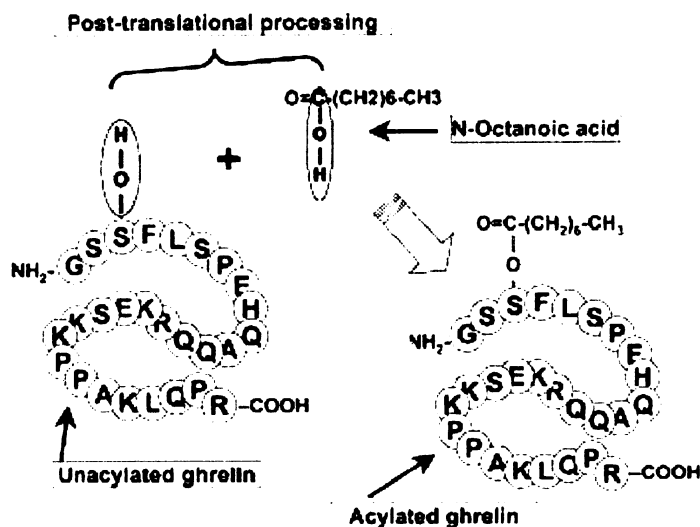
Acyl ghrelin (intact ghrelin) je rychle a snadno degradován na formy desacyl ghrelin nebo menší fragmenty (degraded ghrelin) (Hotta et al., 2004). Koncentrace acyl ghrelinu v plasmě je asi 10-20 fmol/ml (Kojima et al., 2005a). Ghrelin se v plazmě váže s high density lipoproteins (HDLs), které obsahují plasmatickou esterasu, paraoxonasu a clustrin. Mastná kyselina je spojena s ghrelinem esterovou vazbou a paraoxonasa je možná potenciální esterasou, která se účastní deacylace acylované formy ghrelinu (Kojima et al., 2005a).

Obrázek č. 6: Struktura ghrelinu (Kojima et al., 1999)

- **G = Glycin**
- **S = Serin**
- **F = Fenylalanin**
- **L = Leucin**
- **P = Prolin**
- **E = K.glutam.**
- **H = Histidin**
- **Q = Glutamin**
- **R = Arginin**
- **V = Valin**
- **K = Lysin**
- **A = Alanin**



Obrázek č. 7: Vznik acyl ghrelinu – posttranslační připojení zbytku kyseliny oktanové (Lely et al., 2004)



Druhá forma ghrelinu nemá octanoyl a nazývá se neaktivní nebo des-acyl ghrelin. Tato forma ghrelinu je v lidském těle v daleko větším množství a nedokáže aktivovat receptory GHS-R 1a, nicméně může mít jiné neendokrinní účinky, např. kardiovaskulární a antiproliferační, a to pravděpodobně vazbou na podtyp receptorů z rodiny GHS-R (Ghigo, 2004). Koncentrace des-acyl ghrelinu v plazmě je kolem 80-140 fmol/ml (Kojima et al., 2005a). V krvi se vyskytuje současně aktivní i neaktivní forma peptidu, neaktivní forma má delší poločas rozpadu (Kojima et al., 2005a).

Molekulová hmotnost acylovaného ghrelinu je 3315Da a neacylovaného 3189Da (Ghigo, 2004). Obě tyto formy ghrelinu dohromady se nazývají total ghrelin a jejich koncentrace v plazmě je kolem 100-150 fmol/ml (Kojima et al., 2005a).

Kromě acylované formy ghrelinu Hosoda a jeho kolegové objevili při izolaci ghrelinu další formy ghrelinu, které mohou být rozděleny do 4 skupin podle typu acylace, pozorované na pozici 3.serinu :

1) nonacylated , 2) octanoylated (C8:0), 3) decanoylated (C10:0), 4) decenoylated (C10:1) (Lely et al., 2004; Ghigo, 2004). Zastoupení forem ghrelinu v plazmě je octanoyl : decanoylu asi 3 : 1 a acyl : desacylu asi 1 : 4. Jak ghrelin, tak i jeho deriváty byly nalezeny v plazmě i v žaludeční tkáni (Ghigo, 2004).

5.0 ROZDÍLY MEZI ACYL A DESACYL GHRELINEM

Acyl ghrelin je nezbytný pro uvolňování GH, udržení energetické rovnováhy organismu, GIT motility a srdeční činnosti. Podání acylovaného ghreluinu indukuje váhový přírůstek a tloušťku, podporuje příjem potravy a pokles ve využití tuků. Desacyl ghrelin tvoří téměř 90% z celkového cirkulujícího ghreluinu (Asakawa et al., 2005). Desacyl ghrelin má kardiovaskulární účinky, účinky na modulaci proliferace buněk a adipogenesi. Jeho působení je neendokrinní a přes jiné podtypy receptorů GHS-R (Broglia et al., 2004b). Podle teorie Ukolly mohou být desacyl a acyl ghrelin 2 různé hormony s opačným působením a desacyl ghrelin je schopen antagonisovat některé účinky acyl ghreluinu (Ukolla et al., 2005).

U myši má centrálně podaný desacylovaný ghrelin inhibiční vliv na potravní chování, stejně tak desacyl ghrelin podaný intraperitoneálně a intracerebroventrikulárně snižuje příjem potravy a žaludeční vyprazdňování. Acylovaný ghrelin stimuluje potravní chování a jeho mechanismy účinku zahrnují i působení na urychlení žaludečního vyprazdňování. Tato pozorování ukazují, že desacylovaný ghrelin není zbavený aktivit a možná má anorexigenní aktivitu, která je v kontrastu s orexigenní aktivitou ghreluinu acylovaného (Asakawa et al., 2005). U lidí je rychlé žaludeční vyprazdňování spojeno s přejídáním a obesitou, zatímco zpomalené vyprazdňování je spojeno s anorexií a kachexií (Inui, 2002). Plasmatické hladiny ghreluinu u lidí negativně korelují s BMI a klesající hladiny acyl ghreluinu jsou spojeny s ukládáním tuku v abdominální oblasti (Ukolla et al., 2005; Katsuki et al., 2004).

Podání acyl ghreluinu stimuluje vzrůst hladiny GH, PRL, ACTH a kortisolu. Desacyl ghrelin nemá účinky na GH, PRL, ACTH ani kortisol, protože se nedokáže vázat na GHS-R 1a (Broglia et al., 2004a).

Podání acyl ghreluinu vede ke snížení hladin insulínu a zvýšení hladiny glukosy. Acylovaný ghrelin tedy snižuje senzitivitu na insulín až na dobu 6 hodin (Gauna et al., 2004). Jestliže je podán dohromady acyl a desacyl ghrelin, nedochází v hladinách insulínu a glukosy ke změnám. Desacyl ghrelin tedy inhibuje účinky acyl ghreluinu na hladiny insulínu a glukosy, jak již bylo zmíněno (Broglia et al., 2004a; Gauna et al., 2004).

Rozsah a směr transportu přes hematoencefalickou bariéru je určen unikátní primární strukturou ghrelinu. Lidský ghrelin je transportován takzvaným saturable systémem z mozku do krve a naopak. Saturable systém pro transport z CNS do krve má podobnou afinitu pro krysí i lidský ghrelin a vyžaduje přítomnost oktanoylu v molekule ghrelinu. Myší ghrelin se liší jen o dvě aminokyseliny a jeho acylovaná forma byla transportována hlavně z mozku do krve a desacylovaná forma naopak (Banks et al., 2002).

6.0 GHRELIN A JEHO RECEPTORY

Receptory pro ghrelin GHS-R jsou typické G-protein spřažené receptory – GPCR se sedmi transmembránovými doménami (Kojima et al., 2005a). Ghrelin tedy pro své působení v CNS využívá specifické receptory GHS-R, které jsou umístěny v hypotalamo-hypofyzární soustavě, ale také v dalších centrálních i periferních tkáních. GHS-R je exprimován genem na lidském chromozomu na pozici 3q26.2. Dva typy GHS-R mRNA jsou pravděpodobně výsledkem alternativního sestřihu pre-mRNA a byly identifikovány dva receptory - GHS-R 1a a GHS-R 1b. Nejblíže jim příbuzné jsou receptory pro motilin, které s nimi vykazují 52% homologii (Lely et al., 2004). Receptory pro ghrelin vykazují významnou mezidruhovou homologii. Například lidský GHS-R má 93 - 96% identitu s krysím a prasečím receptorem, což naznačuje, že GHS-R 1a není druhově specifický a má významnou biologickou funkci (Lely et al., 2004).

Ghrelin byl objeven v souvislosti s GH releasing peptidem – GHRH. Tento peptid (GHRH) působí přes GHRH receptory a ghrelin sám působí přes GHS-R (viz výše) (Kojima et al., 2005a). Výsledkem společné aktivace obou receptorů pro GHRH i GHSs je uvolňování cAMP. Tato aktivace je závislá na dávce a je přibližně dvakrát větší než pouze po aktivaci receptorů GHRH (Ambrogi et al., 2003).

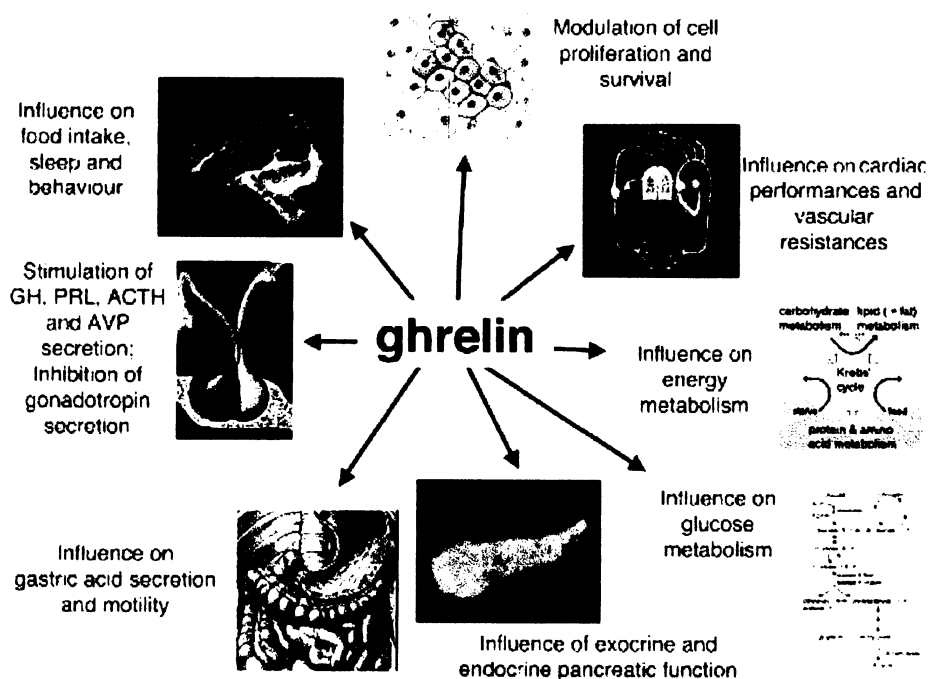
Pouze forma receptoru GHS-R 1a je schopna vázat GHSs a aktivovat tak signalizační dráhu fosfolipázy C (Lely et al., 2004). GHS-R 1a je tedy receptorem pro dva přirozené ligandy, a to acyl ghrelin a des-Gln(14)ghrelin, které jsou oba dva schopny ho aktivovat. Existují ale i další podtypy GHS-R, které jsou také schopné vázat acylovaný i desacylovaný ghrelin a mohou tedy zprostředkovávat vliv ghrelinu na insulin a glukosu. Tento biologický účinek nemá syntetický GHS a desacyl ghrelin (Lely et al., 2004). Receptory typu GHS-R 1b nejsou schopny vázat GHSs a jejich funkce není stále definovaná (Lely et al., 2004).

Expres GHS-R 1a byla prokázána v hypotalamu a předním laloku hypofýzy, což je v souladu s jeho rolí při uvolňování GH. Tyto receptory jsou převážně soustředěny do somatotropních buněk hypofýzy a do nucleus arcuatus v hypotalamu. Expres GHS-R byla také zjištěna v dalších částech mozku a periferních orgánech, jako jsou žaludek, střevo, slinivka, ledviny, srdce, plíce a další (Kojima et al., 2005a). Expres GHS-R mRNA byla prokázána v ARC a ventromediálním hypotalamu, ale ne v paraventriculárním jádru (Ghigo, 2004). mRNA pro ghrelinové receptory je také exprimována v hipocampu, což je oblast spojená s učením a pamětí. Existence receptorů pro ghrelin v hipocampu podporuje roli ghreluinu v paměťových procesech (Kojima et al., 2005a).

7.0 FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY GHRELINU

Ghrelin je multifunkční hormon, jehož působení zahrnuje mnoho orgánů i soustav: stimulace sekrece GH, orexigenní aktivita, kontrola žaludeční motility a kyselé sekrece žaludku, vliv na funkci slinivky a metabolismus glukosy, stimulace sekrece hormonů, které spouštějí sekreci kortikoidů a prolaktinu, působení na mužské pohlavní orgány, vliv na spánek, antiproliferační efekt na neoplastické linie buněk (obr. č. 8) (Ambrogi et al., 2003; Lely et al., 2004).

Obrázek č. 8: Fyziologické působení ghreluinu (Lely et al., 2004)



7.1.0 HYPOTALAMO-HYPOFYZÁRNÍ PŮSOBENÍ GHRELINU

7.1.1. PŮSOBENÍ GHRELINU NA UVOLŇOVÁNÍ RŮSTOVÉHO HORMONU

GH je regulován nejméně 2 hormony, a to stimulován GHRH a inhibován somatostatinem (oba jsou produkovány v hypotalamu) (Ambrogio et al., 2003; Ganong 1995). Ghrelin produkováný v žaludku stimuluje uvolňování GH prostřednictvím nervus vagus. Porušení nervus vagus může tlumit sekreci GH indukovanou ghrelinem. Ghrelin produkováný v hypotalamu může působit na přední část hypofýzy cestou portálního řečiště a indukovat uvolňování GH (Ueno et al., 2005).

Ghrelin a GHS mají silný vliv na uvolňování GH z adenohipofýzy, který je závislý na dávce. Stimulační působení ghrelu a GHS na uvolňování GH je u lidí větší než u zvířat. Přírodní i syntetický GHS stimuluje uvolňování GH ze somatotropních buněk in vitro, pravděpodobně depolarizací jejich membrány a zvýšením množství sekrece GH v každé buňce (Lely et al., 2004).

Ghrelin tedy dosahuje svého účinku aktivací hypofyzárních a hypotalamických GHS-receptorů. Přímou v hypofýze může být aktivita ghrelu zprostředkována zvýšením exprese pit-1 (pituitary transcription factor), který se podílí na regulaci exprese genu pro GH v hypofýze (St-Pierre et al., 2003).

Sekrece GH u krys po intravenózním, intraperitoneálním, subkutánním a intracerebroventriculárním podání ghrelu je velká, což potvrzuje, že ghrelin je GH-releasing peptid. U člověka intravenózní podání ghrelu silně stimuluje uvolňování GH a současné podání ghrelu a GHRH synergisticky působí na uvolňování GH (Hosoda et al., 2002).

Neuroendokrinní osa GH je citlivá na nutriční stav organismu, u pacientů s anorexií a kachexií dochází k dlouhodobému zvýšení hladiny ghrelu a GH. Hladina ghrelu negativně koreluje s BMI (Hosoda et al., 2002).

7.1.2 PŮSOBENÍ GHRELINU NA UVOLŇOVÁNÍ PROLAKTINU A ADRENOKORTIKOTROPINU

Stimulační účinek ghrelu a jeho analogů na sekreci prolaktinu (PRL) u lidí je daleko méně ovlivněn věkem a pohlavím, než účinek na sekreci GH. Účinek ghrelu na sekreci adrenokortikotropního hormonu (ACTH) je větší, než v případě syntetických GHSs. Uvolňování ACTH vyvolané GHS je nezávislé na pohlaví, ale vykazuje zvláštní závislost na věku. Působení GHS na ACTH je zprostředkováno centrální nervovou soustavou (Lely et al., 2004). Tento mechanismus zahrnuje působení ghrelu produkujících

neuronů, které vysílají eferentní vlákna na NPY neurony. Ty obratem potlačují uvolňování GABA a výsledkem je stimulace neuronů exprimujících kortikotropin releasing hormon (CRH), což vede ke zvýšení uvolňování ACTH a kortisolu (Kojima et al., 2005a). Ghrelin tedy stimuluje uvolňování CRH, který následně stimuluje uvolňování ACTH z hypofýzy (Korbonits et al., 2004). Podání velké dávky ghreluinu zvyšuje stimulaci produkce ACTH, prolaktinu a kortisolu (Kojima et al., 2005a).

7.2.0 CENTRÁLNÍ PŮSOBENÍ GHRELINU

7.2.1 VLIV GHRELINU NA PŘÍJEM POTRAVY

Potravní chování je regulováno komplexem mechanismů v CNS, zejména v hypotalamu (Kojima et al., 2005a). Hypotalamus řídí příjem potravy, který závisí především na interakci dvou center, laterálního centra hladu a mediálního centra sytosti v nukleus ventromedialis. Při pokusech na zvířatech dráždění centra hladu nutí zvířata k příjmu potravy, zatímco dráždění centra sytosti příjem potravy inhibuje. Centrum sytosti pracuje na základě inhibice centra hladu, které je neustále aktivní a je tlumeno jen po příjmu potravy (Ganong, 1995). Odstranění laterální části hypotalamu vede k hypofagii – poklesu příjmu potravy a prudké ztrátě hmotnosti až smrti, odstranění ventromediálního hypotalamu vede k hyperfagii – zvýšení příjmu potravy, vedoucí k obezitě (Kojima et al., 2005a).

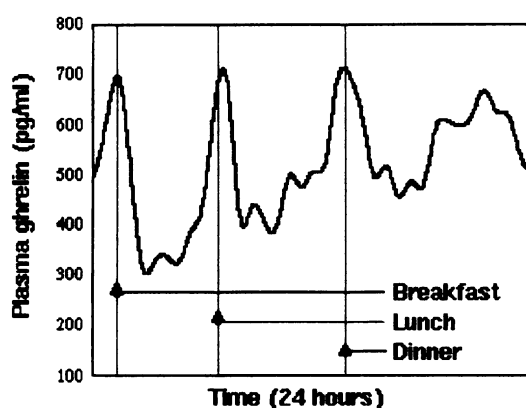
Experimentální a klinické studie prokázaly, že podání ghreluinu vyvolává rapidní zvýšení příjmu potravy u hlodavců a u člověka zvyšuje pocit hladu (St-Pierre et al., 2003), ghrelin je tedy orexigenní a adipogenní hormon (Ueno et al., 2005). Ghrelin je první identifikovaný hormon, který stimuluje příjem potravy po periferním podání (na rozdíl od většiny dalších hypotalamických peptidů - NPY, AgRP, které stimulují příjem potravy, pokud jsou podány centrálně) (Hosoda et al., 2002).

Periferní i centrální podání ghreluinu u krys stimuluje příjem potravy, u lidí jednorázová intravenózní injekce navozuje pocit hladu. Intravenózní podání ghreluinu u lidí navozuje zvýšení energetického příjmu při obědě asi o 28% (Ueno et al., 2005). Wren uvádí, že při stejném způsobu podání ghreluinu dochází ke vzrůstu příjmu kalorií, a to hlavně u mužů v porovnání se ženami (Wren et al., 2001). Příjem potravy u krys zvyšuje nejen intracerebroeventriculární, ale také intravenózní a subkutánní injekce ghreluinu (Kojima et al., 2005a). Opakované podání ghreluinu u hlodavců zapříčiňuje zvýšení hmotnosti, které není doprovázeno změnami v podélném skeletálním růstu ani úbytkem

svalové hmoty, ale je spojeno s nárůstem tukové hmoty, což způsobuje omezená oxidace tuků (St-Pierre et al., 2003).

U lidí se hodnota plasmatického ghrelinu zdvojnásobí před jídlem a klesá na nejnižší úroveň během jedné hodiny po jídle (obr. č. 9) (Kojima et al., 2005a). V případech negativní energetické bilance organismu, jako je anorexie a kachexie, dochází k dočasnému zvýšení hladiny ghrelinu (St-Pierre et al., 2003).

Obrázek č. 9: Postprandiální pokles ghrelinu po jídle (Cummings et al., 2001)



Adapted from Cummings et al. Diabetes 50:1714, 2001.

7.2.2 VLIV GHRELINU NA SPÁNEK

Změny ve spánkovém režimu souvisí s měnícím se věkem a množstvím neurotransmiterů a neuropeptidů. Některé studie ukazují, že akutní podání GHS může modifikovat u normálních lidí spánkový režim. Bylo zjištěno, že dlouhotrvající léčba MK-0677 (GHS s největším účinkem) u starších osob zvyšuje délku spánkové fáze REM (rapid eye movement). U krys existují důkazy, že ghrelin ovlivňuje vztah mezi fázemi spánku a probuzení. Nedávno byl ghrelin označen za hormon podporující spánek u lidí (Lely et al., 2004).

7.2.3 VLIV GHRELINU NA CHOVÁNÍ

Kromě účinků na potravní chování bylo nedávno zjištěno, že ghrelin u myši ovlivňuje chování spojené s úzkostí přes mechanismus zahrnující hypotalamo-hypofyzární adrenální osu. Jak intracerebroventrikulární, tak intraperitoneální podání ghrelinu silně navozuje úzkost. Periferně podaný ghrelin významně zvyšuje expresi CRH mRNA, podání antagonistů receptorů CRH inhibuje ghrelinem indukovanou úzkostí. Celkově se zdá, že se

ghrelin podílí na regulaci úzkosti (Asakawa et al., 2005) nebo přímo způsobuje její vyvolání (Lely et al., 2004).

7.3.0 PERIFERNÍ PŮSOBENÍ GHRELINU

7.3.1 ÚČINEK GHRELINU NA GASTROINTESTINÁLNÍ TRAKT

Receptory pro ghrelin se nacházejí v mnoha tkáních a v souladu s tímto objevem bylo zjištěno, že ghrelin má v těchto tkáních různé endokrinní i neendokrinní účinky. Funkcí ghrelinu nezávislou na jeho působení na sekreci GH je kontrola motility žaludku a sekrece žaludeční kyseliny. Mezi další patří vliv na funkci slinivky a působení v metabolismu glukosy (Lely et al., 2004).

Žaludek je největším producentem ghrelinu v organismu. U krys po gastrektomii dochází k redukci hladiny cirkulujícího ghrelinu až o 80%, malá množství ghrelinu jsou exprimována i v dalších částech trávicího traktu. Působení ghrelinu na gastroenteropatické úrovni dokazuje i přítomnost receptorů GHS-R 1a a GHS-R 1b v gastrointestinálním traktu. Pro působení ghrelinu v GIT také svědčí podobnost prekurzoru pro ghrelin a motilin a již hotových peptidů (36% podobnost) a jejich receptorů (Lely et al., 2004).

U krys ghrelin stimuluje sekreci žaludeční kyseliny a motilitu žaludku, přičemž stimulační účinek ghrelinu je zprostředkován cholinergně (Lely et al., 2004). Po intravenózním nebo intracerebroventrikulárním podáním ghrelinu krysám dochází ke zvýšení sekrece HCl a změně motility v závislosti na velikosti dávky (Ueno et al., 2005). Tyto účinky jsou odstraněny vagotomií, podáním atropinu nebo zablokováním cholinergního působení nervus vagus (St-Pierre et al., 2003).

U lidí měnící se hladina ghrelinu koreluje s vyprazdňováním zažívacího traktu a také u krys podání ghrelinu zrychluje vyprazdňování zažívacího traktu (St-Pierre et al., 2003).

V normálních a neoplastických buňkách slinivky je přítomná mRNA pro ghrelin a jeho receptory. Obě formy ghrelinu, acyl i desacyl, jsou produkovány v pankreatických ostrůvcích. Ghrelin je také zapojen do metabolismu glukosy a insulinu, stále však není zcela jasné, jaký konkrétní vliv má ghrelin na hladiny insulinu. Většina autorů se shoduje v tom, že vztah mezi sekrecí ghrelinu a insulinu je u lidí i zvířat negativní (Cummmings et al., 2001; Ukolla et al., 2005). V nedávné době bylo u lidí zjištěno, že ghrelin indukuje významný vzrůst v plasmatické hladině glukosy (Lely et al., 2004). Ghrelin tedy může

spojovat hormonální a metabolickou odpověď na půst tím, že zvyšuje GH sekreci spojenou s inhibicí sekrece insulínu a aktivuje mechanismus pro udržení hladiny glukosy (Lely et al., 2004).

7.3.2 VLIV GHRELINU NA KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM

Ghrelín má v kardiovaskulárním systému mnoho rolí, včetně ochrany proti srdeční dysfunkci. Podání ghrelínu intravenózní infuzí u zdravých osob a pacientů s chronickou srdeční poruchou významně snižuje arteriální tlak beze změny srdeční frekvence a zvyšuje srdeční výkon. Infuze ghrelínu do tepny v předloktí u lidí vede ke vzrůstu krevního průtoku v závislosti na podané dávce. Plasmatické hladiny ghrelínu jsou významně vyšší u kachektických pacientů s chronickou srdeční poruchou. Třítýdenní podávání ghrelínu ukázalo zlepšení dysfunkce levé komory se současným vzrůstem plasmatického GH a IGF-I (Ueno et al., 2005).

7.3.3 VLIV GHRELINU NA MODULACI A PROLIFERACI NEOPLASTICKÝCH BUNĚK

Ve štítné žláze jsou specifická vazebná místa pro GHS v normálních i neoplastických liniích buněk. Ghrelín a GHS inhibují inkorporaci ³H thymidinu a dělení buněk ve všech thyroïdních nádorových liniích buněk již během 24 hodin. Stejně inhibiční působení vykazuje desacyl ghrelín, který je zvláště nakumulovaný v lidském karcinomu štítné žlázy. Ukazuje se, že neuroendokrinní rakovinné tumory a dokonce adenokarcinomy plic exprimují specifická vazebná místa pro ghrelín a GHS. Ghrelín má na některé typy neoplastických buněk zřejmě proliferační účinek a je aktuálně zkoumán jako antikachektický činitel u zvířat s nádorovým ložiskem, kde se zdá, že působí anabolicky (Lely et al., 2004).

8.0 PŘEDPOKLÁDANÉ FAKTORY V REGULACI HLADINY GHRELINU

Dospělým lidem se hodnota plasmatického ghrelínu zdvojnásobí před jídlem a klesá na nejnižší úroveň během jedné hodiny po jídle (Kojima et al., 2005a). Stále není zcela jasné, co má největší vliv na změny v hladinách ghrelínu – zda je to kalorická hodnota potravin, zastoupení nutrietů v přijaté potravě, distenze žaludku nebo další faktory (Dostálová, 2003; Erdmann et al., 2004; Callahan et al., 2004; Ukolla et al., 2005).

8.1 DISTENZE ŽALUDKU

Zatím stále není jasné, jaký má distenze žaludku rozhodující vliv na změny v plasmatické hladině ghrelinu. Většina autorů uvádí, že velikost přijatého jídla plasmatické hladiny ghrelinu neovlivňuje.

Shyia tvrdí, že distenze žaludku hladinu ghrelinu neovlivňuje, ale pokusy byly prováděny s vodou. Svě tvrzení podporuje i tím že, plasmatický ghrelin klesá po intravenózním podání glukosy a není tedy ovlivněn distenzí žaludku (Shiya et al., 2002).

Obdobné tvrzení najdeme u Bloom, ghrelin zřejmě není regulován množstvím potravy, protože konzumace vody stěží ovlivní hladinu ghrelinu a žaludeční napětí a chemosensitivita není dostatečná pro indukci změn v jeho hladinách (Bloom et al., 2005). Domnívám se však, že je sporná délka trvání distenze žaludku po příjmu vody v porovnání s příjmem potravy. Podle Hosody je považován za dominantní faktor ovlivňující plasmatickou hladinu ghrelinu příjem cukrů, a nikoliv distenze žaludku (Hosoda et al., 2002). Erdmann tvrdí, že za pokles plasmatické hladiny ghrelinu po jídle je zodpovědná nutriční hodnota a nikoliv množství potravy (Erdmann et al., 2004). Naopak podle Nedvídkové, která používala v pokusech nekalorické psyllium (vláknina), je pokles ghrelinu nezávislý na kalorické hodnotě a souvisí spíše s přítomností jídla v žaludku (Nedvídková et al., 2003).

8.2 MNOŽSTVÍ PŘIJATÝCH KALORIÍ

St-Pierre uvádí, že existuje významná korelace mezi hladinami ghrelinu a denním příjmem kalorií (St-Pierre et al.; 2004). Tomu odpovídá i tvrzení Bloom, kdy při pokusu s různě kalorickými jídly se hladina ghrelinu vrátila po vysokokalorickém jídle do původní úrovně výrazně později než po jídle nízkokalorickém (Bloom et al., 2005). Podle Krykorkové – Dostálové pokles po podání kalorické potravy nastává později než po potravě nekalorické. Doba, za kterou dojde k poklesu ghrelinu, je tedy pravděpodobně řízena kalorickou hodnotou jídla (Krykorková, 2003). Cummings se domnívá, že pokles ghrelinu po jídle souvisí s energetickou hodnotou jídla, za předpokladu, že všechny ostatní rysy jídla jsou konstantní (Cummings et al., 2004). Jestliže je ghrelin fyziologickým iniciátorem příjmu potravy, pak velký orální příjem kalorií by měl potlačit hladiny ghrelinu víc, než malý příjem kalorií a požadavek na jednotlivá jídla by mohl být předurčen vyrovnáním plasmatické hladiny ghrelinu (Cummings et al., 2004). Callahan uvádí, že hodnota poklesu ghrelinu po jídle je úměrná velikosti jídla, ale množství plasmatického ghrelinu není zásadní pro interval mezi jídly (Callahan et al., 2004).

Nedvídková se domnívá, že pokles ghrelinu je nezávislý na kalorické hodnotě jídla (Nedvídková et al., 2003) a Caixas zmiňuje, že ani složení potravy, ani obsah kalorií nehraje významnou roli v poklesu plasmatických hladin ghrelinu po jídle (Caixas et al., 2002).

8.3 GHRELIN A MAKRONUTRIENTY

Sekrece ghrelinu je regulována příjmem potravy, ale je dosud málo známo o specifickém účinku jednotlivých makronutrientů na tuto sekreci. Sanchez pozoroval, že inhibice produkce ghrelinu po příjmu potravy v krysím žaludku je závislá na typu přijatého makronutrientu a může souviset s různou sytící kapacitou přijatých makronutrientů (Sanchez et al., 2004). Sytivost makronutrientů klesá od bílkovin (nejvyšší) přes sacharidy až po tuky (nejnižší) (Fisher et al., 2004).

Příjem sacharidů má významný, ale krátkodobý sytící účinek (10-15minut), který je větší než sytící účinek tuků, ačkoliv mechanismus tohoto rozdílu ještě nebyl vysvětlen. Sanchez zjistil, že příjem sacharidové nebo tučné potravy navozuje rychlé snížení (po 20 minutách) v expresi ghrelinové mRNA v krysím žaludku a že toto zmenšení trvá déle po přijetí sacharidů. Podle těchto výsledků se tento pokles produkce ghrelinu v žaludku liší po podání různých živin, což souvisí s vyšší sytící kapacitou sacharidů než tuků (Sanchez et al., 2004).

Studium u lidí přineslo poznatky, že hladina cirkulujícího ghrelinu prudce klesla po jídle obsahujícím hodně sacharidů v porovnání s isokalorickým jídlem, obsahujícím převážně tuky. Sacharidové jídlo mělo na pocity hladu významně větší inhibující účinek a plasmatické změny ghrelinu byly spojeny se změnami pocitu hladu. Také u krys nedostatek stimulačního vlivu tučného jídla na expresi ghrelinové mRNA by mohl souviset s nízkou sytící schopností tohoto nutrientu. Role ghrelinu v příjmu potravy u krys tedy ukazuje, že inhibice produkce ghrelinu v žaludku závisí na typu makronutrientu (Sanchez et al., 2004).

Ghrelín stimuluje apetit a jeho hladina v periferním oběhu klesá po podání stravy bohaté na cukry a stoupá po příjmu bílkovin. Podle současných představ je hladina plasmatického ghrelinu spojována s hladem a pocitem sytosti a také s koncentracemi insulinu a glukosy. Po podání sacharidů hladiny ghrelinu poklesly, zatímco po příjmu tuků, proteinů, ovoce a zeleniny hladiny ghrelinu stouply. Erdmann nenašel žádnou významnou korelaci mezi změnami hladin ghrelinu a hodnotami pocitu nasycení, zatímco mezi

plasmatickou hladinou ghrelinu a insulinu byl významný inverzní vztah. Po tuku a proteinech byl vzrůst plasmatické hladiny ghrelinu spojený s malým vzrůstem plasmatické hladiny insulinu, zatímco po sacharidech byl pokles hladiny ghrelinu vyvolán velkým vzrůstem insulinu a glukosy (Erdmann et al., 2004). Ukolla a Monteleone došli k nálezům, že sacharidy potlačují hladinu ghrelinu více než tuky (Monteleone et al., 2003), zatímco proteiny hladiny ghrelinu zvyšují (Ukolla et al., 2005). Podle jejich studie však změny v cirkulujícím ghrelinu po jídle nekorelují s hladinami insulinu a glukosy (Monteleone et al., 2003).

Vzrůst plasmatického ghrelinu je spojen s poklesem plasmatické hladiny glukosy (Erdmann et al., 2004). Ghrelin moduluje cirkulující hladinu glukosy, stimuluje glukoneogenezi a zvyšuje insulinovou rezistenci. Protože v této oblasti byly zatím zveřejněny protichůdné výsledky, účinek ghrelinu na sekreci insulinu zůstává nejasný. Intravenózní podání ghrelinu u lidí indukuje hyperglykémii, a to redukcí sekrece insulinu bez působení na sekreci GH. Stejný výsledek byl pozorován při studiích na zvířatech (Ueno et al., 2005; Broglio et al., 2003). Ghrelin pravděpodobně blokuje inhibiční efekt insulinu na glukoneogenezi. Sekrece ghrelinu může být alespoň částečně potlačena zvýšením plasmatické hladiny glukosy stejně jako insulinem, jak ukazují hyperinsulinemické euglykemické clamp studie u lidí. Jakkoliv tyto studie naznačují, že ghrelin by mohl přímo stimulovat glykogenolýzu, toto působení by pravděpodobně nebylo zprostředkováno přes GHS-R1a, protože syntetické GHS přes GHS-R1a takto nepůsobí (Lely et al., 2004).

Orální i intravenózní podání glukosy snižuje hladiny ghrelinu na dlouhou dobu, ale ne akutně (Arosio et al., 2004). Podle Shyia orální nebo intravenózní podání glukosy snižuje plasmatické hladiny ghrelinu a příjem glukosy a potravy vede k rapidnímu poklesu plasmatické hladiny ghrelinu, což podporuje tvrzení, že ghrelin je rozhodujícím faktorem v krátkodobé regulaci energetické rovnováhy (Shyia et al., 2002; Arosio et al., 2004; Caixas et al., 2002). Naopak podle Schallera fyziologické koncentrace insulinu a glukosy neměly žádný přímý vliv na hladinu ghrelinu (Schaller et al., 2003). Dostálová ve své práci nezaznamenala pokles hladin ghrelinu po intravenózním podání glukosy, na druhou stranu perorálně podaná glukosa vyvolala kontinuální pokles v hladinách ghrelinu (Dostálová 2003; Caixas et al. 2002). To potvrzuje, že ghrelin reaguje pouze na potravu procházející žaludkem (Dostálová 2003).

Oproti tomu Arosio uvádí, že při jeho pokusech docházelo k poklesu hladin ghrelinu, i když byla potrava pouze rozžvýkána v ústech, ale nepolknuta – tzv. sham modified feeding (Arosio et al., 2004).

U lidí plasmatické hladiny ghrelinu negativně korelují s BMI a velikostí tukových buněk (Purnell et al., 2003; Ukolla et al., 2005; Tanaka et al., 2002). U pacientů s anorexií a kachexií je hladina celkového ghrelinu zvýšená a u obézních pacientů snižená, jedinou výjimku ve vztahu ghrelin a tělesný tuk tvoří pacienti s Prader-Williho-syndromem, kteří jsou obézní a mají vysoký ghrelin (Lely et al., 2004).

Jídlem indukovaný pokles ghrelinu pozitivně koreluje s hladinami HDL a LDL (ghrelin se váže na HDL částice) (Purnell et al., 2003). Infuze lipidů, a následné zvýšení volných mastných kyselin nevyvolalo pokles ghrelinu (Mohlig et al., 2002) a společné podání ghrelinu a volných mastných kyselin zvyšuje množství glukosy a neovlivňuje hladiny insulinu (Broglia et al., 2003). Nízkotučná dieta s příjmem potravy ad libitum vede ke snížení hmotnosti bez zvýšení hladin ghrelinu nebo zvýšení konzumace jídla (Weigle et al., 2003).

Vliv proteinů na plasmatické hladiny ghrelinu je zatím velice málo prozkoumán. (Broglia et al., 2003) Ukolla i Erdmann se shodují, že po přijetí proteinů plasmatické hladiny ghrelinu stoupají (Ukolla et al., 2005; Erdmann et al., 2004). Experimentální podání aminokyseliny argininu a ghrelinu zvyšovalo hladiny insulinu a glukosy (Broglia et al., 2003).

8.4 VLIV INSULINU NA HLADINY GHRELINU

Zatím zůstává sporné, jaký je vzájemný vztah insulinu a ghrelinu. Odborné názory se dělí do dvou skupin. První skupina podporuje představu vlivu insulinu na změny plasmatických hladin ghrelinu a druhá skupinu se domnívá, že insulin na hladiny ghrelinu vliv nemá.

Jídlem indukovaný pokles ghrelinu koreluje se vzrůstem insulinu a hladiny ghrelinu tedy negativně korelují s hladinami insulinu a pozitivně korelují s insulinovou resistencí (Purnell et al., 2003). Stejně tvrzení lze nalézt u Erdmanna, kde pokles plasmatické

hladiny ghrelinu byl spojen se vzestupem plasmatické hladiny insulinu (Erdmann et al., 2004).

Zdá se, že insulin je tedy zásadní pro pokles ghrelinu po jídle. U diabetu typu I je nedostatečný poklesu ghrelinu po jídle, způsobený deficitem insulinu, možnou příčinou hyperfagie (Ukolla et al., 2005). U diabetu typu II je snížená plasmatická hladina aktivního ghrelinu spojená s abdominální tloušťkou, hyperinsulinemií a insulinovou resistencí (Katsuki et al., 2004).

Lucidi zkoumal plasmatické hladiny ghrelinu po krátkodobé infusi insulinu a našel významnou korelaci mezi insulinovou sensitivitou a procentem poklesu z klidové hladiny ghrelinu (Lucidi et al., 2002). Dále také s Murdolem pracovali s pacienty s diabetem typu I a došli ke stejným výsledkům jako Ukolla, že absolutní nedostatek insulinu bránil snížení hladiny ghrelinu po jídle do té doby, než byl tento deficit korigován intravenózním podáním insulinu. Našli tedy negativní korelaci mezi sérovým insulinem a plasmatickým ghrelinem u diabetiků i kontrol (Murdolo et al., 2003). Saad uvádí, že infuse insulinu snižuje plasmatické hladiny ghrelinu. Pokles insulinu nalačno může vést ke zvýšení hladiny ghrelinu a naopak zvýšená hladina insulinu po jídle může snižovat plasmatické hladiny ghrelinu (Saad et al., 2002). Ke stejnému závěru došel i Flanagan, který zjistil, že během euglykemie po insulinové infusi hladiny ghrelinu rychle klesly. Zdá se, že pokles ghrelinu je způsoben insulinem nezávisle na glukose, přestože glukosa má zřejmě přídavný účinek (Flanagan et al., 2003). Stále však zůstává neobjasněno, jakým mechanismem insulin ovlivňuje koncentrace plasmatického ghrelinu. Insulin by zřejmě mohl inhibovat syntézu nebo sekreci ghrelinu z X/A like buněk žaludeční mukosy, a to buď přímo nebo nepřímo (Murdolo et al., 2003).

Oproti tomu kasuistický pokus Sprangera s pacientem s diabetem typu I ukazuje, že pokles ghrelinu po jídle nutně nemusí být závislý na sekreci insulinu. Tento pacient s diabetem typu I měl značný pokles total ghrelinu v plasmě po jídle, přestože mu kompletně chyběl insulin (Spranger et al., 2003). Schaller se domnívá, že při jeho pokusech plasmatické hladiny ghrelinu byly významně sníženy somatostatinem a fyziologické koncentrace insulinu a glukosy neměly na hladiny ghrelinu žádný přímý vliv. Navozená hyperglykemie hladiny ghrelinu nesnižovala, teprve po podání suprafyziologických koncentrací insulinu byl pozorován pokles ghrelinu (Schaller et al., 2003).

8.5 ZMĚNY V HLADINÁCH GHRELINU BEZ POLKNUTÍ POTRAVY

Při pokusu Arosia s modified sham feeding (MSF - probandi měli potravu v ústech, ale nesměli ji polknout) hladiny ghrelinu klesly a hladiny glukosy a insulinu se neměnily, po normálním jídle stouply. Změna v koncentraci ghrelinu po MSF je způsobena cefalickou stimulací a může být výsledkem stimulace nervus vagus dosažené touto technikou. Aktivita vagově zprostředkované cefalické fáze je zřejmě hlavní v postprandiálním poklesu ghrelinu, který je potom na této hladině udržovaný dalšími neznámými mechanismy. Vypadá to, že samotná gastrická fáze nehraje roli v regulaci hladin ghrelinu, protože ani žaludeční napětí, ani aktivace chemické citlivosti žaludku hladiny ghrelinu nemění (Arosio et al., 2004). Na druhé straně typ přijatých makronutrientů může ovlivnit velikost odpovědi ghrelinu během žaludeční fáze (Monteleone et al., 2003).

9.0 VLIV PSYCHICKÉHO STAVU NA PŘÍJEM POTRAVY

Významnou roli v regulaci příjmu potravy hraje také psychický stav jedince. Plasmatické hodnoty ghrelinu mohou tedy ovlivnit okolnosti související s aktuálním psychickým stavem, pocity sytosti a chuti k jídlu (Bloom et al., 2005).

Plasmatické hladiny glukosy a insulinu rostly po sacharidovém i tuku obsahujícím jídle, ale významně vyšší vzrůst byl nalezen po sacharidech (Monteleone et al., 2003). Orálně podané sacharidy mají vysoký sytící účinek (větší než lipidy) a sacharidové jídlo má tedy daleko větší účinek na potlačení pocitů hladu. Změny v plasmatických hladinách ghrelinu jsou významně spojeny se změnami pocitů hladu a mohou být příčinou až 45% těchto změn (Monteleone et al., 2003; Sanchez et al., 2004).

Bloom uvádí, že při jejích pokusech koncentrace ghrelinu pozitivně korelovaly se subjektivním pocitem hladu a negativně s pocitem nasycení/plnosti (Bloom et al., 2005). Na druhé straně Erdmann nenašel žádnou významnou korelaci mezi změnami hladin ghrelinu a hodnotami pocitu nasycení (Erdmann et al., 2004).

10.0 PORUCHY PŘÍJMU POTRAVY

Jídlo je nenahraditelným zdrojem základních živin a jednou z podmínek tělesného a duševního zdraví. Nedostatek energie nebo některých živin může být příčinou závažných onemocnění. Mezi tato onemocnění patří i poruchy příjmu potravy, kam jsou zahrnovány mentální anorexie a mentální bulimie. Obě poruchy spojuje strach z tloušťky a nadměrná

pozornost věnovaná vlastnímu vzhledu a tělesné hmotnosti. Nemocní se neustále zabývají tím jak vypadají, kolik váží a vytrvale se snaží zhubnout. U obou poruch se také často vyskytuje společná obecnější psychopatologie, jako jsou nízké sebevědomí a sociální problémy. Zásadním rozdílem mezi oběma poruchami je kriticky nízká hmotnost (BMI pod 17,5) u pacientů s mentální anorexií (Krch, 2005).

MENTÁLNÍ ANOREXIE

Mentální anorexie je porucha charakterizovaná zejména úmyslným snižováním tělesné hmotnosti. Pacienti odmítají jíst proto, že nechtějí přibrat na váze, nikoli proto, že by neměli chuť k jídlu. Jejich averze k jídlu je projevem narušeného postoje k vlastnímu tělu a zejména tělesné hmotnosti (obr. č. 10). Mezi diagnostická kritéria této nemoci podle MKN-10 (bod F50.0.) patří snížení BMI pod úroveň 17,5 kg/m² a úmyslné udržování tělesné hmotnosti nejméně 15% pod hmotností předpokládanou (Krch, 2005).

Obrázek č. 10: Mentální anorexie (www.pppinfo.cz)



MENTÁLNÍ BULIMIE

Mentální bulimie je porucha charakterizovaná opakujícími se záchvaty přejídání, spojenými s přehnanou kontrolou tělesné hmotnosti. U těchto pacientů nalezneme silnou touhu se přejídat a zároveň snahu zabránit tloustnutí vyvoláváním zvracení, používáním purgativ, diuretik a laxativ. Mezi diagnostická kritéria podle MKN-10 (bod F50.2) patří opakované epizody přejídání (nejméně dvakrát týdně po dobu 3 měsíců), při nichž je konzumováno a následně vyvraceno velké množství jídla (Krch, 2005).

4. METODIKA A MATERIÁL

4.1 KRITÉRIA VÝBĚRU PROBANDEK – KONTROLNÍCH OSOB

Soubor probandek tvoří kontrolní skupina zdravých žen a je součástí rozsáhlejší studie, zabývající se pacientkami s poruchami příjmu potravy.

Soubor tvořily ženy české národnosti ve věku 18-30 let (průměrný věk 24,2 let). Tyto ženy netrpěly žádnými závažnými onemocněními, jako je diabetes mellitus, onemocnění štítné žlázy, vysoký krevní tlak, kardiovaskulární onemocnění, onemocnění jater nebo urogenitální soustavy. Také nesměly v minulosti prodělat žádnou z poruch příjmu potravy a nesměly brát žádné léky kromě antikoncepce. Průměrná hodnota BMI byla 21,6. Všechny ženy před testem podepsaly informovaný souhlas se zařazením do studie, která byla schválena etickou komisí Endokrinologického ústavu.

4.2 PRŮBĚH VYŠETŘENÍ

Dva dny před dnem testu nesměly probandky pít a jíst vše, co obsahuje kofein - kávu, černý čaj, alkohol, čokoládu, výrobky s kakaem, banány a ořechy a nesměly užívat acylpyrin (aspirin). Večer před dnem testu byl zakázán příjem sladkých potravin. Všechny probandky podepsaly informovaný souhlas (obr. č. 16) se zařazením do studie a byly požádány o vyplnění dotazníku o zdravotním stavu (obr. č. 17). Vlastní experiment probíhal ve vyšetřovacích místnostech Endokrinologického ústavu, byl vždy prováděn nalačno, vleže na lůžku v nestresovém prostředí. Všechny probandky absolvovaly vstupní pohovor s lékařem (osobní anamnézu) a základní lékařské vyšetření (měření krevního tlaku a pulsu, hmotnosti, glykémie). Byly informovány o tom, že v průběhu testu nesmí jíst, pít, spát ani jít na toaletu. Test byl opakován po týdnu, první týden byla podávána snídaně sacharidová a druhý týden snídaně proteinová (obr. č. 14).

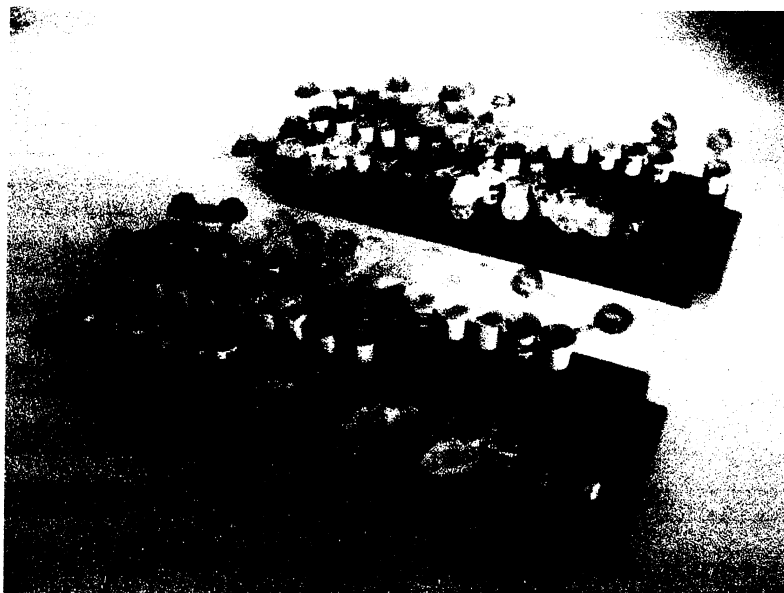
Vyšetření začínalo v 7.30 ráno a trvalo přibližně 3,5 hodiny. Vleže na lůžku byla do kubitální žíly zavedena kanyla pro odběr krve (obr. č. 11). Probandky byly požádány, aby při každém odběru vyplňovaly dotazník pocitů hladu a sytosti (obr. č. 15.). První odběr se prováděl nalačno a pak byla podána snídaně. Na snědení snídaně měly probandky 15 minut. Půl hodiny po ukončení snídaně byl nabírán druhý odběr a další odběry vždy po 30 minutách. Celkem byly nabrány vzorky krve v těchto časech - 0, 30, 60, 90, 120, 150min (obr. č. 18). Množství krve v jednotlivých odběrech se lišilo podle stanovovaných hormonů (obr. č. 12, 13). Po celou dobu vyšetření byl celkový stav žen sledován lékařem. Po

ukončení pokusu byla probandkám změřena glykémie, vyjmuta kanyla a změřen tlak a znovu je prohlédl lékař. Po testu dostaly probandky občerstvení.

Obrázek č. 11: Odběr krve z kubitální žíly kontrolní osoby



Obrázek č. 12: Množství hormonů stanovované v jednotlivých časech



Obrázek č. 13: Odebrané množství krve v jednotlivých časech



Obrázek č. 14: Sacharidová a proteinová snídaně

Složení snídaní:

1. Sacharidová:

marmeláda – jahodová	50g
bílé pečivo – rohlík	90g
celková hmotnost potravy	140g
celkový obsah energie	1550kJ



2. Proteinová

cottage sýr	150g
chlebičky racio 2ks	15g
drůbeží šunka	75g
celková hmotnost potravy	240g
celkový obsah energie	1350 kJ

Obrázek č. 15: Dotazník pocitů hladu a sytosti

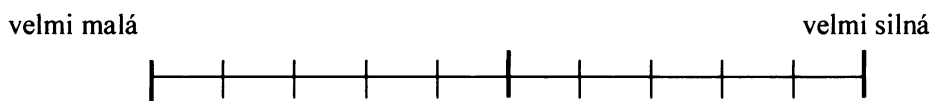
Dotazník pocitů hladu a sytosti

Jméno a příjmení

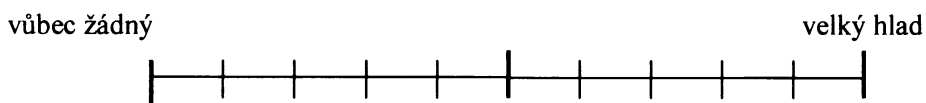
Datum

Odpovězte prosím na každou z následujících otázek, zakroužkováním svislé čárky na úsečce, tak jak to odpovídá Vaším pocitům (k jednotlivým záznamům přiřipíte pořadové číslo odběru). Na jedné čárce může být i více záznamů.

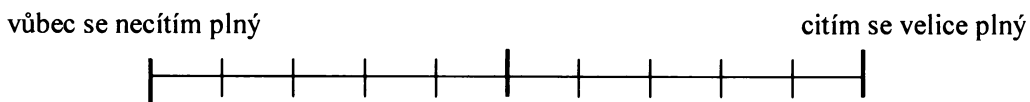
1) Jak velká je Vaše touha najíst se ?



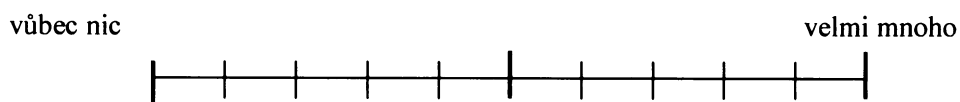
2) Jak velký hlad pociťujete ?



3) Jak plný se cítíte ? (Máte pocit plnosti břicha ?)



4) Jak moc byste toho nyní mohl sníst ?



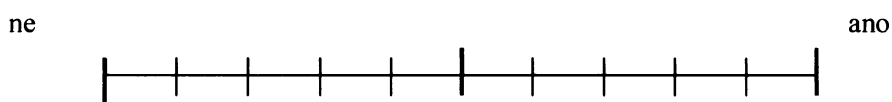
Dotazník pocitů hladu a sytosti

Jméno a příjmení

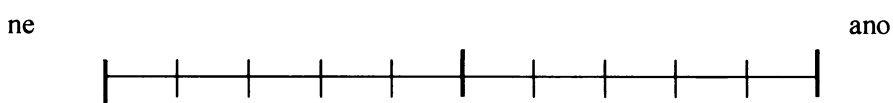
Datum

Odpovězte prosím na každou z následujících otázek, zakroužkováním svislé čárky na úsečce, tak jak to odpovídá Vaším pocitům (k jednotlivým záznamům připište pořadové číslo odběru). Na jedné čárce může být i více záznamů.

5) Máte na něco chuť ?



6) Máte pocit sytosti ?



Tato škála je procentuální osa od 0 do 100%, nejmenší možné označení je polovina mezi dvěma úsečkami = 5%.

Obrázek č. 16: Informovaný souhlas

Informovaný souhlas

(pro kontrolní osoby)

Vážená slečno/ paní,

děkujeme Vám, že jste projevila zájem podílet se na klinickém experimentu, jehož výsledky by měly přispět ke zlepšení léčby nemocných s poruchou příjmu potravy. Dříve, než vyslovíte souhlas s Vaší účastí ve studii, je důležité, abyste si přečetla následující informace o tom, co pro Vás zapojení do studie obnáší, a porozuměla tomu.

V první řadě Vás musíme upozornit, že Vaše účast v tomto výzkumu je zcela dobrovolná, máte právo účast odmítnout a nebudou z toho plynout pro Vás žádné následky, kromě ztráty práva na finanční odměnu.

V současné době probíhá výzkum (vládní grantová agentura ČR), který je zaměřen na studium vlivu vegetativního nervového systému na látkovou výměnu a jeho interakce s hormony ovlivňujícími příjem potravy a jejich změny při poruchách regulace tělesné hmotnosti. Endokrinologický ústav je naším předním pracovištěm, které se zabývá diagnostikou, léčbou a výzkumem onemocnění souvisejících s poruchou žláz s vnitřní sekrecí (endokrinních) a metabolismu. Tomuto ústavu byl přidělením grantového projektu svěřen výše uvedený výzkumný úkol.

V případě Vašeho souhlasu budete podrobena těmto úkonům:

Odběrový test, který spočívá v několika odběrech krve ze žíly při jednom vpichu. Při tomto testu Vám bude zavedena kanyla a krev bude odebírána v 30 min. intervalech po dobu cca 3,5 hod. (tzn. 6 odběrů, celkem 65 ml krve). První odběr bude probíhat ráno nalačno před 8. hodinou v Endokrinologickém ústavu, po tomto odběru Vám bude podána snídaně, kterou byste měla sníst během 15-ti minut. Druhý odběr bude následovat 30 min. po ukončení snídaně a další odběry opět po 30-ti minutách. Při odběrovém testu budete v klidu na lůžku, můžete ležet nebo sedět, odpočívat, poslouchat hudbu nebo si číst, nesmíte spát. Dva dny před testem nebudete pít alkohol, černou kávu, černý čaj a vše, co obsahuje kofein, dále nebudete jíst čokoládu, výrobky s kakaem, banány, ořechy a nebudete užívat acylpyrin (aspirin). Krev bude použita ke stanovení gastrointestinálních hormonů a katecholaminů, vzorky krve nebudou uchovávány pro jiné studie. Tento test bude probíhat celkem 2x, druhý test je týden po prvním.

Za účast v této studii Vám bude náležet finanční částka ve výši 500,- Kč za každý odběrový test, **celkem 1000 ,- Kč**, tato částka Vám bude vyplacena po druhém odběrovém týdnu.

Pro případ potřeby uvádíme telefonní číslo na Endokrinologický ústav: 224 905 111, kde Vás podle Vaší žádosti spojí s:

Vedoucím LNE..... RNDr. Jara Nedvídková, CSc.

Předsedkyní etické komise..... MUDr. Dagmar Pohunková

Asistentkou odběrových testů RNDr. Dana Sedláčková

Prohlášení:

Přečetla jsem si všechny výše uvedené informace a dostalo se mi příležitosti zeptat se na vše, co jsem potřebovala pro pochopení toho, co účast ve studii pro mne představuje. Dobrovolně dávám svůj souhlas k účasti ve studii, studie a všechna s ní související vyšetření mi byly dostatečně vysvětleny.

V Praze dne:

Podpis vyšetřované:

Podpis osoby, která souhlas získala:

Obrázek č. 17: Zdravotní dotazník

Zdravotní dotazník

Datum

Značka pacienta

Jméno a příjmení

Rodné číslo

Diagnóza

Jaká jste prodělala závažná onemocnění, operace?	
Užíváte nějaké léky (dlouhodobě, momentálně) ?	
Užíváte hormonální antikoncepci (jakou, jak dlouho)?	
Máte pravidelný menstruační cyklus?	
V jaké fázi menstruačního cyklu jste nyní?	
Případně od kdy jste bez menstruace?	
V kolik hodin obvykle vstáváte?	
V kolik hodin obvykle chodíte spát?	
Jste spíše ranní nebo noční typ?	
Jste zvyklá sportovat?	
Jakými sporty se zabýváte a jak často?	
Kouříte (kolik cigaret denně)?	
Snídáte ráno (pravidelně, nepravidelně)?	
Jste vegetariánka?	
<u>Tělesné míry:</u>	
Obvod pasu:	
Obvod boků:	
WHR:	
Krevní tlak:	
Puls:	
Glykémie před pokusem: po pokusu:	

Poznámky:

Obrázek č. 18: Protokol pro odběr krve

Protokol pro odběr krve (studie REALIMENTACE)

Datum

Značka pacienta

Jméno a příjmení

Rodné číslo

Diagnóza

1. **-15.min.** – odběry krve:
1 x růžová zkumavka 4 ml (Na₂EDTA + aprotinin) – do ledové lázně !
3 x fialová zkumavka 3 ml (K₂EDTA) – do ledové lázně !

SNÍDANĚ – 15 minut

2. **30.min.** (30 min. po ukončení snídane) – odběry krve:
1 x růžová zkumavka 4 ml (Na₂EDTA + aprotinin) – do ledové lázně !
1 x fialová zkumavka 3 ml (K₂EDTA) – do ledové lázně !
3. **60. min.** – odběry krve:
1 x růžová zkumavka 4 ml (Na₂EDTA + aprotinin) – do ledové lázně !
2 x fialová zkumavka 3 ml (K₂EDTA) – do ledové lázně !
4. **90. min.** – odběry krve:
1 x růžová zkumavka 4 ml (Na₂EDTA + aprotinin) – do ledové lázně !
2 x fialová zkumavka 3 ml (K₂EDTA) – do ledové lázně !
5. **120. min.** – odběry krve:
1 x růžová zkumavka 4 ml (Na₂EDTA + aprotinin) – do ledové lázně !
2 x fialová zkumavka 3 ml (K₂EDTA) – do ledové lázně !
6. **150. min.** – odběry krve:
1 x růžová zkumavka 4 ml (Na₂EDTA + aprotinin) – do ledové lázně !
3 x fialová zkumavka 3 ml (K₂EDTA) – do ledové lázně !

4.3 METODY STANOVENÍ HORMONŮ V PLASMĚ

Byly stanovovány tyto hormony: acyl ghrelin, desacyl ghrelin, total ghrelin, insulin a glukosa. Odběry krve byly prováděny do dvou typů zkumavek, a to zkumavek s K₂EDTOU a zkumavek s aprotininem a Na₂EDTOU. Zkumavky byly umístěny do ledové lázně. Centrifugace byla prováděna 20 minut při 3000 otáčkách ve vychlazené centrifuze (4°C) (obr. č. 19). Plasma byla ihned rozpipetována do eppendorfek a zamražena při -30°C. Pro stanovení acyl a desacyl ghrelinu byla do plasmy přidána 1/10 1N HCl.

Obrázek č. 19: Centrifuga



4.3.1. STANOVENÍ TOTAL GHRELINU - RIA

Na stanovení total ghrelinu jsem používala Ghrelin (Total) RIA Kit (Linco Research, Inc., USA), který využívá protilátku vyrobenou specificky proti lidskému total ghrelinu.

Vlastní radioimunologické stanovení total ghrelinu

Stanovení je založeno na kompetici ¹²⁵I značeného ghrelinu a ghrelinu neznačeného (ve standardu nebo neznámém vzorku, navázaného na omezené množství protilátek specifických k ghrelinu). Když se množství ghrelinu ve standardu nebo neznámém vzorku zvyšuje, množství ¹²⁵I značeného ghrelinu schopného navázat se na protilátku se snižuje. Měřením množství ¹²⁵I značeného ghrelinu jako funkce koncentrace ghrelinu ve standardní

reakční směsi je možné konstruovat „standardní křivku“, ze které se určuje koncentrace ghrelinu v neznámém vzorku.

Dodávaná činidla:

1. Ghrelin (Total) Assay Buffer - ředící roztok, 20 ml.
2. Ghrelin (Total) Antibody - králičí antisérum specifické pro ghrelin, 13 ml.
3. 125 I-Ghrelin – izotopově značený ghrelin, obsahuje < 56 kBq (lyofilizát).
4. Ghrelin (Total) Label Hydrating Buffer – rozpouštědlo pro lyofilizovaný izotop, 13,5 ml
5. Ghrelin (Total) standard – lyofilizovaný standard
6. Ghrelin (Total) Quality controls 1 and 2 – kontroly kvality 1 a 2 (lyofilizát).
7. Precipitating Reagent – precipitační činidlo, obsahuje Goat anti-Rabbit IgG Serum, 130 ml

POSTUP STANOVENÍ

Den 1

a) Příprava standardů

- 1) Do lahvičky „Total Ghrelin Standard“ přidáme 2 ml destilované vody, zamícháme převrácením lahvičky a necháme stát do úplného rozpuštění (minimálně 5 minut) a pak ještě jednou promícháme.
- 2) Označíme si zkumavky 1, 2, 3, 4, 5 a 6. Do každé dáme 0,5 ml „Assay buffer“ Provedeme sériové ředění tak, že přidáme 0,5 ml rozpuštěného standardu (bod 1) do zkumavky 1, důkladně promícháme, poté z této zkumavky odebereme 0,5 ml a přeneseme do zkumavky 2, důkladně promícháme, poté z této zkumavky odebereme 0,5 ml a přeneseme do zkumavky 3, důkladně promícháme, poté z této zkumavky odebereme 0,5 ml a přeneseme do zkumavky 4, důkladně promícháme, poté z této zkumavky odebereme 0,5 ml a přeneseme do zkumavky 5, důkladně promícháme, poté z této zkumavky odebereme 0,5 ml a přeneseme do zkumavky 6 a důkladně promícháme. Promícháváme několikerým nabráním do pipety. Mezi přenášáním mezi zkumavkami měníme špičky.

b) Vlastní stanovení

- 1) Označíme si zkušavky na vlastní stanovení čísly 1 až 125. Do zkušavek 3,4 pro nespecifickou vazbu napipetujeme 300 μl „Assay buffer“, do zkušavek 5,6 napipetujeme 200 μl „Assay buffer“, do zbytku stanovení napipetujeme 100 μl „Assay buffer“ (podle rozpisu v návodu – Assay Procedure Flow chart).

- 2) do zkušavek 7-20 pipetujeme standardy (připravené podle sekce a) takto:
7,8 – 100 μl z čísla 6 ředící řady
9,10 - 100 μl z čísla 5 ředící řady
11,12 - 100 μl z čísla 4 ředící řady
13,14 - 100 μl z čísla 3 ředící řady
15, 16 - 100 μl z čísla 2 ředící řady
17, 18 - 100 μl z čísla 1 ředící řady
19,20 - 100 μl z lahvičky s rozpuštěným standardem.

- 3) Do zkušavek 21, 22 napipetujeme první kontrolní vzorek (QC 1) a do 23, 24 druhý (QC 2).
- 4) Od zkušavky 25 dále pipetujeme v duplikátech vlastní vzorky.
- 5) Od zkušavky 5 dále pipetujeme do všech zkušavek 100 μl protilátky „Ghrelin Antibody“.
- 6) Vortexujeme, přikryjeme a inkubujeme přes noc (20 - 24 hodin při 4°C).

Den 2

- a) Rozpustíme „¹²⁵I-Ghrelin tracer“ v 13,5 ml „Label hydrating buffer“.
- b) Pipetujeme 100 μl do všech zkušavek.
- c) Vortexujeme, přikryjeme a inkubujeme přes noc (22-24 hodin při 4°C).

Den 3

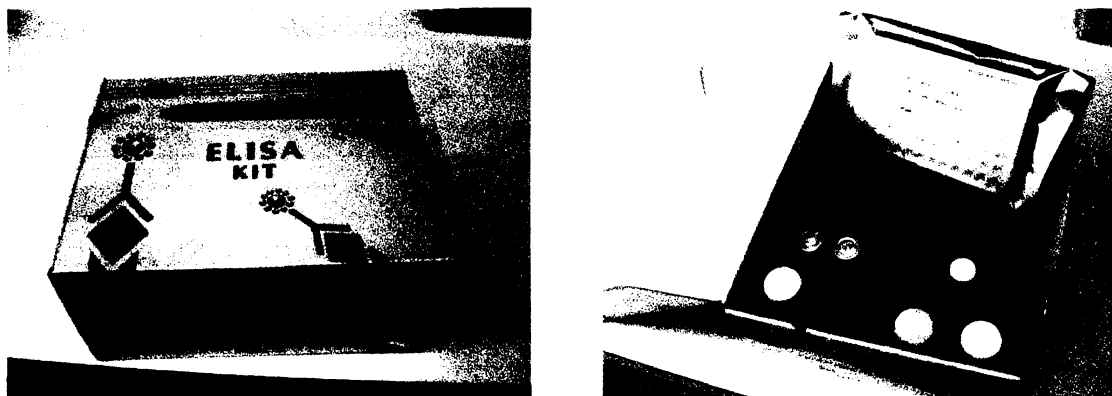
- a) Přidáme 1 ml studeného precipitačního roztoku do všech zkušavek s výjimkou 1, 2 (total).
- b) Vortexujeme a inkubujeme 20 minut při 4°C.
- c) Centrifugujeme při 4°C a 2000 – 3000 g.
- d) Okamžitě odsajeme supernatant ze všech zkušavek kromě 1, 2.

- e) Spočítáme cpm pomocí gamma counteru a vypočítáme výsledné koncentrace ghrelinu.

4.3.2 STANOVENÍ ACYL A DESACYL GHRELINU - ELISA

1. Pro stanovení se používá plasma, nabíraná do zkumavek s K₂EDTOU, centrifugovaná 20 min. při 3000ot/min a 4 °C. Tato plasma musí být po centrifugaci okyselena 1N HCl, v množství 1/10 HCl k množství plasmy.
2. Acyl a desacyl ghrelin je stanovován ELISA procedurou (Linco Research, Inc.,USA) (obr. č. 20).

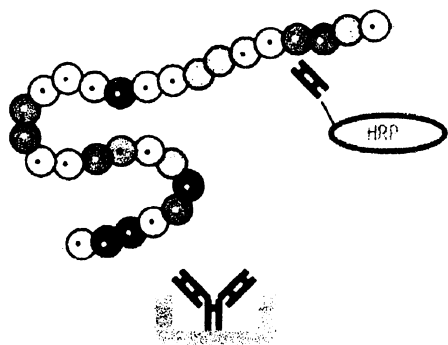
Obrázek č. 20: ELISA kit



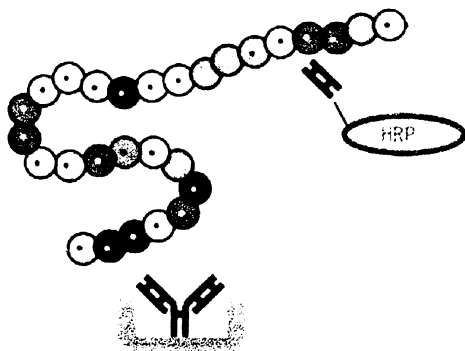
Princip stanovení:

Ve stanovení jsou standardy, kontroly a neznámé vzorky plazmy inkubovány na destičce v mikrotitračních jamkách, které byly potaženy monoklonální protilátkou proti lidskému acyl nebo desacyl ghrelinu. Po inkubaci a promytí je do jamek přidána další protilátka proti lidskému (acyl nebo desacyl) ghrelinu, značená enzymovou peroxidázou HRP (horseradish peroxidase) (obr. č. 21,21). Po druhé inkubaci a promývacích krocích je do jamek přidán substrát - tetramethylbenzidin (TMB). Reakce je ukončena přidáním zastavovacího činidla (roztoku kyseliny) a absorbance modrého produktu je měřena spektrofotometricky při 450 nm. Absorbance je přímo úměrná koncentraci ghrelinu. Standardní křivka je vytvořena vynesemím hodnot absorbance vs. odpovídající koncentrace rekombinantního ghrelinu ve standardech. Koncentrace v neznámých vzorcích jsou stanoveny podle standardní křivky.

Obrázek č. 21: Vazba specifické protilátky značené HRP na acyl ghrelin
(www.lincoresearch.com)



Obrázek č. 22: Vazba specifické protilátky značené HRP na desacyl ghrelin
(www.lincoresearch.com)



Dodávaná činidla :

1. Antibody Coated Plate - destička potažená monoklonální protilátkou proti lidskému acyl nebo desacyl ghrelinu (na N-terminálním konci).
2. Washing Buffer Concentrate - koncentrát promývacího roztoku, 40ml.
3. Standard - standardy lidského acyl nebo desacyl ghrelinu (lyofilizát).
4. Quality Controls 1 and 2 - kontroly kvality pro acyl ghrelin
5. Assay Buffer - ředící pufr, 22ml.
6. HRP Conjugated Antibody – konjugovaná protilátka proti lidskému acyl nebo desacyl ghrelinu (na C terminální konec ghrelinu), značená HRP, 250 μ l.
7. HRP Dilution Buffer – roztok k ředění protilátky, 22 ml.
8. Substrate Solution – substrátový roztok, 22 ml.
9. Stop Reagent – zastavující činidlo, 6 ml.

Příprava standardů

- 1) Standard rekonstituujeme 1 ml destilované H₂O na koncentraci uvedenou v příbalovém letáku. Mírně promícháme, necháme 5 minut stát a pořádně promícháme.
- 2) Označíme si zkumavky 1, 2, 3, 4, 5 a 6. Do všech přidáme 0,5 ml pufru (Assay Buffer).
- 3) Do zkumavky 1 přeneseme 0,5ml rekonstituovaného standardu (bod 2). Vortexujeme.
- 4) Vyměníme špičku. Do zkumavky 2 přeneseme 0,5 ml ze zkumavky 1. Vortexujeme.
- 5) Vyměníme špičku. Do zkumavky 3 přeneseme 0,5ml ze zkumavky 2. Vortexujeme.
- 6) Vyměníme špičku. Do zkumavky 4 přeneseme 0,5ml ze zkumavky 3. Vortexujeme.
- 7) Vyměníme špičku. Do zkumavky 5 přeneseme 0,5ml ze zkumavky 4. Vortexujeme.
- 8) Vyměníme špičku. Do zkumavky 6 přeneseme 0,5ml ze zkumavky 5. Vortexujeme.

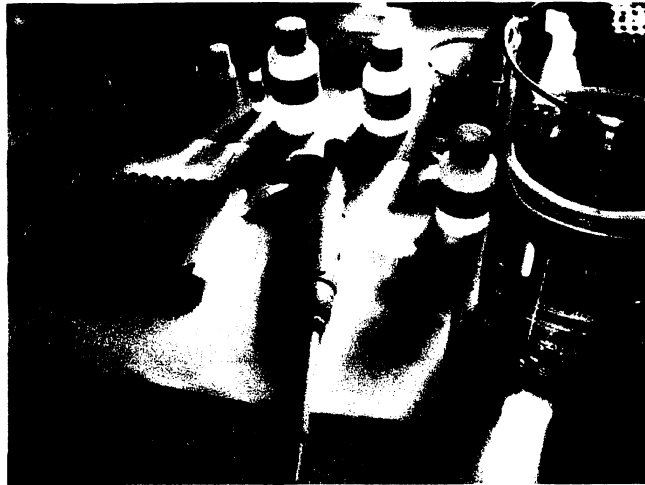
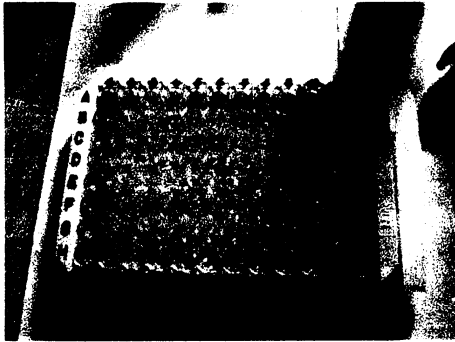
Příprava kontrolních vzorků (QC)

Lyofilizovaný roztok kontrolního vzorku QC rekonstituujeme 1 ml H₂O, mírně promícháme, necháme 5 minut stát, pořádně promícháme.

- 1) Naředíme koncentrovaný promývací roztok (Wash Buffer) 20x, to znamená přidat do něj 760 ml destilované H₂O.
- 2) Naředíme potřebný objem konjugátu HRP s protilátkou (HRP conjugated antibody) ředícím pufrem (Dilution buffer) v poměru 1:100. Když se má použít najednou, tak se 222,5 µl doplní o 22 ml Dilution buffer. Nepoužitou peroxidázu uskladníme při 4°C.
- 3) Připravíme si potřebný počet proužků, zbytek uchováme v sáčku při 4°C.
- 4) Přidáme 150 µl pufru (Assay buffer) do všech důlků.
- 5) Přidáme dalších 50 µl pufru (Assay buffer) do blanků (negativních kontrol).
- 6) Přidáme 50 µl standartů Active ghrelin standard, 50 µl kontrolních vzorků (Quality control – QC1, 2) a 50 µl vlastních vzorků do odpovídajících důlků.

- 7) Přikryjeme samolepkou a inkubujeme 2 hod. při pokojové teplotě.
- 8) Odstraníme samolepku a vylijeme roztoky z destičky. Odklepeme zbývající roztok. Promýváme 3 x 300 μ l promývacího roztoku (Wash Buffer) s 1 minutovým namáčením (to jest naplní se destička, nechá se minutu stát, vylije se, odklepne na buničinu a naplní znova) mezi jednotlivými kroky. Vylijeme a odklepeme zbývající roztok.
- 9) Přidáme 200 μ l ředěného konjugátu (HRP conjugated antibody) do všech důlků.
- 10) Přikryjeme destičku samolepkou a inkubujeme jednu hodinu při pokojové teplotě. (V případě desacyl ghrelinu inkubujeme na rotační třepačce při 400 – 500 otáčkách za minutu) (obr. č. 23). Odstraníme samolepku a vylijeme roztok z destičky. Odklepeme, promýváme 4x 300 μ l promývacího roztoku s 1 minutovým namáčením mezi jednotlivými kroky. Vylijeme a odklepeme zbývající roztok.
- 11) Přidáme 200 μ l substrátového roztoku (Substrate solution) do všech jamek. Přelepíme a inkubujeme 30 min. potom při pokojové teplotě.
- 12) Odstraníme samolepku a přidáme 50 μ l zastavujícího činidla (Stop Reagent) a rukou zatřepeme destičkou tak, abychom zajistili kompletní promíchání zastavujícího roztoku ve všech důlcích. Výsledné okyselení by mělo způsobit změnu barvy důlků z modré na žlutou. Zkontrolujeme, jestli v důlcích nejsou bublinky (vadily by při měření).
- 13) Měříme absorbanci při 450nm na deskovém spektrofotometru během několika minut po zastavení reakce.

Obrázek č. 23: Pipetovací destička



4.3.3 STANOVENÍ INSULINU A GLUKOSY - ANALYZÁTOR

Stanovení insulinu

Insulin je stanovován metodou ECLIA (elektrochemoluminiscenční imunoanalýza), látky jsou značeny ruthenium-komplexem, při stanovení se měří intenzita luminiscenčního záření, která je úměrná koncentraci zjišťované látky. Jedná se o heterogenní imunoanalýzu, probíhající na elektrodě a za pomoci magnetických částic (sendvičový princip).

Stanovení glukózy

Používá se hexokinázová metoda, při níž dochází k barevné reakci, kdy za pomoci enzymu dojde ke změně absorbance roztoku. Absorbance je měřena spektrofotometricky.

4.4 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

(Zvára, 2001)

Zjištěné výsledky byly popsány pomocí následujících statistických charakteristik:

aritmetický průměr

- pro charakteristiku polohy veličin s normálním (Gaussovým) rozdělením.
- výpočet podle vzorce:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i$$

minimum

- udává nejmenší naměřenou hodnotu znaku přítomnou v souboru

maximum

- udává největší naměřenou hodnotu znaku přítomnou v souboru

medián

- udává prostřední hodnotu v souboru uspořádaném podle velikosti, takže pravděpodobnost výskytu hodnot menších než medián je stejná, jako pravděpodobnost výskytu hodnot větších než medián
- pro charakteristiku polohy veličin s nenormálním rozdělením

střední chyba průměru

- směrodatná odchylka výběrového průměru jako náhodné veličiny, je nejčastěji užívanou charakteristikou přesnosti odhadu průměru
- výpočet podle vzorce:

S.E.M. = S.D.

$$\sqrt{n}$$

variační koeficient

- pro vyjádření relativní míry variability
- výpočet podle vzorce:

$$C.V. = \frac{s_x}{\bar{x}} \cdot 100 (\%)$$

Pro statistické porovnání výsledků byly použity následující statistické metody:

Fisherův LSD test

(Fisher's Least Significant Difference test – Fisherův test nejmenší významné odchylky)

Fisherův LSD test se používá pro zjištění toho, které skupiny se od sebe navzájem významně liší po zjištění významnosti rozdílů v jejich průměrech pomocí analýzy rozptylu. Z mnoha různých testů vícenásobného tzv. *post-hoc* porovnávání je Fisherův LSD test nejcitlivější, tj. lze pomocí něj zjistit nejvíce rozdílů mezi skupinami.

Grafy interakcí s LSD intervaly

Jedná se o intervaly nejmenší významné odchylky na 5% hladině spolehlivosti.

Spearmanův párový pořadový korelační koeficient

Spearmanův (pořadový) korelační koeficient je založen na srovnání pořadí hodnot. Tento koeficient je robustní v obou dílčích dimenzích (eliminace vlivu jednorozměrných odlehlých bodů a nesymetrie rozdělení) a jeho vztah ke klasickému korelačnímu koeficientu je analogií vztahu mediánu k aritmetickému průměru.

5. VÝSLEDKY

V této diplomové práci jsem se zaměřila na sledování plasmatických hladin total ghrelinu a jeho forem acyl a desacyl ghrelinu. Zajímaly mě změny v koncentracích ghrelinů po podání dvou typů snídaní, obsahujících různé makronutrienty – sacharidy a proteiny. Také jsem sledovala změny v plasmatických koncentracích insulinu a glukosy. Po jednotlivých snídaních jsem hodnotila změny v pocitech hladu a sytosti. Dále jsem hledala vzájemné vztahy mezi sledovanými hormony a vztahy mezi hormony a pocity hladu a sytosti. Celkem se pokusu zúčastnilo 10 zdravých probandek, dotazník pocitů hladu a sytosti byl vyplněn 6 z nich. Výsledky jsou uvedeny v textu, číselné hodnoty v příslušných tabulkách a sledované parametry jsou vyneseny v grafech.

Výsledky jsou rozděleny do následujících částí:

1. část: Statistické porovnání hladin hormonů v jednotlivých časech s naměřenou bazální hodnotou (po obou typech snídaní).
2. část: Statistické porovnání pocitů hladu a sytosti v jednotlivých časech s naměřenou bazální hodnotou (po obou typech snídaní).
3. část: Statistické porovnání průběhu křivek jednotlivých hormonů po sacharidové a proteinové snídani.
4. část: Statistické porovnání průběhu křivek pocitů hladu a sytosti po sacharidové a proteinové snídani.
5. část: Statistické vyjádření vzájemných závislostí mezi hladinami jednotlivých hormonů a hladinami hormonů a pocity hladu a sytosti.

1. část:

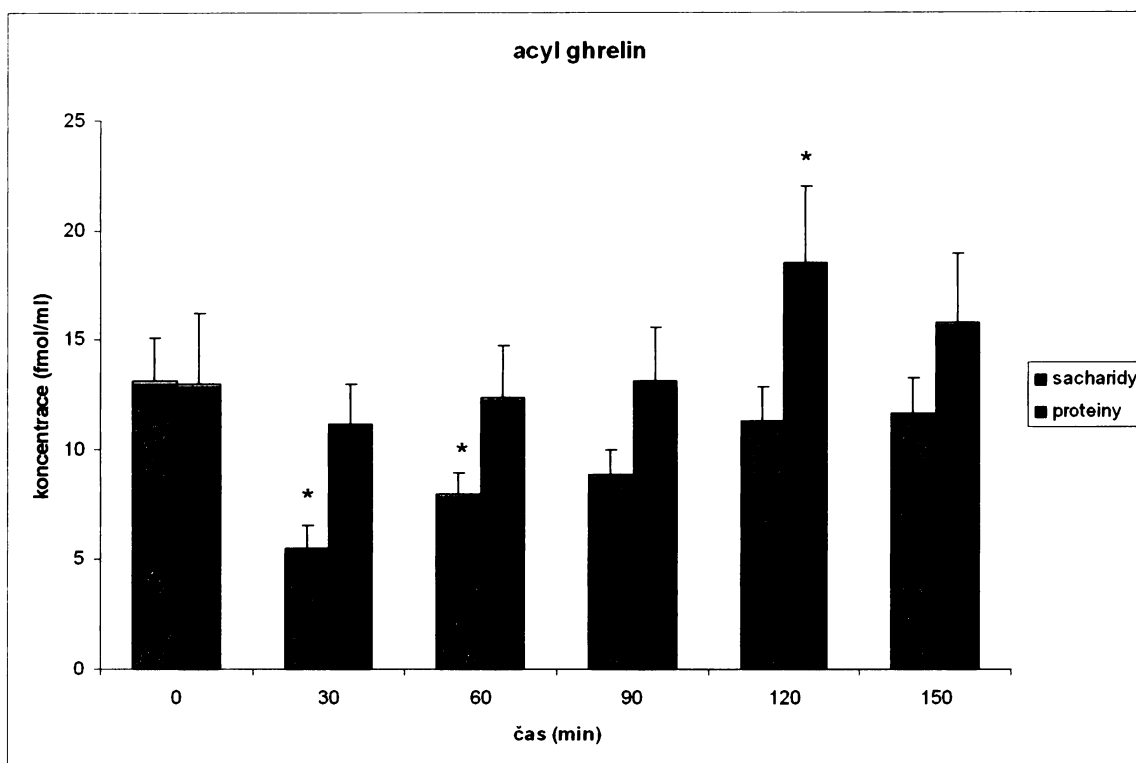
STATISTICKÉ POROVNÁNÍ GHRELINŮ V JEDNOTLIVÝCH ČASECH S NAMĚŘENOU BAZÁLNÍ HODNOTOU (PO OBOU TYPECH SNÍDANÍ)

ACYL GHRELIN

Plasmatické koncentrace acyl ghrelinu statisticky významně klesají po sacharidové snídani v 60 minutě, nebyl nalezen žádný významný vzestup. Po proteinové snídani je významný vzestup ve 120 minutě a žádný významný pokles. Jednotlivé časy byly porovnávány s naměřenými bazálními hodnotami (graf č.1, tabulka č.1).

Tabulka č.1: Plasmatické koncentrace acyl ghrelinu (fmol/ml) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	13,10	1,97	5,50	24,71	12,34	0,48
30	10	5,53	1,02	3,46	12,07	9,39	0,38
60	10	7,95	1,01	3,35	13,50	7,88	0,40
90	10	8,89	1,07	4,72	14,03	9,20	0,37
120	10	11,31	1,55	4,92	18,25	10,05	0,43
150	10	11,64	1,61	3,91	21,30	10,58	0,44
Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	12,99	3,23	4,78	36,70	9,64	0,76
30	10	11,14	1,84	3,98	19,22	10,12	0,52
60	10	12,39	2,33	4,56	27,66	7,53	0,71
90	10	13,11	2,49	3,87	29,55	12,26	0,60
120	10	18,50	3,50	2,71	34,31	18,36	0,60
150	10	15,81	3,10	3,16	34,21	12,60	0,62



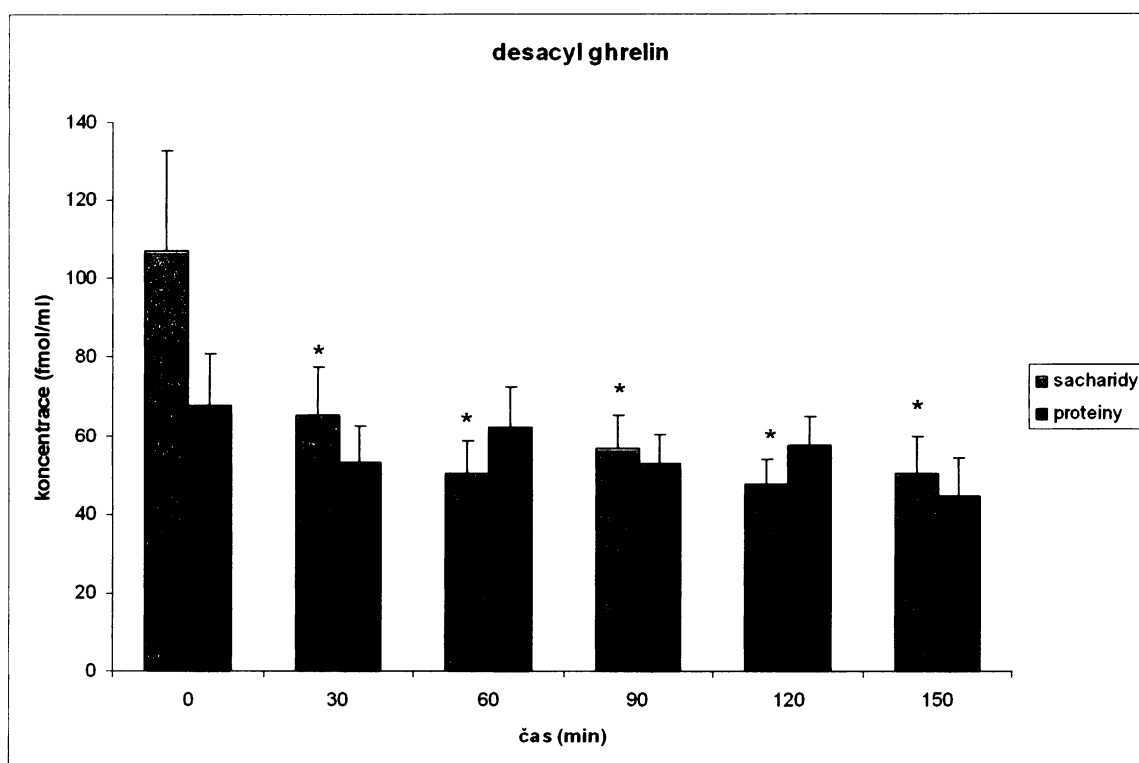
Graf č.1: Porovnání koncentrací plasmatického acyl ghrelinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi. Hodnoty acyl ghrelinu jsou ve fmol/ml, čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 10.

DESACYL GHRELIN

Plasmatické koncentrace desacyl ghrelinu statisticky významně klesají po sacharidové snídani v 30, 60, 90, 120, 150 minutě, nebyl nalezen žádný významný vzestup. Po proteinové snídani není žádný významný vzestup ani žádný významný pokles. Jednotlivé časy byly porovnávány s naměřenými bazálními hodnotami (graf č.2, tabulka č.2).

Tabulka č.2: Plasmatické koncentrace desacyl ghrelinu (fmol/ml) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	107,26	25,39	32,8	246,30	77,77	0,75
30	10	65,12	12,14	22,36	129,20	54,28	0,59
60	10	50,43	8,14	16,26	105,33	41,99	0,51
90	10	56,58	8,72	18,49	90,26	61,95	0,49
120	10	47,78	6,38	27,10	89,28	40,52	0,42
150	10	50,57	9,16	20,73	103,2	46,12	0,52
Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	67,53	13,32	24,75	148,49	51,60	0,62
30	10	53,13	9,40	21,09	116,63	45,75	0,56
60	10	62,07	10,25	16,75	123,98	61,47	0,52
90	10	52,89	7,52	19,60	91,63	56,41	0,42
120	10	57,37	7,39	22,49	95,40	50,62	0,41
150	10	44,68	9,66	20,99	120,11	63,20	0,47



Graf č.2: Porovnání koncentrací plasmatického desacyl ghrelinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi. Hodnoty desacyl ghrelinu jsou ve fmol/ml, čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 10.

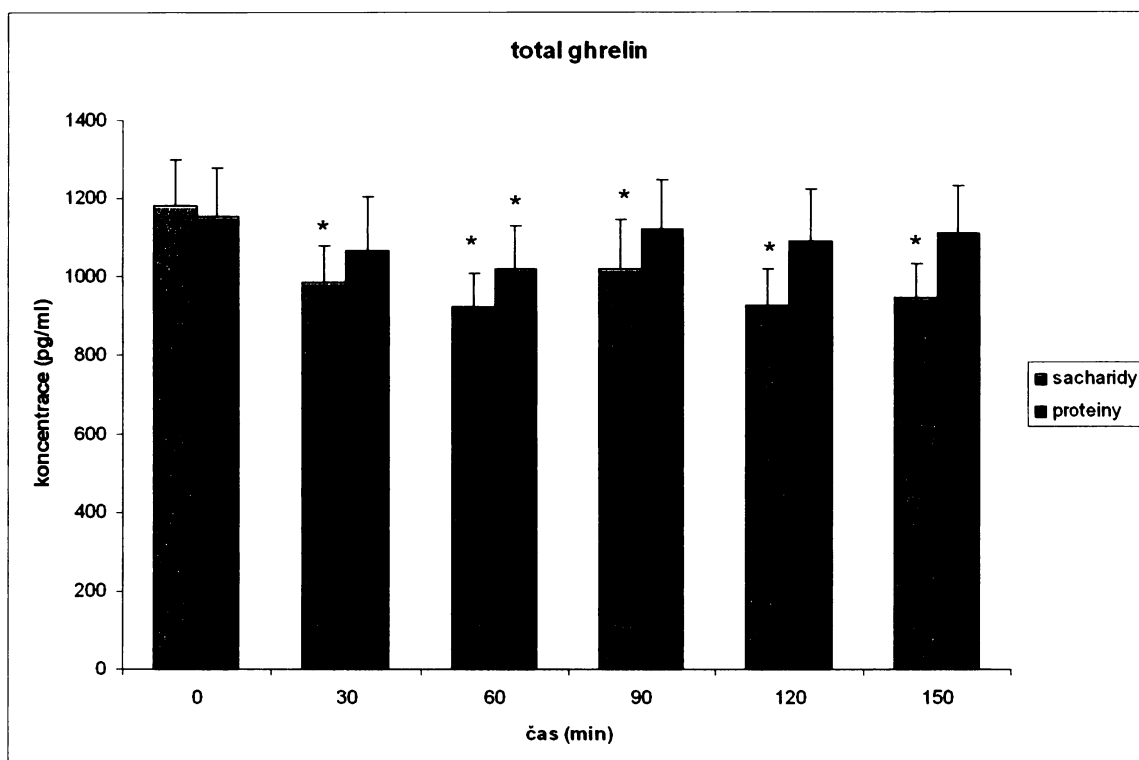
TOTAL GHRELIN

Plasmatické koncentrace total ghrelinu statisticky významně klesají po sacharidové snídani v 30, 60, 90, 120, 150 minutě, nebyl nalezen žádný významný vzestup. Po proteinové snídani je významný pokles v 60 minutě a žádný významný vzestup. Jednotlivé časy byly porovnávány s naměřenými bazálními hodnotami (graf č.3, tabulka č.3).

Tabulka č.3: Plasmatické koncentrace total ghrelinu (pg/ml) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	1180,00	118,08	717,39	1888,40	1063,81	0,32
30	10	983,76	97,14	599,83	1476,29	946,89	0,31
60	10	923,89	86,91	597,39	1356,94	961,95	0,30
90	10	1019,63	125,12	480,85	1802,46	957,64	0,39
120	10	927,70	90,97	512,46	1412,75	907,06	0,31
150	10	946,50	84,73	630,11	1342,55	921,22	0,28

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	1154,50	125,68	697,09	1834,1	1086,14	0,34
30	10	1069,00	136,81	628,51	1845,2	989,89	0,41
60	10	1019,65	111,13	627,63	1803,6	972,72	0,34
90	10	1120,70	128,37	631,07	1940,4	1013,36	0,36
120	10	1092,95	132,40	565,74	2040,4	1017,10	0,38
150	10	1111,83	121,82	678,60	1871,7	1038,66	0,35



Graf č.3: Porovnání koncentrací plasmatického total ghrelinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi. Hodnoty total ghrelinu jsou ve pg/ml, čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 10.

Tabulka č.4: Procentuální vyjádření poklesu nebo vzrůstu jednotlivých forem ghrelinu po sacharidové a proteinové snídani vzhledem k bazálním hodnotám (bazální hodnota = 100%). Barevně je zvýrazněn vzrůst na maximální hodnotu nebo pokles na minimální hodnotu.

Pokles hormonů vzhledem k bazálním hodnotám (%)	čas (min)	0	30	60	90	120	150
ACYL GHRELIN	průměr	100.00		60.69	67.86	86.34	88.85
DESACYL GHRELIN	průměr	100.00	60.86	47.13	52.88		47.26
TOTAL GHRELIN	průměr	100.00	83.37		86.41	78.68	80.21
Pokles hormonů vzhledem k bazálním hodnotám (%)	čas (min)	0	30	60	90	120	150
ACYL GHRELIN	průměr	100.00	85.76	95.38	100.92		121.71
DESACYL GHRELIN	průměr	100.00	78.71	91.96	78.36	84.99	
TOTAL GHRELIN	průměr	100.00	92.63		97.11	94.71	96.35

STATISTICKÉ POROVNÁNÍ INSULINU A GLUKOSY V JEDNOTLIVÝCH ČASECH S NAMĚŘENOU BAZÁLNÍ HODNOTOU (PO OBOU TYPECH SNÍDANÍ)

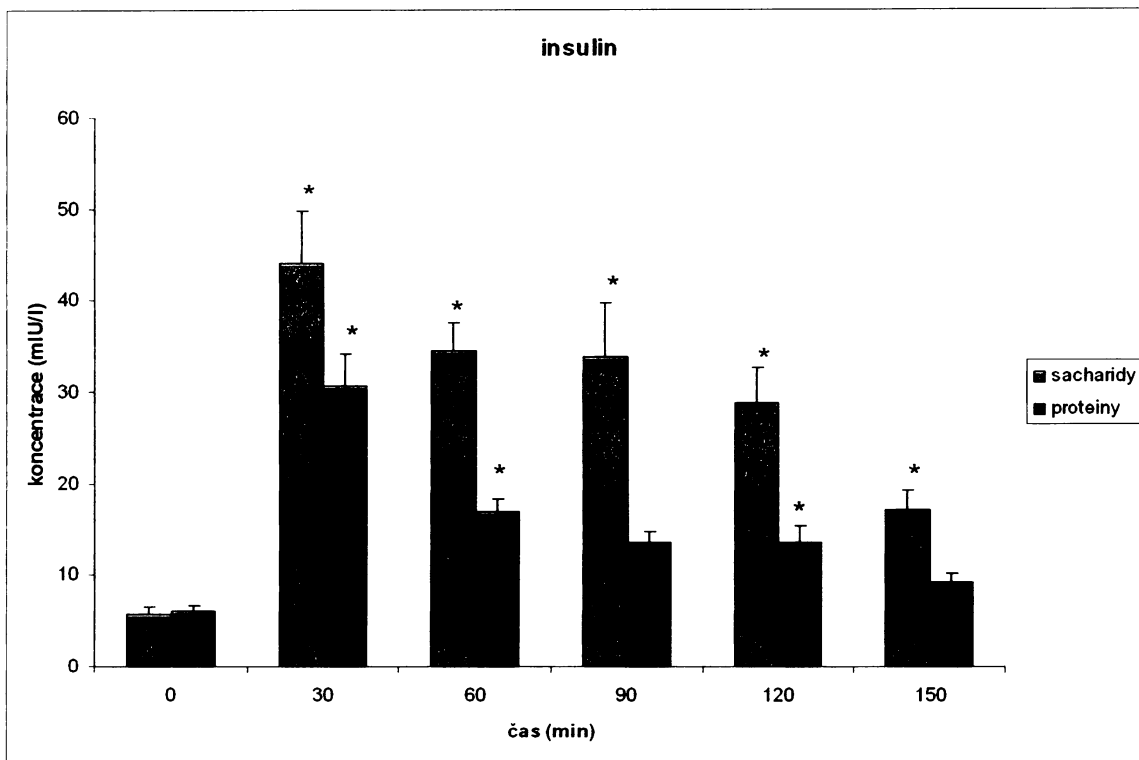
INSULIN

Plasmatické koncentrace insulínu statisticky významně stoupají po sacharidové snídani v 30, 60, 90, 120 a 150 minutě, nebyl nalezen žádný významný pokles. Po proteinové snídani je významný vzestup ve 30, 60, 120 minutě a žádný významný pokles. Jednotlivé časy byly porovnávány s naměřenými bazálními hodnotami (graf č.4, tabulka č.5).

Tabulka č.5: Plasmatické koncentrace insulínu (mIU/l) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	5,62	0,90	2,44	11,10	5,49	0,51
30	10	44,01	5,77	18,87	74,51	41,35	0,41
60	10	34,58	2,99	45,09	47,56	35,79	0,27
90	10	33,93	5,82	13,78	81,90	30,82	0,54
120	10	28,77	3,91	14,96	48,84	27,30	0,43
150	10	17,13	2,07	6,44	27,01	17,53	0,38

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	6,04	0,60	4,12	10,23	5,55	0,31
30	10	30,74	3,37	21,14	55,60	28,17	0,35
60	10	16,89	1,40	11,83	24,10	15,68	0,29
90	10	13,57	1,14	5,99	19,68	14,05	0,26
120	10	13,64	1,85	7,53	26,98	12,71	0,43
150	10	9,27	0,97	6,62	14,50	8,32	0,32



Graf č.4: Porovnání koncentrací plasmatického insulinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi. Hodnoty insulinu jsou ve mIU/l čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 10.

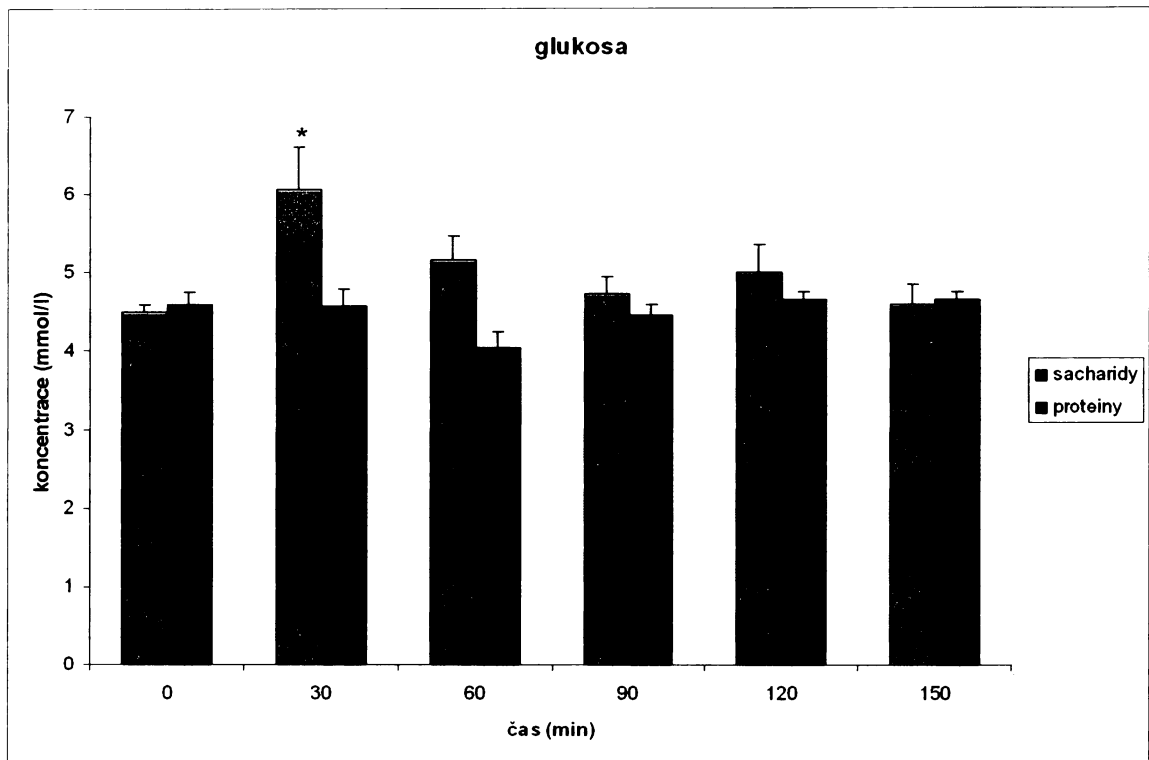
GLUKOSA

Plasmatické koncentrace glukosy statisticky významně stoupají po sacharidové snídani v 30 minutě, nebyl nalezen žádný významný pokles. Po proteinové snídani nenastal žádný významný vzestup ani pokles. Jednotlivé časy byly porovnávány s naměřenými bazálními hodnotami (graf č.5, tabulka č.6).

Tabulka č.6: Plasmatické koncentrace glukosy (mmol/l) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	4,49	0,10	4,01	4,96	4,42	7,35
30	10	6,06	0,55	3,95	10,53	5,50	0,29
60	10	5,16	0,32	3,45	6,56	5,23	0,20
90	10	4,74	0,21	3,96	6,26	4,67	0,14
120	10	5,01	0,34	3,32	6,83	4,83	0,21
150	10	4,60	0,25	3,74	5,98	4,44	0,17

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	4,60	0,15	3,82	5,10	4,80	0,10
30	10	4,58	0,22	3,51	5,72	4,59	0,15
60	10	4,05	0,20	2,58	4,80	4,16	0,16
90	10	4,45	0,15	3,99	5,30	4,24	0,10
120	10	4,65	0,11	4,07	5,16	4,66	0,01
150	10	4,66	0,10	4,12	5,02	4,75	0,07



Graf č.5: Porovnání koncentrací plasmatické glukosy v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi. Hodnoty glukosy jsou v mmol/l, čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 10.

Tabulka č.7: Procentuální vyjádření vzrůstu nebo poklesu insulinu a glukosy po sacharidové a proteinové snídani vzhledem k bazálním hodnotám (bazální hodnota = 100%). Barevně je zvýrazněn vzrůst na maximální hodnotu nebo pokles na minimální hodnotu.

Pokles a vzrůst hormonů vzhledem k bazálním hodnotám (%)	čas (min)	0	30	60	90	120	150
INSULIN		100,00		615,30	603,74	511,92	304,80
GLUKOSA		100,00		114,92	105,57	111,58	102,45
Pokles a vzrůst hormonů vzhledem k bazálním hodnotám (%)	čas (min)	0	30	60	90	120	150
INSULIN		100,00		279,64	224,67	225,83	153,48
GLUKOSA		100,00	99,57		96,74	101,09	101,30

2. část:

STATISTICKÉ POROVNÁNÍ POCITŮ HLADU A SYTOSTI V JEDNOTLIVÝCH ČASECH S NAMĚŘENOU BAZÁLNÍ HODNOTOU (PO OBOU TYPECH SNÍDANÍ)

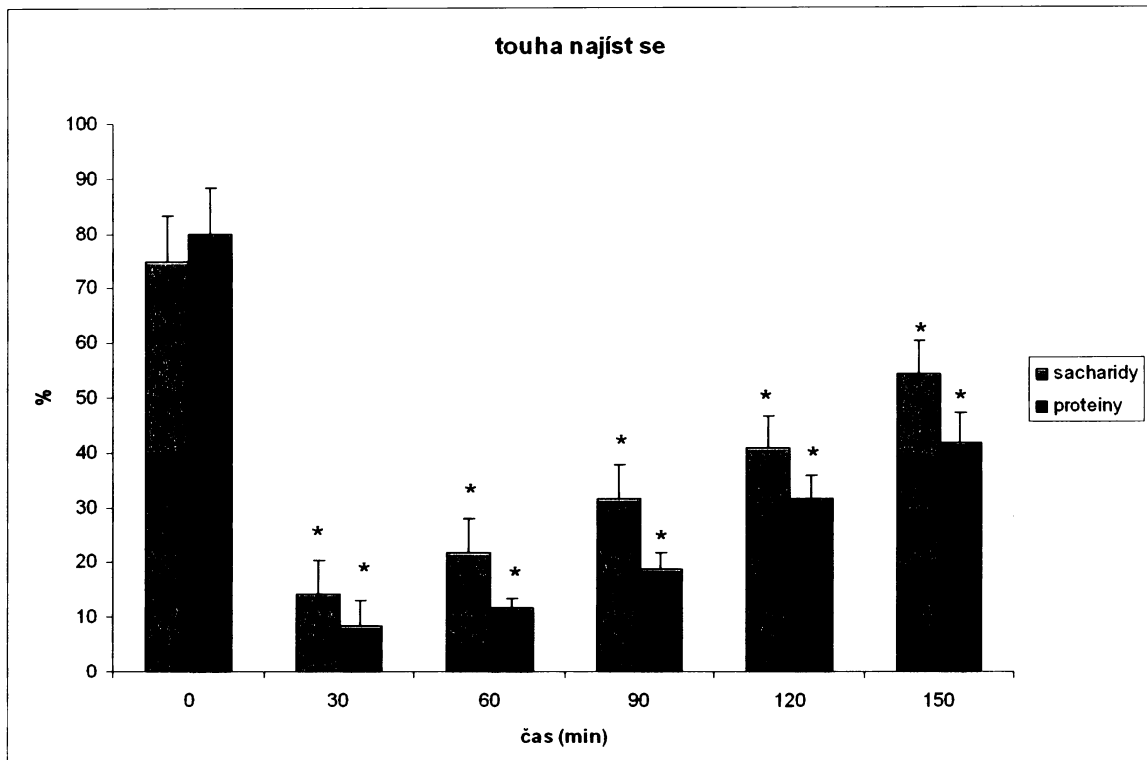
1. Otázka: Jaká je vaše touha najíst se?

Po sacharidové snídani dochází k významnému poklesu touhy najíst se v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a není zde žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám. Po proteinové snídani je významný pokles touhy najíst se v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám (graf č.6, tabulka č.8).

Tabulka č.8: Touha najíst se (vyjádřená v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	75,10	8,34	40	100	80,0	0,26
30	10	14,17	6,11	0	40	12,5	11,06
60	10	21,67	6,14	0	40	22,5	0,69
90	10	31,67	6,01	20	60	30,0	0,47
120	10	40,83	5,83	20	60	42,5	0,35
150	10	54,17	6,11	30	70	52,5	0,28

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	80,00	8,16	50	100	90,0	0,25
30	10	8,30	4,77	0	30	5,0	1,40
60	10	11,63	1,67	10	20	10,0	0,35
90	10	18,83	3,07	10	30	20,0	0,41
120	10	31,67	4,01	20	50	30,0	0,31
150	10	41,67	5,43	20	60	40,0	0,32



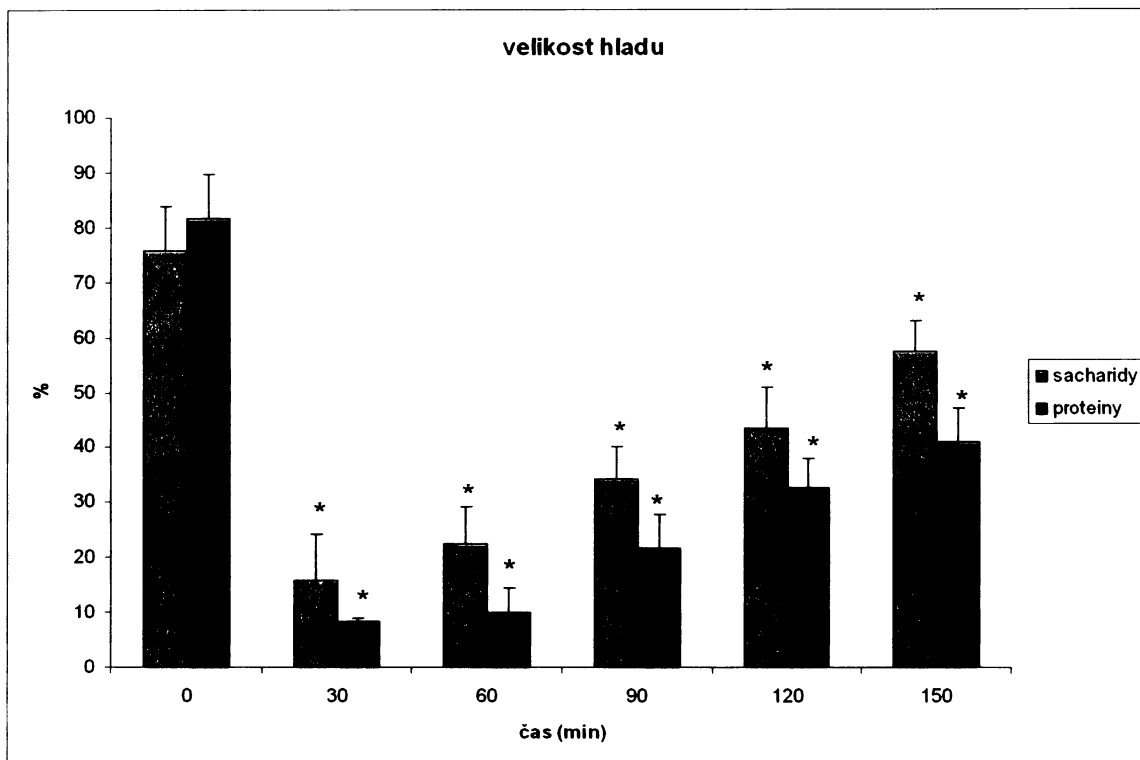
Graf č.6: Porovnání změn v pocitu touhy najíst se v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám. Pocity hladu a sytosti jsou vyjádřeny v procentech čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 6.

2. Otázka: Jak velký hlad pociťujete?

Po sacharidové snídani dochází k významnému poklesu hladu v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a není zde žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám. Po proteinové snídani je významný pokles hladu v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám (graf č.7, tabulka č.9).

Tabulka č.9: Velikost hladu (vyjádřená v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	75,83	8,00	40	100	80,0	0,26
30	10	15,83	8,41	0	50	7,5	1,30
60	10	22,50	6,80	0	40	22,5	0,74
90	10	34,17	5,83	20	50	32,5	0,42
120	10	43,33	7,71	20	70	40,0	0,44
150	10	57,50	5,43	40	80	57,5	0,23
Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	81,70	7,92	50	100	85	0,24
30	10	8,30	0,54	0	40	0	1,92
60	10	10,00	4,47	0	30	10	1,10
90	10	21,67	6,09	10	50	20	0,68
120	10	32,50	5,45	20	55	30	0,41
150	10	40,83	6,38	25	70	40	0,38



Graf č.7: Porovnání změn ve velikosti hladu v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám. Pocity hladu a sytosti jsou vyjádřeny v procentech čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 6.

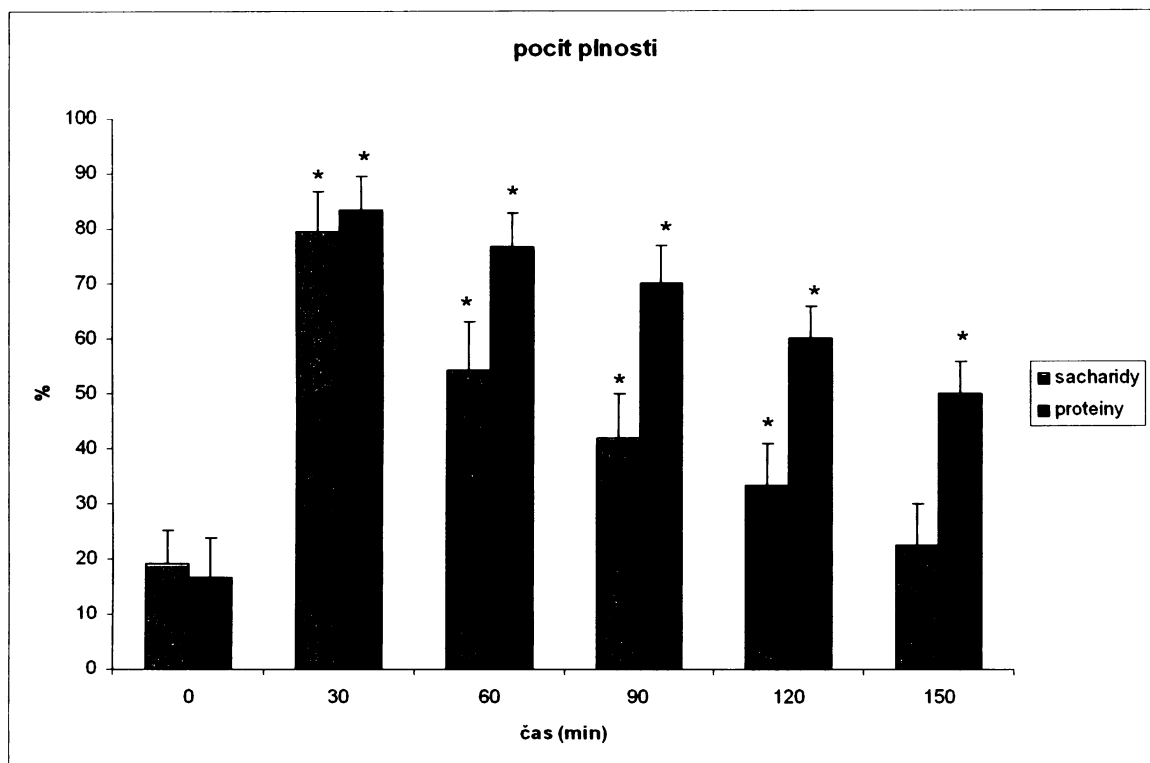
3. Otázka: Jak plná se cítíte?

Po sacharidové snídani dochází k významnému vzrůstu pocitu plnosti v 30, 60, 90, 120 minutě a není zde žádný významný pokles vzhledem k bazálním hodnotám. Po proteinové snídani je významný vzrůst pocitu plnosti v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a žádný významný pokles vzhledem k bazálním hodnotám (graf č.8, tabulka č.10).

Tabulka č.10: Pocit plnosti (vyjádřený v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	19,17	6,11	0	40	17,5	0,78
30	10	79,50	7,04	45	90	70	0,26
60	10	54,17	8,80	30	80	50	0,40
90	10	41,97	7,92	20	70	35	0,48
120	10	33,33	7,49	15	60	27,5	0,55
150	10	22,50	7,50	5	50	15	0,82

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	16,67	7,15	0	50	10	1,05
30	10	83,30	6,14	60	100	80	0,18
60	10	76,67	6,14	50	90	80	0,20
90	10	70,00	6,83	40	90	70	0,24
120	10	60,00	5,77	40	80	60	0,24
150	10	50,00	5,77	30	70	50	0,30



Graf č.8: Porovnání změn v pocitu plnosti v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám. Pocity hladu a sytosti jsou vyjádřeny v procentech čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 6.

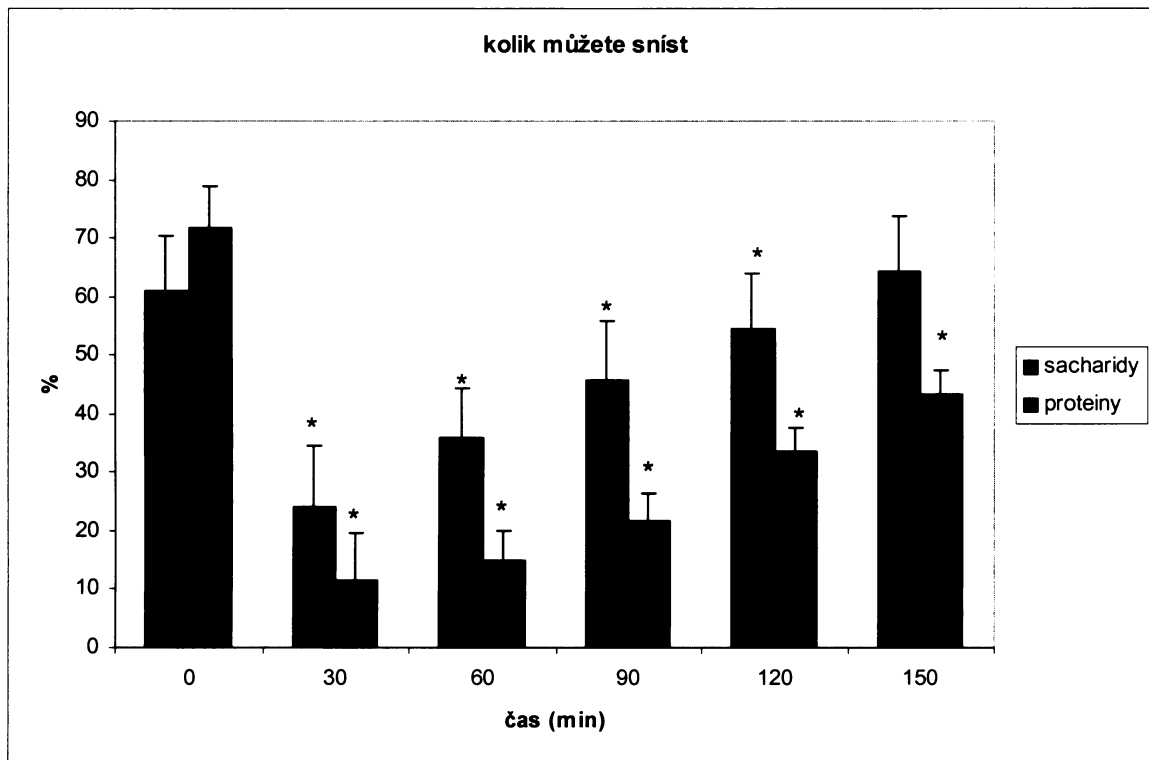
4. Jak moc byste toho nyní mohla sníst?

Po sacharidové snídani dochází k významnému poklesu množství , které mohou ještě sníst v 30, 60, 90, 120 minutě a není zde žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám. Po proteinové snídani je významný pokles množství , které mohou ještě sníst v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám (graf č.9, tabulka č.11).

Tabulka č.11: Množství kolik byste toho mohla sníst (vyjádřené v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	60,83	9,64	50	100	95,0	0,39
30	10	24,16	10,36	0	60	32,5	0,82
60	10	35,83	8,37	10	65	32,5	0,59
90	10	45,83	9,87	10	70	32,5	0,59
120	10	54,47	9,35	30	80	52,5	0,42
150	10	64,17	9,52	40	100	67,5	0,36

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	71,67	7,03	50	100	70	0,24
30	10	11,67	7,90	0	50	5	1,66
60	10	15,00	5,00	10	40	10	0,82
90	10	21,67	4,78	10	40	20	0,54
120	10	33,33	4,21	20	50	30	0,31
150	10	43,33	4,20	30	60	10	0,23



Graf č.9: Porovnání změn množství, které mohou sníst v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám. Pocity hladu a sytosti jsou vyjádřeny v procentech čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 6.

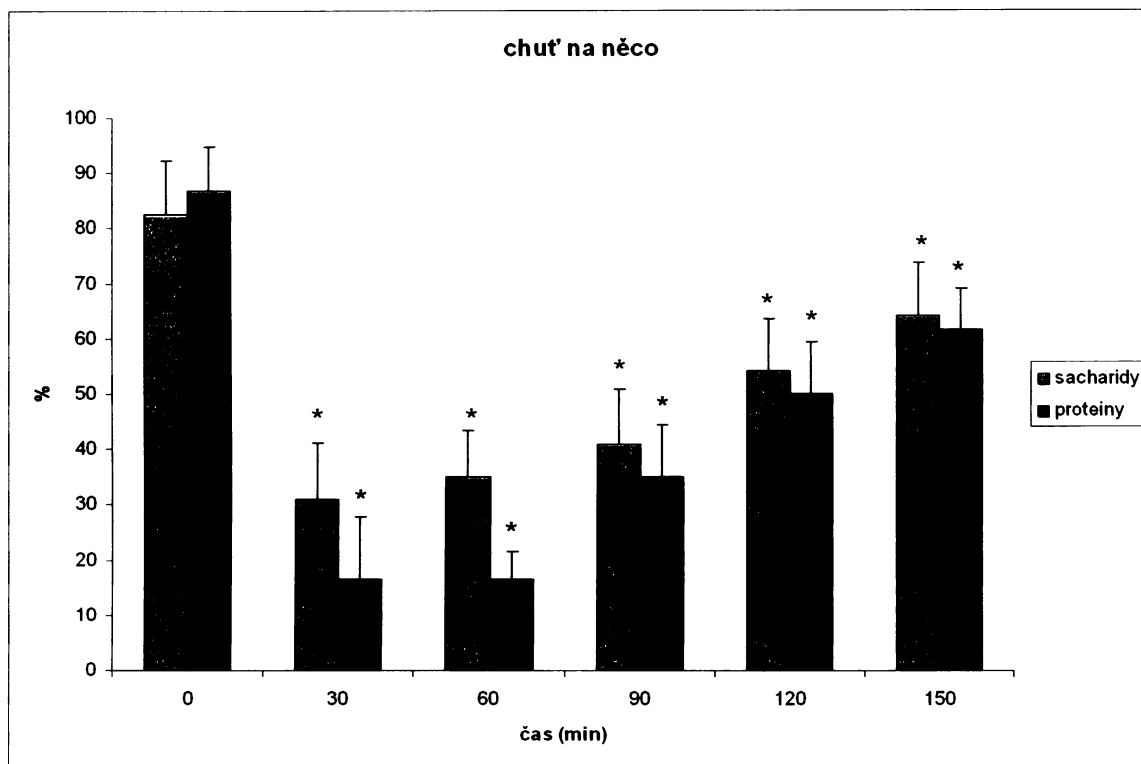
5. Otázka: Máte na něco chuť?

Po sacharidové snídani dochází k významnému poklesu chuti na něco v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a není zde žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám. Po proteinové snídani je významný pokles chuti na něco v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a žádný významný vzestup vzhledem k bazálním hodnotám (graf č.10, tabulka č.12).

Tabulka č.12: Jak velkou chuť na něco máte (vyjádřené v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	82,50	9,64	50	100	95,0	0,29
30	10	30,83	10,36	0	60	32,5	0,82
60	10	35,00	8,37	10	65	32,5	0,59
90	10	40,83	9,87	10	70	32,5	0,59
120	10	54,17	9,35	30	80	52,5	0,42
150	10	64,17	9,52	40	100	62,5	0,36

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	86,70	8,02	50	100	95	0,23
30	10	16,67	11,15	0	70	5	1,64
60	10	16,67	4,94	0	30	15	0,73
90	10	35,00	9,57	20	80	25	0,67
120	10	50,00	9,31	30	90	45	0,46
150	10	61,67	7,50	40	10	60	0,30



Graf č.10: Porovnání změn v chuti na něco v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám. Pocity hladu a sytosti jsou vyjádřeny v procentech čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 6.

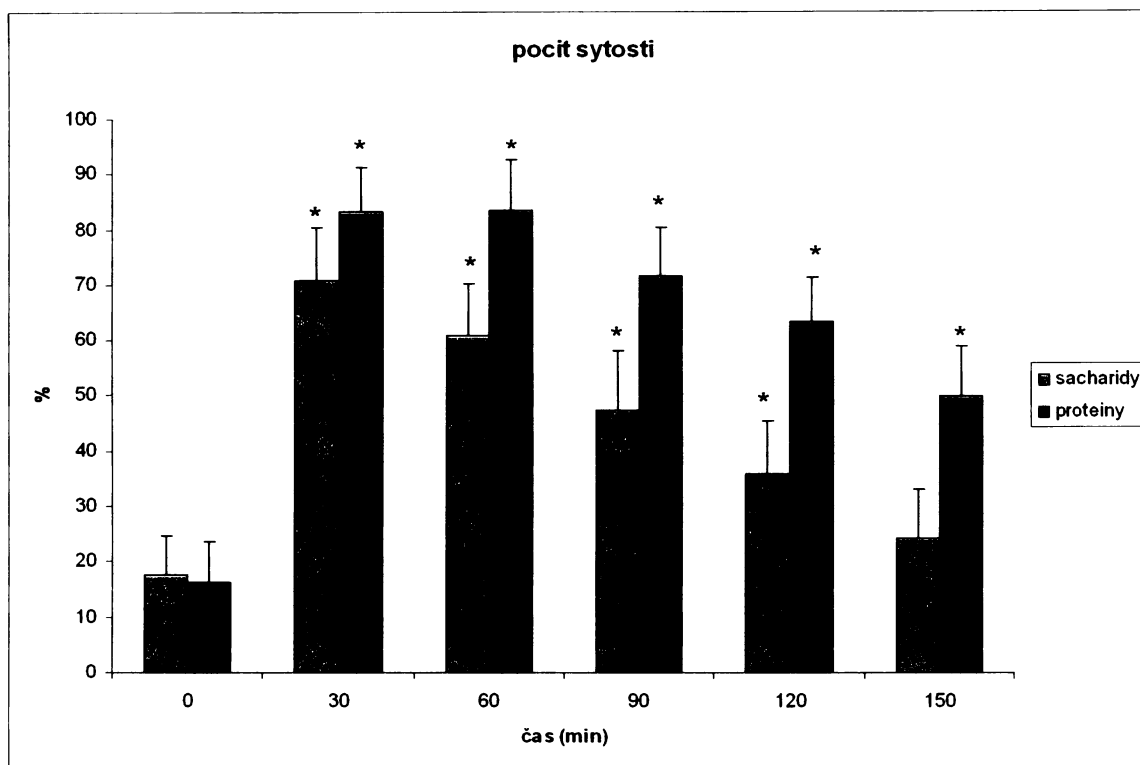
6. Otázka: Máte pocit sytosti?

Po sacharidové snídani dochází k významnému vzrůstu pocitu sytosti v 30, 60, 90, 120 minutě a není zde žádný významný pokles vzhledem k bazálním hodnotám. Po proteinové snídani je významný vzrůst pocitu sytosti v 30, 60, 90, 120, 150 minutě a žádný významný pokles vzhledem k bazálním hodnotám (graf č.11, tabulka č.13).

Tabulka č.13: Jak velký pocit sytosti máte (vyjádřený v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	17,50	7,27	0	50	10,0	1,02
30	10	70,83	9,70	50	100	62,5	0,34
60	10	60,83	9,35	40	90	50,0	0,37
90	10	47,50	10,63	20	80	37,5	0,55
120	10	35,83	9,52	15	70	25,0	0,64
150	10	24,17	8,80	5	60	15,0	0,89

Čas	N	Průměr	S.E.M.	Min.	Max.	Medián	Koef.var
0	10	16,17	7,60	0	50	15	1,17
30	10	83,33	7,90	50	100	95	0,22
60	10	83,33	9,20	40	100	90	0,27
90	10	71,67	8,79	40	90	80	0,30
120	10	63,33	8,02	30	80	70	0,31
150	10	50,00	8,94	10	70	60	0,44



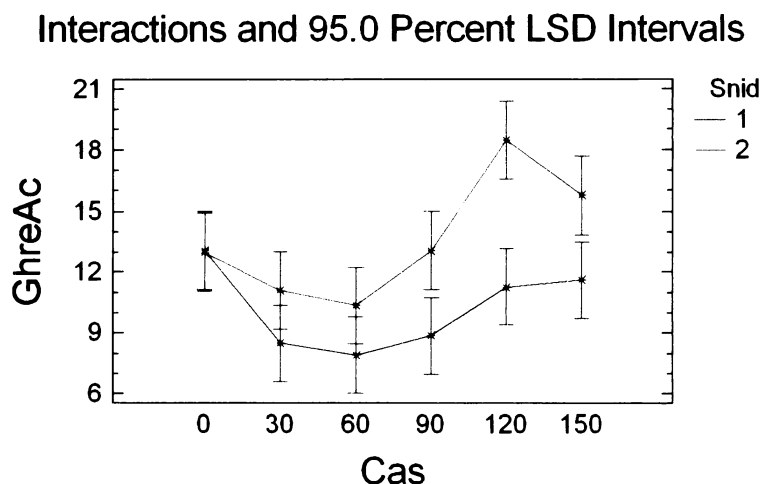
Graf č.11: Porovnání změn v pocitu sytosti v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám. Pocity hladu a sytosti jsou vyjádřeny v procentech čas je v minutách. Zobrazeny jsou skupinové průměry a SEM, spočítané metodou Fisherova LSD testu, * = $p < 0,05$. Počet probandek je 6.

3. část:

STATISTICKÉ POROVNÁNÍ PRŮBĚHU KŘIVEK JEDNOTLIVÝCH HORMONŮ PO SACHARIDOVÉ A PROTEINOVÉ SNÍDANI

ACYL GHRELIN

Plasmatické koncentrace acyl ghrelinu jsou statisticky významně nižší po sacharidové snídani v 90, 120, 150 minutě než po proteinové snídani (graf č.12, tabulka č.14).



Graf č.12: Průběh křivek po podání dvou typů snídání vyjadřující změny v plasmatických koncentracích acyl ghrelinu. Acyl ghrelin je ve fmol/ml a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot při snídání jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídanež - číslo 1 (modrá), proteinová snídanež - číslo 2 (červená).

Tabulka č.14: Statistické porovnání průběhu křivek acyl ghrelinu po sacharidové a proteinové snídání. Významný rozdíl průměrných koncentrací acyl ghrelinu po podání sacharidové (č.1) a proteinové snídanež (č.2) je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu,

* = $p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
------	-------	---------	----------	--------------------

1	60	10.237	0.545682	X
2	60	13.6605	0.545682	X

Contrast	Difference	+/- Limits
----------	------------	------------

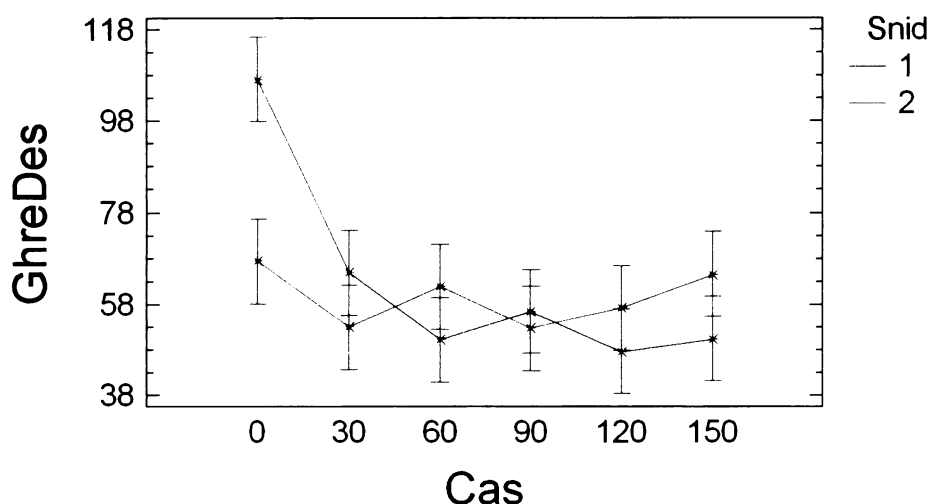
1 - 2	*-3.4235	1.55431
-------	----------	---------

* denotes a statistically significant difference.

DESACYL GHRELIN

Plasmatické koncentrace desacyl ghrelinu se významně nemění v závislosti na typu snídaně (graf č.13, tabulka č.15).

Interactions and 95.0 Percent LSD Intervals



Graf č.13: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřující změny v plasmatických koncentracích desacyl ghrelinu. Desacyl ghrelin je v fmol/ml a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot při snídání jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.15: Statistické porovnání průběhu křivek desacyl ghrelinu po sacharidové a proteinové snídání. Významný rozdíl průměrných koncentrací desacyl ghrelinu po podání sacharidové (č.1) a proteinové snídaně (č.2) nebyl nalezen.

Method: 95.0 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	60	59.6131	2.64902	X
1	60	62.9558	2.64902	X

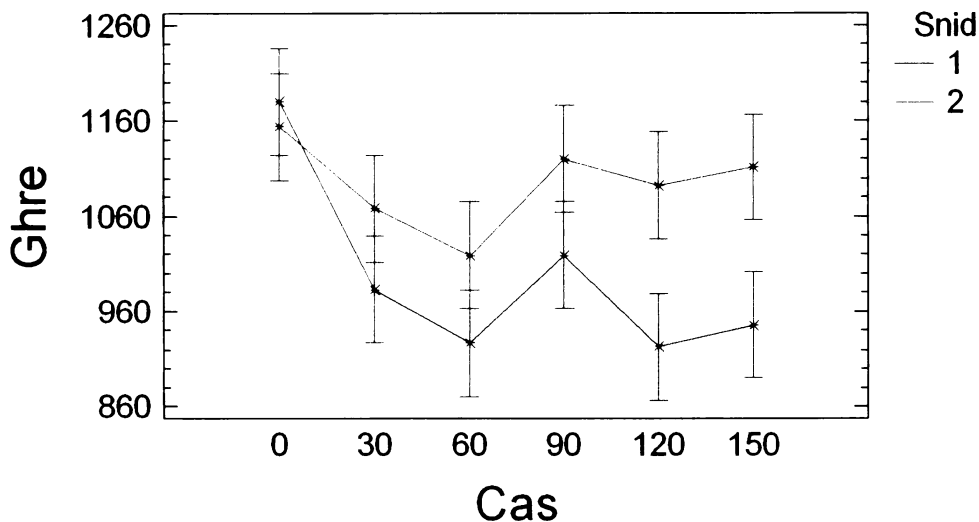
Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	3.34272	7.54541

* denotes a statistically significant difference.

TOTAL GHRELIN

Plasmatické koncentrace total ghrelinu jsou významně nižší po sacharidové snídani v časech 120, 150 minutě než po proteinové snídani (graf č.14, tabulka č.16).

Interactions and 95.0 Percent LSD Intervals



Graf č.14: Průběh křivek po podání dvou typů snídání vyjadřující změny v plasmatických koncentracích total ghrelinu. Total ghrelin je v pg/ml a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot při snídání jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.16: Statistické porovnání průběhu křivek total ghrelinu po sacharidové a proteinové snídání. Významný rozdíl průměrných koncentrací total ghrelinu po podání sacharidové (č.1) a proteinové snídaně (č.2) je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu,

* = $p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	60	997.057	16.0344	X
2	60	1094.75	16.0344	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*-97.6953	45.6719

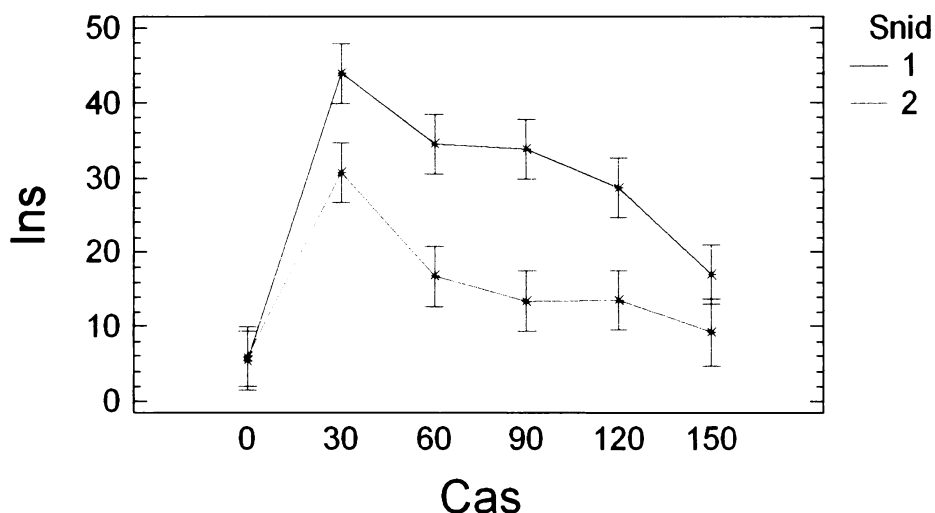
* denotes a statistically significant difference

STATISTICKÉ POROVNÁNÍ PRŮBĚHU KŘIVEK INSULINU A GLUKOSY PO SACHARIDOVÉ A PROTEINOVÉ SNÍDANI

INSULIN

Plasmatické koncentrace insulínu jsou významně vyšší po sacharidové snídani než po proteinové, a to ve všech časech kromě 150 min (graf č.15, tabulka č.17).

Interactions and 95.0 Percent LSD Intervals



Graf č.15: Průběh křivek po podání dvou typů snídání vyjadřující změny v plasmatických koncentracích insulínu. Insulin je v mIU/l a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot insulínu při snídání jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídane - číslo 1 (modrá), proteinová snídane - číslo 2 (červená).

Tabulka č.17: Statistické porovnání průběhu křivek insulínu po sacharidové a proteinové snídani. Významný rozdíl průměrných koncentrací insulínu po podání sacharidové (č.1) a proteinové snídane (č.2) je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, $* = p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	59	15.0372	1.17058	X
1	60	27.3408	1.14541	X

2	59	15.0372	1.17058	X
1	60	27.3408	1.14541	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*12.3036	3.30068

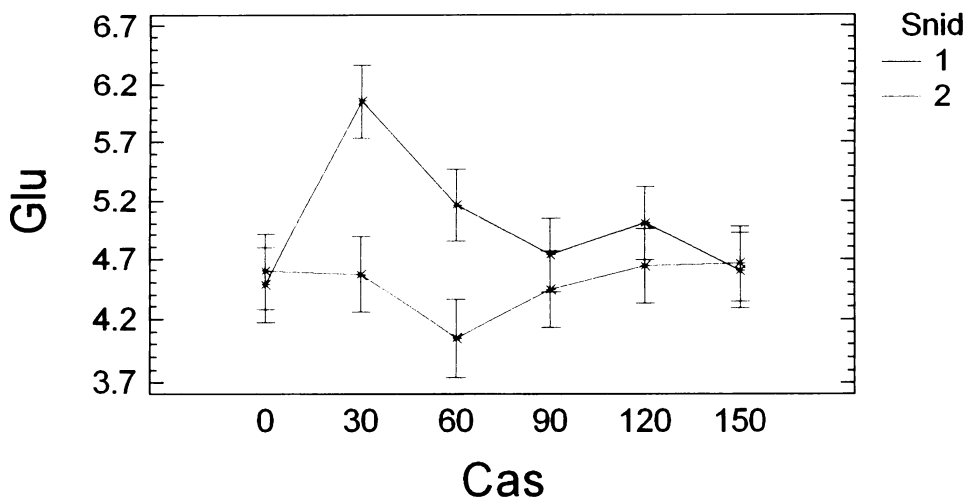
1 - 2

* denotes a statistically significant difference.

GLUKOSA

Plasmatické koncentrace glukosy jsou významně vyšší po sacharidové snídani v časech 30 a 60 minutě (graf č.16, tabulka č.18).

Interactions and 95.0 Percent LSD Intervals



Graf č.16: Průběh křivek po podání dvou typů snídání vyjadřující změny v plasmatických koncentracích glukosy. Glukosa je v mmol/l a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot glukosy při snídání jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.18: Statistické porovnání průběhu křivek glukosy po sacharidové a proteinové snídání. Významný rozdíl průměrných koncentrací glukosy po podání sacharidové (č.1) a proteinové snídaně (č.2) je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, $* = p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	60	4.4985	0.0899882	X
1	60	5.0115	0.0899882	X
Contrast		Difference	+/- Limits	
1 - 2		*0.513	0.25632	

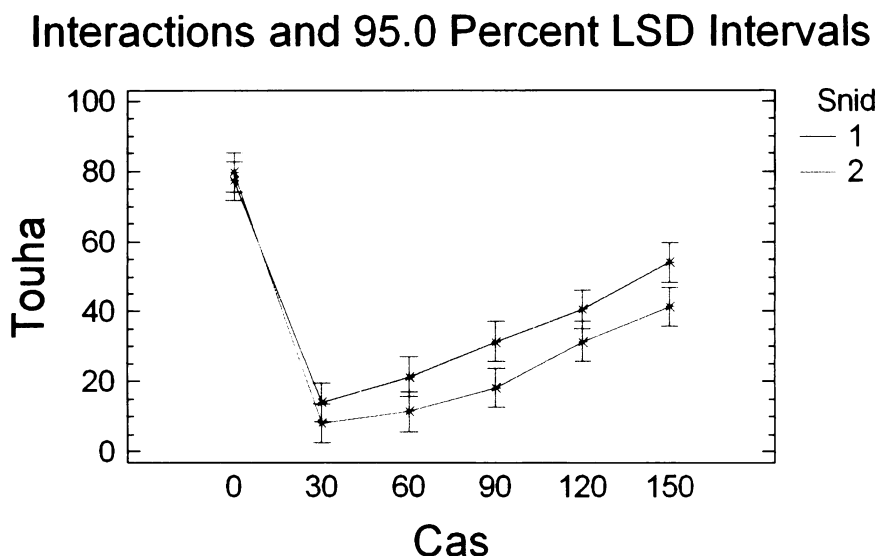
* denotes a statistically significant difference.

4. část:

STATISTICKÉ POROVNÁNÍ PRŮBĚHU KŘIVEK POCITŮ HLADU A SYTOSTI PO SACHARIDOVÉ A PROTEINOVÉ SNÍDANI

1. Otázka: Jaká je vaše touha najíst se?

Touha jíst je statisticky významně vyšší po sacharidové snídani v 90 a 150 minutě než po proteinové snídani (graf č.17, tabulka č.19).



Graf č.17: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v touze najíst se. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot touhy najíst se při snídani jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.19: **Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Jaká je vaše touha najíst se?**

Významný rozdíl průměrných hodnot touhy najíst se po podání sacharidové snídaně (č.1) a proteinové snídaně (č.2) je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, * = $p < 0,01$.

Method: 99.0 percent LSD

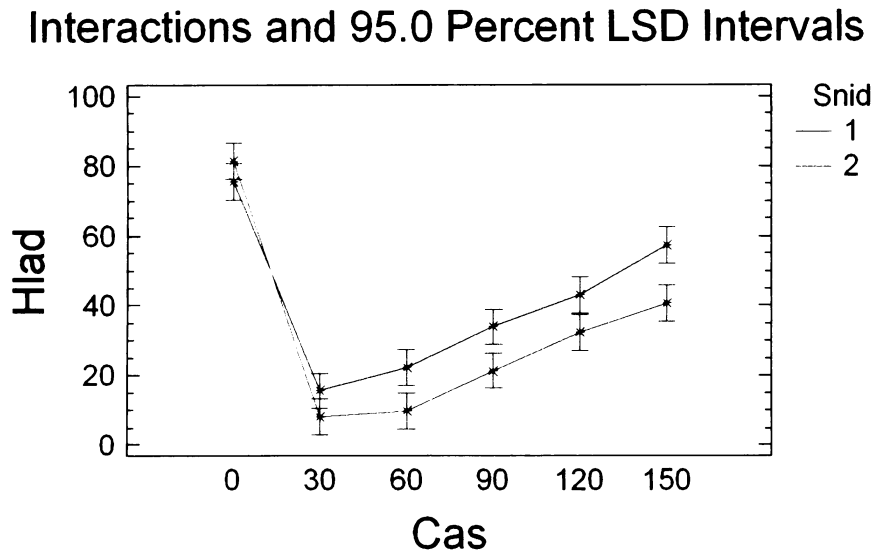
Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	36	31.9444	1.55655	X
1	36	40.0	1.55655	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*8.05556	4.53365

* denotes a statistically significant difference.

2. Otázka: **Jak velký hlad pociťujete?**

Pocit hladu je statisticky významně vyšší po sacharidové snídani v 60, 90, 150 minutě než po proteinové snídani (graf č.18, tabulka č.20).



Graf č.18: Průběh křivek po podání dvou typů snídání vyjadřuje změny ve velikosti hladu. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot velikosti hladu při snídání jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.20: **Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Jak velký hlad pociťujete?**

Významný rozdíl průměrných hodnot hladu po podání snídaně jedna a dvě je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, * = $p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

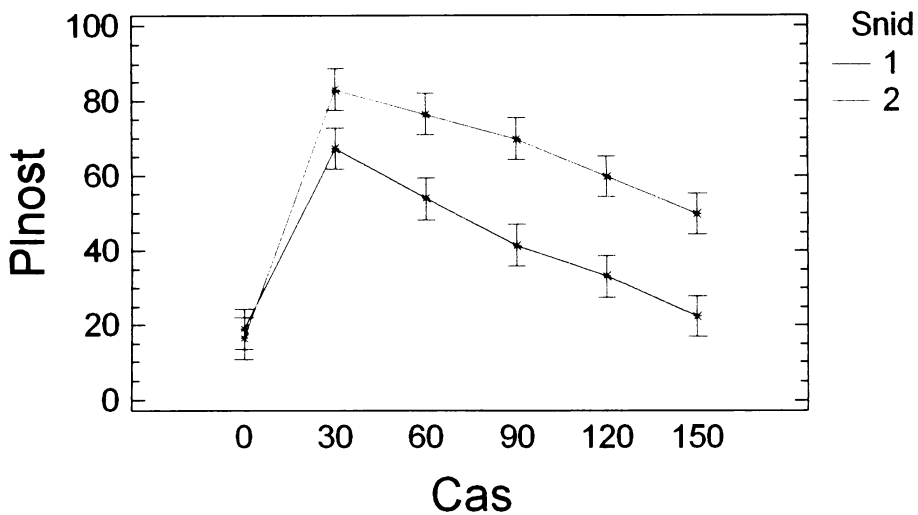
Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	36	32.5	1.43547	X
1	36	41.5278	1.43547	X
Contrast		Difference	+/- Limits	
1 - 2		*9.02778	4.18099	

* denotes a statistically significant difference.

3. Otázka: Jak plná se cítíte?

Pocit plnosti je statisticky významně nižší po sacharidové snídani v 30, 60, 90, 120, 150 minutě než po proteinové snídani (graf č.19, tabulka č.21).

Interactions and 95.0 Percent LSD Intervals



Graf č.19: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v pocitu plnosti. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot pocitu plnosti při snídani jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.21: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Jak plný se cítíte?

Významný rozdíl průměrných hodnot pocitu plnosti po podání snídaně jedna a dvě je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, $* = p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	36	39.7222	1.55655	X
2	36	59.4444	1.55655	X

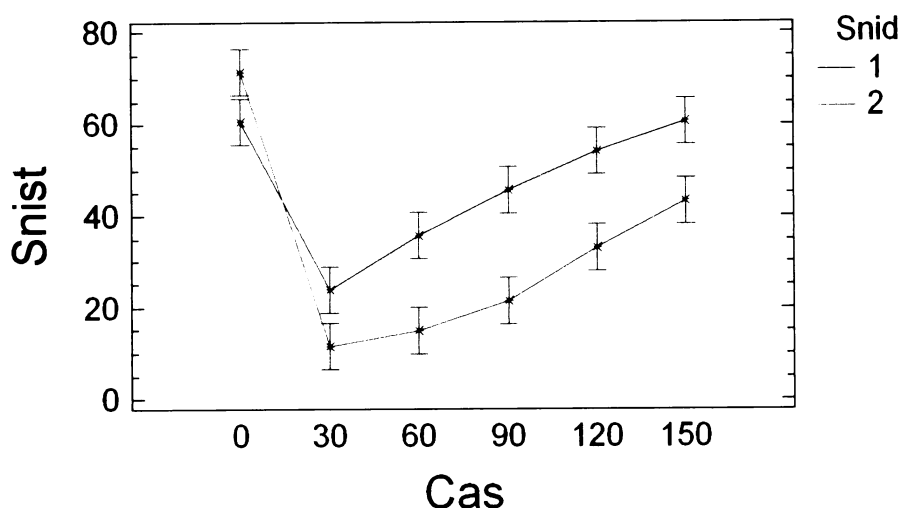
Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*-19.7222	4.53365

* denotes a statistically significant difference.

4. Otázka: Jak moc byste toho nyní mohla sníst?

Pocit kolik byste toho mohli sníst je statisticky významně vyšší po sacharidové snídani v 30, 60, 90, 120, 150 minutě než po proteinové snídani (graf č.20, tabulka č.22).

Interactions and 95.0 Percent LSD Intervals



Graf č.20: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v množství kolik sníst. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot množství kolik sníst při snídani jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.22: **Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Jak moc byste toho nyní mohli sníst?**

Významný rozdíl průměrných hodnot množství kolik sníst po podání snídaně jedna a dvě je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, * = $p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

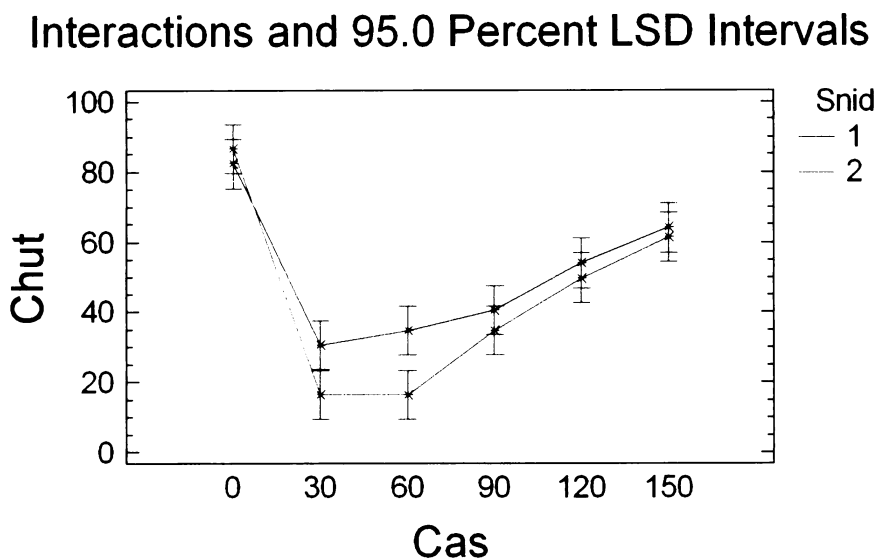
Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	36	32.7778	1.42075	X
1	36	46.9444	1.42075	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*14.1667	4.13811

* denotes a statistically significant difference.

5.Otázka: Máte na něco chuť?

Pocit chuti na něco je statisticky významně vyšší po sacharidové snídani než po proteinové snídani v 60 minutě (graf č.21, tabulka č.23).



Graf č.21: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v chuti na něco. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot chuti na něco při snídani jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.23: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Máte na něco chuť?

Významný rozdíl průměrných hodnot chuti na něco po podání snídaně jedna a dvě je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, $* = p < 0,05$.

Method: 95.0 percent LSD

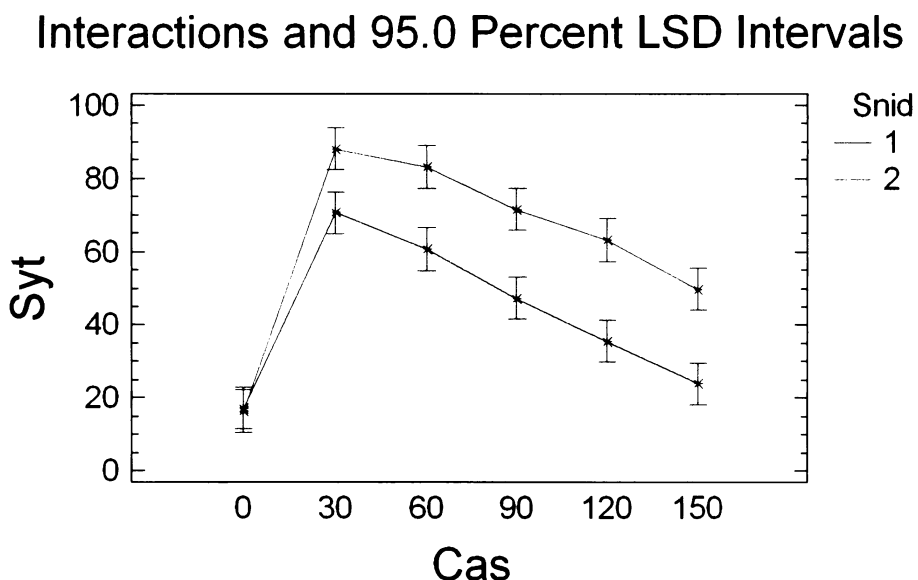
Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	36	44.4444	1.94375	X
1	36	51.25	1.94375	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 - 2	*6.80556	5.66143

* denotes a statistically significant difference.

6. Otázka: Máte pocit sytosti?

Pocitu sytosti je statisticky významně vyšší po proteinové snídani než po sacharidové snídani 30, 60, 90, 120, 150 minutě (graf č.22, tabulka č.24).



Graf č.22: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v pocitu sytosti. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách. Rozdíly průměrných hodnot pocitu sytosti při snídani jedna a dvě jsou zobrazeny pomocí Fisherova LSD testu, $\alpha = 5\%$. Sacharidová snídaně - číslo 1 (modrá), proteinová snídaně - číslo 2 (červená).

Tabulka č.24: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Máte pocit sytosti?

Významný rozdíl průměrných hodnot pocitu sytosti po podání snídaně jedna a dvě je potvrzen pomocí Fisherova LSD testu, $* = p < 0,001$.

Method: 99.9 percent LSD

Snid	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	36	42.7778	1.61637	X
2	36	62.2222	1.61637	X
Contrast		Difference	+/- Limits	
1 - 2		*-19.4444	4.7079	

* denotes a statistically significant difference.

5. část:

STATISTICKÉ VYJÁDŘENÍ VZÁJEMNÝCH ZÁVISLOSTÍ MEZI HLADINAMI JEDNOTLIVÝCH HORMONŮ A MEZI HLADINAMI HORMONŮ A POCITY HLADU A SYTOSTI.

Tabulka č.25: Statisticky významné závislosti hladin ghrelinů po sacharidové a proteinové snídani. Hodnoty v tabulce vyjadřují p-value a jsou získány metodou Spearmanových korelací. Statisticky významná závislost je zvýrazněna barevně.

	Total ghrelin	Acyl ghrelin
Acyl ghrelin	kladná korelace	x
		x
Desacyl ghrelin	kladná korelace	kladná korelace
	Total ghrelin	Acyl ghrelin
Acyl ghrelin	kladná korelace	x
		x
Desacyl ghrelin	kladná korelace	kladná korelace

Tabulka č.26: Závislosti hladin ghrelinů, insulinu a glukosy po sacharidové a proteinové snídani. Hodnoty v tabulce vyjadřují p-value a jsou získány metodou Spearmanových korelací. Statisticky významná závislost je zvýrazněna barevně.

	Insulin	Glukosa
Total ghrelin	záporná korelace	záporná korelace
	0.136	0.540
Acyl ghrelin	záporná korelace	záporná korelace
	0.069	0.912
Desacyl ghrelin	záporná korelace	záporná korelace
	0.093	0.541
	Insulin	Glukosa
Total ghrelin	záporná korelace	záporná korelace
	0.112	
Acyl ghrelin	záporná korelace	záporná korelace
		0.979
Desacyl ghrelin	záporná korelace	záporná korelace
	0.275	

Tabulka č.27: Závislosti hladin ghrelinů a pocitů hladu a sytosti po sacharidové a proteinové snídani. Hodnoty v tabulce vyjadřují p-value a jsou získány metodou Spearmanových korelací. Statisticky významná závislost je zvýrazněna barevně.

	ACYL GHRELIN	DESACYL GHRELIN	TOTAL GHRELIN	INSULIN
TOUHA NAJÍST SE	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace	záporná korelace
	0.0546	0.1742		
VELIKOST HLADU	kladná korelace	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace
	0.0022	0.0839	0.1663	
POCIT PLNOSTI	záporná korelace	záporná korelace	záporná korelace	kladná korelace
KOLIK MŮŽETE SNÍST	kladná korelace	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace
	0.2039	0.8443	0.4509	
CHUŤ NA NĚCO	kladná korelace	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace
POCIT SYTOSTI	záporná korelace	záporná korelace	záporná korelace	kladná korelace
	ACYL GHRELIN	DESACYL GHRELIN	TOTAL GHRELIN	INSULIN
TOUHA NAJÍST SE	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace	záporná korelace
	0.3284	0.939	0.9688	
VELIKOST HLADU	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace	záporná korelace
	0.1603	0.2066	0.7137	
POCIT PLNOSTI	záporná korelace	záporná korelace	záporná korelace	kladná korelace
	0.1603	0.0652	0.6838	
KOLIK MŮŽETE SNÍST	kladná korelace	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace
	0.3585	0.4100	0.6567	
CHUŤ NA NĚCO	kladná korelace	kladná korelace	kladná korelace	záporná korelace
	0.2621	0.0446	0.7242	
POCIT SYTOSTI	záporná korelace	záporná korelace	záporná korelace	kladná korelace
	0.4755	0.4717	0.9565	

6. DISKUSE

Řada studií z poslední doby ukázala, že ghrelin je gastrointestinální hormon, podílející se na regulaci příjmu potravy, který je produkován hlavně v žaludku, ale také v dalších centrálních i periferních orgánech (Lely et al., 2004; Ambrogi et al., 2003; Hosoda et al., 2002 a další). Po každém jídle dochází k poklesu plasmatické koncentrace ghreluinu mezi 30 – 120 minutou u zdravých osob (Dostálová, 2003), ale zatím zůstává nejasné, jakým způsobem je tento pokles regulován.

U osob s poruchami příjmu potravy, kam patří zejména anorexia nervosa, bulimia nervosa a obesita, je přirozená fyziologická regulace ghreluinu narušena. U pacientů s anorexia nervosa postprandiální pokles ghreluinu chybí a dochází k trvalému zvýšení hladin ghreluinu (St-Pierre et al., 2003; Nedvídková et al., 2003). Teprve po opětovném nárůstu hmotnosti a zvýšení BMI se hladiny ghreluinu vracejí na normální úroveň (Otto et al., 2001, Tschop et al., 2001). Také u obézních pacientů dochází ke změnám hladin plasmatického ghreluinu, které jsou naopak trvale snižené a tito pacienti po jídle nevykazují žádný pokles ghreluinu (English et al., 2002). Po ztrátě hmotnosti způsobené dietou se hladina ghreluinu opět zvyšuje (Cummings et al., 2002).

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na sledování několika hlavních forem ghreluinu, a to acyl (aktivního) ghreluinu a desacyl (neaktivního) ghreluinu, které jsou složkami total ghreluinu. Na postprandiální pokles hladin ghreluinu mohou mít vliv různé faktory: zastoupení makronutrientů v potravě (Erdmann et al., 2004; Ukolla et al., 2005), distenze žaludku (Dostálová, 2003) nebo kalorická hodnota potravy (Dostálová, 2003; Callahan et al., 2004). Vlivu distenze žaludku a kalorické hodnoty jsem se snažila vyvarovat podáním pevné potravy v obou typech snídaní a jejich isokalorickou hodnotou. Cílem této práce je přispět k objasnění úlohy jednotlivých forem ghreluinu během příjmu potravy u zdravých osob, a to ve vztahu k různým typům přijatých makronutrientů (sacharidům a proteinům). Tato studie byla vytvořena, aby přispěla k novým poznatkům o regulaci ghreluinu, které budou následně využity i pro pacienty s poruchami příjmu potravy. Kojima uvádí, že potlačení poklesu postprandiální hladiny ghreluinu může souviset s potlačením pocitu hladu (Kojima et al., 2005b), a také další autoři našli významný vztah mezi hladinou ghreluinu a pocitu hladu a sytosti (Bloom et al., 2005). Proto jsem zařadila do své práce dotazník, kterým jsem zjišťovala pocitu hladu a sytosti po jednotlivých snídaních, obsahujících různé makronutrienty.

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že významnou úlohu v postprandiálním poklesu plasmatické hladiny ghrelinu hrají sacharidy. Po přijetí sacharidové snídane dochází ke statisticky významnému poklesu plasmatického acyl ghrelinu v 30 a 60 minutě, v 30 minutě se dostává na minimum (42% bazální hodnoty). Total ghrelin významně klesá v 30, 60, 90, 120 a 150 minutě vzhledem k bazální hodnotě, přičemž nejnižší pokles na 78% preprandiální hladiny je v 60 minutě. Nalezený pokles hladin acyl a total ghrelinu po sacharidech je v souladu s výsledky předchozích studií (Monteleone et al, 2003; Erdmann et al., 2004). Desacyl ghrelin po sacharidové snídani vzhledem k bazálním hodnotám také významně klesá, a to ve stejných časech jako total ghrelin.

Po proteinové snídani hladina acyl ghrelinu nejprve mírně klesá a poté významně stoupá ve 120 minutě pokusu (na 142% bazální hodnoty). U total ghrelinu dochází k významnému poklesu v 60 minutě (88,36% bazální hodnoty) a následnému zvýšení hladiny v 90 minutě, které ale není významné. Tento vzestup, který je však stále nižší než bazální koncentrace total ghrelinu, souvisí pravděpodobně s vzestupem acyl ghrelinu v 120 minutě. Zjištěné výsledky, postprandiální snížení hladin ghrelinů po sacharidech i zvýšení po proteinech, jsou v souladu s předchozími studiemi (Monteleone et al., 2003; Erdmann et al., 2004; Ukolla et al., 2005). Desacyl ghrelin se po proteinové snídani významně neměnil.

Dále jsem sledovala vzájemné korelace mezi jednotlivými formami ghrelinu. Podle mých zjištění acyl, desacyl i total ghrelin navzájem korelují pozitivně a statisticky významně po obou typech snídání. Průběh křivky acyl ghrelinu je podobný křivce total ghrelinu s časovým posunutím o 30 minut (pokles na minimální hodnotu u acyl ghrelinu v 30 minutě a u total ghrelinu v 60 minutě). To by odpovídalo předchozím studiím, že acyl ghrelin je aktivní složkou total ghrelinu (Hosoda et al., 2002; Ambroggi et al., 2003). Acyl ghrelin reaguje na příjem sacharidů rychleji než total ghrelin, u kterého mohou mít vliv i jeho další složky (desacyl ghrelin). Tyto výsledky současně naznačují, že ani desacyl ghrelin není zcela neaktivní a pravděpodobně se také účastní regulace příjmu potravy. Získané údaje vypovídají o tom, že regulace hladin různých forem ghrelinu se po obou typech makronutrientů zásadně liší a zřejmě souvisí s rozdílným metabolismem sacharidů a proteinů.

Rozdílné chování ghrelinů po jednotlivých makronutrientech by mohlo souviset s hladinami insulinu (Purnell et. al., 2003; Erdmann et al., 2004). Po sacharidové snídani je významný vzestup insulinu v 30, 60, 90, 120 a 150 minutě (s maximem v 30 minutě –

783%) vzhledem k bazální hodnotě. Ve stejných časech dochází k statisticky významnému poklesu total ghrelinu, ale korelace mezi total ghrelinem a insulinem nebyla nalezena jako statisticky průkazná. Stejnou tendenci k negativní korelaci jsem našla mezi acyl ghrelinem a insulinem (minimum acyl ghrelinu je ve 30 minutě). Neprůkaznost této korelace může být způsobena malým počtem probandek v sledovaném souboru (N=10) a je pravděpodobné, že ve větším souboru by tato negativní korelace významná. Negativní korelace insulinu a ghrelinu byla prezentována v několika studiích - Saad et al, 2002; Lucidi et al., 2002; Flanagan et al., 2003; Murdolo et al., 2003; Purnell et al., 2003; Erdmann et al., 2004. Po proteinové snídani hladina insulinu také významně stoupá (30, 60, 120 min.), k největšímu zvýšení insulinu (maximum 508%) vzhledem k bazální hodnotě dochází 30 minut po přijetí potravy. Nalezená negativní korelace s total ghrelinem nebyla statisticky průkazná, ale významnou negativní korelaci jsem našla mezi acyl ghrelinem a insulinem. Velký rozdíl je v naměřených hodnotách insulinu po jednotlivých snídaních, kdy po sacharidové snídani nabývá insulin daleko vyšších průměrných hodnot, než po snídani proteinové.

Dalším regulačním faktorem v poklesu ghrelinu po jídle se zdála být podle předchozích studií glukosa (Shyia et al., 2002; Caixas et al., 2002). Po sacharidové snídani došlo ve 30 minutě ke statisticky významnému vzestupu glukosy (na 135% bazální hodnoty), po proteinové snídani k vzestupu glukosy nedošlo během celého pokusu. Nenašla jsem žádnou významnou korelaci mezi glukosou a ghreliny po sacharidech, což je v rozporu s některými studii (Shiia et al., 2002; Caixas et al., 2002). Po proteinové snídani jsem korelace glukosy a ghrelinů nebrala v úvahu, protože hladiny glukosy nestoupily do 120 minuty po podání potravy.

Dotazník pocitů hladu a sytosti, který probandky vyplňovaly vždy při jednotlivých odběrech krve, byl získán a vyhodnocen u šesti žen. Zjistila jsem, že po sacharidové snídani se ženám dříve navracela touha jíst a hlad a dříve měly pocit, že už by opět mohly něco sníst. Naopak pocit plnosti břicha a pocit sytosti déle přetrvával po proteinové snídani. Chuť na něco se významně lišila pouze v 60 minutě, kdy byla vyšší po sacharidové snídani. Tato zjištění jsou v souladu se známou sytící kapacitou jednotlivých nutrientů, která je nejvyšší u proteinů, následují sacharidy (kde je však sytící účinek krátkodobý) a nejnižší sytící kapacitu mají tuky (Fisher et al., 2004). Podle Sancheze se v souvislosti se sytící kapacitou jednotlivých makronutrientů liší postprandiální pokles produkce ghrelinu v žaludku a plasmatické změny v hladinách ghrelinu v jeho pokusech

byly spojeny se změnami pocitu hladu (Sanchez et al., 2004) a sytosti, což potvrzuje i studie Bloom (Bloom et al., 2005).

Nalezla jsem významný rozdílný vliv jednotlivých makronutrientů na vztahy mezi hladinami hormonů a pocity hladu a sytosti. Po sacharidové snídani je významná pozitivní korelace acyl i total ghrelinu s touhou jíst a chutí na něco, negativní korelace obou forem hormonu s pocitem plnosti a sytosti. Rozdílné výsledky jsou u pocitu hladu, kdy byla nalezena významná pozitivní korelace pouze s acyl ghrelinem. Po proteinové snídani jsem nenalezla žádný významný vztah mezi ghreliny a sledovanými pocity.

Sledovala jsem také vztahy mezi hladinami insulinu a pocity hladu a sytosti. Zjistila jsem, že insulin významně koreluje se všemi pocity po sacharidové i proteinové snídani. Tento náález je prioritní a mohl by být předmětem dalšího zkoumání.

Souhrnně z uvedených výsledků vyplývá, že změny v plasmatických koncentracích jednotlivých forem ghrelinu se po příjmu sacharidů a proteinů zásadně liší. Po sacharidech hladina acyl i total ghrelinu klesá, zatímco po proteinech vzrůstá. Po sacharidech jsem také našla průkazné vztahy mezi ghreliny a většinou pocitů hladu a sytosti, na rozdíl od proteinů. Vzrůst plasmatických hladin ghrelinu po proteinech je tedy zřejmě výsledkem různého zpracování sacharidů a proteinů organismem.

K objasnění rozdílného mechanismu působení ghrelinů po sacharidech a proteinech bude třeba dalších, rozsáhlejších studií. Dosažené výsledky mohou přispět ke stanovení vhodného dietního režimu při poruchách příjmu potravy jako je anorexia nervosa, bulimia nervosa, obesita a další.

7. ZÁVĚR

Diplomová práce sledovala změny v plasmatických koncentracích gastrointestinálního hormonu ghrelinu a jeho jednotlivých forem po podání sacharidů a proteinů. Ve studii bylo 10 zdravých žen ve věku 18 – 30 let a tyto ženy tvořily kontrolní soubor k pacientkám s poruchami příjmu potravy (anorexia nervosa a bulimia nervosa). Stanovovala jsem acyl ghrelin, desacyl ghrelin, total ghrelin, insulin a glukosu po obou typech snídaní. Dále mě zajímaly pocity hladu a sytosti a jejich případné vztahy s těmito hormony. Získané výsledky mají přispět k objasnění regulace příjmu potravy u zdravých žen a následnému využití těchto dat pro porovnání s pacientkami s poruchami příjmu potravy.

Získané výsledky lze shrnout do těchto bodů:

1. Plasmatické koncentrace ghrelinů se po sacharidové snídani měnily výrazně jinak než po proteinové snídani. Po sacharidové snídani nastává významný pokles u acyl, desacyl i total ghrelinu. Pokles na minimální hodnotu u všech tří forem hormonu nastal do 60 minuty po jídle.
2. Po proteinové snídani dochází k významnému vzestupu acyl ghrelinu, kterému předchází mírné zvýšení total ghrelinu. Desacyl ghrelin se významně nemění.
3. Acyl, desacyl i total ghrelin spolu vzájemně kladně korelují po jednotlivých typech snídaní.
4. Plasmatická koncentrace insulinu významně vzrůstá po obou typech snídaní, přičemž po sacharidové snídani nabývá mnohem vyšších hodnot. Glukosa po sacharidové snídani významně stoupá pouze ve 30 minutě, po proteinové snídani se průkazně nemění.
5. Negativní korelace mezi všemi formami ghrelinu a insulinem po sacharidové snídani nebyla nalezena jako statisticky významná. Po proteinové snídani byla průkazná negativní korelace mezi acyl ghrelinem a insulinem.

6. Pocity hladu a sytosti korelovaly s ghreliny po sacharidové snídani, zatímco po proteinové snídani jsem nenalezla žádné významné vztahy.
7. Insulin koreluje se všemi pocity hladu a sytosti po sacharidové i proteinové snídani.

Výsledkem této diplomové práce je, že plasmatické hladiny ghrelinu, insulinu i pocitů hladu a sytosti se významně liší v závislosti na typu přijatého makronutrientu. Získané údaje přispívají k dalším poznatkům v oblasti regulace příjmu potravy.

8. SEZNAM POUŽITÉ A CITOVANÉ LITERATURY

1. Ambrogi M., Volpe S., Tamanini C.: Ghrelin: central and peripheral effects of a novel peptidyl hormone. *Medical Science Monitor* 2003, 9(9): RA217-224.
2. Arosio M., Ronchi C.L., Beck-Peccoz P., Gebbia C., Giavoli C., Cappiello V., Conte D., Peracchi M.: Effects of modified sham feeding on ghrelin levels in healthy human subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 89(10):5101–5104.
3. Asakawa A., Inui A., Fujimiya M., Sakamaki R., Shinfuku N., Ueta Y., Meguid M. M. and Kasuga M.: Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacylated ghrelin. *Gut* 2005,54;18-24.
4. Banks A. W., Tschop M., Robinson S.M., Heiman M.L.: Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2002, Vol. 302, No. 2, 302:822–827.
5. Bloom W.A.M., Stafleu A., Graff C., Kok F. J., Schaafsma G., Hendriks H.F.J.: Ghrelin response to carbohydrate-enriched breakfast is related to insulin. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005, 81:367-375.
6. Broglio F., Gottero C., Benso A., Prodam F., Destefanis S., Gauna C., Maccario M., Deghenghi R., Van Der Lely A. J., Ghigo E.: Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine, or free fatty acids load in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003, 88(9):4268–4272.
7. Broglio F., Gottero C., Prodam F., Gauna C., Muccioli G., Papotti M., Abribat T., Van Der Lely A.J., Ghigo E.: Non acylated ghrelin counteracts the metabolis but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004a, 89(6):3062–3065.

8. Broglio F., Gottero C., Van Koetsveld P., Prodam F., Destefanis S., Benso A., Gauna C., Hofland L., Arvat E., Van Der Lely A.J, Ghigo E.: Acetylcholine regulates ghrelin secretion in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004b, 89(5):2429–2433.
9. Caixas A., Bashore C., Nash W., Pi-Sunier Fx., Larerrère B.: Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subject. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002, 87(4):1902–1906.
10. Callahan H.S., Cummings D.E., Pepe M.S., Breen P.A., Matthys C.C., Weigle D.S.: Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 89(3):1319–1324.
11. Cummings D.E., Purnell J.Q., Scott Frayo R., Schmidova K., Wisse B.E., Weigle D.S.: A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001, Volume. 50.,1714-1719.
12. Cummings D. E., Weigle M. D., Frayo S.C., Bren P., Dellinger E. P., Purnell J. Q.: Plasma ghrelin levels after diet- induced weight loss or gastric bypass surgery. *The New England Journal of Medicine* 2002, vol. 346, No 21.
13. Cummings D. E., Scott Frayo R., Marmonier C., Aubert R., Chapelot D.: Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 2004, 287:297-304.
14. Dostálová I.: Diplomová práce – Zapojení leptinu a ghrelinu do regulace příjmu potravy u mentální anorexie. *Universita Karlova, Přírodovědecká fakulta, katedra fyziologie živočichů a vývojové biologie. Praha 2003.*
15. Elfhag K., Rossner S.: Who succeeds in maintaining weight loss? A conceptual review of factors associated with weight loss maintenance and weight regain. *Obesity Reviews* 2005, 6(1): 67-85.

16. English P.J., Ghatei M.A, Malik I.A., Bloom S.R., Wilding J.P.H.: Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002, 87(6):2984–2987.
17. Erdmann J., Topsch R., Lippl F., Gussmann P., Schusdziarra V.: Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin and glucose. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 89(6):3048–3054.
18. Fisher K., Colombani P.Cp, Wenk C.: Metabolic and cognitive coefficients in the development of hunger sensations after pure macronutrients ingestion in the morning. *Apetite* 2004, 42(1): 49-61.
19. Flanagan D.E., Evans M.L., Monsod T.P., Rief F., Heptulla R.A., Tamborlane W.V., Sherwin R.S.: The influence of insulin on circulating ghrelin. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 2003, 284: E313–E316.
20. Ganong W.F.: *Přehled lékařské fyziologie*. Nakladatelství a vydavatelství H and H 1995, 681 stran.
21. Gauna C., Meyler F.M., Janssen J.A.M.J.L., Delhanty P.J.D., Abribat T., Van Koetsveld P., Hofladn J. L., Broglio F., Ghigo E., Van Der Lely A. J.: Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity, whereas the combination of acylated plus unacylated ghrelin strongly improves insulin sensitivity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 89(10):5035–5042.
22. Ghigo E.: *Ghrelin*. Kluwer Academic Publishers, 2004, 257 stran.
23. Greenman Y., Golani N., Giland S., Yron M., Limor R., Stern N.: “ Ghrelin secretion is modulated in a nutriet- and gender- specific manner. *Clinical endocrinology* 2004, 60(3):382-388.

24. Horvath T.L., Diano S., Sotonyi P., Heiman M., Tschop M.: Minireview: Ghrelin and the Regulation of energy balance—a hypothalamic perspective. *Endocrinology* 2001, 142(10):4163–4169.
25. Hosoda H., Kojima M., Kangawa K., Ghrelin and the Regulation of Food Intake and Energy Balance. *Molecular Interventions* 2002, volume 2, issue 8, 494 – 503.
26. Hotta M., Ohwada R., Katakami H., Shibasaki T., Hizuka N., Takano K.: Plasma levels of intact and degraded ghrelin and their responses to glucose infusion in anorexia nervosa. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 89(11):5707–5712.
27. Inui A.: Cancer anorexia – cachexia syndrom: curvent issues in research and management. *A cancer journal for clinicians* 2002, 52,72-91.
28. Inui A., Asakawa A., Bowers C.Y., Mantovani G., Laviano A., Meguid M.M., Fujimya M.: Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. *The FASEB Journal* 2004, Vol. 18, 439-456.
29. Katsuki A., Urakawa H., Gabazza E.C., Murashima S., Nakatani K., Togashi K., Yano Y., Adachi Y., Sumida Y.: Circulating levels of active ghrelin is associated with abdominal adiposity, hyperinsulinemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *European Journal of Endocrinology* 2004, 151 573–577.
30. Kojima M., Kangawa A.K.: Ghrelin: sturcture and function. *Physiological Reviews* 2005a, 85: 495-522 .
31. Kojima S. M., Nakahara T., Nagai N., Muranaga T., Tanaka M., Yasuhara D., Masuda A., Date Y., Ueno H., Nakazato M., Naruo T.: Altered ghrelin and peptide YY responses to meals in bulimia nervosa. *Clinical Endocrinology* 2005b, 62, 74-78.
32. Korbonits M., Grossman A.B.: Ghrelin: update on a novel hormonal system. *European Journal of Endocrinology* 2004, 151 S67–S70.

33. Krch F.D., Poruchy příjmu potravy. Grada, 2005, 255 stran.
34. Krykorková I., Nedvídková J.: Nedávno objevené hormony s účastí v energetické homeostázi. Časopis lékařů českých 2003, 142, No 2, pp. 80-83.
35. Lely Van Der A.J., Tschop M., Heiman M.L., Ghigo E.: Biological, Physiological, Pathophysiological, and Pharmacological aspects of ghrelin. Endocrine reviews 2004, 25(3):426–457.
36. Lucidi P., Murdolo G., Di Loreto C., De Cicco A., Parlanti N., Fanelli C., Santeusanio F., Bolli G.B., De Feo P.: Ghrelin is not necessary for adequate hormonal counterregulation of insulin-induced hypoglycemia. Diabetes 2002, Volume 51, 2911-2914.
37. Malagon M.M., Luque R.M., Ruiz-Guerrero E., Rodriguez-Pacheco F., Garcia-Navarro S., Casanueva F.F., Gracia-Navarro F., Castano J.P.: Intracellular signaling mechanisms mediating ghrelin - stimulated growth hormone release in somatotrophs. Endocrinology 2003, 144(12):5372–5380.
38. Mohlig M., Spranger J., Otto B., Ristow M., Tschop M., Pfeiffer A.F.H.: Euglycemic hyperinsulinemia, but not lipid infusion, decreases circulating ghrelin levels in humans. Journal of Endocrinological Investigation 2002, 25: RC36-RC38.
39. Monteleone P., Bencivenga R., Longobardi N., Serritella C., Maj M.: Differential responses of circulating ghrelin to high-fat or high-carbohydrate meal in healthy women. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2003, 88(11):5510–5514.
40. Murdolo G., Lucidi P., Di Loreto Ch., Parlanti N., De Cicco A., Fatone C., Fanelli C.G., Bolli G.B., Santeusanio F., De Feo P.: Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. Diabetes 2003, Volume 52, 2923-2927.

41. Nedvídková J., Krykorková I., Barták V., Papežová H., Gold P.W., Alesci S., Pacák K.: Loss of meal-induced decrease in plasma levels in patients with anorexia nervosa. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003, 88(4):1678–1682.
42. Otto B., Cuntz U., Freuhauf E., Wawarta R., Folwaczny C., Riepl R. L., Heiman M. L., Fichter M., Tschop M.: Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *European Journal of Endocrinology* 2001, 145 R5 - R9, ISSN 0804-4643.
43. Pfaff D.W., Philips M.I, Rubin R.T.: *Principles of Hormone/Behavior Relations*. Elsevier Academic Press, 2004, 335 stran.
44. Purnell J.Q., Weigle D.S., Wreen P., Cummings D.E.: Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003, 88(12):5747–5752..
45. Saad M.F., Bernaba B., Hwu Ch.M., Jinagouda S., Fahmi S., Kogosov E., Boyjadjin R.: Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002, 87(8):3997–4000.
46. Sanchez J., Oliver P., Palou A., Pico C.: The inhibition of gastric ghrelin production by food intake in rats is dependent on the type of macronutrient. *Endocrinology* 2004, 145(11):5049–5055.
47. Shiiya T., Nakazato M., Mizuta M., Date Y., Mondal M.S., 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. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002, 87(1):240–244.
48. 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* 2003, Volume 52, 16-20.

49. Spranger J., Ristow M., Otto B., Heldwein W., Tschop M., Pfeiffer A.F.H., Mohlig M.: Post-prandial decrease of human plasma ghrelin in the absence of insulin. *Journal of Endocrinological Investigation* 2003, 26: RC19-RC22.
50. St-Pierre H.D., Wang L., Taché Y.: Ghrelin: a novel player in the gut-brain regulation of growth hormone and energy balance. *News in Physiological Sciences* 2003, 18: 242-246.
51. St-Pierre D.H., Karelis A.D., Cianflone K., Conus F., Mignault D., Rabasa-Lhoret R., St-onge M., Tremblay-Lebeau A.A., Poehleman E.T.: Relationship between ghrelin and energy expenditure in healthy young women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 5993–5997.
52. Strader A.D., Woods C.S.: Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology* 2005, 128: 175-191.
53. 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. *European Journal of Endocrinology* 2002, 146 R1–R3 ISSN 0804-4643.
54. Tschop M., Weyer Ch., Tataranni P.A., Devanarayan V., Ravussin E., Heiman M.L.: Circulating Ghrelin Levels Are Decreased in Human Obesity. *Diabetes* 2001, Volume 50, 707-709.
55. Ueno H., Yamaguchi H., Kangawa K., Nakazato M.: Ghrelin a gastric peptid that regulates food intake and energy homeostasis. *Regulatory peptides* 2005, 126,11-19.
56. Ukolla O.: Ghrelin and the metabolic balance. *Journal of Endocrinological Investigation* 2005, 28: 849-852.

57. Weigle D.S., Cummings D.E., Newby P.D., Breen P.A., Frayo R.S., Matthys C.C., Callahan H.S., Purnell J.Q.: Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat, high carbohydrate diet. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003, 88(4):1577–1586.
58. Wren A.M., Seal J.L., Cohen M.A., Brynes A.E., Frost G.S., Murphy K.G., Dhillon W.S., Ghatei M.A., Bloom S.R.: Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001, 86(12):5992–5995.
59. Williams D.L., Grill H.J., Cummi D.E., Kaplan J.M.: Vagotomy dissociates short- and long- term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 2003, 144(12): 5184–5187.
60. Zvára K.: *Biostatistika*. Praha, Karolinum, 2001

9. SEZNAM ZKRATEK

ACTH	adrenokortikotropní hormon
AgRP	agouti related protein
alfa MSH	melanocyty stimulující hormon
ARC	nucleus arcuatus
BMI	body mass index
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CART	cocain amphetamine regulated transcript
CNS	centrální nervová soustava
CCK	cholecystokinin
CRH	corticotropin releasing hormon
GABA	gama-aminomáselná kyselina
GIT	gastrointestinální trakt
GH	ghrowth hormone
GHRH	ghrowth hormone releasing hormone
GHS	ghrowth hormone secretagogues
GHS-R	ghrowth hormone secretagogues receptor
GPCR	G protein coupled receptor
HCL	kyselina chlorovodíková
HDL	hight density lipoproteid
IGF-1	insulin like ghrowth factor 1
IP ₃	inositol trifosfát
LDL	low density lipoprotein
MCH	melanin concentrating hormon
mRNA	messenger ribonucleic acid
MSF	modified sham feeding
NPY	neuropeptid Y
NTS	nucleus tractus solitarius
ORX	orexiny
PIT 1	pituitary transcription factor
POMC	propiomelanocortin
PRL	prolaktin
PVN	paraventriculární jádro

REM	rapid eyes movement
SS	somatostatin
VMN	ventromediální jádro

10. SEZNAM OBRÁZKŮ:

Obrázek č. 1: Hypotalamické neurony ovlivněné ghrelinem

Obrázek č. 2: Hypotalamické neurony ovlivněné ghrelinem a leptinem

Obrázek č. 3: Možné cesty působení ghreluinu v hypotalamu I

Obrázek č. 4. Možné cesty působení ghreluinu v hypotalamu II

Obrázek č. 5: Možné cesty působení ghreluinu v hypotalamu a působení na tukovou tkáň

Obrázek č. 6: Struktura ghreluinu

Obrázek č. 7: Vznik acyl ghreluinu – posttranslační připojení zbytku k. oktanové

Obrázek č. 8: Fyziologické působení ghreluinu

Obrázek č. 9: Postprandiální pokles ghreluinu po jídle

Obrázek č. 10: Mentální anorexie

Obrázek č. 11: Odběr krve z kubitální žíly kontrolní osoby

Obrázek č. 12: Množství hormonů stanovované v jednotlivých časech

Obrázek č. 13: Odebrané množství krve v jednotlivých časech

Obrázek č. 14: Sacharidová a proteinová snídane

Obrázek č. 15: Dotazník pocitů sytosti a hladu

Obrázek č. 16: Informovaný souhlas

Obrázek č. 17: Zdravotní dotazník

Obrázek č. 18: Protokol pro odběr krve

Obrázek č. 19: Centrifuga

Obrázek č. 20: ELISA kit

Obrázek č. 21: Vazba specifické protilátky značené HRP na acyl ghrelin

Obrázek č. 22: Vazba specifické protilátky značené HRP na desacyl ghrelin

Obrázek č. 23: Pipetovací destička

11. SEZNAM GRAFŮ

Graf č.1: Porovnání koncentrací plasmatického acyl ghrelinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi.

Graf č.2: Porovnání koncentrací plasmatického desacyl ghrelinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi.

Graf č.3: Porovnání koncentrací plasmatického total ghrelinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi.

Graf č.4: Porovnání koncentrací plasmatického insulinu v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi.

Graf č.5: Porovnání koncentrací plasmatické glukosy v jednotlivých časech s naměřenými bazálními koncentracemi.

Graf č.6: Porovnání změn v pocitu touhy najíst se v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám.

Graf č.7: Porovnání změn ve velikosti hladu v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám.

Graf č.8: Porovnání změn v pocitu plnosti v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám.

Graf č.9: Porovnání změn množství, které mohou sníst v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám.

Graf č.10: Porovnání změn v chuti na něco v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám.

Graf č.11: Porovnání změn v pocitu sytosti v jednotlivých časech vzhledem k bazálním hodnotám.

Graf č.12: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřující změny v plasmatických koncentracích acyl ghrelinu.

Graf č.13: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřující změny v plasmatických koncentracích desacyl ghrelinu.

Graf č.14: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřující změny v plasmatických koncentracích total ghrelinu.

Graf č.15: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřující změny v plasmatických koncentracích insulínu.

Graf č.16: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřující změny v plasmatických koncentracích glukosy.

Graf č.17: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v touze najíst se. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách.

Graf č.18: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny ve velikosti hladu. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách.

Graf č.19: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v pocitu plnosti. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách.

Graf č.20: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v množství kolik sníst. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách.

Graf č.21: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v chuti na něco. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách.

Graf č.22: Průběh křivek po podání dvou typů snídaní vyjadřuje změny v pocitu sytosti. Pocity hladu a sytosti jsou v procentech a čas v minutách.

12. SEZNAM TABULEK

Tabulka č.1: Plasmatické koncentrace acyl ghrelinu (fmol/ml) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.2: Plasmatické koncentrace desacyl ghrelinu (fmol/ml) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.3: Plasmatické koncentrace total ghrelinu (pg/ml) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.4: Procentuální vyjádření poklesu nebo vzrůstu jednotlivých forem ghrelinu po sacharidové a proteinové snídani vzhledem k bazálním hodnotám (bazální hodnota = 100%). Barevně je zvýrazněn vzrůst na maximální hodnotu nebo pokles na minimální hodnotu.

Tabulka č.5: Plasmatické koncentrace insulinu (mIU/l) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.6: Plasmatické koncentrace glukosy (mmol/l) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.7: Procentuální vyjádření vzrůstu nebo poklesu insulinu a glukosy po sacharidové a proteinové snídani vzhledem k bazálním hodnotám (bazální hodnota = 100%). Barevně je zvýrazněn vzrůst na maximální hodnotu nebo pokles na minimální hodnotu.

Tabulka č.8: Touha najíst se (vyjádřená v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.9: Velikost hladu (vyjádřená v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídane.

Tabulka č.10: Pocit plnosti (vyjádřený v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Tabulka č.11: Množství kolik byste toho mohl sníst (vyjádřené v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Tabulka č.12: Jak velkou chuť na něco máte (vyjádřené v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Tabulka č.13: Jak velký pocit sytosti máte (vyjádřený v procentech) po podání sacharidové a proteinové snídaně.

Tabulka č.14: Statistické porovnání průběhu křivek acyl ghrelinu po sacharidové a proteinové snídani.

Tabulka č.15: Statistické porovnání průběhu křivek desacyl ghrelinu po sacharidové a proteinové snídani.

Tabulka č.16: Statistické porovnání průběhu křivek total ghrelinu po sacharidové a proteinové snídani.

Tabulka č.17: Statistické porovnání průběhu křivek insulinu po sacharidové a proteinové snídani.

Tabulka č.18: Statistické porovnání průběhu křivek glukosy po sacharidové a proteinové snídani.

Tabulka č.19: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Jaká je vaše touha najíst se?

Tabulka č.20: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídaně v odpovědi na otázku: Jak velký hlad pociťujete?

Tabulka č.21: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídane v odpovědi na otázku: Jak plný se cítíte?

Tabulka č.22: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídane v odpovědi na otázku: Jak moc byste toho nyní mohli sníst?

Tabulka č.23: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídane v odpovědi na otázku: Máte na něco chuť?

Tabulka č.24: Rozdílný vliv sacharidové a proteinové snídane v odpovědi na otázku: Máte pocit sytosti?

Tabulka č.25: Statisticky významné závislosti hladin ghrelinů po sacharidové a proteinové snídani. Hodnoty v tabulce vyjadřují p-value a jsou získány metodou Spearmanových korelací. Statisticky významná závislost je zvýrazněna barevně.

Tabulka č.26: Závislosti hladin ghrelinů, insulinu a glukosy po sacharidové a proteinové snídani. Hodnoty v tabulce vyjadřují p-value a jsou získány metodou Spearmanových korelací. Statisticky významná závislost je zvýrazněna barevně.

Tabulka č.27: Závislosti hladin ghrelinů a pocitů hladu a sytosti po sacharidové a proteinové snídani. Hodnoty v tabulce vyjadřují p-value a jsou získány metodou Spearmanových korelací. Statisticky významná závislost je zvýrazněna barevně.