

Biochemické markery v regulaci nutričního stavu

Bronský J.^{1,2}, Průša R.¹

¹Ústav klinické biochemie a patobiochemie UK 2. LF a FN Motol, Praha

²Pediatrická klinika UK 2. LF a FN Motol, Praha

SOUHRN

Regulace příjmu potravy a nutričního stavu organismu je komplexní děj, který se odehrává na úrovni několika orgánových systémů. Centrálním regulátorem je hypothalamus, který integruje nervové a hormonální signály z periferie a monitoruje sérové hladiny glukózy a lipidů. V hypothalamu se nacházejí neurony produkující jak orexigenní hormony zvyšující příjem potravy (neuropeptid Y, agouti-related protein, orexiny), tak anorexigenní hormony, které působí opačným mechanismem (proopiomelanokortin, kokainem a amfetaminem regulovaný transkript).

Gastrointestinální trakt je místem produkce především anorexigenních regulačních hormonů (cholecystokin, oxyntomodulin, bombesin), které zpětnovazebně prostřednictvím cirkulace a vagových zakončení ovlivňují hypothalamická centra. Jediným orexigenním peptidem tvořeným v trávicím traktu je ghrelin.

Pankreatické hormony (inzulin, pankreatický polypeptid, amylin), které ovlivňují glukózový metabolismus, regulují také příjem potravy a nutriční stav organismu přímým působením na CNS i nepřímo prostřednictvím ovlivnění glykémie.

Pohled na tukovou tkáň jako na pasivní úložiště energie je již překonán. Adipocyty produkují řadu hormonálně aktivních látek, které se podílejí jak na regulaci tělesné hmotnosti (leptin), tak insulinové senzitivity (adiponektin, rezistin).

Sérové hladiny uvedených regulačních hormonů reagují dynamicky jak na příjem potravy, tak na celkový nutriční stav organismu. Jejich periferní nebo centrální aplikace působí změnu příjmu potravy a u některých z nich byla již vyvinuta syntetická analoga, u kterých se předpokládá využití v léčbě poruch výživy u člověka. Proto jsou tyto hormony vhodné ke studiu z pohledu klinické biochemie jako potencionální biomarkery.

Klíčová slova: regulace příjmu potravy, nutriční stav, hypothalamus, orexigenní, anorexigenní.

SUMMARY

Bronský J., Průša R.: New biomarkers of nutritional status

Regulation of food intake and nutritional status is a complex process which takes place in several organ systems. Hypothalamus is the central regulator that integrates signals from the nervous system and peripheral hormones and monitors serum levels of glucose and lipids. In the hypothalamus, there are neurons producing both orexigenic hormones that increase food intake (neuropeptide Y, agouti-related protein, orexins), and anorexigenic hormones, that act in antagonistic way (proopiomelanocortin, cocaine- and amphetamine-regulated transcript). Gastrointestinal tract is mainly the source of anorexigenic regulatory hormones (cholecystokinin, oxyntomodulin, bombesin), that influence hypothalamic centres by both circulation and vagal nerves. The only orexigenic peptide produced by gastrointestinal tract is ghrelin. Pancreatic hormones (insulin, pancreatic polypeptide, amylin), that influence glucose metabolism, regulate also food intake and nutritional status of the organism both by direct action on CNS and indirectly through changes of glycaemia. Adipose tissue is not considered a passive place of energy stores anymore. Adipocytes produce quite a number of hormonally active substances that participate in the regulation of body weight (leptin), and insulin sensitivity (adiponectin, resistin).

Serum levels of above-mentioned regulatory hormones are dynamically influenced both by food intake, and general nutritional status of the organism. Peripheral or central administration leads to changes in food intake and for some of them synthetic analogues are being developed with potential future use in treatment of nutritional disorders. Thus, these hormones are suitable for studies in the field of clinical biochemistry as potential biomarkers.

Key words: regulation of food intake, nutritional status, hypothalamus, orexigenic, anorexigenic.

Úvod

Téma výživy nabývá v moderní společnosti velkého významu, především vzhledem ke vzrůstajícímu výskytu poruch nutričního stavu i poruch příjmu potravy v populaci. Na etiologii těchto změn má kromě životního stylu nezanedbatelný vliv také individuální konstituce organismu, který je vystaven sníženému nebo naopak zvýšenému příjmu živin. Pro konkrétního jedince je riziko vzniku poruchy nutričního stavu dáno jak stravovacími návyky a fyzickou aktivitou, tak jeho genetickou výbavou, která určuje bazální metabolickou spotřebu a reakci organismu za podmínek nadměrné nebo nedostatečné nabídky kalorií [1]. Na buněčné úrovni se na regulačních mechanismech podílí zejména skupina peptidových hormonů, které

jsou pro obor klinické biochemie zajímavé zejména jako potencionální biomarkery. Z terapeutického hlediska se jedná o možné budoucí cíle léčby poruch nutričního stavu.

Příjem potravy a nutriční stav organismu jsou regulovány souhrou několika systémů. Jedná se zejména o centrální nervový systém (CNS), gastrointestinální trakt (GIT) a tukovou tkáň (obr. 1). Do regulací je zapojena také štítná žláza, kosterní svalstvo a gonády.

Základním centrem regulace je hypothalamus – oblast mozku, která obsahuje skupiny neuronů uspořádaných do centra hladu a centra sytosti. Tyto neurony produkují celou řadu orexigenních a anorexigenních peptidů, které ovlivňují hypothalamická centra navzájem, ale také působí na ostatní oblasti centrálního ner-

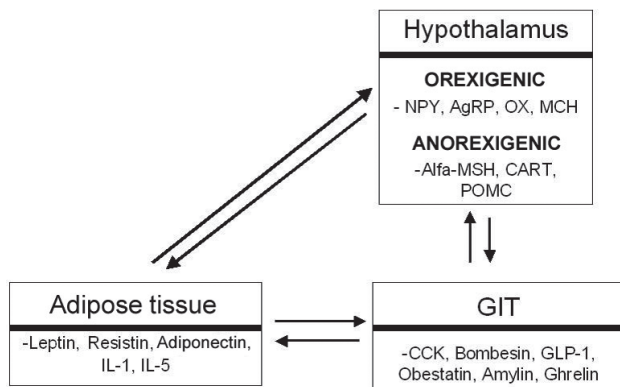


Fig. 1. Regulation of food intake and nutritional status

Legend: GIT – gastrointestinal tract, NPY – neuropeptide Y, AgRP – agouti-related protein, OX – orexins, MCH – melanin concentrating hormone, POMC – proopiomelanocortin, alpha-MSH – melanocortin, CART – cocaine- and amphetamine-regulated transcript, CCK – cholecystokinin, GLP-1 – glucagon-like peptide-1, IL-1, IL-6 – interleukines 1 and 6

vového systému a koordinují tak komplexní odpověď organismu na stav výživy a aktuální příjem kalorií. K těmto oblastem patří centra spánku a bdění, limbický systém zprostředkující emocionální složku a centra v prodloužené míše, jejichž prostřednictvím je přes *nervus vagus* zprostředkována vegetativní složka regulace, zejména motilita a sekrece trávicího traktu.

Buňky trávicího traktu jsou také místem produkce řady regulačních peptidů. Ty jsou vyplavovány jako reakce na přítomnost tráveniny v žaludečním nebo střevním lumen. Jsou tvořeny zejména buňkami žaludeční a střevní sliznice a endokrinními buňkami slinivky břišní. Cílová místa působení těchto hormonů jsou zejména v oblasti gastrointestinálního traktu a hypothalamu,

kde zpětnou vazbou – přímo nebo prostřednictvím *nervus vagus* – ovlivňují příjem potravy.

Původní představy o tukové tkáni jako o pasivním úložišti energie ve formě tukových zásob jsou dnes již překonány. V současné době víme, že tuková tkáň je hormonálně vysoce aktivní orgán, který je místem produkce celé řady regulačních peptidů. Jejich tvorba je ovlivněna množstvím a velikostí adipocytů a místem působení jsou zejména receptory v hypothalamu, jejichž prostřednictvím je centrální nervový systém informován o množství tukové tkáně v organismu.

Z hlediska příjmu potravy můžeme odlišit skupinu peptidů orexigenních, které při experimentální aplikaci působí zvýšení příjmu potravy a jejich exprese se obvykle zvyšuje nalačno a klesá po nasycení. V průběhu dne lze proto vysledovat v jejich krevních hladinách určitou periodicitu závislou na počtu a rozvržení denních jídel. Tyto peptidy se podílejí na biologické reakci jako signály hladu a spouštějí komplexní odpověď organismu vedoucí k vyhledávání a zvýšení příjmu potravy. Jejich dlouhodobé experimentální podávání obvykle vede u jedince ke vzniku obezity. Jsou zapojeny do nervových drah a okruhů, které zprostředkovávají průvodní emocionální a vegetativní projevy příjmu potravy. Průvodním emocionálním projevem může být např. pocit hladu; vegetativním projevem je např. zvýšená motilita a sekrece trávicího traktu. Na opačném konci spektra jsou anorexigenní peptidy, jejichž účinek je komplementární k předchozí skupině peptidů a hladiny v krevním řečišti reagují na příjem potravy opačným způsobem. Základní charakteristika vybraných regulačních peptidů, které byly studovány na našem pracovišti, popis metod jejich stanovení a orientační referenční hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 1–3.

Table 1. Basic characteristics of some regulatory peptides

Regulatory peptide (place of production)	Gene	Size	Number of AA	Characteristics
Leptin (adipocyte)	7q31.3	16 kDa	146 AA	stable, glycosylation
Orexin A (hypothalamus)	17q21	3.5 kDa	33 AA	stable, cyclisation
Amylin (beta-cells of the pancreas)	12p12.3	3.6 kDa	37 AA	stable, reduction deamidation
Adiponectin (adipocyte)	3q27	30 kDa	247 AA	stable, homotrimers
Ghrelin (gastric mucosa)	3p26	3.3 kDa	28 AA	unstable, N-octanoyl

Legend: AA – aminoacid residues

Table 2. Characteristics of methods used for identification of some nutritional regulatory peptides in serum (S) or plasma (P).

Peptide	Method	Sensitivity	Linearity	CV intra	CV inter	Remarks
S-leptin	RIA Linco	0.5 ug/l 200 ul	1–100 ug/l	3.9 %	6.2%	stable in 4 deg. C
P-amylin	ELISA Linco	1 pmol/l 50 ul	1–100 pmol/l	2.5%	10%	IF, MUP
S-adiponectin	ELISA Linco	0.5 mg/l 10 ul	1.5–100 mg/l	3.5%	6.5%	S, P stable
P-ghrelin	RIA Phoenix	10 ng/l 100 ul	10–2000 ng/l	7.4%	13.5%	unstable, aprotinin
P-orexin	RIA Phoenix	1 ng/l 100 ul	10–2000 ng/l	5.2%	14.2%	extraction, aprotinin

Legend: CV – coefficient of variability, IF – immunofluorescence, MUP – methylubelliperyl phosphate, RIA – radioimmunoassay, ELISA – enzyme-linked immuno-sorbent assay

Table 3. Reference values of some nutritional regulatory peptides in serum (S) or plasma (P).

Peptide	Unit	Reference values	Relationship to biological parameters
S-leptin (total)	ug/l	M:2.0–11.1 W: 3.7–11.1	BMI, circad. variab., age
P-orexin A	ng/l	20–80	BMI, age, not related to gender
P-amylin (total)	pmol/l	5.5–21.5	postprand.↑, not related to age
S-adiponektin	mg/l	9.5–13	age, not related to gender
P-ghrelin (total)	ng/l	320–830	preprand.↑, age, postprand.↓

Legend: M – men, W – women, BMI – body mass index

Gastrointestinální hormony

Orgány GIT hrají významnou roli v kontrole energetické homeostázy, zejména v krátkodobé regulaci jak prostřednictvím enterického nervového systému (ENS), tak prostřednictvím regulačních hormonů. ENS je prostřednictvím *n. vagus* a sympatických vláken propojen s centry v CNS. GIT reaguje na mechanické i chemické stimuly ze střevního lumen a parakrinně i na lokální regulační hormony. Většina z nich je anorexigenních a bezprostředně po příjmu potravy zajišťují snížení pocitu hladu.

Cholecystokinin

Cholecystokinin (CCK) je jedním z prvních hormonů, které byly objeveny v souvislosti s regulací energetického metabolismu. CCK je produkován I-buňkami duodena a jejuna jako reakce na proteinové a tukové složky stravy a je secernován do cirkulace, kde je přítomen v několika molekulárních formách, z nichž nejdůležitější jsou CCK-8, -33 a -39. CCK působí snížení příjmu potravy a hraje roli pravděpodobně zejména v krátkodobé regulaci [2]. Dlouhodobé podávání CCK v experimentu neovlivňuje tělesnou hmotnost. Podání antagonisty CCK příjem potravy zvyšuje.

CCK působí prostřednictvím dvou receptorů spřažených s G-proteinem (GPCR) – CCK_A, který hraje významnější roli v nutriční regulaci, a CCK_B. CCK působí jak centrálním mechanismem, kdy po přestupu přes hematoencefalickou bariéru působí na neurony produkující neuropeptid Y (NPY), tak periferním mechanismem prostřednictvím ovlivnění vagových zakončení [3].

Glukagon-like peptid-1 a oxyntomodulin

Glukagon-like peptid-1 (GLP-1) i oxyntomodulin (OXM) jsou produkty preproglukagonového genu stejně jako glukagon a GLP-2. GLP-1 a OXM jsou tvořeny střevními L-buňkami v reakci na přítomnost sacharidů a mastných kyselin ve stravě. Oba regulační peptidy snižují příjem potravy – jak při periferní, tak při centrální aplikaci [4, 5]. Při dlouhodobém podávání dochází k poklesu tělesné hmotnosti i množství tukové tkáně. Účinek v hypothalamu, mozkovém kmeni i na periférii je zprostředkován GLP-1 receptorem, avšak experimentální vyřazení tohoto receptoru u myši neovlivňuje potravní chování. GLP-2 působí na experimentálním modelu také anorekticky, avšak jeho vliv na příjem potravy u člověka nebyl prokázán.

Peptid YY

Peptid YY (PYY) je produkován postprandiálně L-buňkami ilea a tlustého střeva. V cirkulaci je přítomen ve dvou hlavních formách PYY_{1–36} a PYY_{3–36}. Periferní aplikace PYY způsobuje zpomalení žaludeční motility a sekrece, snížení příjmu potravy a tělesné hmotnosti [6]. Centrální efekt je zprostředkován Y₂ receptory po průchodu PYY hematoencefalickou bariérou. PYY ovlivňuje orexigenní osu NPY i anorexigenní proopiomelanokortinový (POMC) systém. Anorektický efekt PYY při periferním podání je slabý a některé studie jsou v tomto smyslu kontroverzní. Naopak centrální podání PYY vede ke zvýšení příjmu potravy, zejména sacharidů.

Bombesin

Bombesin je bohatě exprimován ve střevě savců a jeho plazmatické hladiny stoupají postprandiálně. Periferní i centrální podání bombesinu vede ke snížení příjmu potravy. Bombesin se váže na receptory gastrin-releasing peptidu a neuromedinu B, jimž je strukturou velmi blízký. Byl také identifikován bombesinový receptor typu 3, jehož experimentální vyřazení vede k mírné hyperfagii, obezitě a dalším metabolickým změnám [7].

Gastrický inhibiční polypeptid

Gastrický inhibiční polypeptid (GIP) je secernován z duodenálních K-buněk, zejména při příjmu diety bohaté na tuk. Myši, které dostávaly tuto stravu, byly obézní a měly vysoké hladiny GIP. Naopak myši modely s vyřazeným genem pro GIP byly chráněny před rozvojem obezity způsobené zvýšeným příjmem tuků nebo leptinovou deficiencí [8].

Obestatin

Obestatin je nově objevený peptid odvozený od ghrelinového genu (obr. 2), který snižuje příjem potravy působením přes receptor GRP39 [9]. Jeho úloha v regulaci příjmu potravy a mechanismus účinku nejsou dosud plně prostudovány. Pokud bude anorektický efekt obestatinu potvrzen, mohl by se stát dalším z potenciálních kandidátů pro léčbu obezity.

Ghrelin

Ghrelin je jediný známý periferní orexigenní peptid. Skládá se z 28 aminokyselinových zbytků a je tvořen především v enteroendokrinních buňkách žaludeční sliznice a v menší míře také ve sliznici tenkého a tlustého střeva, pankreatu a dalších orgánech včetně CNS.

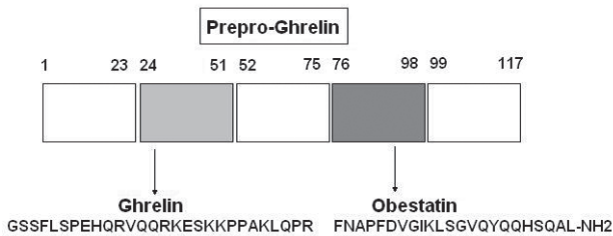


Fig. 2. Processing of prepro-ghrelin (human) gene

Ghrelin stimuluje vyplavování růstového hormonu, prolaktinu a ACTH, má orexigenní aktivitu, ovlivňuje žlučeční motilitu a sekreci, kardiovaskulární a pankreatické funkce, metabolismus glukózy a má antiproliferativní efekt. Je považován za komplementární prvek k leptinu [10]. Byl objeven v roce 1999 jako přirozený ligand „sirtotčího“ receptoru GHS1a, který je specifický pro skupinu syntetických peptidů (growth hormone secretagogues – GHS) podporujících vyplavování růstového hormonu [11]. Plazmatické hladiny ghrelinu odrážejí krátkodobé změny příjmu potravy i dlouhodobé změny nutričního stavu organismu. Jsou sníženy po příjmu potravy a u obézních jedinců, naopak zvýšené jsou při lačnění a u pacientů s mentální anorexií [12]. Plazmatické hladiny ghrelinu u člověka negativně korelují s body mass indexem, množstvím tělesného tuku, velikostí adipocytů, plazmatickými hladinami inzulínu, glukózy a leptinu. Vzestup hladin ghrelinu bezprostředně před příjmem potravy naznačuje, že ghrelín hraje úlohu v přípravné fázi – jako metabolický signál pocitu hladu.

Pankreatické hormony

Endokrinní pankreas je obecně vnímán jako místo produkce hormonů ovlivňujících glukózový metabolismus. Tyto hormony však mají vliv i na příjem potravy a celkový energetický metabolismus. Nutričně-regulační funkce je doložena řadou experimentálních studií a je v přímém vztahu k regulaci metabolismu glukózy, jejíž sérové hladiny jsou detekovány glukóza-senzitivními neurony hypothalamu. Tím se pankreatické hormony podílejí na regulaci energetického metabolismu dvěma různými způsoby.

Inzulín

Inzulín je kromě své základní funkce v metabolismu glukózy také signálem adiposity. Jeho plazmatické koncentrace korelují s inzulínovou senzitivitou, která je úzce svázána zejména s množstvím viscerálního tuku. Postprandiální zvýšení inzulínové sekrece působí anorektickým mechanismem na CNS, zejména prostřednictvím NPY a melanokortinového systému [13]. Podání inzulínu do CNS v experimentu také snižuje příjem potravy a v dlouhodobém horizontu i tělesnou hmotnost [14]. Opačný efekt má podání antisense RNA proti sekvenci inzulínového receptoru. Metodika pro stanovování inzulínu je v biochemických laboratořích již dobře zavedena a jeho stanovení bývá využito nejen u diabetiků, ale i u pacientů s poruchou nutričního stavu.

Pankreatický polypeptid

Pankreatický polypeptid (PP) patří do stejné rodiny peptidů jako NPY a PYY. Je produkován zejména periferními buňkami Langerhansových ostrůvků a jeho plazmatické koncentrace jsou zvýšené u hubených jedinců a sníženy u obézních. Periferní podání PP snižuje příjem potravy a tělesnou hmotnost [15]. Tento anorektický účinek je zprostředkován zejména přes mozkový kmen, ale také prostřednictvím NPY a orexinových neuronů a vlivu na expresi ghrelinu. PP působí přes Y_5 receptor. Podle některých prací jeho centrální podání naopak zvyšuje příjem potravy.

Amylin

Amylin (IAPP – islet amyloid polypeptide) je polypeptidový hormon složený z 37 aminokyselinových zbytků. Poprvé byl izolován v roce 1987 z pankreatu diabetiků II. typu, následně byl prokázán i v plicní tkáni, endokrinních buňkách žaludku a střeva, v řadě struktur CNS včetně hypothalamu. Je strukturálně příbuzný s calcitonin gene-related peptidem (CGRP), kalcitoninem a adrenomedulinem [16].

Amylin je tvořen spolu s inzulínem v beta-buňkách pankreatu, je spolu s ním vylučován do cirkulace a má podobný denní profil plazmatických hladin. Během stárnutí lidského organismu dochází postupně k paralelnímu snižování sekrece amylinu a inzulínu.

Amylin působí jako agonista na receptorech pro CGRP, kalcitonin a adrenomedulin, které jsou vázány na G-protein a působí prostřednictvím zvýšení koncentrace cAMP.

Amylin v CNS inhibuje příjem potravy a snižuje motorickou aktivitu pravděpodobně ovlivněním metabolismu serotoninu [17]. Intraperitoneálně podaný amylin snižuje příjem potravy o 60 %. Tento efekt je částečně blokován antagonisty dopaminového receptoru typu 2. Destrukce nebo blokáda periferních složek nervového systému neovlivňuje anorektický efekt amylinu. Periferně nebo centrálně aplikovaný amylin má výrazné inhibiční účinky na bazální žlučeční motilitu a sekreci, které jsou závislé na dávce.

Lidský amylin vykazuje řadu vlastností, které jej činí nevhodným pro klinické využití. Jedná se zejména o malou rozpustnost, nestabilitu v roztoku, velkou tendenci k agregaci a adhezi. Záměnou dvou serinových a jednoho alaninového zbytku v pozicích 25, 28 a 29 za tři prolinové zbytky byl proto vyvinut syntetický analog AC137 (pramlintid), který nevýhody amylinu postrádá, ale zachovává si stejnou aktivitu při interakci s jeho receptorem. Pramlintid snižuje sekreci glukagonu a prodlužuje poločas vyprazdňování žaludku [18].

Hormony tukové tkáně

Tuková tkáň produkuje nejen leptin, který je signálem celkové adiposity jedince, ale také hormony ovlivňující inzulínovou senzitivitu, jako je adiponektin a resistin. Deficit leptinu je jednou z monogenních poruch vedoucích k morbidní obezitě již v časném dětském věku. Adiponektin je považován za biomarker metabo-

lického syndromu a je v poslední době intenzivně zkoumán. Některé cytokiny tukové tkáně jsou zapojeny kromě imunologických procesů také do regulace příjmu potravy.

Leptin

Leptin je cytokin produkovaný buňkami tukové tkáně a jeho sérové hladiny významně korelují s množstvím tukové tkáně v organismu. Jeho objev byl publikován v roce 1994 [19], již v roce 1950 však byla popsána genová mutace v leptinovém genu (ob gen) u myši, která vedla k rozvoji morbidní obezity a diabetu již v časném věku. Leptin má v organismu řadu receptorů. Dlouhá forma leptinového receptoru má v intracelulární doméně 303 aminokyselinových zbytků, zatímco krátká forma jen 34. Extracelulární domény obou typů receptorů jsou shodné. Mutace v genu pro leptinový receptor (db gen) vede také ke vzniku obezity. Krátká forma leptinového receptoru se vyskytuje především v buňkách chorioideálního plexu a předpokládá se, že se účastní regulace transportu leptinu ze séra přes hematoencefalickou bariéru. Byla popsána korelace plazmatických hladin leptinu s jeho hladinami v mozkomíšním moku.

Podání rekombinantního leptinu do CNS vede ke snížení příjmu potravy a tělesné hmotnosti u leptin-deficitních myši. Periferním podáním se dosáhne obdobného efektu, ale při použití vyšších dávek. Podání leptinu jedincům s prostou obezitou nemá očekávaný efekt, neboť tito jedinci jsou hyperleptinemičtí a předpokládá se u nich leptinová rezistence.

Dlouhá forma leptinového receptoru je exprimována na hypothalamických neuronech, které produkují NPY. Podání leptinu inhibuje tvorbu NPY a ovlivňuje i melanokortinový systém [20]. Také neurony produkující orexiny (OX) jsou spolu s leptinem zapojeny do hypothalamických regulačních okruhů příjmu potravy. Chronická intraperitoneální aplikace leptinu působí významné snížení exprese preproorexinové mRNA v hypothalamu. Byla publikována práce, která popisuje rozvoj řady symptomů leptinové deficiencie při blokadě exprese leptinového receptoru v buňkách tukové tkáně, i přesto, že hlavním místem působení leptinu je CNS [21].

Z analytického hlediska je stanovování leptinu v biologických vzorcích dnes již běžnou praxí a toto vyšetření nabízí řada biochemických laboratoří.

Adiponektin

Adiponektin je predominantní sekretorický protein tukové tkáně. Strukturálně je příbuzný skupině cytokinových molekul. Adiponektin tvoří asi 0,01% celkové sérové bílkoviny. Jeho molekula se skládá z 247 aminokyselinových zbytků, N-terminální doména je podobná kolagenu typu VIII a C-terminální globulární doména vykazuje strukturální podobnost s C1q faktorem komplementu. Adiponektin má v krevním řečišti tendenci tvořit homotrimery a oligomerní struktury vyššího řádu. V séru je možno detekovat i samostatný C-terminální fragment. Adiponektinový gen má označení AMP1 a je umístěn na lokusu 3q27. Toto místo je podle vědeckých výzkumů zodpovědné za náchyl-

nost k diabetes mellitus II. typu (DM II. typu) a metabolickému syndromu [22].

Sérové koncentrace adiponektinu jsou zvýšené u konstitučně štíhlých jedinců a nízké u obézních. Abnormální příjem potravy a potravní chování u pacientů s poruchou příjmu potravy může vést ke změnám hladin cirkulujícího adiponektinu. U lidí byla prokázána negativní korelace mezi hladinami adiponektinu a body mass indexem (BMI), procentem tělesného tuku, koncentracemi inzulínu nalačno a hladinou triacylglycerolů v plazmě a pozitivní korelace s HDL cholesterolem [23]. Chirurgická léčba morbidní obezity žaludeční bandáží vede ke zvýšení hladin adiponektinu v séru u diabetiků i nediabetických pacientů. Sérové koncentrace adiponektinu jsou sniženy u pacientů s poruchou glukózové tolerance a DM II. typu a negativně korelují s hladinami plazmatické glukózy měřenými ve 2. hodině orálního glukózového tolerančního testu.

Na základě experimentálních prací můžeme předpokládat, že adiponektin bude do budoucna vhodným kandidátem pro vývoj léků ovlivňujících obezitu a DM II. typu. Sérové hladiny adiponektinu se zdají být vhodným biomarkerem pro sledování inzulínové senzitivity ve spektru pacientů s metabolickým syndromem a během terapeutické intervence u těchto stavů [24]. Aplikace adiponektinu, rekombinantního adiponektinu nebo léků stimulujících sekreci či působení adiponektinu může v budoucnu vést ke zlepšení inzulínové senzitivity a glukózové tolerance a k nápravě hyperglykémie asociované s obezitou. Vliv thiazolidindionů na sekreci adiponektinu může alespoň z části vysvětlit hypoglykemizující účinek těchto léků u pacientů s DM II. typu. Z analytického hlediska je imunochemická metoda stanovení adiponektinu vhodná k zavedení do rutinního provozu. Adiponektin je biomarkerem spojujícím jednotlivé složky metabolického syndromu a může v lékařské praxi nalézt široké využití.

Resistin

Resistin se účastní regulace inzulínové senzitivity a diferenciací adipocytů. Je produkovan nejen tukovou tkání, ale také v žaludku, střevě, nadledvinách, varlatech a kosterním svalstvu. Hladovění vede ke snížení tvorby resistinové mRNA v tukové tkáni. U obézních jedinců jsou cirkulující hladiny resistinu v krvi zvýšené, při redukci tělesné hmotnosti klesají. Myši s nefunkčním genem pro resistin mají zlepšenou glukózovou toleranci. Resistin také snižuje příjem potravy působením na hypothalamická centra [25].

Interleukiny IL-6 a IL-1

Interleukin 6 (IL-6) je cytokin, který hraje významnou úlohu v regulaci glukózového a lipidového metabolismu. Jeho tvorba v tukové tkáni pozitivně koreluje s BMI a celkovým množstvím tělesného tuku. Vyřazení genu pro IL-6 na myším modelu vede k rozvoji obezity, která po podávání IL-6 ustupuje. To poukazuje na jeho úlohu v dlouhodobé regulaci nutričního stavu. Centrální podání IL-6 snižuje příjem potravy a zvyšuje energetický výdej [26]. Tento cytokin i jeho receptor je exprimován také v hypothalamu.

Experimentální vyřazení receptoru typu 1 pro IL-1 vede k rozvoji obezity a inzulínové rezistence se sníženou senzitivitou k leptinu, nízkou utilizací tuku a nízkou motorickou aktivitou [27].

Hormony CNS

Regulace příjmu potravy v hypothalamu probíhá zejména prostřednictvím dvou základních skupin neuronů. Obě jsou lokalizovány do klíčového regulačního centra při bázi třetí mozkové komory – nucleus arcuatus (ARC). V jeho ventromediální části jsou buňky produkující orexigenní NPY a agouti-related protein (AgRP), zatímco anorexigenní proopiomelanokortin (POMC) a kokainem a amfetaminem regulovaný transkript (CART) se nacházejí ve ventrolaterální části. Ve druhé řadě jsou neurony ostatních částí hypothalamu, které produkují modulační peptidy jako melanin-koncentrující hormon (MCH) a orexiny A a B (OX). Ty zprostředkovávají přenos signálů na thyroideální a adrenální osu a do dalších částí CNS. Hypothalamické neurony reagují na periferní regulační peptidy, hladinu krevní glukózy a lipidů a podněty z aferentních nervů.

Neuropeptid Y

NPY je složen ze 36 aminokyselinových zbytků a řadí se do rodiny hormonů příbuzných PP. Je hojně exprimován ve tkáních CNS a patří mezi nejsilnější orexigenní hormony. Jeho podání vede k výrazné hyperfagii a obezitě, snížení aktivity hnědého tuku, sympatiku, thyroideální osy a plazmatických hladin testosteronu a také k hyperinzulinémii a hyperkortizolismu [28]. Tvorba mRNA pro NPY se zvyšuje během hladovění a klesá po nasycení. Vyřazení genu pro NPY v experimentálním modelu překvapivě nevede ke změnám tělesné hmotnosti či množství tělesného tuku, což je způsobeno pravděpodobně existencí kompenzatorních orexigenních drah v hypothalamu. Teprve ablace hypothalamické oblasti obsahující NPY/AgRP neurony vede k hypofagii a ztrátě hmotnosti. Účinek NPY je v hypothalamu zprostředkován receptory Y_1 , Y_2 , Y_4 a Y_5 [29].

Melanokortinový systém

Tento systém je reprezentován hypothalamickými neurony produkujícími alfa-melanocyty stimulující hormon (melanokortin, alfa-MSH), či jeho endogenního orexigenního antagonistu AgRP. Alfa-MSH je produktem štěpení POMC a působí prostřednictvím melanokortinových receptorů (MC1R-MC5R). Příjem potravy ovlivňuje alfa-MSH i AgRP prostřednictvím MC3R a MC4R [30]. Melanokortinový systém je ovlivněn periferními signály jako je inzulín, leptin, ghrelin, PYY, glukokortikoidy, estrogeny, glykémie nebo cirkulující lipidy. Expres mRNA pro POMC je snížena během hladovění a stoupá postprandiálně či po aplikaci leptinu. Mutace v melanokortinovém receptoru jsou nejčastější monogenní příčinou lidské obezity. Naopak polymorfismy v genu pro AgRP jsou asociovány s nízkou tělesnou hmotností a množstvím tělesného tuku [31].

Kokainem a amfetaminem regulovaný transkript

CART je exprimován v řadě oblastí hypothalamu. Hladovění snižuje jeho tvorbu v ARC, zatímco podání leptinu jeho tvorbu zvyšuje. Aplikace fragmentů 1-102 a 82-103 do CNS inhibuje příjem potravy. U myši s nefunkčním genem pro CART dochází k nadměrnému růstu tělesné hmotnosti a poruše glukózového metabolismu při podávání stravy bohaté na tuky [32].

Melanin-koncentrující hormon

MCH je orexigenní neuropeptid exprimovaný v laterálním hypothalamu [33]. Jeho centrální podání zvyšuje příjem potravy a množství tělesného tuku, zatímco antagonisté MCH receptoru působí opačným způsobem. Hladovění zvyšuje expresi MCH, podání leptinu ji snižuje. Transgenní myši se zvýšenou produkcí MCH jsou hyperfagické a obézní, zatímco myši s vyřazeným genem pro MCH mají opačný fenotyp.

Orexiny

OX jsou hypothalamické neuropeptidy objevené v roce 1998 dvěma nezávislými týmy. Nazývají se orexin A a B pro jejich účinky na zvýšení příjmu potravy (*orexis* = řecky chuť) nebo jsou v literatuře pro podobnost se sekretinem popisovány jako hypokretin 1 a 2. Jsou produkovány především buňkami dorzálního, laterálního a periferního hypothalamu. OX A (33 aminokyselinových zbytků) i OX B (28 aminokyselinových zbytků) vznikají z jedné prekurzorové molekuly – preproorexinu (130 aminokyselinových zbytků), jehož gen je u člověka lokalizován na lokusu 17q21. Doposud byly objeveny dva typy orexinových receptorů – OX1R a OX2R, které jsou distribuovány v CNS i v periferních tkáních.

Aplikace OX do mozkového komorového systému zvyšuje příjem potravy v závislosti na dávce a hladovění způsobuje zvýšení exprese preproorexinové mRNA v hypothalamu. Selektivní antagonist OX1R snižuje u krys příjem potravy. Buňky, které produkují orexiny, mají na svém povrchu receptory pro leptin, jsou v přímém kontaktu s buňkami tvořícími neuropeptid Y a jsou aktivovány hypoglykemií. U obézních pacientů byly zjištěny snížené plazmatické hladiny orexinu A, k jejichž normalizaci dochází při redukci tělesné hmotnosti [34].

V poslední době se více zdůrazňuje úloha orexinů v souvislosti s poruchami spánku. Buňky produkující orexiny jsou inervovány vlákny ze suprachiasmatického jádra, které je centrem cirkadiánní aktivity. Nervová vlákna obsahující orexiny jsou bohatě zastoupena v *locus coeruleus*, kde orexin A působí v závislosti na histaminergním systému na zvýšení bdělosti.

Galanin a příbuzné peptidy

Galanin (GAL), galanin-message-associated peptide (GMAP), galanin-like peptide (GALP) a alarin jsou strukturálně podobné peptidy, které působí prostřednictvím skupiny galaninových receptorů – GalR1-R3. Galanin je orexigenní peptid, který je produkován zejména v paraventriculárním jádře hypothalamu a který byl objeven před více než 20 lety. Hraje významnou roli v regulaci nutriční homeostázy [35], zejména

v patogenezi hyperfagie indukované příjmem tuků ve stravě. Předpokládá se, že v součinnosti s pohlavními steroidy synchronizuje potravní chování a reprodukční funkce. Je také zmiňován jako potenciální kandidát farmakologické intervence u pacientů s epilepsií, Alzheimerovou nemocí a diabetem.

Závěr

Řada poznanych regulačních hormonů, které ovlivňují nutriční stav organismu, se neustále rozrůstá. Experimentální práce prokazují potencionální možnosti jejich využití v terapii poruch energetického metabolismu, které jsou však omezeny díky existenci komplexních orexigenních a anorexigenních regulačních drah. Hladiny těchto hormonů se mění v závislosti na příjmu potravy i celkovém stavu výživy jedince. Je proto vhodné mezi nimi vyhledávat potencionální kandidáty využitelné jako biomarkery výživy a příjmu potravy (leptin, ghrelin), inzulinové senzitivity (adiponektin), spánkových cyklů (orexiny) či dalších fyziologických dějů.

Literatura

1. **Farooqi, I. S., O'Rahilly, S.** Monogenic obesity in humans. *Annual Review of Medicine*, 2005, 56, p. 443–458.
2. **Muurahainen, N., Kissileff, H. R., DeRogatis, A. J., Pi-Sunyer, F. X.** Effects of cholecystokinin-octapeptide (CCK-8) on food intake and gastric emptying in man. *Physiology and Behavior*, 1988, 44, p. 645–649.
3. **Moran, T. H., Baldessarini, A. R., Salorio, C. F., Lowery, T., Schwartz, G. J.** Vagal afferent and efferent contributions to the inhibition of food intake by cholecystokinin. *American Journal of Physiology*, 1997, 272, p. R1245–R1251.
4. **Verdich, C., Flint, A., Gutzwiller, J. P. et al.** A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide on ad libitum energy intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001, 86, p. 4382–4389.
5. **Dakin, C. L., Small, C. J., Batterham, R. L. et al.** Peripheral oxyntomodulin reduces food intake and body weight gain in rats. *Endocrinology*, 2004, 145, p. 2687–2695.
6. **Moran, T. H., Smedh, U., Kinzig, K. P., Scott, K. A., Knipp, S., Ladenheim, E. E.** Peptide YY(3–36) inhibits gastric emptying and produces acute reductions in food intake in rhesus monkeys. *American Journal of Physiology*, 2005, 288, p. R384–R388.
7. **Ohki-Hamazaki, H., Watase, K., Yamamoto, K. et al.** Mice lacking bombesin receptor subtype-3 develop metabolic defects and obesity. *Nature*, 2005, 390, p. 165–169.
8. **Miyawaki, K., Yamada, Y., Ban, N. et al.** Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. *Nature Medicine*, 2002, 8, p. 738–742.
9. **Zhang, J. V., Ren, P. G., Avsian-Kretschmer, O. et al.** Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, 2005, 310, p. 996–999.
10. **Shintani, M., Ogawa, Y., Ebihara, K. et al.** Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes*, 2001, 50, p. 227–232.
11. **Arvat, E., Di Vito, L., Broglio, F. et al.** Preliminary evidence that ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2000, 23, p. 493–495.
12. **Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P. A., Devanarayan, V., Ravussin, E., Heiman, M. L.** Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, 2001, 50, p. 707–709.
13. **Schwartz, M. W., Sipols, A. J., Marks, J. L. et al.** Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology*, 1992, 130, p. 3608–3616.
14. **Woods, S. C., Lotter, E. C., McKay, L. D., Porte, D. Jr.** Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*, 1979, 282, p. 503–505.
15. **Batterham, R. L., Le Roux, C. W., Cohen, M. A. et al.** Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2003, 88, p. 3989–3992.
16. **Wimalawansa, S. J.** Amylin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin, and adrenomedullin: A peptide superfamily. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 1997, 11, p. 167–239.
17. **Guidobono, F.** Amylin and gastrointestinal activity. *Gen. Pharmac.*, 1998, 31, p. 173–177.
18. **Sansom, M., Szarka, L. A., Camilleri, M. et al.** Pramlintide, an amylin analog, selectively delays gastric emptying: potential role of vagal inhibition. *Am. J. Physiol.: Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2000, 278, p. G946–G951.
19. **Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J. M.** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994, 372, p. 425–432.
20. **Elias, C. F., Aschkenasi, C., Lee, C. et al.** Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron*, 1999, 23, p. 775–786.
21. **Huan, J. N., Li, J., Han, Y., Chen, K., Wu, N., Zhao, A. Z.** Adipocyte-selective reduction of the leptin receptors induced by antisense RNA leads to increased adiposity, dyslipidemia, and insulin resistance. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, p. 45638–45650.
22. **Filippi, E., Sentinelli, F., Trischitta, V. et al.** Association of the human adiponectin gene and insulin resistance. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2004, 12, p. 199–205.
23. **Kazumi, T., Kawaguchi, A., Hirano, T., Yoshino, G.** Serum adiponectin is associated with high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein particle size in young healthy men. *Metabolism*, 2004, 53, p. 589–593.
24. **Matsuzawa, Y., Funahashi, T., Nakamura, T.** Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1999, 892, p. 146–154.
25. **Tovar, S., Nogueiras, R., Tung, L. Y. et al.** Central administration of resistin promotes short-term satiety in rats. *European Journal of Endocrinology*, 2005, 153, p. R1–R5.
26. **Wallenius, K., Wallenius, V., Sunter, D., Dickson, S. L., Jansson, J. O.** Intracerebroventricular interleukin-6 treatment decreases body fat in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 293, p. 560–565.
27. **García, M. C., Wernstedt, I., Berndtsson, A. et al.** Mature-onset obesity in interleukin-1 receptor I knockout mice. *Diabetes*, 2006, 55, p. 1205–1213.
28. **Billington, C. J., Briggs, J. E., Grace, M., Levine, A. S.** Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *American Journal of Physiology*, 1991, 260, p. R321–R327.

29. **Inui, A.** Neuropeptide Y feeding receptors: are multiple subtypes involved? *Trends in Pharmacological Sciences*, 1999, 20, p. 43–46.
30. **Ollmann, M. M., Wilson, B. D., Yang, Y. K. et al.** Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science*, 1997, 278, p. 135–138.
31. **Marks, D. L., Boucher, N., Lanouette, C. M. et al.** Ala67Thr polymorphism in the Agouti-related peptide gene is associated with inherited leanness in humans. *American Journal of Medical Genetics*, 2004, 126A, p. 267–271.
32. **Asnicar, M. A., Smith, D. P., Yang, D. D. et al.** Absence of cocaine and amphetamine-regulated transcript results in obesity in mice fed a high caloric diet. *Endocrinology*, 2001, 142, p. 4394–4400.
33. **Broberger, C., de Lecea, L., Sutcliffe, J. G., Hokfelt, T.** Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: relationship to the neuropeptide Y and agouti gene-related protein systems. *Journal of Comparative Neurology*, 1998, 402, p. 460–474.
34. **Bronský, J., Nedvídková, J., Zamrazilová, H. et al.** Dynamic changes of orexin A, leptin and anthropometrical data in obese children during reduction of body weight. *Physiol. Res.*, 2007, 56, p. 89–96.
35. **Lang, R., Gundlach, A. L., Kofler, B.** The galanin peptide family: receptor pharmacology, pleiotropic biological actions, and implications in health and disease. *Pharmacol. Ther.*, 2007, 115, p. 177–207.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem VZ 64203/6903 a grantem IGA MZ NR/8310-5 a NR/9079-3.

Do redakce došlo 28. 9. 2007.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie

UK 2. LF a FN Motol

V Úvalu 84

150 06 Praha 5

e-mail: bronsky@email.cz