

Plazmatické hladiny neuropeptidu Y, ghrelinu a leptinu u pacientek s anorexia nervosa a jejich změny po šestitýdenní realimentaci

L. Beranová¹, D. Sedláčková¹, J. Kopečková¹, V. Hainer¹, H. Papežová², H. Kvasničková¹, J. Nedvídková¹

¹ Laboratoř klinické a experimentální neuroendokrinologie Endokrinologického ústavu Praha, vedoucí pracoviště RNDr. Jara Nedvídková, CSc.

² Oddělení poruch příjmu potravy Psychiatrické kliniky 1. lékařské fakulty UK a VFN Praha, vedoucí pracoviště prof. MUDr. Hana Papežová, CSc.

Souhrn: Úvod: Anorexia nervosa je charakterizována výraznými změnami v sekreci hormonů ovlivňujících příjem potravy, energetickou homeostázu a dlouhodobou regulaci tělesné hmotnosti. Cílem této studie bylo stanovit u pacientek s anorexia nervosa plazmatické hladiny neuropeptidu Y, ghrelinu a leptinu a změny těchto hormonů po 6týdenní částečné nutriční realimentaci, která probíhala během hospitalizace. Pacienti a metodika: Do studie bylo zařazeno 10 žen s anorexia nervosa restriktivního typu (body mass index $14,74 \pm 0,43$; věk $23,3 \pm 1,0$), diagnostikovaných podle DSM-IV a v době studie hospitalizovaných na jednotce specializované pro poruchy příjmu potravy, a 10 zdravých kontrolních žen (body mass index $21,45 \pm 0,72$; věk $24,3 \pm 0,8$). Bazální plazmatické hladiny neuropeptidu Y, ghrelinu a leptinu byly měřeny na počátku a konci léčby. Výsledky: U pacientek s anorexia nervosa byly zjištěny významně zvýšené bazální plazmatické hladiny neuropeptidu Y a ghrelinu ve srovnání s kontrolními ženami, hladiny leptinu měly tyto pacientky významně nižší. Po 6 týdnech léčby hladiny ghrelinu u pacientek s anorexia nervosa významně poklesly a hladiny leptinu se zvýšily. Plazmatické hladiny neuropeptidu Y se během léčby nezměnily, průměrný body mass index u pacientek s anorexia nervosa významně vzrostl. Závěr: Plazmatické hladiny ghrelinu a leptinu se u pacientek s anorexia nervosa měnily očekávaným směrem podle změny tělesné hmotnosti. Plazmatické hladiny neuropeptidu Y nevykázaly v tomto směru významnou změnu. Hladiny leptinu tak spolu s dlouhodobě zvýšenými hladinami neuropeptidu Y ukazují na přetrvávající dysregulaci mechanismů řídících tělesnou hmotnost a apetit.

Klíčová slova: anorexia nervosa – neuropeptid Y – ghrelin – leptin – krátkodobá realimentace

Neuropeptide Y, ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and their changes during six-week refeeding

Summary: Objective: Anorexia nervosa (AN) is characterized by markedly changes in hormone secretion influencing food intake, energy homeostasis and long-term body weight regulation. The aim of this study was to determine neuropeptide Y (NPY), ghrelin and leptin plasma levels and their changes after six weeks of nutritional-rehabilitation program in severely malnourished anorexia nervosa patients. Methods: Ten women with DSM-IV diagnosed anorexia nervosa, hospitalized (BMI 14.74 ± 0.43 ; age 23.3 ± 1.0) and ten age-matched healthy women (BMI 21.45 ± 0.72 ; age 24.3 ± 0.8) were enrolled to the study. Fasting plasma levels of NPY, ghrelin and leptin were measured before and after the treatment. Results: Fasting plasma ghrelin and NPY levels were significantly increased in AN patients comparing to healthy women, while plasma leptin was decreased. After six weeks of the treatment plasma ghrelin levels significantly decreased and plasma leptin levels increased. Plasma NPY levels didn't change during the treatment, average BMI significantly increased in AN patients. Conclusions: We confirmed that ghrelin and leptin plasma levels express actual nutritional status of a body and did change during the six-weeks refeeding in AN patients. Plasma leptin levels together with constantly increased NPY levels indicate to persisting dysregulation of appetite and body weight control mechanisms in AN patients.

Key words: anorexia nervosa – neuropeptide Y – ghrelin – leptin – short-term refeeding

Úvod

V posledních letech u nás stále dochází k nárůstu incidence a prevalence poruch příjmu potravy. Nejzávažnějším onemocněním je anorexia nervosa (AN), která je charakterizována výraznými, psychicky podmíněnými abnormalitami v příjmu potravy. Intenzivní obavy z nárůstu tělesné hmotnosti a zkrácené vnímání vlastního těla vede nemocné k závažnému omezení příjmu kalorií a úmyslnému hladovění, a to i v pří-

padě, že hmotnost je zcela přiměřená nebo pod hranicí normy [13]. Komplikacemi dlouhodobé podvýživy, zejména restriktivní formy AN, jsou poruchy endokrinních a imunitních funkcí, plicní, renální a gastrointestinální komplikace, poškození myokardu a osteoporóza [12]. U pacientů s AN dochází k výrazným změnám v sekreci hormonů, které ovlivňují příjem potravy, energetickou homeostázu a dlouhodobou regulaci tělesné hmotnosti [31].

Hlavním mozkovým centrem pro řízení příjmu potravy a udržení energetické homeostázy organismu je hypothalamus [12]. Mezi významné orexigenní hormony hypothalamu patří neuropeptid Y (NPY). Přibližně 40 % NPY je tvořeno v nucleus arcuatus (ARC) [9], menší množství uvolňují i další hypothalamická jádra a některé periferní tkáně mimo oblast mozku [32]. Podle nedávných nálezů secernují NPY v malém množství také buňky abdominální tukové tkáně [32].

Studie prováděné dosud u pacientek s AN uvádějí různé bazální plazmatické hladiny NPY. V některých studiích byly u těchto pacientek nalezeny hladiny NPY zvýšené oproti zdravým kontrolním ženám [5,20], jiní autoři naopak poukazují na snížené bazální hladiny NPY u AN [1]. Vyšší bazální hladiny NPY u pacientek s AN mohou být vysvětlovány potlačením vnímavosti homeostatického systému těchto pacientek k orexigennímu vlivu NPY. V současné době je známo málo o periferních účincích NPY. U zdravých jedinců NPY uvolňovaný centrální nervovou soustavou (CNS) navozuje pocit hladu a současně podporuje diferenciaci preadipocytů v tukové tkáni, které následně také produkují v malém množství NPY. Nadbytečný příjem potravy tak vede ke zvyšování tukové rezervy a počtu adipocytů [11]. Těmto nálezům odpovídají i dřívější pozorování zvýšených plazmatických hladin NPY u obézních osob [2].

Ghrelín je orexigenní hormon produkováný majoritně v žaludku. Zvyšuje příjem potravy a snižuje výdej energie a spolu s dalšími signály tak informuje centrum energetické rovnováhy o tom, kdy je nutné zásoby energie doplnit [16]. V hypothalamu ghrelín působí na centra v ARC tím, že se váže na receptory neuronů, obsahujících NPY a agouti-related peptide (AgRP), které ovlivňují chuť k jídlu a příjem potravy. Neurony v ARC jsou cílovou tkání i pro leptin, a to zejména proopiomelanocortinové (POMC-CART) a NPY-AgRP neurony. Aktivace orexigenních AgRP-NPY jader zvyšuje chuť k jídlu a metabolismus, zatímco aktivace POMC-CART neuronů má opačný efekt [10]. Hladina ghrelinu v krvi vzrůstá během půstu a klesá přibližně během hodiny po přijetí potravy [12,19]. U pacientů s AN jsou plazmatické koncentrace ghrelinu v důsledku negativní energetické bilance a dlouhodobého hladovění významně vyšší než u zdravých jedinců [4,19,24,29].

Za jednoho z hlavních antagonistů ghrelinu je považován anorexigenní hormon leptin, který potlačuje příjem po-

travy tím, že převádí do mozku signály týkající se energetických zásob organismu [10,15,18]. Leptin je produkován převážně tukovou tkání a účastní se dlouhodobé regulace tělesné hmotnosti, energetické bilance a regulace tělesné teploty [6,25,28]. Jeho množství je u pacientů s AN významně nižší než u zdravých jedinců, v přímém vztahu k redukovanému množství tělesného tuku [5,8,17,23,30].

U pacientek s AN dochází během realimentace ke zvýšení tělesné hmotnosti a spolu s tím ke změnám v hladinách hormonů ovlivňujících příjem potravy. Plazmatické hladiny ghrelinu se vracejí částečně nebo zcela na normální úroveň, v závislosti na délce a úspěšnosti léčby. Plazmatické hladiny leptinu se po realimentaci u pacientek s AN zvyšují v závislosti na váhovém přírůstku [3,12,14,19,21]. Plazmatické hladiny NPY a jejich změny během léčby byly dosud jen velmi málo prozkoumány, a navíc je jen obtížné zjistitelný zdroj jeho sekrece.

Cílem studie bylo u sledované skupiny pacientek s AN restriktivního typu zjistit bazální plazmatické hladiny NPY, ghrelinu a leptinu a jejich změny po 6týdenní částečné realimentaci, která probíhala během hospitalizace.

Soubor nemocných a metodika

Sledovaný soubor tvořilo 10 žen s DSM-IV diagnostikovanou anorexia nervosa restriktivního typu (věk $23,3 \pm 1,0$; BMI $14,74 \pm 0,43$), hospitalizovaných na Psychiatrické klinice 1. LF UK a VFN, a 10 zdravých kontrolních žen (věk $24,3 \pm 0,8$; BMI $21,45 \pm 0,72$). V den odběru krve bylo provedeno základní lékařské vyšetření a změřena tělesná výška a hmotnost. Žádná z probandek netrpěla závažným akutním ani chronickým onemocněním. Zdravým ženám byla krev odebírána ve folikulární fázi menstruačního cyklu, pacientky s AN měly amenoreu. Pacientkám byla krev odebrána 2krát, poprvé na počátku hospitalizace a podruhé po 6týdenní léčbě. Realimentace a úprava jídelního režimu byla součástí komplex-

ního terapeutického programu podle terapeutických doporučení [22]. Pacientky po 1–2 týdnech adaptace dostávaly klasickou racionální dietu s bílkovinnými přídatky 3 000–4 000 kcal, která mohla být obohacena podle závažnosti malnutrice sippingem nutričních nápojů, po poradě s lékařem nutričníistou. Všechny zúčastněné probandky podepsaly před zahájením studie informovaný souhlas s účastí ve studii, schválené Etickou komisí Endokrinologického ústavu.

Krev byla odebírána ráno v 7.30 hod po celonočním půstu, z loketní žíly, do zkumavek s Na₂EDTA a aprotininem (pro získání plazmy a inhibici proteáz). Bezprostředně po odběru byla krev uložena do ledové tříště, stočena při 4 °C a získaná plazma byla zamrazena při –30 °C. Následně byly radioimunologickou metodou (RIA) pomocí komerčních kitů stanoveny bazální plazmatické hladiny NPY, ghrelinu a leptinu (Linco Research, Inc., St. Charles, Missouri, USA).

Naměřené hodnoty pacientek s AN před léčbou byly statisticky porovnány s hodnotami po léčbě pomocí párového neparametrického Wilcoxonova testu a dále s hodnotami kontrolního souboru 10 zdravých žen za použití Kruskal-Wallisova testu následovaného Kruskal-Wallisovými Z-testy vícenásobného porovnávání. Výsledky jsou vyjádřeny jako aritmetické průměry $\pm$ SEM, hladina významnosti byla zvolena $p < 0,05$.

Výsledky

Porovnání sledovaných parametrů je uvedeno v tab. 1. Hladiny plazmatického ghrelinu byly u pacientek s AN před léčbou významně vyšší než u zdravých žen, hladiny leptinu a BMI měly pacientky významně snížené. Po 6týdenním léčebném období došlo u pacientek s AN ke snížení hladin ghrelinu, které však zůstaly stále vyšší ve srovnání se zdravými ženami. Plazmatické hladiny leptinu se po částečné realimentaci významně zvýšily, zůstaly však nižší než průměrné hodnoty zdravých

žen. Hladiny plazmatického NPY byly u pacientek s AN významně vyšší než u zdravých kontrol a po 6týdenní realimentaci nedošlo k významným změnám. Průměrná hodnota BMI se během léčby významně zvýšila.

Diskuze

V této studii jsme sledovali u pacientek s AN vybrané hormony související s řízením příjmu potravy a energetického metabolismu – orexigenní peptidy NPY a ghrelin a anorexigenní leptin. Našli jsme zvýšené bazální plazmatické hladiny NPY u pacientek s AN, což je v souladu s již publikovanými výsledky [5,20]. Ve studii Escobara et al po 16týdenním realimentačním období a váhovém příbytku pacientek s AN plazmatické hodnoty NPY poklesly [5]. V naší studii jsme po kratším 6týdenním realimentačním období nezaznamenali pokles plazmatického NPY, jeho průměrné hladiny zůstaly významně vyšší a u poloviny pacientek došlo dokonce k jeho mírnému zvýšení během léčby. Jedním z možných vysvětlení může být, že NPY má funkci dlouhodobého regulátoru příjmu potravy a jeho hladiny se mění až po déletrvajících změnách výživového stavu organismu. Poměr hladiny plazmatického ghrelinu, který stimuluje uvolnění NPY při hladu, k plazmatickému NPY však po relativně krátkodobé realimentaci našich pacientek poklesl z výrazně vyšší hodnoty na hodnoty blízké kontrolním osobám. Důvodem je významné snížení plazmatických hodnot ghrelinu během realimentace. V nedávné době Kos et al (2008) zjistili, že NPY je v určitém množství produkován také abdominální tukovou tkání, a může se tak účastnit zpětnovazebné signalizace o adipozitě, a dokonce být částečně odpovědný za omezení sekrece leptinu u pacientek s AN. Lze soudit, že plazmatické hladiny NPY u pacientek s AN zůstávají na vyšší hodnotě vzhledem k tomu, že regulační zásahy orexigenního ghrelinu a anorexigenního leptinu nejsou ještě na takové úrovni, aby zajistily energetickou bilanci odpovídající normě.

Tab. 1. Hormonální charakteristiky pacientek s AN před a po 6týdenní realimentaci a porovnání s kontrolní skupinou zdravých žen.

	Kontroly (n = 10)	AN 1 (n = 10)	AN 2 (n = 10)
věk (roky)	24,3 ± 0,8	23,3 ± 1,0	23,3 ± 1,0
BMI (kg/m ²)	21,45 ± 0,72	14,74 ± 0,43 ^{ab}	17,55 ± 0,39 ^{ab}
ghrelin (pg/ml)	980,84 ± 71	2201,38 ± 186 ^{ab}	1433,33 ± 227 ^{ab}
leptin (ng/ml)	9,01 ± 1,19	1,68 ± 0,35 ^{ab}	4,45 ± 0,92 ^{ab}
NPY (pmol/l)	49,79 ± 6,03	67,77 ± 7,03 ^b	75,72 ± 7,86 ^b

AN 1 – pacientky s anorexia nervosa před léčbou, AN 2 – pacientky s anorexia nervosa po 6týdenní léčbě, kontroly – kontrolní soubor zdravých žen

Data jsou vyjádřena jako průměr ± SEM.

^ap < 0,05 AN 1 vs AN 2; ^bp < 0,05 AN 1, AN 2 vs Kontroly.

Plazmatické hladiny ghrelinu byly u sledovaných pacientek s AN v důsledku negativní energetické bilance na počátku realimentačního období významně zvýšené. Po šesti týdnech léčby hladiny ghrelinu významně poklesly, stále však zůstaly vyšší než u zdravých žen. Tyto výsledky ukazují na částečné potlačení chronického hladovění u pacientek s AN a jsou v souladu s dříve publikovanými pracemi [3,12,14,19,21]. Plazmatické hladiny leptinu u pacientek s AN jsou v souvislosti s nadměrným úbytkem tukové tkáně výrazně sníženy, což se potvrdilo i u námi sledované skupiny. Po šesti týdnech léčby hladiny leptinu výrazně vzrostly, i když stále zůstaly nižší než hodnoty zdravých žen. Tyto výsledky korespondují se studiemi Haluzíka et al [7], Svobodové et al [26] a Tagamiho et al [27] a potvrzují úlohu leptinu jako citlivého výživového parametru [7,26,27]. Hodnoty BMI se během 6týdenní léčby významně zvýšily, nedosáhly však ještě minimální hodnoty udávané pro zdravé ženy. Tato skutečnost také odpovídá tomu, že jak plazmatický NPY a ghrelin, tak ani leptin nedosáhly po léčbě hodnot kontrolních žen.

Závěr

Ze získaných výsledků vyplývá, že sledované hormony reagují na nutriční stav organismu a mění se u pacientek s anorexia nervosa spolu s nárůstem tělesné hmotnosti. Během 6týdenního realimentačního období se u pacientek

s AN plazmatické hladiny ghrelinu a leptinu posouvaly směrem k hodnotám kontrolních žen. Plazmatická hladina NPY zůstala na vyšší hodnotě zřejmě vzhledem k tomu, že regulační zásahy ghrelinu a leptinu nebyly ještě na takové úrovni, aby zajistily energetickou bilanci odpovídající normě. Započatá diferenciace preadipocytů pravděpodobně stimulací NPY pokračovala a tomu odpovídala i jeho zvýšená hladina.

Poděkování

Tato studie vznikla za podpory grantu IGA NR/9158-3 a VZ 21620816. Děkujeme Miloslavě Jungmannové za spolupráci při odběrech pacientek, Dianě Riegerové a Nadě Procházkové za technickou podporu při analytických laboratorních stanoveních.

Literatura

1. Baranowska B, Wolinska-Witort E, Wasilewska-Dziubinska E et al. Plasma leptin, neuropeptide Y (NPY) and galanin concentrations in bulimia nervosa and in anorexia nervosa. *Neuro Endocrinol Lett* 2001; 22: 356–358.
2. Baranowska B, Wolinska-Witort E, Wasilewska-Dziubinska E et al. The role of neuropeptides in the disturbed control of appetite and hormone secretion in eating disorders. *Neuro Endocrinol Lett* 2003; 24: 431–434.
3. Bronský J, Nedvídková J, Schmidtová J et al. Ghrelin, leptin, IGF-I, IGF BP-3 and their relationship in girls with mental anorexia before and after realimentation. *J Pediatr Gastroenter Nutr* 2004; 39: S74.
4. Čáp J. Ghrelin and anorexia nervosa. *Vnitř Lék* 2002; 48: 919–920.
5. Escobar L, Freire JM, Espinosa R et al. Determination of insulin, leptin and neuropeptide Y by radioimmunoanalysis in patients with morbid obesity and anorexia

nervosa after therapeutic intervention. *Rev Esp Med Nucl* 2002; 21: 3–11.

6. Friedman JM. The function of leptin in nutrition, weight, and physiology. *Nutr Rev* 2002; 60: S1–S14.

7. Haluzík M, Papežová H, Nedvídková J et al. Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters. *Physiol Res* 1999; 48: 197–202.

8. Haluzík M, Kábrt J, Nedvídková J et al. Serum leptin levels in female patients with protein-calorie malnutrition and its relation to biochemical indicators of nutritional status. *Vnitř Lék* 1999; 45: 202–205.

9. Hillebrand JJ, de Wied D, Adan RA. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. *Peptides* 2002; 23: 2283–2306.

10. Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin and the regulation of food intake and energy balance. *Mol Interv* 2002; 2: 494–503.

11. Kos K, Harte AL, James S et al. Secretion of neuropeptide Y (NPY) in human adipose tissue and its role in maintenance of adipose tissue mass. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: E1335–E1340.

12. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85: 495–522.

13. Krch FD. Poruchy příjmu potravy. Praha: Grada 2005.

14. Kršek M, Rosická M, Haluzík M et al. The changes in serum leptin levels and their relationship to IGF-I, its binding proteins and leptin in women patients with anorexia nervosa. *Vnitř Lék* 2002; 48: 948–951.

15. Kryrková I, Nedvídková J. Nedávno objevené hormony s účastí v energetické homeostázi. *Čas Lék Čes* 2003; 2: 80–83.

16. van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML et al. Biological, Physiological, Patho-

physiological, and Pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25: 426–457.

17. Monteleone P, Di Lietto A, Tortorella A et al. Circulating leptin in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa or binge-eating disorder: relationship to body weight, eating patterns, psychopathology and endocrine changes. *Psychiatry Res* 2000; 94: 121–129.

18. Nedvídková J, Papežová H, Haluzík M et al. Interaction between serum leptin levels and hypothalamo-hypophyseal-thyroid axis in patients with anorexia nervosa. *Endocr Res* 2000; 26: 219–230.

19. Nedvídková J, Kryrková I, Barták V et al. Loss of meal-Induced Decrease in Plasma ghrelin Levels in Patients with Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1678–1682.

20. Oświecimska J, Ziora K, Geisler G et al. Prospective evaluation of leptin and neuropeptide Y (NPY) serum levels in girls with anorexia nervosa. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; 26: 301–304.

21. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E et al. Weight Gain decrease elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 669–673.

22. Papežová H, Kocourková J, Koutek J. Poruchy příjmu potravy. In: Raboch J, Anders M, Praško J et al (eds). *Psychiatrie. Doporučené postupy psychiatrické péče II*. Praha: Infopharm 2006: 127–140.

23. Pařízková J, Křížová J, Jiskra J et al. Leptin levels in female patients with restrictive and purgative types of anorexia nervosa. *Čas Lék Čes* 2003; 142: 289–291.

24. St-Pierre DH, Wang L, Taché Y. Ghrelin: a novel player in the gut-brain regulation of growth hormone and energy balance. *News Physiol Sci* 2003; 18: 242–246.

25. Strader AD, Woods CS. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology* 2005; 128: 175–191.

26. Svobodová J, Haluzík M, Papežová H et al. Vliv částečné realimentace na sérové koncentrace leptinu a klidový energetický výdej u pacientek s mentální anorexií. *Čas Lék Čes* 1999; 24: 748–752.

27. Tagami T, Satoh N, Usui T et al. Adiponectin in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1833–1837.

28. Teff KL, Elliott SS, Tschöp M et al. Dietary Fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2963–2972.

29. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707–709.

30. Weigle DS, Cummings DE, Newby PD et al. Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1577–1586.

31. Wren AM, Seal JL, Cohen MA et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5992–5995.

32. Yang K, Guan H, Arany E et al. Neuropeptide Y is produced in visceral adipose tissue and promotes proliferation of adipocyte precursor cells via the Y1 receptor. *FASEB J* 2008; 22: 2452–2464.

RNDr. Jara Nedvídková, CSc.

www.endo.cz

e-mail: jnedvidkova@endo.cz

Doručeno do redakce: 26. 11. 2008

Přijato po recenzi: 15. 3. 2009

www.csnn.eu