

ПЛАЗМЕНИ НИВА НА ЛЕПТИН, ГРЕЛИН И АДИПОНЕКТИН ПРИ МЪЖЕ И ЖЕНИ СЪС ЗАТЛЪСТЯВАНЕ И ПРЕДИАБЕТ

К. Каменова¹, Л. Лазаров¹, Г. Богданов¹, Т. Ханджиева-Дърленска¹, Г. Ставрева³, Д. Пендичева³,
Д. Димитрова², Г. Добревска¹, Р. Методиева¹, Д. Гетова³ и Н. Бояджиева¹

¹Катедра по фармакология и токсикология, Медицински факултет, Медицински университет – София

²Медицински университет – Пловдив

³Медицински университет – Плевен

PLASMA LEVELS OF LEPTIN, GHRELIN, AND ADIPONECTIN IN MALE AND FEMALE PATIENTS WITH OBESITY AND PREDIABETS

K. Kamenova¹, L. Lazarov¹, G. Bogdanov¹, T. Handzhieva-Darlenska¹, G. Stavreva¹, D. Pendicheva³
D. Dimitrova², G. Dobrevska¹, R. Metodieva¹, D. Getova³ and N. Boyadzhieva¹

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Medical University – Sofia

²Medical University – Plovdiv

³Medical University – Pleven

Резюме. Затлъстяването е хронично метаболитно заболяване, което се характеризира с дълготраен позитивен енергиен баланс и натрупване на прекомерно количество мастна тъкан в организма. Регулацията на метаболизма и апетита е сложен, взаимосвързан процес. Оновните хормони, които играят ключова роля в регулацията на апетита, са лептин, грелин и адипонектин. Лептинът и адипонектинът са адипокини, които се секретират от мастната тъкан и намаляват апетита. Грелинът е хормон, който се отделя от стомашната лигавица в зависимост от приема на храна и повишава апетита. Целта на проучването е да се установят плазмените концентрации на лептин, адипонектин и грелин при лица със затлъстяване и предиабет на нискокалорийна диета в комбинация с пробиотик от три различни области в България. Нашите резултати демонстрират понижени нива на лептин и повишени нива на адипонектин и грелин в кръвта в зависимост от индекса на телесна маса на изследваните лица. Тези данни са новост по отношение на баланса между лептин, адипонектин и грелин при лица с различна степен на затлъстяване. Различията между хормоналните нива в кръвта биха могли да изяснят механизмите в дисрегулацията на апетита и степента на редукция на теглото.

Ключови думи: затлъстяване, предиабет, лептин, адипонектин, грелин

Summary. Obesity is a chronic metabolic disease which is characterized by a long-term positive energy balance, and an accumulation of an excess fat tissue in the body. Regulation of metabolism and appetite is a complex inter-linked process. The main hormones involved in the regulation of the appetite are leptin, adiponectin and ghrelin. Leptin and adiponectin are adipokines secreted by the fat tissue which decrease appetite. Ghrelin is a hormone secreted by the stomach mucosa that increases appetite in correlation with food intake. The aim of the present study is to establish the plasma levels of leptin, adiponectin and ghrelin in subjects with obesity and prediabetes that are on a low-calorie diet combined with probiotic from three

regions in Bulgaria. Our results demonstrate decreased leptin levels and increased ghrelin and adiponectin plasma concentrations according to the subject's body mass index. These data are a novelty into the understanding of the balance between leptin, adiponectin and ghrelin in subjects with different level of obesity. The difference in the hormonal levels could give a light on the mechanisms in appetite dysregulation and the level of reduction of body weight.

Key words: obesity, prediabetes, leptin, adiponectin, ghrelin

ВЪВЕДЕНИЕ

При затлъстяване се отчитат различни хормонални изменения, които са свързани както с регулация на апетита, така и с регулация на метаболизма в мастната тъкан. Известно е, че хормонът лептин регулира апетита и участва в патогенезата на затлъстяването [3, 4, 8, 16, 19]. Наши изследвания доказват баланс между концентрациите на грелин и лептин при пациенти, подложени на различни диети за лечение на затлъстяване [1]. Вторият хормон, който регулира апетита и участва в механизмите на затлъстяването, е грелин [9, 11, 13]. Третият хормон е от групата на адипоцитокините – адипонектин. В литературата се натрупаха различни проучвания (експериментални и клинични) за механизми, чрез които адипонектинът се включва в регулацията на мастната обмяна, мастните клетки и мастната тъкан [18, 7, 22, 21].

Цел на това проучване е да се изследват концентрации на лептин, грелин и адипонектин в кръв на мъже и жени на възраст от 20 до 70 години с различна степен на затлъстяване (различен BMI).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проучванията са част от изследванията по голям мултицентров научен проект, финансиран на конкурсната сесия на МОН през 2014 г. През първия етап на изследванията се проведе скрининг върху участниците – доброволци с различна степен на затлъстяване и предиабет. Изследванията са извършени върху значим брой утвърдени участници за НИРДИАБО (220), обединени от три области на България – Северна (Плевенска област), Южна (Пловдивска област), Средна (София), като най-значим брой са участниците от София. Два са критериите за включване на участници в проучването: 1. Индекс на телесна маса (BMI) > 25 kg/m² и данни за предиабет на база на проведен орален глюкозо-толерантен тест (ОГТТ) (тестът е проведен със 75 g глюкоза, разтворени в 300 ml вода), сутрешна кръвна захар на гладно със стойности 5,6-6,9 mmol/l в кръвен

серум и НОМА индекс. Изчисляването на НОМА индекс за инсулинова резистентност е по стандартна формула:

$$\text{НОМА-IR} = \text{глюкоза} \cdot \text{инсулин} / 22.5$$

Референтни стойности:

Нормален НОМА-IR > 2.5

Рискова зона 2.5-5.0

Висока инсулинова резистентност (НОМА-IR) > 5.0

Участниците бяха разделени в 4 групи според BMI, както следва:

1-ва група – BMI < 25 kg/m²

2-ра група – BMI = 25-27.5 kg/m²

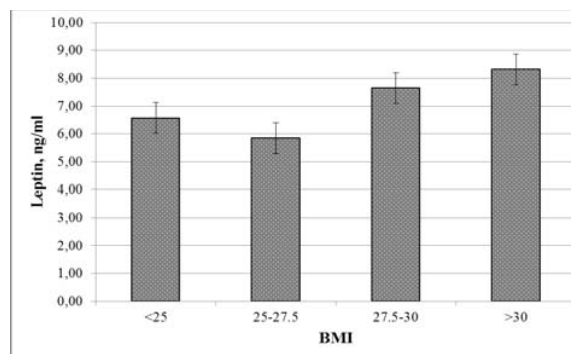
3-та група – BMI = 27.5-30 kg/m²

4-та група – BMI > 30 kg/m².

Преди започване на хранителни диети при пациентите, утвърдени за участие в изследванията, се извърши хормонален анализ на лептин, грелин и адипонектин чрез ELISA метод.

РЕЗУЛТАТИ

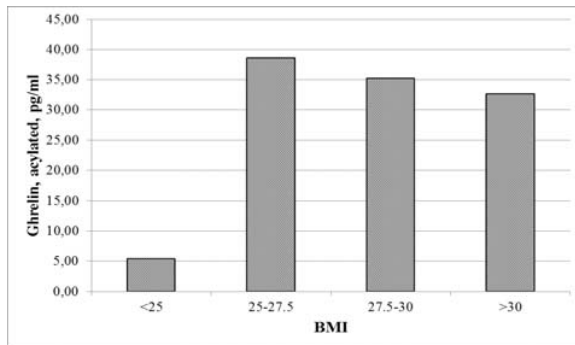
На фиг. 1 са представени концентрациите на лептин в кръвта на 220 мъже и жени със затлъстяване и предиабет. Те са сравнени с концентрации на контролна група с BMI ≤ 25 kg/m². При увеличаване на BMI се увеличава концентрацията на лептин в кръвта, като разликата е статистически значима между първа група BMI < 25 kg/m², и трета и четвърта група, съответно BMI > 27,5-30 kg/m² (P < 0,05 при общ брой на участници 220).



Фиг. 1. Концентрации на лептин (ng/ml) в кръвта

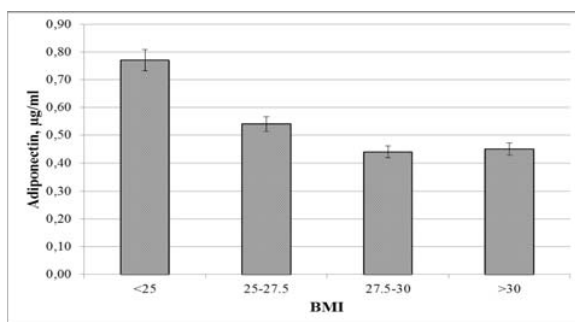
ОБСЪЖДАНЕ

На фиг. 2 са представени резултатите от определяне на грелин в кръв на същите участници – доброволци със затлъстяване и предиабет. Концентрацията на ацетилян грелин в кръвта е статистически значимо увеличена при всички участници с BMI > 25 в сравнение с тези без затлъстяване и BMI ≤ 25. Не се установяват статистически значими промени между отделните подгрупи, съответно между втора (BMI – 25-27,5), трета (BMI – 27,5-30) и четвърта (BMI > 30).



Фиг. 2. Концентрации на грелин, ацетилян в pg/ml в кръвта

На фиг. 3 са представени резултатите от изследванията върху адипонектин при участниците в НИРДИАБО. Статистически значимо понижаване на адипонектина е намерено във всички подгрупи с BMI над 25 в сравнение с контролната група (BMI под 25 kg/m²). При тези проучвания се установяват и различия между групите с различен BMI. По-значимо е понижението на адипонектин при трета и четвърта група (BMI съответно 27,5-30 kg/m² и BMI > 30 kg/m²) в сравнение с втора (BMI – 25-27,5 kg/m²). Статистическият анализ показва статистическа значимост – P > 0,001 между втора и трета група и P > 0,001 между втора и четвърта. Няма статистически значими разлики в концентрациите на адипонектин в кръвта между трета и четвърта група.



Фиг. 3. Концентрации на адипонектин в µg/ml в кръвта

Научните проучвания върху участници доброволци в изследователския проект НИРДИАБО показаха промени и в трите изследвани хормона – лептин, грелин и адипонектин, в кръвта на мъже и жени със затлъстяване и предиабет. Ролята на BMI (степен на затлъстяване) е документирана в настоящото научно проучване. Установени са промени в хормоналните нива на грелин при хора с висок BMI над 25 kg/m². Няма пряка връзка между мастната тъкан и грелин, но допускаме, че промяната в апетита на участниците се дължи на по-висок грелин при хората с повишено тегло. Има корелация между BMI и плазмените нива на адипонектин. Известно е, че адипонектин е хормон на адипоцитите. Установени са пониски нива на този хормон при хората с повишен BMI. По-значими са промените, които се отчитат в концентрациите на грелин и адипонектин в зависимост от степента на затлъстяване в сравнение с тези при лептин.

Анализът на резултатите по области показва, че няма разлика в хормоналните промени на участниците от отделните области. И при трите групи се откриват понижени нива на адипонектин и на грелин. Новост на това научно изследване е, че за първи път представяме в България резултати на плазмени нива на лептин, грелин и адипонектин на българи със затлъстяване и предиабет, който е зависим от степента на затлъстяване (от BMI). Резултатите от изследванията върху грелин и лептин демонстрират, че при стъпалобразно увеличаване степента на затлъстяване се променят плазмените нива за хормони, които са отговорни за апетит и затлъстяване. С увеличаване на затлъстяването отчетливо се намаляват концентрациите на грелин в кръвта. А това води до превес на лептин и увеличаване на апетита. Всяка следваща по-висока степен на затлъстяване активира дисбаланса между грелин и лептин, води до увеличени концентрации на хормона лептин, който активира апетита. Лептин е хормон, който се произвежда в мастната тъкан и участва в механизми на затлъстяването [3, 14, 16, 18]. Има данни за ролята му в механизмите на миокарден инфаркт при хора с висока степен на затлъстяване [19]. През 2015 г. бяха публикувани нови факти за ролята на лептин в регулация на автономната нервна система чрез хипоталамуса [24]. A. Raghu et al. [23] проучват ролята на лептин в регулацията на ангиогенезата и ендотелната функция. Допуска се участие на

рецепторите за лептин в регулацията на сърдечно-съдовата система. В допълнение, резултатите от изследванията на Charles и кол. [25] върху пациенти със захарен диабет тип 2 показват зависимости между плазмените нива на лептин и адипонектин и сърдечната функция. Взети заедно, посочените резултати от различни проучвания определят ролята на лептина в риска за сърдечно-съдовата система при пациенти със затлъстяване. Сравнителните проучвания на R. V. Considine et al. [8] върху концентрациите на лептин при хора с нормално тегло и при хора със затлъстяване показват ролята на лептина при затлъстяване. Те установяват по-високи нива на лептин в кръвта при затлъстяване. В нашите проучвания също установихме повишени нива в кръвта на доброволците с висока степен на затлъстяване ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$), което е представено на фиг. 1. При пациенти с нарушение в съня се установяват промени както в лептин и грелин [11], така и инсулинова резистентност с диабет тип 2 [20]. При нашите проучвания по време на скрининга около 30% от пациентите имаха оплаквания от нарушен сън, пристъпи на краткотрайна апнея, по-често срещани при тези с по-висок BMI индекс. Част от пациентите съобщаваха и за намалена физическа активност (намалена енергия за работа). Допускаме, че това се дължи на увеличените концентрации както на лептин, така и на инсулин в кръвта на тези пациенти. Посоченото допускане се подкрепя от резултатите на B. F. Belgardt и J. C. Brüning [4]. В подкрепа на представените клинични изследвания са и експериментални изследвания на различни автори, които доказват ролята на мастната тъкан, съответно лептина, в контрола на апетита и за увеличаване на теглото [12, 17]. Вторият хормон, който регулира апетита, е грелин. На фиг. 2 са документирани ниски нива на грелин при всички участници с $BMI > 25$. Тези резултати корелират с публикувани в литературата данни, че нивата на циркулиращ грелин в кръвта са понижени при хора със затлъстяване. Промени в концентрацията на грелин са отчетени и при пациенти със затлъстяване и нарушения в съня [11]. Наши непубликувани проучвания (Бояджијева, Ханджиева, Каменов, 2010) показват, че при пациенти със затлъстяване се отчита дисбаланс в кръвните концентрации на лептин и грелин. Публикувани са резултати на различни автори [2, 5, 6, 10, 15], че при увеличаване на лептин се увеличава апетитът, нарушава се метаболизмът и се достига до затлъстяване с риск от диабет. Част от тези автори подкрепят и взаимодействията лептин-инсулин за контрол

на физиологичен метаболизъм. Нарушение в това взаимодействие е доказано при затлъстели мъже. Третият хормон, който е свързан със затлъстяване и през последните години се дискутира ролята му за развитието на захарен диабет тип 2, е адипонектин. Резултатите от фиг. 3 демонстрират значимо намаляване на адипонектин в кръвта на участници. Адипонектин е добре изучен хормон от групата на адипоцитокени – хормони на мастната тъкан [8]. Редица автори подчертават ролята му в регулацията на имунните функции. Ниските нива на адипонектин в кръвта на всички участници с BMI над 25 kg/m^2 дават основание за бъдещи проучвания върху имунната система на тази група хора.

Бъдещите цели на проучването на НИРДИАБО са свързани с приложение на нискокалорична диета, на комплекс от двуетапен диетичен режим със или без съчетание с физическа активност с цел подобряване на метаболизма, намаляване на степента на затлъстяване и на риска от предиабет, включително и с повлияване върху имунни функции (напр. активност на NK cells, в което направление участници от изследователския колектив имат приноси). Настоящите научни изследвания представят изходните хормонални нива на три важни за въглехидратната и мастната обмяна хормона – лептин, грелин и адипонектин. В допълнение, за всеки участник са определени концентрации на инсулин в кръвта и е изчислен НОМА индекс. Предстоящ е анализът на връзката на резултатите от НОМА индекс и промените на изследваните хормони при групите участници доброволци в НИРДИАБО.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Участници – доброволци от три области на България (София, Плевен и Пловдив), със затлъстяване и предиабет са включени в научен проект НИРДИАБО, финансиран от МОН – София. Проведени са хормонални изследвания и са определени концентрациите в кръв на три хормона: лептин, грелин и адипонектин, преди стартиране на интервенциите чрез хранителни режими, физическа активност и психологическа работа с участниците. Определянето на изходните нива на посочените хормони демонстрира намалени концентрации на грелин и адипонектин и увеличени концентрации на лептин. Новост е установената зависимост между степента на затлъстяване и хормоналния дисбаланс между грелин и лептин, както и установеното значимо намаляване на адипонектин в кръв на участници с висока

степен на затлъстяване – BMI над 30 kg/m². Няма различия между участниците доброволци от три-те области на България при хормоналния анализ.

Настоящото проучване е финансирано с проект на МОН „НИРДИАБО“ Б02/10 от 12.12.2014 г.

Библиография

1. Handjieva-Darlenska, T. et N. Boyadjieva. The effect of high-fat diet on the plasma levels of ghrelin and leptin in rats. – J. Phys. Biochem., 2009.
2. Appleton, S. et al. Diabetes and cardiovascular disease outcomes in the metabolically healthy obese phenotype: a cohort study. – Diabetes Care, **36**, 2013, 2388-2394.
3. Auwerx, J. et B. Staels. Leptin. – Lancet, **351**, 1998, 737-742.
4. Belgardt, B. F et J. C Brüning. CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. – Ann. N. Y. Acad. Sci., 2010, 1212, 97-113.
5. Bluher, M. The distinction of metabolically 'healthy' from 'unhealthy' obese individuals. – Curr. Opin. Lipidol., **21**, 2010, 21, 38-43.
6. Bruce, K. D. et M. A. Hanson. The developmental origins, mechanisms, and implications of metabolic syndrome. – J. Nutr., **140**, 2010, 648-652.
7. Chandran, M. et al. Adiponectin: More than just another fat cell hormone? – Diabetes Care, **26**, 2003, 2442-2450.
8. Considine, R. V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. – N. Engl. J. Med., **334**, 1996, 292-295.
9. Cummings, D. E. et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. – Diabetes, **50**, 2001, 1714-1749.
10. Frühbeck, G. et al. Disruption of the leptin-insulin relationship in obese men 24 hours after laparoscopic adjustable silicone gastric banding. – Obes. Surg., **12**, 2002, 366-371.
11. Harsch, I. A. et al. Leptin and ghrelin levels in patients with obstructive sleep apnoea: Effect of CPAP treatment. – Eur. Respir. J., **22**, 2003, 251-257.
12. Kennedy, G. C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. – Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., **140**, 1953, 578-596.
13. Kojima, M. et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. – Nature, **402**, 1999, 656-660.
14. Lebovitz, H. E. The relationship of obesity to the metabolic syndrome. – Int. J. Clin. Pract. Suppl., **134**, 2003, 18-27.
15. Lee, W. J. et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy for diabetes treatment in nonmorbidly obese patients: efficacy and change of insulin secretion. – Surgery, **147**, 2010, 664-669.
16. O'Donnell, C. et al. Leptin, obesity, and respiratory function. – Respir. Physiol., **119**, 2000, 163-170.
17. Obici, S. Minireview: Molecular targets for obesity therapy in the brain. – Endocrinology, **150**, 2009, 2512-2517.
18. Ronti, T., G. Lupattelli et E. Mannarino. The endocrine function of adipose tissue: An update. – Clin. Endocrinol. (Oxf), **64**, 2006, 355-365.
19. Söderberg, S. et al. Leptin is associated with increased risk of myocardial infarction. – J. Intern. Med., **246**, 1999, 409-418.
20. Spiegel, K. et al. Sleep loss: A novel risk factor for insulin resistance and type 2 diabetes. – J. Appl. Physiol., **99**, 2005, 2008-2019.
21. Swarbrick, M. M. et P. J. Havel. Physiological, pharmacological, and nutritional regulation of circulating adiponectin concentrations in humans. – Metab. Syndr. Relat. Disord., 2008, № 6, 87-102.
22. Wulster-Radcliffe, M. C. et al. Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. – Biochem. Biophys. Res. Commun., **316**, 2004, 924-929.
23. Raghu, A., Bee K. Tan, Harpal S. Randeva. Differential Effects of Leptin and Adiponectin in Endothelial Angiogenesis. – J. Diabetes Res. 2015, 2015, 648239.
24. Masafumi, Kurajoh, Hidenori Koyama, Manabu Kadoya, Mariko Naka, Akio Miyoshi, Akinori Kanzaki, Miki Kakutani-Hatayama, Hirokazu Okazaki, Takuhito Shoji, Yuji Moriwaki, Tetsuya Yamamoto, Masanori Emoto, Masaaki Inaba, Mitsuyoshi Namba. Plasma leptin level is associated with cardiac autonomic dysfunction in patients with type 2 diabetes: HSCAA study. – Cardiovasc. Diabetol., **14**, 2015, 117.
25. Charles, L. E. et al. Leptin, adiponectin, and heart rate variability among police officers. – Am. J. Hum. Biol., **27**, 2015, № 2, 184-191.

✉ Адрес за кореспонденция:

Калина Каменова
Катедра по фармакология и токсикология
Медицински факултет
Медицински университет
ул. "Здраве" № 2
1431 София