

GHRELINA – NOWY HORMON REGULUJĄCY NIE TYLKO POBIERANIE POKARMU I WYDZIELANIE HORMONU WZROSTU

**GHRELIN – REGULATION OF FEEDING, GROWTH HORMONE
RELEASE AND OTHER ACTIONS OF A NEW HORMONE**

Zbigniew KMIEĆ, Magdalena WYRZYKOWSKA

Katedra Histologii i Immunologii Akademii Medycznej w Gdańsku

Streszczenie: Ghrelina to peptyd stanowiący endogenny ligand receptora syntetycznych stymulatorów wydzielania hormonu wzrostu, GHS-R. Ghrelina syntetyzowana jest głównie w komórkach X/A żołądka, a w mniejszych ilościach także w podwzgórzu, przysadce mózgowej, jelitach, korze nadnerczy, gonadach, łożysku, kardiomiocytach, limfocytach T i monocytach. Peptyd ten zwiększa uwalnianie hormonu wzrostu działając na przysadkę mózgową bezpośrednio i pośrednio, synergistycznie z somatoliberyną. Ghrelina to jedyny hormon obwodowy pobudzający apetyt i pobieranie pokarmu poprzez stymulację komórek wydzielających neuropeptyd Y i AgRP w jądrze łukowatym podwzgórza oraz hamowanie anoreksygennego działania melanokortyny. Stężenie ghreliny we krwi rośnie w stanach ujemnego bilansu energetycznego, jest też obniżone u osób otyłych. Ponadto ghrelina pobudza wydzielanie kwasu solnego oraz motorykę żołądka i jelit działając za pośrednictwem nerwu błędnego, wpływa na proliferację niektórych rodzajów komórek, wywiera efekty gastro- i kardioprotekcyjne.

Słowa kluczowe: ghrelina, kontrola pobierania pokarmu, wydzielanie GH.

Summary: Ghrelin, an acetylated peptide composed of 28 amino-acids, is an endogenous ligand for the growth hormone secretagogues receptor, GHS-R. Ghrelin is mainly produced by the X/A cells of the oxyntic glands in the stomach and, to a much lesser extent, in hypothalamus, pituitary, adrenal gland, intestine, gonads, heart, T lymphocytes, and monocytes. Ghrelin increases growth hormone secretion independently on and synergistically with somatoliberin. It is the only peripheral hormone that increases appetite and food intake by stimulating hypothalamic neurons that secrete key orexinogens, neuropeptide Y and AgRP, and by inhibiting anorexigenic α -MSH neurons. Serum level of ghrelin increases during fasting and becomes suppressed by refeeding and in obesity. Ghrelin increases secretory activity and motility of stomach and ileum, induces proliferation of some cell lines and shows gastro- and cardioprotective properties.

Key words: ghrelin, feeding regulation, GH secretion, energy homeostasis.

ODKRYCIE I WYSTĘPOWANIE GHRELINY

Pobieranie pokarmu stanowi podstawową funkcję życiową organizmu kontrolowaną przez złożone układy regulacyjne obejmujące ściśle współdziałanie procesów nerwowych i endokrynnych. W ostatnim dziesięcioleciu odkryto wiele nowych peptydów biorących udział w regulowaniu homeostazy energetycznej ustroju. Jednym z nich jest ghrelina, 28-aminokwasowy peptyd o masie cząsteczkowej 3,3 kDa, mający resztę kwasu oktanowego (C8:0) związaną z seryną (Ser3); obecność reszty acylowej warunkuje aktywność biologiczną peptydu umożliwiając jego wiązanie się z receptorami typu GHS-R1a oraz ułatwiając przenikanie przez barierę krew-mózg [7,42]. Ghrelina okazała się być intensywnie poszukiwanym, endogennym ligandem sklonowanego wcześniej receptora (GHS-R) syntetycznych związków pobudzających wydzielanie hormonu wzrostu (GHS, *GH secretagogues*) z komórek somatotropowych przysadki mózgowej. Jak dotąd poznano dwie izoformy receptora, aktywną biologicznie postać GHS-R1a oraz nieaktywny GHS-R1b, które występują w podwzgórzu, hipokampie, pniu mózgu, przysadce mózgowej, trzustce oraz w wielu innych narządach [65]. Należy zaznaczyć, że receptory GHS różnią się istotnie od receptorów somatoliberyny, GHRH, która jest głównym naturalnym stymulatorem wydzielania hormonu wzrostu. Nazwę hormonu utworzono w oparciu o słowo „*ghre*”, które stanowi w języku proto-indoeuropejskim rdzeń słowa „wzrost”, oraz przyrostek *-relin* wskazujący na udział peptydu w uwalnianiu GH (ang. *release*). Gen ludzkiej ghreliny, złożony z 4 egzonów i 3 intronów, zlokalizowany jest na chromosomie 3 (w locus 3p25-26) [42], u człowieka ma on dwa miejsca inicjacji transkrypcji [40]. Ghrelina powstaje w wyniku proteolizy znacznie dłuższego prekursora, preproghreliny, zbudowanego ze 117 aminokwasów. Ghreliny szczura i człowieka różnią się 2 aminokwasami, a ludzki gen kodujący preproghrelinę jest homologiczny ze szczurzym w 82% [42]. Gen ghreliny małp *Rhesus* jest w 91% homologiczny z ludzkim, zaś sam peptyd różni się od ludzkiego tylko 1 aminokwasem [2]. W żołądku szczura dojrzały peptyd kodowany jest przez egzon 1 i 2, w wyniku alternatywnego składania pierwotnego transkryptu powstają dwa peptydy o identycznych właściwościach biologicznych: „właściwa” ghrelina utworzona przez 28 aminokwasów oraz des-Gln14-ghrelina zbudowana z 27 aminokwasów (w pozycji 14 brak glutaminy), izoformy te nie różnią się aktywnością biologiczną [3,42]. W żołądku człowieka występują jeszcze inne formy ghreliny powstające w rezultacie potranslacyjnych modyfikacji peptydu [34]. Zawartość des-Gln14-ghreliny w żołądku jest bardzo niska i dlatego istotne znaczenie biologiczne przypisywane jest ghrelinie [42]. Żołądek i jelito cienkie wydzielają do krwi znaczne ilości nieacylowanej ghreliny [34], która nie wpływa na wydzielanie hormonu wzrostu i nie aktywuje receptora GHS-R1a [9,42], pobudza natomiast, podobnie jak acylowana ghrelina [17], adypogenezę w szpiku kostnym [70] oraz antagonizuje hamujący wpływ ghreliny na wydzielanie insuliny i stężenie glukozy we krwi [10]. Jak dotąd mechanizm dołączania reszty acylowej do peptydu nie został poznany.

Obecność ghreliny wykryto początkowo w ziarnistościach sekrecyjnych typu A komórek endokrynnych gruczołów właściwych trzonu i dna żołądka szczura [22,42,59]

oraz w odpowiadającym im komórkach z ziarnistościami typu P/D₁ w żołądku człowieka lub typu X w żołądku psa [59]. Badania immunocytochemiczne na poziomie ultrastruktury wykazały, że w żołądku ssaków [59] komórki syntetyzujące ghrelinę tworzą dość liczną populację komórek hormonalnie czynnych, które stanowią 20–25% wszystkich komórek endokrynnych błony śluzowej żołądka [68]. Gastrektomia powoduje spadek poziomu ghreliny w surowicy krwi ludzi o 65% [3], a u szczura o 80% [23], co wskazuje na syntezę tego hormonu także poza żołądkiem. Występowanie ghreliny w innych narządach przedstawiono w tabeli 1. Zwraca uwagę obecność peptydu nie tylko w komórkach enteroendokrynnych ściany jelita i trzustki, ale również w podwzgórzu, części gruczołowej przysadki mózgowej oraz innych gruczołach dokrewnych. U człowieka mRNA ghreliny wykryto przy pomocy czulej techniki PCR praktycznie we wszystkich badanych narządach i komórkach, co może wskazywać na liczne funkcje tego peptydu poza ośrodkowym układem nerwowym [27]. Ponadto mRNA/peptyd ghreliny obecne są w wielu nowotworach wywodzących się z komórek endokrynnych [26].

RECEPTORY GHRELINY I MECHANIZMY WEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ TRANSDUKCJI SYGNAŁU

Odkryto dwa podtypy receptora, aktywny biologicznie GHS-R1a oraz nieaktywny GHS-R1b [65]. Gen kodujący GHS-R zawiera dwa egzony, jest on zlokalizowany na chromosomie 3 (3q26.2) [56]. GHS-R1a zbudowany jest z 366 aminokwasów, a jego masa cząsteczkowa wynosi 41 kDa, należy on do grupy receptorów o siedmiu domenach transbłonowych sprzężonych z białkami G. Natomiast GHS-R1b zbudowany jest z 289 aminokwasów, które tworzą 5 domen transbłonowych [65]. Ludzki GHS-R1a jest homologiczny w stosunku do szczurzego w 96%, a w stosunku do receptora świni w 93% [56].

Receptory ghreliny typu GHS-R1 występują we wszystkich komórkach syntetyzujących ghrelinę, w wielu strukturach układu nerwowego, które nie wykazują obecności mRNA ghreliny, a także w tkankach obwodowych (tab. 1). Większość danych przedstawionych w tabeli 1 uzyskano przy pomocy techniki PCR, w której stosowano startery nieodróżniające genu *GHS-R1a* od genu *GHS-R1b*. Po zastosowaniu odpowiednich starterów silną ekspresję genu *GSR-1a* zaobserwowano w podwzgórzu, przysadce mózgowej oraz, na znacznie niższym poziomie, w tarczycy, trzustce, śledzionie, mięśniu serca i nadnerczach, a więc w ograniczonej liczbie narządów [27]. Natomiast obecność mRNA receptorów typu GHS-R1b wykryto w znacznie większej liczbie narządów [27]. Aktywność metaboliczna nieacylowanej postaci ghreliny, która nie jest ligandem receptorów GHS-R1a, wskazuje na istnienie niezidentyfikowanej jeszcze innej podgrupy receptorów ghreliny [9,70]. Pod względem występowania receptorów typu GHS w obrębie przewodu pokarmowego występują dość duże różnice międzygatunkowe [21].

W ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) przyłączenie do receptora GHS-R agonistów naturalnych (ghreliny i des-Gln14-ghreliny) oraz syntetycznych stymulatorów wydzielania hormonu wzrostu (m.in. heksareliny i niepeptydowego agonisty MK-0677) prowadzi do aktywacji fosfolipazy C i podwyższenia wewnątrzkomórkowego stężenia trójfosforanu inozytolu i jonów wapnia [42]. Zjawisko to jest skutkiem napływu wapnia

TABELA 1. Występowanie ghreliny (mRNA i/lub peptyd) oraz receptorów GHS-R

Lokalizacja ghreliny		Występowanie receptorów GHS	
Przewód pokarmowy (żołądek: trzon i dno > wpust żołądka > dwunastnica > jelito cienkie > jelito grube)	[21,22, 23,42,60]	Wszystkie komórki syntetyzujące ghrelinę (sąsiednia kolumna) oraz ośrodkowy układ nerwowy: podwzgórze (ARC, PVN, DMV, LHA), pień mózgu, jądro traktu samotnego i pole najdalsze, hipokamp, istota czarna, grzbietowe i brzuszne jądro szwu, pole brzuszne nakrywki, zakręt zębaty Przysadka mózgowa Tarczycza Kora nadnerczy, gonady, płuca, wątroba Wyspy trzustkowe Żołądek i jelita Serce Limfocyty T, monocyty	[29,46,76]
Podwzgórze (jądro łukowate, grupa komórek wokół komory III)	[19,42,46]		
Przysadka mózgowa (komórki somato-, lakto- i tyreotropowe)	[14,43]		[14,43]
Wyspy trzustkowe (brak u dorosłych szczurów)	[76]		[29]
Tarczycza płodu	[60]		[1,26,29]
Kora nadnerczy (warstwa kłębkowata)	[1,27]		[76]
Nerka	[50]		[21,22]
Komórki tłuszczowe	[42]		[6,15,35]
Mięśnie szkieletowe	[2]		[25,79]
Mięsień sercowy i aorta	[35]		
Jądro (komórki Leydiga i Sertoliego)	[26]		
Łożysko	[27]		
Limfocyty T i monocyty	[25,79]		

przez kanały typu N, przy czym efekt ten zależny jest również od powstania cAMP oraz aktywacji kinazy białkowej A [43]. Podobnie jak receptory innych hormonów, GHS-R1a podlega także internalizacji i recyrkulacji: po związaniu ghreliny kompleks ligand-receptor ulega przemieszczeniu w postaci pęcherzyka endocytarnego do okolicy okołojądrowej w ciągu ok. 60 minut, zaś powrót receptora do błony komórkowej następuje po ok. 6 godzinach [13].

WPŁYW GHRELINY NA OŚRODKI KONTROLUJĄCE POBIERANIE POKARMU I RÓWNOWAGĘ ENERGETYCZNĄ

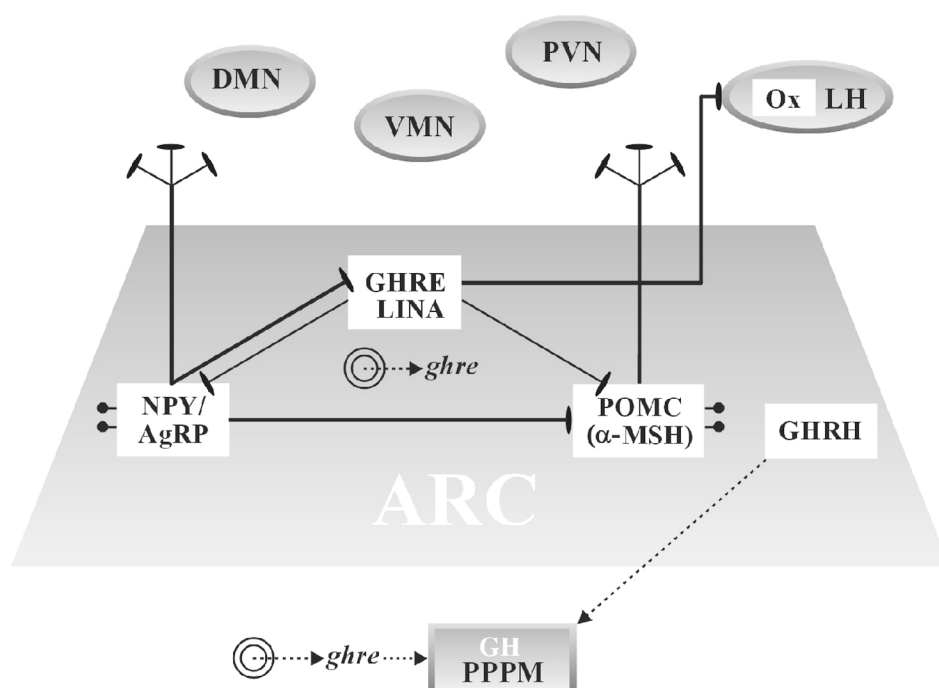
Wysunięta w latach pięćdziesiątych ub. wieku dualistyczna koncepcja ośrodkowej kontroli homeostazy energetycznej przez „ośrodek głodu” zlokalizowany w okolicy bocznej podwzgórza (LH, *lateral hypothalamic area*) oraz przez „ośrodek sytości” w jądrze brzuszno-przyśrodkowym podwzgórza (VMN, *ventromedial hypothalamic nucleus*) uległa znacznej modyfikacji w ciągu ostatnich kilkunastu lat. Uważa się obecnie, że w obrębie podwzgórza funkcjonuje kilka nakładających się na siebie czynnościowych sieci neuronalnych, które operują wykorzystując neurony zlokalizowane w podwzgórzu i pniu mózgu. Najważniejsze znaczenie przypisywane jest obecnie jądru łukowatemu (ARC, *arcuate hypothalamic nucleus*), które odbiera sygnały hormonalne i nerwowe (z innych struktur mózgowia) oraz jądra przykomorowego (PVN, *paraventricular nucleus*), które ma pełnić, w niewyjaśniony dokładnie sposób, rolę generatora bodźców wyzwalających złożone aktywności związane z pobieraniem pokarmu. Istotne znaczenie przypada też strukturom pnia mózgu (odbiór bodźców nerwowych z przewodu pokarmowego oraz sygnałów hormonalnych i metabolicznych docierających drogą krwi), a także jądra grzbietowo-przyśrodkowego podwzgórza (DMN, *dorsomedial nucleus*) i jądra okołosklepieniowego (*perifornical nucleus*) [36].

Podwzgórzowy układ kontroli przyjmowania pokarmu w krótkiej perspektywie czasowej (mniej lub bardziej regularne epizody łaknienia i spożywania pokarmu w ciągu doby) oparty jest na antagonizmie najsilniejszego związku oreksygennego, neuropeptydu Y (NPY), który jest wytwarzany głównie w neuronach ARC oraz jednej z melanokortyn, anoreksygennego hormonu melanotropowego (α -MSH) powstającego w neuronach podwzgórza wytwarzających prekursor α -MSH, proopiomelanokortynę (POMC). W obrębie ARC około 90% neuronów zawierających NPY syntetyzuje też inny oreksygenny peptyd, AgRP (*agouti-related protein*), endogenne antagonistą receptora melanokortyn [36]), który hamuje uwalnianie α -MSH z leżących w bezpośrednim sąsiedztwie neuronów zawierających POMC [58]. Neurony NPY/AgRP oraz neurony POMC wysyłają liczne projekcje do wielu okolic podwzgórza. Wykazano, że główny mechanizm oreksygennego działania ghreliny w podwzgórzu polega na nasileniu ekspresji NPY oraz AgRP w neuronach jądra łukowatego [37,43,51,62,63]. Świadczą o tym obserwacje wskazujące na to, że zablokowanie aktywacji neuronów NPY/AgRP przez antagonistów receptora NPY typu 1 (Y1-R) [63] oraz przez przeciwciała anty-ghrelinowe [51] hamuje pobieranie pokarmu stymulowane przez ghrelinę. W badaniach elektrofizjologicznych izolowanych skrawków podwzgórza wykazano znaczne zwiększenie spontanicznej aktywności neuronów zawierających NPY pod wpływem ghreliny [19]. Jak

dotąd nie rozstrzygnięto, czy oreksygenne działanie ghreliny spowodowane jest aktywnością peptydu powstającego lokalnie w podwzgórzu, czy też hormonu wytwarzanego w tkankach obwodowych (głównie w żołądku), ponieważ ilość ghreliny syntetyzowana w podwzgórzu stanowi tylko niewielką część produkcji hormonu w żołądku [3,23]. Neurony zawierające ghrelinę zlokalizowane są w podwzgórzu w ciągłym paśmie komórek leżących bocznie od jądra przykomorowego, a następnie pomiędzy jądrem grzbietowo-przyśrodkowym i brzuszno-przyśrodkowym, w okolicy okołosklepieniowej, w ependymie III komory oraz w środkowej części jądra łukowego [19,30,42]. Aksony tych neuronów docierają do presynaptycznych terminali neuronów leżących w ARC, DMN, LH oraz PVN, a także do innych struktur mózgu poza podwzgórzem [19,30]. Zaobserwowano, że w obrębie ARC neurony zawierające ghrelinę tworzą synaptyczne połączenia aksodendrytyczne i aksosomatyczne z neuronami NPY/AgRP oraz z neuronami POMC [19]. Występowanie obustronnych kontaktów synaptycznych między neuronami ghrelinowymi a neuronami NPY/AgRP w obrębie jądra łukowego [30] może wskazywać na istnienie ujemnej pętli sprzężenia zwrotnego kontrolującej uwalnianie silnego oreksygeny, jakim jest NPY. Oreksygeny efekt działania ghreliny ulega dodatkowo wzmocnieniu pośrednio wskutek zahamowania przez AgRP syntezy anoreksygenego α -MSH w neuronach zawierających POMC, które sąsiadują z neuronami NPY/AgRP [19,58]. Pod wpływem ghreliny ulega też obniżeniu ekspresja receptorów leptyny w neuronach NPY/AgRP [73], co prowadzi do osłabienia anoreksygenego działania leptyny. Wpływ ghreliny na ośrodki podwzgórza uczestniczące w regulacji przyjmowania pokarmów przedstawiono schematycznie na rycinie 1.

Obok jądra łukowego także inne części podwzgórza odgrywają istotną rolę w działaniu ghreliny: podanie tego peptydu do jądra bocznego silnie zwiększało immunoreaktywność białka Fos, wczesnego wskaźnika aktywacji neuronów, w takich jądrach podwzgórza, jak ARC, PVN i DMN [33]. Aksony zawierające ghrelinę tworzą bezpośrednie połączenia synaptyczne z neuronami LH produkującymi oreksynę (peptyd pobudzający apetyt), zaś ośrodkowo podana ghrelin silnie indukuje białko Fos w oreksyno-immunoreaktywnych neuronach LH [54,72]. Zakończenia synaptyczne zawierające ghrelinę obserwowano też na aksonach neuronów zawierających NPY w jądrze przykomorowym oraz na niektórych neuronach tego jądra produkujących kortykoliberynę (CRF) [19]. Podanie ghreliny do jądra przykomorowego indukowało aktywność białka Fos w neuronach PVN, ARC, DMN, a także w neuronach ciała migdałowatego i w jądrze pasma samotnego [53].

Przytoczone dane dokumentujące udział ghreliny w ośrodkowej kontroli pobierania pokarmu nie przesądza o miejscu pochodzenia peptydu, który może docierać do podwzgórza zarówno drogą krwi, drogą dyfuzji poprzez narząd okołokomorowy, jak też może być uwalniany lokalnie z zakończeń nerwowych (ryc. 1). Transport ghreliny poprzez barierę krew-mózg zachodzi za pośrednictwem białka przenośnikowego w kierunku od krwi do mózgu oraz bez udziału transportera w kierunku od mózgu do krwi, jednak efektywność transportu domózgowego jest niewielka [7].



RYCINA 1. Schemat przedstawia w uproszczony sposób główne połączenia neuronów (prostokąty) pobudzających i hamujących pobieranie pokarmu w obrębie jądra łukowatego (ARC). Neurony ghrelino-Ir (immunoreaktywne) (GHRE) tworzą połączenia z komórkami NPY/AgRP-Ir oraz POMC-Ir [19,30], z komórkami oreksyno-Ir (OX) w jądrze bocznym podwzgórza (LH) [71], a także z neuronami DMN, PVN oraz strukturami poza podwzgórzem [19,30]. Neurony NPY/AgRP tworzą połączenia z komórkami ghrelino-Ir [30] oraz hamują aktywność komórek produkujących α-MSH [19]. Neurony NPY/AgRP oraz POMC/α-MSH leżące w jądrze łukowatym mają receptory dla leptyny (Ob-R_b) oraz wysyłają liczne projekcje do jąder podwzgórza (PVN, LH, VMN, DMN) oraz pnia mózgu, głównych ośrodków uczestniczących w kontroli pobierania pokarmu. Nie zaznaczono obecności receptorów leptyny na neuronach innych jąder podwzgórza oraz receptorów innych hormonów i neuropeptydów uczestniczących w kontroli równowagi energetycznej. W ARC znajdują się też neurony syntetyzujące somatotropinę, GHRH, pobudzającą syntezę i uwalnianie hormonu wzrostu (GH) w przednim płacie przysadki mózgowej (PPPM). Podwójne koła oznaczają transport ghreliny (*ghre*) do ARC i PPPM drogą krwi

ROLA GHRELINY W MECHANIZMACH NERWOWEJ I HORMONALNEJ KONTROLI POBIERANIA POKARMU I RÓWNOWAGI ENERGETYCZNEJ. CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA STĘŻENIE GHRELINY W SUROWICY KRWI

Kontrola pobierania pokarmu następuje w wyniku skomplikowanych oddziaływań zachodzących na szlakach neurogennych i dokrewnych określanych jako oś: podwzgórze → pień mózgu → tkanki obwodowe albo oś: mózg → żołądek-jelita → tkanka tłuszczowa [44]. Kluczowe dla takiego ujęcia ma określenie relacji pomiędzy sygnałami ośrodkowymi generowanymi przede wszystkim w podwzgórzach a sygnałami obwodowymi, takimi, jak impulsacja neurogenna, hormony (m.in. cholecystokinina, ghrelina,

leptyna, insulina) oraz wchłonięte produkty trawienia (glukoza, kwasy tłuszczowe, aminokwasy). Istotny aspekt w regulowaniu ilości przyjmowanego pokarmu, a tym samym kontrolowaniu zasobów energetycznych organizmu odgrywa także czas oddziaływania sygnałów na ośrodki sterujące. Wśród krótko działających czynników nerwowych, hormonalnych i metabolicznych wyróżnić można „sygnały sytości” (impulsy aferentne ze ściany przewodu pokarmowego, cholecystokinina i inne hormony żołądkowo-jelitowe, insulina, wzrost stężenia glukozy we krwi) oraz „sygnały głodu” reprezentowane głównie przez ghrelinę i obniżenie stężenia glukozy we krwi. Wydaje się natomiast, że leptyna (wydzielana głównie przez adipocyty, a także przez komórki główne błony śluzowej żołądka) stanowi czynnik, który w normalnych warunkach odzwierciedla poziom zasobów energetycznych (ilość trójglicerydów w adipocytach), dzięki czemu można ją uważać za sygnał decydujący o długoterminowej kontroli homeostazy energetycznej. Kontrola ta zachodzi zarówno poprzez ośrodki podwzgórza kontrolujące pobieranie pokarmu, jak i poprzez wpływ na narządy i tkanki obwodowe kluczowe dla magazynowania i przetwarzania substratów energetycznych, takie jak: tkanka tłuszczowa, mięśnie szkieletowe i wątroba. Leptyna stanowi jednocześnie „sygnał sytości”, ponieważ jej stężenie we krwi rośnie po zapoczątkowaniu spożywania pokarmu [5], zaś u prawidłowo odżywionych ludzi i zwierząt hormon ten hamuje pobieranie pokarmu po upływie kilku godzin po podaniu dożylnym, dokomorowym i do jądra łukowatego podwzgórza [74]. Obecność biologicznie aktywnej postaci receptora leptyny typu Ob-R stwierdzono na neuronach wielu jąder podwzgórza, a szczególnie duże ich zagęszczenie wykazano w jądrze łukowatym [18,74]. Aktywacja receptorów leptyny w podwzgórzu prowadzi do zahamowania uwalniania NPY oraz AgRP [36] i do wydzielania anoreksygenego α -MSH [18]. Zaproponowano, że leptyna wywiera stały tonizujący wpływ na aktywność neuronów NPY/AgRP, zaś zahamowanie jej działania na te komórki, m.in. przez zmniejszenie przez ghrelinę ekspresji Ob-R na tych komórkach [73], może zwiększać oreksygenne działanie NPY [36]. Ten zasadniczo prawdziwy, choć uproszczony, model antagonistycznego udziału ghreliny i leptyny w regulacji przyjmowania pokarmu poprzez ich oddziaływanie na neurony jądra łukowatego pomija wpływ tych hormonów na inne struktury ośrodkowego układu nerwowego, nie uwzględnia też roli insuliny jako hormonu uczestniczącego w długoterminowej regulacji homeostazy energetycznej.

Badania ostatnich lat wskazują na to, że ghrelina może stanowić główny sygnał niezbędny do zapoczątkowania karmienia i dostosowania ilości spożywanego pożywienia do wydatków energetycznych. Hormon ten, wydzielany przez żołądek w dużej ilości tuż przed rozpoczęciem pobierania pokarmu [20], może stanowić pierwotny sygnał uruchamiający aktywność oreksygenną podwzgórza. Stężenie ghreliny we krwi jest wysokie w stanie głodzenia [61,71,74] i szybko obniża się po rozpoczęciu karmienia [20]. Podczas głodzenia zawartość mRNA ghreliny w żołądku, podwzgórzu i przysadce mózgowej wielokrotnie rośnie [41,42,74], podobnie jak ekspresja receptorów GHS-R1a w podwzgórzu, co sprzyja szybkiej i skutecznej aktywacji mechanizmów pobudzających pobieranie pokarmu. Wydzielanie ghreliny, które ma charakter pulsacyjny, jest ściśle związane z rytmem okołodobowym: jej stężenie we krwi szczura silnie rośnie przed początkiem fazy ciemnej cyklu świetlnego i wyraźnie spada tuż po jej rozpoczęciu, czyli

po rozpoczęciu pobierania pokarmu [61]. U ludzi bodźce węchowe i smakowe, po których nie następowało spożywanie pokarmu (tzw. *sham feeding*), obniżały stężenie ghreliny we krwi, co wskazuje na istotną rolę układu nerwowego w regulacji wydzielania peptydu [4]. Obok ośrodków korowych i podkorowych ważną rolę odgrywa aktywacja układu przywspółczulnego, która prowadzi do sekrecji ghreliny, natomiast zablokowanie receptorów muskarynowych obniża poziom hormonu we krwi [11].

Wydzielanie ghreliny zmienia się w różnych fazach ontogenezy, przy czym obserwuje się specyfikę gatunkową: podczas starzenia się ludzi stężenie ghreliny w surowicy krwi ulega obniżeniu [59], podobnie jak zawartość mRNA ghreliny w żołądku starych myszy [48]. Natomiast stężenie ghreliny w surowicy krwi małp *Rhesus* jest niższe u zwierząt w średnim wieku, a podwyższone u osobników młodych i starych [2].

Przewlekłe podawanie ghreliny parenteralnie, dokomorowo lub w okolicę jądra łukowatego prowadziło u kontrolnych, normalnie karmionych zwierząt i ludzi do zwiększonego pobierania pokarmu oraz umiarkowanego przyrostu masy ciała [78], który w znacznej mierze spowodowany był wzrostem masy tkanki tłuszczowej wskutek zmniejszonego zużycia lipidów [74]. Do pewnego stopnia stężenie ghreliny we krwi jest odwrotnie proporcjonalne do wskaźnika masy ciała (BMI): u osób otyłych poziom ghreliny jest obniżony [59], zaś redukcja masy ciała prowadzi u nich do wzrostu stężenia hormonu [31]; poziom ghreliny jest też wyższy u osób szczupłych oraz u chorych na jadłowstręt psychiczny [59]. U ludzi rodzaj pokarmu (bogaty w węglowodany, lipidy lub białka), płeć, stopień otyłości oraz występowanie insulinooporności wywierają istotny wpływ na stężenie ghreliny w surowicy krwi [8,28].

Zmiany stężenia ghreliny w surowicy krwi przebiegają przeciwnie niż leptyny, której stężenie we krwi rośnie po spożyciu posiłku, natomiast podczas głodzenia amplituda pulsów ghreliny rośnie, zaś leptyny maleje [5]. Różne czynniki i stany wpływające na stężenie ghreliny we krwi wymieniono w tabeli 2. Niejednoznaczny wpływ leptyny i insuliny na stężenie ghreliny w surowicy krwi (tab. 2) może wynikać z różnego okresu podawania tych hormonów oraz innego stanu odżywienia badanych zwierząt.

WPŁYW GHRELINY NA UWALNIANIE HORMONU WZROSTU I INNYCH HORMONÓW

Drugą, poza udziałem w regulacji przyjmowania pokarmu i homeostazy energetycznej, istotną funkcję ghreliny stanowi stymulacja uwalniania hormonu wzrostu, co wykazano *in vivo* [42,69] oraz *in vitro* [42]. Podobnie do syntetycznych związków pobudzających uwalnianie hormonu wzrostu (GHS) ghrelina pobudza uwalnianie GH [65] zarówno poprzez bezpośredni wpływ na komórki somatotropowe przysadki mózgowej [38], jak też pośrednio poprzez uwalnianie somatoliberyny [38,57]. Łączne podanie GHRH oraz ghreliny wywiera synergistyczny wpływ na wydzielanie hormonu wzrostu [32,57]. Wzrost stężenia GH we krwi pod wpływem ghreliny jest zależny od obecności receptorów typu GHS-R, ponieważ nie występuje u myszy pozbawionych genu tego

TABELA 2. Czynniki wpływające na stężenie ghreliny w surowicy krwi

Stężenie ghreliny we krwi			
obniża:		podwyższa:	
spożycie pokarmu	[20]	głodzenie	[20,71,74]
glukoza i dieta bogata w węglowodany	[20,28,74]	posiłek bogaty w lipidy (u człowieka)	[28]
insulina	[39,47]	hipoglikemia po podaniu insuliny	[71]
leptyna	[39]	glukagon	[39]
glukokortykoidy	[55]	leptyna	[71]
kortystatyna	[10]		
somatostatyna	[10,47]		
GLP-1 (<i>glucagon-like peptide 1</i>)	[47]		
gastryna	[47]		
GIP (<i>gastric inhibitory polypeptide</i>)	[47]		
otyłość	[31]		

receptora [66]. Z drugiej strony wykazano, że somatoliberyna nasila ekspresję genu ghreliny w przysadce mózgowej, a zmniejszenie sekrecji GHRH w stanach, takich jak: hyperkortyzolemia, nadczynność tarczycy i głodzenie, skorelowane jest z obniżoną zawartością ghreliny w przysadce [38]. W warunkach naturalnych u człowieka [45], ale nie u swobodnie poruszających się szczurów [52] zaobserwowano występowanie korelacji między pulsacyjnym wydzielaniem GH a pulsami sekrecji ghreliny w godzinach wieczornych i nocnych. Ghrelina znacznie słabiej podwyższa stężenie hormonu wzrostu w surowicy krwi osób w podeszłym wieku [8], co może wpływać na zmniejszenie amplitudy sekrecji GH w tym okresie życia.

Obecność ghreliny w komórkach somato-, lakto- i tyreotropowych (ale nie kortykotropowych) przysadki mózgowej wskazuje na możliwość udziału tego peptydu w regulowaniu funkcji tych komórek w drodze parakrynej [14]. U ludzi ghrelina podwyższa stężenie we krwi GH, prolaktyny, ACTH i kortyzolu [8], natomiast glikokortykosterydy zarówno endogenne, jak i egzogenne obniżają stężenie peptydu we krwi [54]. Obserwacje te wskazują na możliwość udziału ghreliny w regulacji odpowiedzi na stres.

Ghrelina wpływa też na obwodowe gruczoły dokrewne. W wyspach trzustkowych obecne są komórki (tzw. *small endocrine cells*) syntetyzujące ghrelinę, która prawdopodobnie oddziałuje na drodze parakrynej na inne komórki wysp Langerhansa [75]. Ghrelina syntetyzowana jest też w komórkach warstwy kłębkowatej kory nadnerczy, a jej miejscowe działanie może obejmować pobudzenie proliferacji tych komórek, przy braku stymulacji syntezy hormonów sterydowych [1]. W przeciwieństwie do nadnerczy, w jądrach szczura ghrelina, obok zwiększenia liczby komórek Leydiga, nasila syntezę i uwalnianie testosteronu [8].

DZIAŁANIE GHRELINY W UKŁADZIE POKARMOWYM I NACZYNIOWO-SERCOWYM

Występowanie komórek syntetyzujących ghrelinę w bezpośrednim sąsiedztwie innych komórek endokrynych, które produkują liczne peptydy wpływające na motorykę przewodu pokarmowego i wydzielanie soków trawiennych, nasunęło przypuszczenie o możliwym wpływie tego hormonu na funkcje tego układu. Istotnie, zaobserwowano, że parenteralne podanie ghreliny pobudza opróżnianie żołądka poprzez nasilenie skurczów mięśniówki gładkiej, a także wzrost kurczliwości innych odcinków cewy pokarmowej [21,24,49]. Wzrost wydzielania kwasu solnego w żołądku pod wpływem ghreliny zachodzi poprzez aktywację nerwu błędnego [49], ponieważ ghrelina nie wywiera bezpośredniego wpływu na aktywność sekrecyjną komórek okładzinowych żołądka produkujących kwas solny oraz komórek endokrynych żołądka wydzielających histaminę, gastrynę i somatostatynę [24]. Ghrelina działa cytoprotekcyjnie w stosunku do uszkodzeń błony śluzowej żołądka wywołanych u szczura przez podanie dożołądkowe podanie etanolu lub przez stres zanurzenia w wodzie: ochronny efekt hormonu zachodzi poprzez aktywację nerwu błędnego oraz zwiększenie miejscowego przepływu krwi wywołane przez tlenek azotu i prostaglandyny [12,64].

Interesujące dane przyniosły badania nad wpływem ghreliny na układ sercowo-naczyniowy. Ghrelina, a także syntetyczne stymulatory wydzielania hormonu wzrostu, wykazują właściwości kardioprotekcyjne w modelu reperfuzyjnego uszkodzenia mięśnia sercowego [15] oraz w hodowli komórkowej. Efekty te mogą być związane z hamowaniem apoptozy kardiomiocytów, przy czym podobne właściwości ma też nieacylowana postać ghreliny [6]. Ghrelina hamowała aktywację czynnika transkrypcyjnego NFκB oraz sekrecję cytokin prozapalnych indukowaną przez TNF (czynnik martwicy nowotworów) w hodowlach komórek śródbłonna naczyń, a także u zwierząt poddanych działaniu endotoksyny [46].

ROLA GHRELINY W ŚWIETLE BADAŃ NA GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANYCH MYSZACH

Uzyskanie szczepów myszy pozbawionych genów ghreliny, jej receptora, NPY, AgRP, NPY i AgRP (tzw. podwójny nokaut) oraz receptora melanokortyny (MCH) typu 4 dostarczyło ciekawych obserwacji. Myszy pozbawione genu ghreliny mają fenotyp podobny do szczepu dzikiego: ich wzrost i masa ciała są prawidłowe, normalnie pobierają pokarm zarówno w warunkach podstawowych, jak i po stymulacji przez egzogenną ghrelinę [67], zaś ekspresja w podwzgórzu neuropeptydów uczestniczących w kontroli pobierania pokarmu (NPY, AgRP i MCH) jest podobna do zwierząt szczepu dzikiego [67,77]. U myszy pozbawionych genu receptora GHS ghrelina nie stymuluje ani uwalniania hormonu wzrostu, ani pobierania pokarmu, co świadczy o kluczowej roli receptorów GHS-R w działaniu peptydu; jednak masa ciała takich zwierząt oraz ilość spożywanego przez nie pokarmu nie różnią się istotnie od myszy kontrolnych [66].

U myszy z delecją genu NPY obserwowano wyraźne zahamowanie pobierania pokarmu stymulowanego przez obwodowo podaną ghrelinę, delecja genu AgRP nie wywierała takiego efektu, natomiast u myszy z podwójną delecją genów NPY i AgRP ghrelina w ogóle nie pobudzała pobierania pokarmu, przy czym podstawowa, tj. niestymulowana aktywność pokarmowa była taka sama jak u kontroli [16]. Oreksygeny efekt ghreliny był także wyraźnie osłabiony u myszy pozbawionych genu receptora melanokortyny typu 4 (obecnego m.in. w komórkach POMC/ α -MSH podwzgórza), którego endogennym antagonistą jest AgRP, hamujący anoreksygenne działanie α -MSH [16]. Przedstawione dane wskazują na to, że ośrodkowa kontrola częstości przyjmowania pożywienia, ilości pokarmu i preferencji w wyborze jego odpowiedniego składu przebiega z udziałem kilku kluczowych neuropeptydów i hormonów obwodowych, których nakładające i uzupełniające się działanie stanowi rodzaj zabezpieczenia homeostatu energetycznego przed uszkodzeniami jego podstawowych elementów sterujących.

W świetle wyników przedstawionych badań można przypuszczać, że fizjologiczna rola ghreliny polega na tym, że stanowi ona generowany w żołądku (oraz w podwzgórzu) sygnał aktywujący mechanizmy nerwowe w obrębie podwzgórza i pnia mózgu, które prowadzą do zapoczątkowania pobierania pokarmu w stanach głodu i ujemnego bilansu energetycznego. Aktywność pokarmowa, pobudzana przez ghrelinę, wyraża się integracją czynności ruchowych, autonomicznych, sekrecji neuropeptydów i hormonów oraz wielokierunkową aktywacją układu pokarmowego. W warunkach fizjologicznych ghrelina prawdopodobnie uczestniczy także w kontroli uwalniania hormonu wzrostu. Poznane dotąd właściwości ghreliny wskazują na możliwość terapeutycznego stosowania tego peptydu lub agonistów jej receptora w stanach wyniszczenia organizmu (jadłowstręt psychiczny, AIDS lub choroba nowotworowa). Bliższe poznanie roli ghreliny w patogenezie takich zaburzeń metabolicznych, jak cukrzyca insulino-niezależna lub otyłość, może otworzyć inne możliwości terapeutycznego zastosowania ghreliny, jej agonistów lub antagonistów receptora GHS-R.

LITERATURA

- [1] ANDREIS PG, MALENDOWICZ LK, TREJTER M, NERI G, SPINAZZIR, ROSSIGP, NUSSDORFER GG. Ghrelin and growth hormone secretagogue receptor are expressed in the rat adrenal cortex: evidence that ghrelin stimulates the growth, but not the secretory activity of adrenal cell. *FEBS Lett* 2003; **536**: 173–179.
- [2] ANGELONI SV, GLYNN N, AMBROSINI G, GARANT MJ, HIGLEY JD, SUOMI S, HANSEN BC. Characterization of the Rhesus monkey ghrelin gene and factors influencing ghrelin gene expression and fasting plasma levels. *Endocrinology* 2004; **145**: 2197–2205.
- [3] ARIYASU H, TAKAYA K, TAGAMI T, OGAWA Y, HOSODA N, AKAMIZU T, SUDA M, KOH T, NATSUI K, TOYOOKA S, SHIRAKAMI G, USUI T, SHIMATSU A, DOI K, HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K, NAKAO K. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 4753–4758.
- [4] AROSIO M, RONCHI CL, 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 5101–5104.

- [5] BAGNASCO M, KALRA PS, BAGNASCO M, KALRA PS, KALRA SP. Ghrelin and leptin pulse discharge in fed and fasted rats. *Endocrinology* 2002; **143**: 726–729.
- [6] BALDANZI G, FILIGHEDDU N, CUTRUPI S, CATAPANO F, BONISSONI S, FUBINI A, MALAN D, BAJ G, GRANATA R, BROGLIO F. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 2002; **159**: 1029–1037.
- [7] BANKS WA, TSCHOP M, ROBINSON SM, HEIMAN ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; **302**: 822–827.
- [8] BROGLIO F, BENSO A, CASTIGLIONI C, GOTTERO C, PRODAM F, DESTEFANIS S, GAUNA C, VAN DER LELY AJ, DEGHENGHI R, BO M, ARVAT E, GHIGO E. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 1537–1542.
- [9] BROGLIO F, GOTTERO C, PRODAM F, GAUNA C, MUCCIOLI G, PAPOTTI M, ABRIBAT T, VAN DER LELY AJ, GHIGO E. Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 3062–3065.
- [10] BROGLIO F, KOETSVELD PV P, BENSO A, GOTTERO C, PRODAM F, PAPOTTI M, MUCCIOLI G, GAUNA C, HOFLAND L, DEGHENGHI R, ARVAT E, VAN DER LELY AJ, GHIGO E. Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 4829–4832.
- [11] BROGLIO F, GOTTERO C, VAN KOETSVELD P, PRODAM F, DESTEFANIS S, BENSO A, GAUNA C, HOFLAND L, ARVAT E, van der LELY AJ, GHIGO E. Acetylcholine regulates ghrelin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 2429–2433.
- [12] BRZOZOWSKI T, KONTUREK PC, KONTUREK SJ, KWIECIEN S, ROZDOWICZ D, BIELANSKI W, PAJDO R, PTAK A, NIKIFORUK A, PAWLIK WW, HAHN EG. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Pept* 2004; **120**: 39–51.
- [13] CAMINA JP, CARREIRA MC, EL MESSARI S, LLORENS-CORTES C, SMITH RG, CASANUEVA FF. Desensitization and endocytosis mechanisms of ghrelin-activated growth hormone secretagogue receptor 1a. *Endocrinology* 2004; **145**: 930–940.
- [14] CAMINOS JE, NOGUEIRAS R, BLANCO M, SEOANE LM, BRAVO S, ALVAREZ CV, GARCIA-CABALLERO T, CASANUEVA FF, DIEGUEZ C. Cellular distribution and regulation of ghrelin messenger ribonucleic acid in the rat pituitary gland. *Endocrinology* 2003; **144**: 5089–5097.
- [15] CHANG L, REN Y, LIU X, LI WG, YANG J, GENG B, WEINTRAUB NL, TANG C. Protective effects of ghrelin on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; **43**: 165–170.
- [16] CHEN HY, TRUMBAUER ME, CHEN AS, WEINGARTH DT, ADAMS JR, FRAZIER EG, SHEN Z. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology* 2004; **145**: 2607–2612.
- [17] CHOI K, ROH SG, HONG YH, SHRESTHA YB, HISHIKAWA D, CHEN C, KOJIMA M, KANGAWA K, SASAKI S. The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *Endocrinology* 2003; **144**: 754–759.
- [18] COWLEY MA, SMART JL, RUBINSTEIN M, CERDAN MG, DIANO S, HORVATH TL, CONE RD, LOW MJ. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, 2001; **411**: 480–484.
- [19] COWLEY MA, SMITH RG, DIANO S, TSCHOP M, PRONCHUK N, GROVE KL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; **37**: 649–661.
- [20] CUMMINGS DE, PURNELL JQ, FRAYO RS, SCHMIDOVA K, WISSE BE, WEIGLE DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; **50**: 1714–1719.
- [21] DATE Y, KOJIMA M, HOSODA H, SAWAGUCHI A, MONDAL MS, SUGANUMA T, MATSUKURA S, KANGAWA K, NAKAZATO M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acetylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and human. *Endocrinology* 2000; **141**: 4255–4261.
- [22] DASS NB, MUNONYRARA M, BASSIL AK, HERVIEU GJ, OSBOURNE S, CORCORAN S, MORGAN M, SANGER GJ. Growth hormone secretagogue receptors in rat and human gastrointestinal tract and the effects of ghrelin. *Neuroscience* 2003; **120**: 443–453.
- [23] DE LA COUR CD, BJORKIQVIST M, SANDVIK AK, BAKKE I, ZHAO CM, CHEN D, HAKANSON R. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul Pept* 2001; **99**: 141–150.

- [24] DE LA COUR CD, KINDSTROM E, NORLEN P, HAKANSON R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; **120**: 23–32.
- [25] DIXIT VD, SCHAFFER EM, PYLE RS, COLLINS GD, SAKTHIVEL SK, PALANIAPPAN R, LILLARD JW, TAUB DD. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; **114**: 57–66.
- [26] GAYTAN F, BARREIRO ML, CAMINOS JE, CHOPIN LK, HERINGTON AC, MORALES C, PINILLA L, PANIAGUA R, NISTAL M, CASANUEVA FF, AGUILAR E, DIEGUEZ C, TENA-SEMPERE M. Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 400–409.
- [27] GNANAPAVAN S, KOLA B, BUSTIN SA, MORRIS DG, MCGEE P, FAIRCLOUGH P, BHATTACHARYA S, CARPENTER R, GROSSMAN AB, KORBONITS M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 2988–2991.
- [28] GREENMAN Y, GOLANI N, GILAD S, YARON M, LIMOR R, STERN N. Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; **60**: 382–388.
- [29] GUAN XM, YU H, PALLYA OC, McKEE KK, FEIGHNER SD, SIRINATHSINGHI DJ, SMITH RG, VANDER PLOEG LH, HOWARD AD. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997; **48**: 23–29.
- [30] GUAN JL, WANG QP, KAGEYAMA H, TAKENOYA F, KITA T, MATSUOKA T, FUNAHASHI H, SHIODA S. Synaptic interactions between ghrelin- and neuropeptide Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Peptides* 2003; **24**: 1921–1928.
- [31] HANSEN TK, DALL R, HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K, CHRISTIANSEN JS, JORGENSEN JO. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002; **56**: 203–206.
- [32] HATAYA Y, AKAMIZU T, TAKAYA K, KANAMOTO N, ARIYASU H, SAIJO M, MORIYAMA K, SHIMATSU A, KOJIMA M, KANGAWA K, NAKAO K. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; **86**: 4552–4555.
- [33] HEWSON AK, DICKSON SL. Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *Neuroendocrinology* 2000; **12**: 1047–1049.
- [34] HOSODA H, KOJIMA M, MIZUSHIMA T, SHIMIZU S, KANGAWA K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; **278**: 64–70.
- [35] IGLESIAS MJ, PINEIRO R, BLANCO M, GALLEGO R, DIEGUEZ C, GUALILLO O, GONZALEZ-JUANATEY JR, LAGO F. Growth hormone releasing peptide (ghrelin) is synthesized and secreted by cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 2004; **62**: 481–488.
- [36] KALRA SP, KALRA PS. Neuropeptide Y: a physiological orexigen modulated by the feedback action of ghrelin and leptin. *Endocrine* 2003; **22**: 49–56.
- [37] KAMEGAI J, TAMURA H, SHIMIZU T, ISHII S, SHUGIHARA H, WAKABAYASHI I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 2001; **50**: 2438–2443.
- [38] KAMEGAI J, TAMURA H, SHIMIZU T, ISHII S, TATSUGUCHI A, SUGIHARA H, OIKAWA S, KINEMAN RD. The role of pituitary ghrelin in growth hormone (GH) secretion: GH-releasing hormone-dependent regulation of pituitary ghrelin gene expression and peptide content. *Endocrinology* 2004; **145**: 3731–3738.
- [39] KAMEGAI J, TAMURA H, SHIMIZU T, ISHII S, SUGIHARA H, OIKAWA S. Effects of insulin, leptin, and glucagon on ghrelin secretion from isolated perfused rat stomach. *Regul Pept* 2004; **119**: 77–81.
- [40] KANAMOTO N, AKAMIZU T, TAGAMI T, HATAYA Y, MORIYAMA K, TAKAYA K, HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K, NAKAO K. Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene. *Endocrinology* 2004; **145**: 4144–4153.
- [41] KIM MS, YOON CY, PARK KH, SHIN CS, PARK KS, KIM SY, CHO BY, LEE HK. Changes in ghrelin and ghrelin receptor expression according to feeding status. *Neuroreport* 2003; **14**: 1317–1320.
- [42] KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, NAKAZATO M, MATSUO H, KANGAWA K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; **402**: 656–660.
- [43] KOHNO D, GAO HZ, MUROYA S, KIKUYAMA S, YADA T. Ghrelin directly interacts with neuropeptide-Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus: Ca²⁺ signaling via protein kinase A and N-type channel-dependent mechanisms and cross-talk with leptin and orexin. *Diabetes* 2003; **52**: 948–956.

- [44] KONTUREK SJ, KONTUREK JW, PAWLIK T, BRZOZOWSKI T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J Physiol Pharmacol* 2004; **55**: 137–154.
- [45] KOUTKIA P, CANAVAN B, BREU J, JOHNSON ML, GRINSPOON SK. Nocturnal ghrelin pulsatility and response to growth hormone secretagogues in healthy men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; **287**: 506–512.
- [46] LI WG, GAVRILA D, LIU X, WANG L, GUNNLAUGSSON S, STOLL LL, MCCORMICK ML, SIGMUND CD, TANG C, WEINTRAUB NL. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation* 2004; **109**: 2221–2226.
- [47] LIPPL F, KIRCHER F, ERDMANN J, ALLESCHER HD, SCHUSDZIARRA V. Effect of GIP, GLP-1, insulin and gastrin on ghrelin release in the isolated rat stomach. *Regul Pept* 2004; **119**: 93–98.
- [48] LIU YL, YAKAR S, OTERO-CORCHON V, LOW MJ, LIU JL. Ghrelin gene expression is age-dependent and influenced by gender and the level of circulating IGF-I. *Mol Cell Endocrinol* 2002; **189**: 97–103.
- [49] MASUDA Y, TANAKA T, INOMATA N, OHNUMA N, TANAKA S, ITOH Z, HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; **276**: 905–908.
- [50] MORI K, YOSHIMOTO A, TAKAYA K, HOSODA K, ARIYASU H, YAHATA K, MUKOYAMA M, SUGAWARA A, HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K, NAKAO K. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 2000; **486**: 213–216.
- [51] NAKAZATO M, MURAKAMI N, DATE Y, KOJIMA M, MATSUO H, KANGAWA K, MATSUKURA S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; **409**: 194–198.
- [52] OKIMURA Y, UKAI K, HOSODA H, MURATA M, IGUCHI G, IIDA K, KAJI H, KOJIMA M, KANGAWA K, CHIHARA K. The role of circulating ghrelin in growth hormone (GH) secretion in freely moving male rats. *Life Sci* 2003; **72**: 2517–2524.
- [53] OLSZEWSKI PK, GRACE MK, BILLINGTON CJ, LEVINE AS. Hypothalamic paraventricular injections of ghrelin: effect on feeding and c-Fos immunoreactivity. *Peptides* 2003; **24**: 919–923.
- [54] OLSZEWSKI PK, LI D, GRACE MK, BILLINGTON CJ, KOTZ CM, LEVINE AS. Neural basis of orexiogenic effects of ghrelin acting within lateral hypothalamus. *Peptides* 2003; **24**: 597–602.
- [55] OTTO B, TSCHOP M, HELDWEIN W, PFEIFFER AF, DIEDERICH S. Endogenous and exogenous glucocorticoids decrease plasma ghrelin in humans. *Eur J Endocrinol* 2004; **151**: 113–117.
- [56] PETERSENN S, RASCH AC, PENSHORN M, BEIL FU, SCHULTE HM. Genomic structure and transcriptional regulation of human growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology* 2001; **142**: 2649–2659.
- [57] POPOVIC V, MILJIC D, MICIC D, DAMJANOVIC S, ARVAT E, GHIGO E, DIEGUEZ C, CASANUEVA FF. Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 3450–3453.
- [58] RIEDIGER T, TRAEBERT M, SCHMID H, SCHEEL C, LUTZ TA, SCHARRER E. Site-specific effects of ghrelin on the neuronal activity in the hypothalamic arcuate nucleus. *Neurosci Lett* 2003; **341**: 151–155.
- [59] RIGAMONTI AE, PINCELLI AI, CORRA B, VIARENGO R, BONOMO SM, GALIMBERTI D, SCACCHI M, SCARPINI E, CAVAGNINI F, MULLER EE. Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *J Endocrinol* 2002; **175**: 1–5.
- [60] RINDI G, NECCHI V, SAVIO A, TORSELLO A, ZOLI M, LOCATELLI V, RAIMONDO F, COCCHI D, SOLCIA E. Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol* 2002; **117**: 511–519.
- [61] SANCHEZ J, OLIVER P, PICO C, PALOU A. Diurnal rhythms of leptin and ghrelin in the systemic circulation and in the gastric mucosa are related to food intake in rats. *Pflugers Arch* 2004; **448**: 500–506.
- [62] SEOANE LM, LOPEZ M, TOVAR S, CASANUEVA FF, SENARIS R. Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology* 2003; **144**: 544–551.
- [63] SHINTANI M, OGAWA Y, EBIHARA K, AIZAWA-ABE M, MIYANAGA F, TAKAYA K, HAYASHI T, INOUE G, HOSODA K, KOJIMA M, KANGAWA K, NAKAO K. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexiogenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001; **50**: 227–232.
- [64] SIBILIA V, RINDI G, PAGANI F, RAPETTI D, LOCATELLI V, TORSELLO A, CAMPANINI N, DEGHENGI R, NETTI C. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology* 2003; **144**: 353–359.
- [65] SMITH RG, SUN Y, BETANCOURT L, ASNICAR M. Growth hormone secretagogues: prospects and potential pitfalls. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004; **18**: 333–347.

- [66] SUN Y, WANG P, ZHENG H, SMITH RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 4679–4684.
- [67] SUN Y, AHMED Z, SMITH RG. Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite. *Molec Cell Biol* 2003; **23**: 7973–7981.
- [68] SUNDLER F, HAKANSON R. Gastric endocrine cell typing at the light microscopic level. W: Hakanson R, Sundler F [red.] *The stomach as an endocrine organ*. Amsterdam: Elsevier 1991: 9–26.
- [69] TANNENBAUM GS, EPELBAUM J, BOWERS CY. Interrelationship between the novel peptide ghrelin and somatostatin/growth hormone-releasing hormone in regulation of pulsatile growth hormone secretion. *Endocrinology* 2003; **144**: 967–974.
- [70] THOMPSON NM, GILL DAS, DAVIES R, LOVERIDGE N, HOUSTON PA, ROBINSON ICAF, WELLS T. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly *in vivo* by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology* 2004; **145**: 234–242.
- [71] TOSHINAI K, MONDAL MS, NAKAZATO M, DATE Y, MURAKAMI N, KOJIMA M, KANGAWA K, MATSUKURA S. Upregulation of ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia and leptin administration. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **281**: 1220–1225.
- [72] TOSHINAI K, DATE Y, MURAKAMI N, SHIMADA M, MONDAL MS, SHIMBARA T, GUAN JL, WANG QP, FUNAHASHI H, SAKURAI T, SHIODA S, MATSUKURA S, KANGAWA K, NAKAZATO M. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinology* 2003; **144**: 1506–1512.
- [73] TRAEBERT M, RIEDIGER T, WHITEBREAD S, SCHARRER E, SCHMID HA. Ghrelin acts on leptin-responsive neurones in the rat arcuate nucleus. *J Neuroendocrinology* 2002; **14**: 580–586.
- [74] TSCHÖP M, SMILEY DL, HEIMAN ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; **407**: 908–913.
- [75] WIERUP N, YANG S, MCEVILLY RJ, MULDER H, SUNDLER F. Ghrelin is expressed in a novel endocrine cell type in developing rat islets and inhibits insulin secretion from INS-1 (832/13) cells. *J Histochem Cytochem* 2004; **52**: 301–310.
- [76] WILLESEN MG, KRISTENSEN P, ROMER J. Co-localization of growth hormone secretagogue receptor and NPY mRNA in the arcuate nucleus of the rat. *Neuroendocrinology* 1999; **70**: 306–316.
- [77] WORTLEY KE, ANDERSON KD, GARCIA K, MURRAY JD, MALINOVA L, LIU R, MONCRIEFFE M, THABET K, COX HJ, YANCOPOULOS GD, WIEGAND SJ, SLEEMAN MW. Genetic deletion of ghrelin does not decrease food intake but influences metabolic fuel preference. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 8227–8232.
- [78] WREN AM, SEAL LJ, COHEN MA, BRYNES AE, FROST GS, MURPHY KG, DHILLO WS, GHATEI M, BLOOM SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **86**: 5992–5997.
- [79] XIA Q, PANG W, PAN H, ZHENG Y, KANG JS, ZHU SG. Effects of ghrelin on the proliferation and secretion of splenic T lymphocytes in mice. *Regul Pept* 2004; **122**: 173–178.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 20.12.2004 r.

Przyjęto: 10.02.2005 r.

ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk

e-mail: zkmiec@amg.gda.pl