

Grelina – nowy hormon zaangażowany w regulację wzrastania i homeostazę metaboliczną ustroju

Ghrelin – a New Hormone Involved in Growth Regulation and Metabolic Homeostasis of the Organism

Andrzej Kędzia, Wiesława Przybyszewska

Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego, II Katedra Pediatrii Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Adres do korespondencji: dr hab. med. Andrzej Kędzia, ul. Sławomira 16, 61-063 Poznań

Słowa kluczowe: grelina, receptor dla greliny, substancje uwalniające hormon wzrostu, hormon wzrostu, przysadka, podwzgórze
Key words: ghrelin, ghrelin receptor, growth hormone secretagogues, growth hormone, pituitary, hypothalamus

STRESZCZENIE/ABSTRACT

Celem pracy jest przedstawienie wiedzy na temat nowo odkrytego hormonu greliny. Grelina, odkryty na przełomie wieków 28-aminokwasowy peptyd, pobudzający uwalnianie hormonu wzrostu, okazał się poszukiwanym od dwudziestu lat, naturalnym ligandem receptora dla substancji uwalniających hormon wzrostu. Oktacylacja seryny w pozycji 3, nadaje grelinie wyjątkowe właściwości – pokonywania bariery krew-mózg, stanowiąc tym samym unikalną wartość dla peptydów. Może to spowodować konieczność zupełnie nowego spojrzenia na dotychczasowy model aktywności hormonalnej liberyna-statyna-hormon. Grelina zdaje się być zaangażowana w większość czynności życiowych organizmu. Najważniejszy wpływ wywiera jednak na regulację homeostazy metaboliczno-energetycznej ustroju. *Endokrynol. Ped.*, 6/2007;3(20):53-60

The aim of this paper is to share the knowledge about ghrelin - a newly discovered hormone. Ghrelin is a 28 amino acid peptide that stimulates the release of the growth hormone. Discovered at the turn of the centuries and pursued for many years, it turned out to be a natural receptor ligand for substances releasing the growth hormone. Serine octynylation in the 3 position gives ghrelin unique properties – traversing the brain-blood barrier, which constitutes a unique value to peptides. It might warrant a totally new approach to contemporary model of the liberin-statin-hormone hormonal activity. Ghrelin seems to be involved in the majority of life functions of the organism. The highest influence is however exerted on the metabolic-energetic homeostasis of the organism. *Pediatr. Endocrinol.*, 6/2007;3(20):53-60

Oktacylacja seryny w pozycji 3, nadaje grelinie wyjątkowe właściwości – pokonywania bariery krew-mózg, stanowiąc tym samym unikalną wartość dla peptydów. Może to spowodować konieczność zupełnie nowego spojrzenia na dotychczasowy model aktywności hormonalnej liberyna-statyna-hormon. Grelina zdaje się być zaangażowana w większość czynności życiowych organizmu. Najważniejszy wpływ wywiera jednak na regulację homeostazy metaboliczno-energetycznej ustroju.

Od czasu gdy Bowers i wsp. wykazali, że met-enkefalina stymuluje uwalnianie hormonu wzrostu z przysadki, to jest prawie od 25 lat prowadzone są badania nad syntetycznymi związkami uwalniającymi hormon wzrostu [1,2,3]. W okresie tym zsyntetyzowano całą grupę takich związków, które nazywano początkowo peptydami uwalniającymi hormon wzrostu (GHRP, GH-releasing peptides). Nazwy tej używano aż do chwili znalezienia niepeptydowych związków o podobnej aktywności w stosunku do hormonu wzrostu, co spowodowało konieczność wprowadzenia nowej nazwy – growth hormone secretagogues (GHS) [4]. W następnych latach potwierdzono ich znaczenie w regulacji wydzielania hormonu wzrostu. Dało to początek badaniom nad możliwościami zastosowania GHS do leczenia niedoborów wzrostu, jednakże powiązane z tego typu terapią konsekwencje w postaci równoległego stymulowania uwalniania ACTH, uniemożliwiły długoterminowe stosowanie takiego leczenia [4]. Niemniej, nie zaprzestano dalszych badań nad tymi związkami. Przykładem może być syntetyczna pralmorelina (GHRP2) zdolna do pobudzania uwalniania hormonu wzrostu po podaniu doustnym. Co prawda uzyskany efekt stymulacyjny u chorych z deficytem hormonu wzrostu jest mniejszy w porównaniu z dziećmi zdrowymi, lecz mimo to planowane jest zastosowanie w 2009 roku tego peptydu jako leku u pacjentów z niedoborami wzrostu [5]. Ponadto pralmorelina, pod nazwą KP-102D, została wprowadzona w 2005 roku w Japonii jako czynnik diagnostyczny przeznaczony do oceny funkcji podwzgórzowo-przysadkowej [5].

Na dalszych etapach badań wykazano także możliwości działania GHS poza ośią somatotropinową. Odkrycie to dało z kolei początek poszukiwaniom receptora, przez który substancje te wywierają swoje działanie [3].

W 1996 roku wykryto, oprócz znanego już receptora dla neurohormonu uwalniającego hormon wzrostu (GHRH, growth hormone releasing hormone), receptor dla GHS (GHS-R). Z czasem okazało

się, że mamy do czynienia z dwoma typami receptora GHS-R 1a i GHS-R 1b. GHS-R 1a zbudowany jest z 366 aminokwasów z siedmioma regionami transbłonowymi. Ciężar cząsteczkowy wynosi 41 kDa. GHS-R 1b złożony jest z 289 aminokwasów z pięcioma regionami transbłonowymi. Receptor GHS-R 1a jest ewolucyjnie silnie konserwowany. Ludzki receptor wykazuje aż 96% homologię z receptorem u szczura i prawie 100% z receptorem u świni. Typ 1a wiąże głównie grelinę, ale jak wykazano, może również wiązać GHRP-6, a nawet cząsteczki niepeptydowych GHS [6]. Grelina wiążąc się z receptorem GHS-R 1a, aktywuje fosfolipazę C, prowadząc do wzrostu stężenia fosforanu inozytolu i aktywacji kinazy C. W efekcie następuje uwalnianie jonów wapnia z reticulum endoplazmatycznego. Aktywacja receptora może także prowadzić do blokowania kanałów dla jonów potasowych, umożliwiając jednocześnie uwalnianie jonów wapniowych. Receptor ten, GHS-R 1a, pośredniczy w uwalnianiu GH pod wpływem wiązania, jak się okazuje zarówno peptydowych, jak i niepeptydowych GHS [6]. Ten funkcjonalny receptor należy do rodziny siedmiu transbłonowych receptorów białka G i jest przede wszystkim wykrywany w przysadce oraz w mniejszym stopniu w jądrach podwzgórza, żołądku, sercu, płucach, nerkach, jelitach, a także w tkance tłuszczowej i w wielu jeszcze innych tkankach [7,8,9]. Został on sklonowany i przy pomocy przeciwciał monoklonalnych zidentyfikowano jego obecność w licznych tkankach, między innymi w jądrze łukowatym podwzgórza oraz w przednim płacie przysadki. Odkrycie tego naturalnego receptora, wiążącego syntetyczne GHS, zapoczątkowało poszukiwania endogenego liganda wiążącego się z tym receptorem [3]. Ten naturalny ligand nazwany został GH-reliną [10].

Przy zastosowaniu klasycznych metod ekstrakcyjnych, izolowano z różnych tkanek niewielkie ilości substancji wiążącej się z receptorem GHS-R. Największe ilości uzyskiwano z żołądka [6,10]. Dopiero jednak unowocześnienie metod oczyszczania (filtracja żelowa, wymiana jonowa, odwrotna chromatografia gazowa) pozwoliło grupie badaczy japońskich pod kierunkiem Kojimy i Hosody pod koniec 1999 roku na uwolnienie z wyciągu żołądkowego czystej greliny [10]. Od tamtego czasu wykryto grelinę w wielu innych tkankach i narządach, takich jak łożysko, jądra, nerki, przysadka, wyspy trzustki, okrężnica, tarczyca, limfocyty, mózg, płuca, jajniki [6,11-25]. Największym jednak źródłem greliny pozostaje nadal żołądek, a najaktywniejsza synteza jest w dnie żołądka [6,18].

Mając wyizolowaną czystą grelinę, Kojima i Hosoda w grudniu 1999 roku, przeprowadzili sekwencjonowanie tego 28-aminokwasowego białka (metoda degradacji Edmana), identyfikując wszystkie, z wyjątkiem jednej reszty aminokwasowej w jego składzie. Ten nieznan AA w pozycji 3, najbardziej odpowiadał serynie, lecz zsyntetyzowany w takim składzie polipeptyd nie wykazywał aktywności biologicznej, nie powodował wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia i w porównaniu do wyizolowanego peptydu, wykazywał opóźnienie mobilności w trakcie chromatografii (HPLC). Również jego masa cząsteczkowa, która wynosiła 126, była mniejsza niż masa naturalnego peptydu [2].

Prowadzone dalej próby identyfikacji 3AA greliny, doprowadziły początkowo do wykazania, że poszukiwanym AA jest rzeczywiście seryna, lecz jak wykazano metodą HPLC, w dojrzałej 28-aminokwasowej cząsteczce, inaczej niż w preprogrelinie, dochodzi do szczególnej strukturalnej modyfikacji. Grupa hydroksylowa seryny w pozycji 3 jest kowalentnie acylowana przez kwas n-oktanowy. W doniesieniach literaturowych opisano także inne możliwe typy acylowania [10,26,27]. Umożliwiło to w 2000 roku Bowersowi, odkrywcy GHS, udowodnienie, że odkryty przez Kojimę polipeptyd jest tym poszukiwanym od lat „uwalniaczem” hormonu wzrostu.

Jak wspomniano, głównym źródłem greliny jest żołądek. Jak się wydaje, za syntezę tego peptydu są odpowiedzialne enteroendokryne komórki, przypuszczalnie typu X/A, stanowiące największą populację wśród komórek enteroendokrynych [18,28]. Przed sekrecją ulega ona acylacji, co umożliwia jej przekraczanie bariery krew-mózg, prowadząc w dalszej kolejności do aktywacji receptora GHS 1a, a w konsekwencji do uwalniania GH z somatotropów [10,29,30,31].

Odkrycie tej oktaacetylacji jest niesłychanie ważne, ponieważ stanowi ono jednocześnie odkrycie nowej struktury nadającej aktywność polipeptydom. Drogą krwi grelina dociera do somatotropów przysadki, aktywując specyficzne receptory, co prowadzi do sekrecji GH [10,32]. Wydaje się prawdopodobne, że mechanizm acylacji jest konieczny dla uzyskania możliwości przechodzenia tego typu polipeptydów przez barierę krew-mózg. Znajomość tego faktu daje możliwość syntetycznego uzyskiwania biologicznie czynnych peptydów, a poznanie struktury greliny pozwoliło jednocześnie na jej identyfikację i pomiary stężenia w surowicy metodami radioimmunologicznymi. W trakcie tych ba-

dań okazało się, że w surowicy krwi znajduje się również forma nieacylowana tego peptydu i to w stężeniu większym niż acylowana. Początkowo uważano ją za nieaktywną, ale okazało się, że wywiera ona działanie nieendokryne na układ sercowo-naczyniowy oraz działanie antyproliferacyjne na linie komórek nowotworowych [6,33]. Z żołądka wyizolowano jeszcze izoformę greliny powstającą prawdopodobnie wskutek alternatywnego składowania jej genu. Nosi ona nazwę Des-glin 14-grelina. Cząsteczka ta jest acylowana na trzeciej reszcie serynowej i jest mniejsza w stosunku do właściwej greliny o jedną glutaminę [34]. Na podstawie prac doświadczalnych uważa się, że bardziej adekwatne jest ocenianie stężeń greliny aktywnej niż całkowitej [25]. Enterokryne komórki żołądka syntetyzują jeszcze inny peptyd zwany motyliną. Wykazuje ona 36% homologię budowy z dojrzałą cząsteczką greliny i prawie 100% homologię z pre-pro-greliną [35,36]. Grelina z motyliną tworzą nową rodzinę peptydów żołądkowo-jelitowych, kontrolującą różne funkcje osi jelito-mózg.

Znajomość faktu, że acylacja stanowi prawdopodobny warunek dla pokonania bariery krew-mózg przez grelinę jest niesłychanie ważna, bowiem pozwala wykorzystać unikalność tego mechanizmu dla stworzenia potencjalnych implikacji terapeutycznych w postaci blokowania aktywności greliny w niektórych jednostkach chorobowych. Antagonista domniemanego enzymu transacylacyjnego uaktywniającego grelinę, może ją dezaktywować w bardzo wybiórczy sposób [2]. Gen ludzkiej greliny został zlokalizowany na 3 chromosomie (3p25-26). Odkrycie greliny na przełomie 1999 i 2000 roku było niewątpliwie największym wydarzeniem tego okresu w endokrynologii, zwłaszcza rozwojowej, ale nie tylko. Poznanie nowego czynnika uwalniającego hormon wzrostu, wykazującego synergiczne i komplementarne działanie, podobne do wyniku aktywacji neuronów wydzielających znany już GHRH, spowodowało zmianę poglądów na temat powszechnie do tej pory przyjętego modelu regulacji hormonalnej schematu relaksyna-statyna [37,38]. Być może stanowi to wstęp do przyszłej modyfikacji modelu wzajemnych oddziaływań regulacyjnych zachodzących w obrębie osi podwzgórzowo-przysadkowo-obwodowej [3].

Grelina działa pobudzająco na uwalnianie hormonu wzrostu [39,40,41]. Wydaje się, że działanie to wywierane jest poprzez oddziaływanie zarówno na poziomie podwzgórza, jak i przysadki. Jednakże nie zostało ostatecznie ustalone, czy uwalnianie

GH stymulowane jest przede wszystkim poprzez bezpośrednie oddziaływanie na somatotropy, czy też działanie to wywierane jest za pośrednictwem podwzgórza. Być może rolę odgrywają oba te mechanizmy. Neurony produkujące grelinę są zlokalizowane w podwzgorzu, natomiast ekspresję receptorów GHS wykryto w różnych regionach mózgu i tkankach peryferycznych. Wskazuje to na centralną rolę greliny, chociaż brak jest co do tego ostatecznie przekonujących dowodów. Grelina podlega innym mechanizmom regulacyjnym niż GHRH. Sugeruje się, że niedobór greliny może być odpowiedzialny za niektóre przypadki deficytu hormonu wzrostu u ludzi. Badania nad tym problemem prowadzone są obecnie na modelu zwierząt transgenicznych, pozbawionych genu greliny. W 2001 roku pojawiła się praca kanadyjska pani Tanenbaum rzucająca nowe światło na mechanizmy regulacyjne wydzielania hormonu wzrostu, kontrolowane przez grelinę. Według niej, somatostatyna moduluje wydzielanie GH na poziomie jądra łukowatego podwzgórza i na poziomie przysadki poprzez odpowiednie receptory – w podwzgorzu ss1, ss2, ss5, a w przysadce przez ss2, ss5. Hormon wzrostu wpływa więc na ekspresję genu receptora ss1 w jądrze łukowatym. Autorka wykazała, że wśród subpopulacji neuronów neurohormonu podwzgorzowego uwalniającego GH (GHRH) obecne są receptory greliny. Sugeruje to, że grelina działa jako antagonist somatostatyny [3]. Pewnym potwierdzeniem tej hipotezy może być fakt, że dożylnie podanie greliny zdrowym ludziom powoduje uzyskanie większych stężeń GH niż po podaniu GHRH [3]. Istnieją jednak pewne wątpliwości, czy działanie GHRH i greliny na somatotropy odbywa się poprzez różne receptory [2]. Wymaga to dalszych badań. W chwili obecnej opisano, że aktywacja samego tylko receptora GHS-R nie powoduje efektu w postaci produkcji cAMP, podczas gdy aktywacja obu receptorów, GHS-R i receptora dla GHRH, powoduje w odpowiedzi produkcję cAMP, w przybliżeniu dwukrotnie większą niż ta, jaka była obserwowana po aktywacji wyłącznie receptora GHRH. Bazując na ostatnich odkryciach, wysunięto hipotezę, że zjawisko to może być wyjaśnione poprzez bezpośrednią, wzajemną interakcję pomiędzy receptorami GHS i GHRH [2].

Odkrycie greliny dało również początek dyskusjom nad innymi aspektami jej roli w organizmie. Grelina swoje działanie wywiera zarówno na drodze neurohormonalnej, jak i parakrynowej i autokrynowej. Jak się wydaje, wytwarzanie jej poza

podwzgorzem sugeruje, że może ona spełniać także inne role regulacyjne i metaboliczne. Świadczy o tym także obecność jej receptorów w różnych tkankach i narządach.

W 2001 roku autorzy japońscy (Ariyasu i wsp.) zwrócili uwagę, że po resekcji żołądka stężenie greliny zmniejsza się o 65%. Zwraca to ponownie uwagę na żołądek jako główne źródło greliny. Ci sami badacze zauważyli, że 12-godzinne głodzenie zwiększa produkcję greliny o 31%, a jej stężenie maleje tuż po posiłku (22%). Z wyników tych wyciągnęli oni wniosek, że oprócz wpływu na uwalnianie GH, grelina bierze udział w utrzymaniu homeostazy energetycznej ustroju człowieka [14]. Nakazato i wsp. oraz Tschop wykazali, że podawanie dożylnie szczurom greliny zwiększa apetyt i przyrost masy ciała [42,43]. Efekt ten może być zablokowany przez antagonistów neuropeptydu Y (NPY). U zwierząt tych grelina blokuje również anorektyczny efekt leptyny, co sugeruje, że wywiera wpływ na regulację równowagi energetycznej ustroju poprzez współdziałanie z NPY i leptyną. Wydzielanie greliny zależy od stanu odżywienia, a nie od aktywności osi somatotropinowej. Wykazano, że stężenie greliny obecnej w krążeniu wykazuje rytm dobowy, wzrastając przed posiłkami i około godziny drugiej w nocy, a obniżając się po spożyciu posiłku [25]. Zmniejszenie stężenia greliny po posiłku nie jest związane z wypełnieniem żołądka, bowiem wypicie wody nie prowadzi do zmniejszenia jej stężenia, w przeciwieństwie do wypicia roztworu glukozy. Stężenie greliny zmniejsza się również po podaniu dożylnym glukozy [40]. Tak więc, aktywność greliny odbywa się prawdopodobnie za pośrednictwem sieci komórek ośrodkowego układu nerwowego, która z kolei podlega także modulacji przez hormon taki jak na przykład leptyna. Grelina wydaje się więc być przedposiłkowym czynnikiem inicjującym, który informuje OUN o stanie równowagi energetycznej organizmu. Postęp badań nad analogami, agonistami i antagonistami greliny, stwarzają duże możliwości uzyskania kontroli nad homeostazą metabolizmu ustroju [2]. Stwierdzono, że zwiększona ekspresja genu greliny odbywa się po głodzeniu, hipoglikemii czy też podaniu leptyny [44]. Na podstawie modelu zwierzęcego zauważono znaczący związek pomiędzy podwyższonym stężeniem greliny i przewlekłym niedożywieniem [45]. Przytoczone fakty sugerują, że ekspresja greliny i jej sekrecja są zwiększane w sytuacji ujemnej równowagi energetycznej. Udowodniono to na szczurach z indukowaną farmakologicznie cukrzycą, u których w eksperymental-

nych warunkach ujemnego bilansu energetycznego ekspresja mRNA dla preprogreliny oraz sekrecja greliny w tej sytuacji mocno się zwiększała [46]. Potwierdziły to w latach następnych prace Gellinga, który wykazał doświadczalnie, że niekontrolowana cukrzyca u szczurów prowadzi nie tylko do wzrostu stężenia krążącej greliny, lecz także do zwiększenia behawioralnej wrażliwości na nią [47]. Wysunął on nawet hipotezę, że zwiększenie sygnału grelinowego przyczynia się do patogenezy cukrzycowej hiperfagii. Potwierdziły to dalsze badania prowadzone u chorych ze źle kontrolowaną cukrzycą, u których brak poposiłkowej supresji sekrecji greliny powodowany był głębokim deficytem insuliny, prowadził do hiperfagii [48]. Odwrotnie, dostarczenie posiłku czy przewlekłe utrzymywanie dodatniego bilansu energetycznego stanowi czynnik supresyjny, wpływający na produkcję i uwalnianie greliny. Udowodniło to, że grelina reguluje energetyczną homeostazę, regulując łaknienie i lipogenezę, zwiększa apetyt, powodując zwiększenie wagi ciała. Podanie immunoglobuliny antygrelininowej gwałtownie blokuje łaknienie [6,43]. W otyłości poziom greliny obniża się, w kaheksji jest podwyższony. Grelina, podobnie jak insulina i glukagon, jest produkowana w wyspach trzustki i podobnie jak one bierze udział w regulacji metabolicznej. Metodami immunohistochemicznymi wykryto obecność greliny w komórkach wysp trzustkowych u szczura i człowieka [11,12]. Ujawniono także obecność mRNA kodującego peptyd i jego receptor. Wierup i wsp. zasugerowali, że grelino-pozytywne komórki tworzą nowy typ komórek wysp [12]. Obecnie wiadomo już, że peptyd ten produkowany jest przez komórki epsilon zlokalizowane w wyspach trzustki. Rozwijają się one z tych samych komórek prekursorowych co komórki beta, a za ich różnicowanie w odpowiednim kierunku odpowiada białko Nkx2 i Pax4 [48]. W badaniach *in vitro* okazało się, że grelina zwiększa koncentrację jonów wapniowych w komórkach beta i stymuluje sekrecję insuliny. Date i wsp. na podstawie swoich badań sugerują, że grelina może regulować funkcję wysp na drodze endokrynej i/lub parakrynie [11]. Wierup i wsp. wykazali obecność greliny w wyspach płodów ludzkich i u noworodków [12]. Liczba komórek grelino-pozytywnych zwiększa się od połowy ciąży; stanowią one ponad 10% wszystkich komórek wysp. Wydaje się, że w okresie płodowym, to właśnie trzustka jest głównym źródłem greliny [48]. Natomiast u osób dorosłych występują tylko pojedyncze komórki tego typu w obwodowej części wysp. Ontogenetycznie, pojawianie się greli-

ny w wyspach wyprzedza jej obecność w żołądku. Co do mechanizmu działania greliny, jako czynnika regulującego bilans energetyczny organizmu, zdania są podzielone. Uważa się, że powoduje ona wzrost ekspresji mRNA dla AGRP (Agouti-related protein) i neuropeptydu Y (NPY) i uruchomienie ekspresji genów natychmiastowej-wczesnej odpowiedzi, znajdujących się w środkowej części jądra łukowatego podwzgórza, bogatej w neurony NPY i AGRP [9]. Wpływ greliny na podwzgórze jest więc przeciwny do wpływu wywieranego przez leptynę. Według przyjętego modelu, krążąca grelina, pochodząca przeważnie z przewodu pokarmowego, pokonując barierę krew-mózg dociera do podwzgórza, do jądra łukowatego i wpływa na zwiększenie dostarczania pokarmu przez aktywację neuronów NPY/AGRP [25]. Jednakże według najnowszych badań, Cowley i wsp. wykazali, że grelina jest obecna we wcześniej nieodkrytej grupie neuronów podwzgórza, które znajdują się pomiędzy jądrem bocznym, łukowatym, brzusznoprzysrodkowym, grzbietowoprzysrodkowym i okołokomorowym, i wysyłają swoje projekcje do kilku z tych jąder, jak i poza podwzgórze. Może to świadczyć o tym, że co najmniej część działania greliny na homeostazę energetyczną ma źródło wewnętrzne. Najnowsze badania dają jeszcze jeden wątek możliwego działania podwzgórzowej greliny. Jest wysoce prawdopodobne, że grelino-pozytywne neurony są ściśle zbliżone do aksonów końcowych NPY, co daje prawdopodobieństwo, że grelina jest zdolna do presynaptycznej modulacji uwalniania NPY i GABA (kwas gamma-aminomasłowy), wskutek wzrastającej aktywności neuronów zawierających NPY i hiperpolaryzacji neuronów zawierających pro-opiomelanokortynę (POMC) w jądrze łukowatym [2]. Tak więc lipogenne i łaknieniowe działanie greliny jest niezależne od jej działania stymulującego sekrecję GH i jest ono modulowane przez OUN i leptyny [43,49,50]. Wydaje się, że ten typ działania związany jest z jej żołądkową produkcją. W obrębie przewodu pokarmowego zidentyfikowano już ponad 18 typów komórek endokrynych. Produkowane przez nie liczne peptydy są zaangażowane w regulację metabolizmu; przykładem mogą być neuropeptydy (NPY), peptydy yy (Pyy), somatostatyna i grelina, wykazujące ekspresję w wyspach trzustkowych. NPY i Pyy biorą udział w regulacji rozwoju wysp trzustki [6,11,12,43,50]. W ostatnim roku przyjęło się nawet określenie greliny „hormonem głodu”, przy jednoczesnym zastosowaniu miana „hormonów sytości” dla insuliny i leptyny [25].

Zwrócono także uwagę na jeszcze inne działania greliny. Zauważono, że peptyd ten reguluje jądrową steroidogenezę i sekrecję testosteronu przez komórki Leydiga oraz hamuje ekspresję czynnika komórek piennych (SCF, stem cell factor) w kanalikach nasiennych szczura [2,16,25]. Tak więc grelina odgrywa ważną rolę w rozwoju gonad [51]. Wykazano także, że u mężczyzn całkowite stężenie greliny jest niższe niż u kobiet, oraz że zmniejsza się ono wraz z wiekiem, wykazując korelację ze stężeniem testosteronu [25]. Ponadto wykryto obecność tego peptydu w łożysku, a więc narządzie zawierającym wszystkie główne elementy regulatorowe osi somatotropowej (np. GH, GHRH, somatostatynę, IGF-I).

W ostatnich latach podważono również specyficzność działania greliny. Okazało się, że podanie greliny powoduje nie tylko zwiększenie wydzielania GH, lecz również wpływa na stężenia ACTH, kortyzolu, prolaktyny i aldosteronu [2,6,52]. Takaya i wsp. podawali wolontariuszom dożylnie grelinę w dawce 0,2, 1,0, 5,0 mcg/kg masy ciała i w odpowiedzi uzyskali pik GH po 30 minutach (odpowiednio 43, 81, 107 ng/ml) [53]. W trakcie tego badania wystąpił również wzrost stężenia ACTH, PRL i kortyzolu, natomiast stężenie LH, FSH, TSH nie uległo zmianie. Intrygujący okazał się fakt, że równoczesne podanie greliny i GHRH, powoduje synergistyczny wpływ na sekrecję GH, ale nie wywiera takiego samego wpływu na sekrecję ACTH i prolaktyny. Obecność GHS-R w somatotropach w połączeniu z faktem, że grelina zwiększa sekrecję GH *in vitro*, rodzi wątpliwość, czy oddziałuje ona bezpośrednio na poziomie przysadkowym. Fakt, że ma ona większą potencję działania *in vivo* niż *in vitro*, i że odpowiedź GH na ghrelinę jest wyraźnie osłabiona u pacjentów z uszkodzonym połączeniem podwzgórzowo-przysadkowym, wskazuje, że największą rolę w pobudzaniu wydzielania

GH odgrywa ona na poziomie podwzgórzowym. Innym wytłumaczeniem tych zależności może być wpływ greliny na somatotropy w sposób niezależny od bezpośredniego wpływu na sekrecję GH. Wykazano bowiem, że grelina wpływa na ekspresję transkrypcji czynnika PIT-1, a ten z kolei w wyspecyficzny sposób na rozwój somatotropów przedniego płata przysadki i ekspresję genu GH [2]. W badaniach nad zarodkami szczurzymi udowodniono, że grelina ujawnia zależną od czasu i dawki aktywację ekspresji Pit-1 w kulturach komórek przedniego płata przysadki. Te a także inne badania wydają się potwierdzać ważną rolę greliny w aktywacji genu Pit-1 i jej wpływ na różnicowanie i proliferację somatotropów, a co za tym idzie na kontrolę rozwoju i wzrastania organizmu [2].

W podsumowaniu roli i znaczenia greliny, oprócz znacznego wpływu na uwalnianie GH, co było punktem wyjścia do badań nad poszukiwaniem naturalnego liganda receptora GHS, trzeba także wymienić pozostałe, nie mniej ważne działania odkryte w toku dalszych poszukiwań:

- 1 kontrola nad homeostazą energetyczną, regulacja zużycia energii poprzez wpływ na łaknienie [6],
- 2 kontrola sekrecji kwasu i kontrola motoryki żołądka [6,54],
- 3 wpływ na czynność egzokrynną i endokrynną trzustki i na metabolizm glukozy (działanie parakrynnie na wyspy Langerhansa) [6,55,56],
- 4 wpływ na sen [6,57],
- 5 wpływ na układ sercowo-naczyniowy [6,58],
- 6 antyproliferacyjny wpływ na kilka linii komórkowych, neoplastycznych [6,59],
- 7 modulacja systemu immunologicznego [6,60],
- 8 stymulacja laktotropowa,
- 9 stymulacja kortykotropowa,
- 10 przysadkowa stymulacja osi gonadalnej.

PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

- [1] Bowers C.Y., Momany F., Reynolds G.A. et al.: Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone *in vitro*. *Endocrinology*, 1980;106, 663-667.
- [2] Gualillo O., Lago F., Gomez-Reino J. et al.: Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Lett.*, 2003;552, 105-109.
- [3] Romer T.E.: *Endokrynologia – cz. I. Med. Prakt. Pediat.*, 2001;2, 106-110.
- [4] Clark R.G.: Growth hormone secretagogues: a pill for growth? *Growth Horm. IGF Res.*, 1999;9, 85-88.
- [5] Bowers C.: Pralmorelin: GHRP 2, GPA 748, growth hormone-releasing peptide 2, KP-102 D, KP-102 LN, KP-102D, KP-102LN. *Drugs R D*, 2004;5, 236-239.
- [6] van der Lely A.J., Tschöp M., Heiman M.L. et al.: Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr. Rev.*, 2004;25, 426-457.

- [7] Howard A.D., Feighner S.D., Cully D.F. et al.: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, 1996:273, 974-977.
- [8] McKee K.K., Palyha O.C., Feighner S.D. et al.: Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol. Endocrinol.*, 1997:11, 415-423.
- [9] Hagemann D., Meier J.J., Gallwitz B. et al.: Appetite regulation by ghrelin – a novel neuro-endocrine gastric peptide hormone in the gut-brain-axis. *Z. Gastroenterol.*, 2003:41, 929-936.
- [10] Kojima M., Hosoda H., Date Y. et al.: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 1999: 402, 656-660.
- [11] Date Y., Nakazato M., Hashiguchi S. et al.: Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes*, 2002:51, 124-129.
- [12] Wierup N., Svensson H., Mulder H. et al.: The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in human pancreas. *Regul. Pept.*, 2002:107, 63-69.
- [13] Gualillo O., Caminos J., Blanco M. et al.: Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology*, 2001:142, 788-794.
- [14] Mori K., Yoshimoto A., Takaya K. et al.: Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett.*, 2000:486, 213-216.
- [15] Popovic V., Miljic D., Micic S. et al.: Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003:88, 3450-3453.
- [16] Tena-Sempere M., Barreiro M.L., Gonzalez L.C. et al.: Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology*, 2002:143, 717-725.
- [17] Korbonits M., Bustin S.A., Kojima M. et al.: The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001:86, 881-887.
- [18] Date Y., Kojima M., Hosoda H. et al.: Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*, 2000:141, 4255-4261.
- [19] Volante M., Allia E., Gugliotta P. et al.: Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002:87, 1300-1308.
- [20] Hattori N., Saito T., Yagyu T. et al.: GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001:86, 4284-4291.
- [21] Lu S., Guan J.L., Wang Q.P. et al.: Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci. Lett.*, 2002:321, 157-160.
- [22] Volante M., Fulcheri E., Allia E. et al.: Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung. *J. Histochem. Cytochem.*, 2002:50, 1013-1021.
- [23] Gaytan F., Barreiro M.L., Chopin L.K. et al.: Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003:88, 879-887.
- [24] Caminos J.E., Tena-Sempere M., Gaytan F. et al.: Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. *Endocrinology*, 2003:144, 1594-1602.
- [25] Kozakowski J., Dudek P., Zgliczyński S.: U mężczyzn stężenie greliny jest niższe niż u kobiet i obniża się z wiekiem i spadkiem stężenia testosteronu. *Endokr. Pol.*, 2004:55, 414-420.
- [26] Kojima M., Hosoda H., Matsuo H. et al.: Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2001:12, 118-122.
- [27] Hosoda H., Kojima M., Mizushima T. et al.: Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J. Biol. Chem.*, 2003:278, 64-70.
- [28] Dornonville de la Cour C., Bjorkqvist M., Sandvik A.K. et al.: A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul. Pept.*, 2001:99, 141-150.
- [29] Bednarek M.A., Feighner S.D., Pong S.S. et al.: Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J. Med. Chem.*, 2000:43, 4370-4376.
- [30] Matsumoto M., Hosoda H., Kitajima Y. et al.: Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001:287, 142-146.
- [31] Muccioli G., Papotti M., Locatelli V. et al.: Binding of ¹²⁵I-labeled ghrelin to membranes from human hypothalamus and pituitary gland. *J. Endocrinol. Invest.*, 2001:24, RC7-RC9.
- [32] Dieguez C., Casanueva F.F.: Ghrelin: a step forward in the understanding of somatotroph cell function and growth regulation. *Eur. J. Endocrinol.*, 2000:142, 413-417.
- [33] Cassoni P., Papotti M., Ghe C. et al.: Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001:86, 1738-1745.
- [34] Hosoda H., Kojima M., Matsuo H. et al.: Purification and characterization of the rat des-Gln¹⁴-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J. Biol. Chem.*, 2000:275, 1995-2000.

- [35] Asakawa A., Inui A., Kaga T. et al.: Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*, 2001:120, 337-345.
- [36] Folwaczny C., Chang J.K., Tschop M.: Ghrelin and motilin: two sides of one coin? *Eur. J. Endocrinol.*, 2001:144, R1-R3.
- [37] Hewson A.K., Dickson S.L.: Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *J. Neuroendocrinol.*, 2000:12, 1047-1049.
- [38] Tamura H., Kamegai J., Shimizu T. et al.: Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology*, 2002:143, 3268-3275.
- [39] Date Y., Murakami N., Kojima M. et al.: Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000:275, 477-480.
- [40] Romer T.E.: Endokrynologia wieku rozwojowego. *Med. Prakt. Pediat.*, 2002:2, 111-119, 125-126.
- [41] 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. *J. Endocrinol. Invest.*, 2000:23, 493-495.
- [42] Tschop M., Smiley D.L., Heiman M.L.: Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 2000:407, 908-913.
- [43] Nakazato M., Murakami N., Date Y. et al.: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001:409, 194-198.
- [44] Toshinai K., Mondal M.S., Nakazato M. et al.: Upregulation of Ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001:281, 1220-1225.
- [45] Gualillo O., Caminos J.E., Nogueiras R. et al.: Effect of food restriction on ghrelin in normal-cycling female rats and in pregnancy. *Obes. Res.*, 2002:10, 682-687.
- [46] Masaoka T., Suzuki H., Hosoda H. et al.: Enhanced plasma ghrelin levels in rats with streptozotocin-induced diabetes. *FEBS Lett.*, 2003:541, 64-68.
- [47] Gelling R.W., Overduin J., Morrison C.D. et al.: Effect of uncontrolled diabetes on plasma ghrelin concentrations and ghrelin-induced feeding. *Endocrinology*, 2004:145, 4575-4582.
- [48] Otto-Buczkowska E.: The role of ghrelin in the regulation of energy homeostasis. *Endokrynol. Diabetol. Chor. Przemiany Materii Wieku Rozw.*, 2005:11, 1, 39-42.
- [49] Akamizu T., Takaya K., Irako T. et al.: Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Eur. J. Endocrinol.*, 2004:150, 447-455.
- [50] Horvath T.L., Diano S., Sotonyi P. et al.: Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance—a hypothalamic perspective. *Endocrinology*, 2001:142, 4163-4169.
- [51] Barreiro M.L., Gaytan F., Castellano J.M. et al.: Ghrelin inhibits the proliferative activity of immature Leydig cells in vivo and regulates stem cell factor messenger ribonucleic acid expression in rat testis. *Endocrinology*, 2004:145, 4825-4834.
- [52] Wren A.M., Small C.J., Ward H.L. et al.: The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology*, 2000:141, 4325-4328.
- [53] Takaya K., Ariyasu H., Kanamoto N. et al.: Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000:85, 4908-4911.
- [54] Kohno D., Gao H.Z., Muroya S. et al.: 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.
- [55] Masuda Y., Tanaka T., Inomata N. et al.: Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000:276, 905-908.
- [56] Adeghate E., Ponery A.S.: Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J. Neuroendocrinol.*, 2002:14, 555-560.
- [57] Reimer M.K., Pacini G., Ahren B.: Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse. *Endocrinology*, 2003:144, 916-921.
- [58] Weikel J.C., Wichniak A., Ising M. et al.: Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003:284, E407-E415.
- [59] Enomoto M., Nagaya N., Uematsu M. et al.: Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in healthy humans. *Clin. Sci. (Lond.)*, 2003:105, 431-435.
- [60] Li W.G., Gavrilu D., Liu X. et al.: Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation*, 2004:109, 2221-2226.