

GRELİNİN YAPISI ve ORGANİZMADAKİ FONKSİYONLARI

GHRELIN: STRUCTURE and BIOLOGICAL FUNCTIONS

Yıldız İYİDOĞAN*

ÖZET

Grelin, 1999 yılında Masayasu Kojima tarafından tanımlanmış bir hormondur. 28 aminoasitten oluşmuş bir polipeptiddir. Dolaşımdaki grelin miktarının önemli bir kısmı mideden salgılanır ve biyolojik olarak aktif olabilmesi için üçüncü aminoasidi olan serin kalıntısına n-oktanoik asit bağlanması gereklidir. Grelin, reseptörü olan GHS-R1a'ya bağlanarak hücre içi Ca konsantrasyonlarını artırır, büyüme hormonu (GH) salgılanmasına neden olur ve birçok fizyolojik etkisini bu yolla gösterir. Grelin, hipotalamik arkuat nükleusa etki ederek, gıda alımını kontrol eder; açlıkta grelin düzeyleri yükselir, yemek yemeyi takiben düşer. Oreksijenik etkilidir ve leptine zıt etki gösterdiği bildirilmiştir. Açılmemiş (n-oktanoik asit bağlanmamış) grelinin de biyolojik fonksiyonları olduğu düşünülmektedir; ancak henüz bağlandığı reseptör ve etki mekanizması tanımlanmamıştır. Açılmemiş grelinin; hücre proliferasyonunda, lipolizde, adipogenezde ve kardiyovasküler fonksiyonlarda etkili olduğu düşünülmektedir. Fizyolojik ve patolojik değişimlerde, grelin düzeylerinin azaldığı veya arttığı bildirilmiştir. Obezlerde ve tip 2 diyabetli kişilerde de grelin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir. Grelin salgılanması sirkadyen ritm gösterir; özellikle sabaha karşı 2 saatlerinde dolaşımdaki grelin miktarı en yüksek düzeydedir. Önümüzdeki dönemlerde yapılacak çalışmaların grelinin birçok bilinmeyen fonksiyonuna ve özellikle açılmemiş grelinin biyolojik etkilerine ışık tutacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Grelin, grelin yapısı, grelin fonksiyonları

ABSTRACT

Ghrelin, a 28 amino acid peptide hormone discovered in 1999 by Kojima et al., is an endogenous ligand for the growth hormone secretagogue (GHS) receptor. It is secreted mainly by the stomach and n-octanoylation at the third serine residue of this peptide is essential for its bioactivity. Ghrelin stimulates growth hormone release, increases intracellular calcium concentration in somatotrophs by binding its GHS-R1a receptor and also many effects of ghrelin are mediated via the activation of its receptor. Ghrelin participates in modulation of feeding behaviour by acting on hypothalamic arcuate nucleus. Circulating ghrelin levels increase preprandially and decrease after meals. Ghrelin is an only orexigenic hormone which counteracts to leptin. Non-acylated form of ghrelin has also been suggested to have some biological activities such as cell proliferation, lipolysis, adipogenesis and cardiovascular functions. However the binding receptor of non-acylated ghrelin and its biological functions are still unclear. Circulating ghrelin levels are reported to be increased or decreased in response to physiological and pathological alterations. Ghrelin concentrations are shown to decrease in obese subjects and in patients with type 2 diabetes. It is secreted in circadian rhythm showing especially a nocturnal peak at 2 a.m. It is expected that numerous unknown biological functions of ghrelin, particularly those of non-acylated form, will be elucidated by further studies in the near future.

Key words: Ghrelin, ghrelin structure, ghrelin functions

GİRİŞ

Grelin, 1999 yılında Japon araştırmacı Masayasu Kojima tarafından keşfedilen ve büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörüne (GHS-R1a) bağlanmış endojen bir ligand olarak tanımlanan bir hormondur (46). Grelin adı, Proto-Indo European kaynaklı bir kelime olan “ghre” ile “re-

lin”in birleşmesinden türetilmiştir. “ghre” modern ingilizcede “grow” yani büyüme anlamında, “relin” ise büyüme hormonu salgılatıcı aktivite anlamında kullanılmaktadır.

Grelinin hormon olarak keşfedilmesinden önce, 1996 yılında reseptörü (GHS-R) tanımlanmış ve G protein ailesi-

Dergiye geldiği tarih/ Date received: 07.09.2006

* İstanbul Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul
(İletişim kurulacak yazar: iyidogan@istanbul.edu.tr)

Dört tip endokrin hücre oksintik mukozada gösterilmiştir: Bunlar X/A tipi hücreler, enterokromafin benzeri (ECL) hücreler, delta (D) hücreler ve enterokromafin hücrelerdir (31). Bu 4 tip hücrenin dokuda bulunma yüzdeleri farklıdır.

Dolaşımda bulunan grelinin büyük miktarı mideden salgılanır. % 30 kadarı gastrointestinal kaynağıdır (1). Barsakta duodenumdan kolona indikçe grelin konsantrasyonu azalır.

Santral sinir sisteminde grelin mRNA ve immunoreaktif peptid düzeyleri çok düşüktür.

Hipotalamusta grelin peptidi ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Hipotalamik arkuat nükleus (ARC)'de sentezlenir, ancak grelin-pozitif nöronların sayısı düşüktür (35,46). Kalp ventriküllerinde bulunan GHS-R reseptörü grelinin kardiovasküler etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Nöroendokrin tümörler tiroid ve medüller tiroid karsinomaları ve akciğer tümörleri gibi değişik tümör dokularında da grelin saptanmıştır. Normal ve tümoral dokularda grelin ekspresyonu mideden daha azdır ve bu dokularda grelinin fizyolojik rolü otokrin/parakrin faktör düzeyindedir ve henüz anlaşılmamıştır. Gastrointestinal sistem dışında grelinin endokrin rolü anlaşılmamıştır.

Pankreasda yapılan çalışmalar grelinin ve açılmemiş grelinin sıçan pankreasında bulunduğunu göstermiştir; bazı çalışmalar grelini b veya a hücrelerinde, diğerleri ise yeni adacık hücrelerinde, e hücrede olduğunu belirtmiştir (20, 81).

Grelinin kan-beyin bariyerini geçebileceği hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir. Fare grelini insan grelininden 2 aminoasit farklı olduğundan dolayı beyinden kana geçebilir ancak kandan beyine çok az geçer; insan grelini ise her iki yöne de geçebilir.

Fetusta ve yenidoğanda grelin

İmmunoreaktif grelin kan örneklerinde hamileliğin 20. haftasından itibaren yetişkinle aynı konsantrasyonlarda grelin saptanmıştır. (15). Göbek kordonu total grelin konsantrasyonları anne kanından daha yüksektir; cinsiyet veya etnik kökenden etkilenmez. Fetal grelin kaynağı bilinmemektedir. Postmortem çalışmalar, grelinin fetal tiroid, akciğer ve pankreasta çok, ancak fetal midede daha az bulunduğunu göstermiştir (81). Grelinin perinatal dönemde kilo artışı ve GH sekresyonuna etkisi bilinmemektedir. Kordon kanındaki yüksek GH konsantrasyonları greline bağlı olabilir. Bununla birlikte GH düzeyleri ile göbek kordonu grelin düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon gösterilmemiştir (45).

Fetal midede grelin ekspresyonu doğumdan sonra başlar.

Çocukta ve ergenlik döneminde grelin

Dolaşımdaki grelin konsantrasyonları yaşamın ilk 2 yılı boyunca ergenlik dönemindeki azalmaya kadar cinsiyete bağlı olmaksızın düzenli artış gösterir.

Açılmemiş grelinin biyolojik rolü var mı?

Grelinin açılmemiş formu olan desaçil grelin, anlamlı

yüksek düzeylerde midede ve kanda bulunur (35). Vucudumuzda birçok peptid hormonun sadece aktif olanlarının değil, inaktif olanlarının da bulunduğu bilinmektedir. İnaktif formların klirens hızları aktif formlara göre düşük, yarı ömürleri daha uzundur. İnsanlarda ve farelerde yapılan bazı çalışmalar, çok yüksek düzeylerde açılmemiş grelinin açıl grelinin bazı fonksiyonlarını inhibe ettiğini göstermiştir (9,29).

Acaba doğa fonksiyonsuz bir peptid sentez edecek kadar müsrif midir?

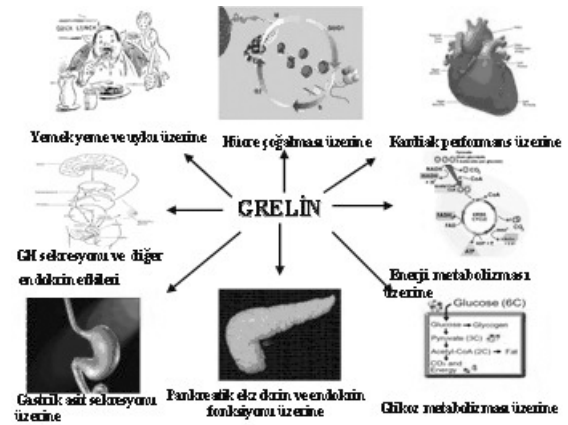
Gittikçe artan sayıda çalışma açılmemiş grelinin biyolojik rolü olduğunu belirtmektedir. Açılmemiş grelinin, adipogenezde (75), lipolizde (56), glukoz homeostazisinde (29), hücre proliferasyonunda (12), apoptoziste (3) ve kardiovasküler fonksiyonlarda (5) etkili olduğu belirtilmektedir. Bu etkilerin alternatif bir reseptörle olduğu hipotezi yaygındır (33, 78). Açılmemiş grelin klasik grelin reseptörüne bağlanmaz ve bu şekilde aktive olmaz. Baldanzi ve ark'ları (3) kardiovasküler sistemde farklı bir grelin reseptörünün varlığından bahsetmişlerdir.

Açılmemiş grelinin spesifik bir reseptörünün bulunması fizyolojik rollerini aydınlatacaktır.

Açılmemiş grelinin bu fonksiyonları endokrin olmayan etkilerdir.

Grelinin Etkileri

Grelinin organizmada çok çeşitli sistemler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (Resim 5).



Resim 5. Grelinin organizmadaki başlıca etkileri.

1. Yemek yeme ve uyku üzerine etkisi
2. Hücre proliferasyonu üzerine etkisi
3. Kardiovasküler etkiler
4. Karbonhidrat metabolizması ve enerji metabolizması üzerine etkileri
5. Pankreatik ekzokrin ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi
6. Gastrointestinal sistem üzerine etkisi
7. Diğer endokrin etkiler

1. Yemek yeme ve uyku üzerine etkisi

Yemek yemek, yaşamak için vazgeçilmez bir ihtiyaçtır.

Bu nedenle, iştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yemek yemenin merkezi sinir sistemindeki ve özellikle hipotalamustaki kompleks mekanizmalar tarafından düzenlendiği kabul edilmektedir (24). Grelinin yemek yeme üzerine etkisi GH'dan bağımsızdır.

GHS'ların (MK-0677, pamorelin, hekszarelin ve farmakolojik HS analogları) yemek yeme üzerine pozitif etkili olduğu 1995 yılından itibaren sıçanlar üzerinde gösterilmiştir. Grelinin oreksijenik etkisi ob/ob leptin eksikliği olan farelerde gözlenmiştir ve grelin antagonisti olan D-Lys3-GHRP-6 ile inhibe edilmiştir (2).

Memelilerde grelin oreksijenik ve adipogenik bir moleküldür. Oreksijenik etki hızlı ve kısa ömürlüdür. Hipotalamus, enerji homeostazisi için kontrol merkezidir.

Grelin hipotalamusta iştah üzerine etkisini üç yolla yapar:

1. Mideden salgılanan grelin kan yoluyla ARC (Arkuat nükleus) hücrelerine ulaşır ve kan-beyin bariyerini geçerek aktif transport yolu ile diğer beyin hücrelerine ulaşır.
2. Periferde sentezlenen grelin, vagal etkileşimlerle GHS-R ekspresyonunu sağlar ve vagal etkileşimler nükleus traktusa erişerek hipotalamusu etkiler.
3. Grelin lokal olarak hipotalamusta sentezlenir ve NYP/AGRP ve diğer hipotalamik hücrelerle direkt etkileşimde bulunur. Ancak beyinde grelin miktarının çok az olduğu gösterilmiştir (46).

Grelin üreten nöronlar hipotalamusta ARC bölgesinde bulunur. Bu bölge leptinin de etki ettiği bölgedir. Nöropeptid Y (NPY) ve iştah etkili protein (AGRP) adlı oreksijenik peptidler, ARC'de aynı nöronlarla leptin reseptörü üzerinden etkisini gösterir. (55).

İntraserebroventriküler grelin uygulamasının ARC'de NPY ve AGRP mRNA düzeylerini arttırdığı, periferel grelin uygulanmasının ise hipotalamik nöronları ve gıda alımını stimüle ettiği gösterilmiştir (71). Genellikle, periferel olarak enjekte edilen peptidler kan-beyin bariyerini geçemezler. Periferel grelinin bariyeri geçme hızı son derece yavaştır. İndirekt etki yoluyla hipotalamik bölgeyi etkilediği düşünülmektedir.

Uyku üzerine etkisi

Uykuyu arttırdığı belirtilmişse de bu tanı kesin değildir. İnsanlarda hafif uyku getirdiği daha önceki bazı çalışmalarda gösterilmiştir (80).

2. Hücre proliferasyonu

Birçok tümör dokusunda grelin ve grelin reseptörlerinin eksprese edildiği gösterilmiştir. Grelinin neoplastik oluşumda otokrin/parakrin etkileri olduğu düşünülmektedir (56,63). GHS- reseptörleri, meme dokusu gibi normal fizyolojik koşullarda bu reseptörleri eksprese etmeyen organların tümoral dokularında bulunmuştur (11).

İn vitro çalışmalarla grelinin, hem açılmış hem de açılmemiş şeklinin ve bazı sentetik analoglarının tümör hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

Hipofiz düzeyinde birçok endokrin tümörün, fakat aynı zamanda gastro-entero-pankreatik karsinoidlerin, akciğer karsinoidlerinin ve tiroid tümörlerinin grelin içerdiği hem

immunohistokimyasal hem de mRNA analizleriyle saptanmıştır (11,48,79).

Meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, açılmış ve açılmemiş grelinin GHS-R1a reseptörü yoluyla değil, farklı GHS reseptör alt grubu aracılığı ile hücre proliferasyonunu azalttığı, inhibe ettiği belirtilmiştir (12).

3. Kardiovasküler etkiler

Kalp ve aortada grelin ve reseptörünün ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (31, 62). İntravenöz grelin enjeksiyonu yapılan gönüllü deneklerde grelinin kan basıncını azalttığı, kardiyak indeksi ve hacmi arttırdığı belirtilmiştir (30, 59). Grelinin primer yetişkin ve H9c2 kardiomyositlerin ve endotelial hücrelerin in vitro olarak apoptozunu inhibe ettiği bildirilmiştir (3, 65). Bu etkileri hücre dışı sinyal ileti yolu olan kinaz _ ve akt serin kinaz'ın aktivasyonu ile düzenlenir. Bununla birlikte H9c2 kardiomyositler grelin reseptörü eksprese etmez; bu nedenle farklı ve henüz tanımlanmamış bir reseptör tipinin kullanıldığı görüşüne varılabilir.

4. Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri

İnsanlarda (normal kilolu ve obezlerde) intravenöz grelin uygulanması akut olarak insülin salınımını inhibe eder (7). Grelinin GH salınımını arttırması sonucu insülin direnci ve glikoneogenez artar ve dolaşımdaki glukoz düzeyleri yükselir (57).

Grelinin sıçan adacık a hücrelerinde glukagonla birlikte yerleşik olduğu gösterilmiştir. Sitolitik serbest Ca²⁺ konsantrasyonunu arttırır ve insülin sekresyonunu stimüle eder (21).

Grelin akut olarak intravenöz enjeksiyonu sonrasında insanlarda insülin sekresyonunu inhibe eder (normal kilolu ve obez kişilerde) ve glukoz düzeyleri artar (7). Benzer sonuçlar hayvan çalışmalarında da bulunmuştur. Grelın GH reseptör antagonisti benzer etkiler göstererek insülin direncini arttırır (57). Özetle, grelinin insülin salınımı üzerine etkisi GH yolu ile dolaşımdaki glukoz düzeylerini düzenleyerek, insülin direncini arttırarak ve glikoneogenezini stimüle ederek olduğu düşünülmektedir.

Yağ dokusuna etkileri

Kemirgenlerde kronik grelin alımı vucut yağ düzeylerini arttırır (76). Grelın veya GHS'lar dolaşımdaki leptin düzeylerini ve mRNA ekspresyonunun arttırır ve resistin mRNA ekspresyonunu inhibe eder (2). İnsülin direncinde ve obezitede patogenezi bildirilen adiponektin kahverengi yağ dokusuna, in vitro grelin uygulanmasından sonra inhibe olur (60). Bunlar grelinin adipogenezde ve enerji depolanmasında önemli rol oynadığını gösterir.

5. Gastrointestinal etkiler

Grelın ilk defa mide dokusunda bulunmuştur; ardından midedeki ve iştahı düzenlemekteki etkisi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda intravenöz grelin uygulanmasının doza bağımlı gastrik asit salgılanmasını ve gastrik hareketliliği arttırdığı gösterilmiştir (23).

Greline maksimum yanıtın özellikle gastrik asit salgılan-

ması yönünde deri altı histamin (3 mg/kg) enjeksiyonu sonucu olan artış kadar olduğu gösterilmiştir. Bu yanıt daha öncesinde uygulanan atropin veya bilateral servikal vago-tomi sonucu engellenebilir ancak histamin H2-reseptör antagonisti bu yanıtı engellemez. Ghrelinin intraserebro-ventriküler uygulanması da gastrik asit salgılanımını artırır (20).

6. Pankreatik ekzokrin ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi

Pankreas, ghrelin üreten bir organdır. Ghrelinin pankreasda yeni tanımlanan e adacık hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir (19,79, 81). Pankreatik ghrelin profili fetal oluşumdan itibaren değişim gösterir; pankreatik ghrelin ekspresyona eden hücreler erken postnatal dönemde fazla sayıdadır (yaklaşık tüm endokrin hücrelerin %10'u kadar) ve doğumdan sonra bu sayıda azalma görülür (13). Ghrelin mRNA ekspresyonu ve ghrelin konsantrasyonu (özellikle açılmemiş ghrelin) fetal pankreasda fetal mideye nazaran birkaç kez daha yüksek düzeydedir.

7. Diğer endokrin etkiler

İntravenöz ghrelin uygulanmasının, sağlıklı kişilerde GH salınımını dolayısıyla adrenokortikotropik hormon (ACTH), kortizol ve prolaktin düzeylerini hafifçe arttırdığı gösterilmiştir (74). Ghrelinin ve GHRH'nin birlikte verilmesi GH salgılanmasında sinerjik etki gösterir (34).

Ghrelin, GHS-R üzerine IP3 yolu ile etki ederek hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunu artırır ve GH düzeyi yükselir. İntravenöz ghrelin enjeksiyonu sıçanlarda ve insanlarda GH salınımını artırır. Anestezide altındaki sıçanlara intravenöz ghrelin enjekte edildikten sonra plazma GH konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir (bazal değer: 12.0 ± 5.4 ng/mL; ghrelin enjeksiyonu sonrası: 129.7 ± 11.3 ng/mL) (46). GH salgılanması ghrelin enjeksiyonundan yaklaşık 5-15 dk sonra tepe noktasına ulaşır ve 1 saat sonra başlangıç değerlerine azalır.

Ghrelin ve GHRH, GH salınımı üzerine sinerjik etki gösterir; bu ikili uygulama sadece GHRH veya ghrelin etkisinden daha fazla GH salgılanmasına neden olur (34). Bu sinerjik etki, GHRH, sentetik ghrelin agonistleri ve GHSs'in birlikte verilmesi ile de gözlemlenebilir (14).

Ghrelinin diğer endokrin etkileri Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Ghrelinin endokrin etkileri

HORMON SALINIMI	ETKİSİ
Büyüme hormonu salınımı	Artma
Adrenokortikotropik hormon salınımı	Artma
Kortizol salınımı	Artma
Prolaktin salınımı	Artma
Tiroid stimulan hormon salınımı	Azalma veya değişmeme ?
Luteinizan hormon salınımı	Azalma veya değişmeme ?
Folikül stimulan hormon salınımı	Değişmeme
İnsülin salınımı	Artma veya azalma ?

Ghrelinin antiinflamatuvar etkisi

İnsan çalışmalarında leptinin interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör (TNF-a)'ı arttırdığı gösterilmiştir. Ghrelin ve leptinin hipotalamusta iştah üzerine antagonist etkisi gibi zıt düzenleyici etkilerinin immun sistemde sitokin ekspresyonu üzerinde de olduğu düşünülmektedir. İnsan T hücrelerinden ghrelin salgılandığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak immun sistemde ghrelinin anti-inflamatuvar etkisi olabileceği ifade edilmiştir (22).

Fizyolojik ve patolojik koşullarda ghrelin düzeyleri

Cinsiyet

Yapılan çalışmaların çoğu, dolaşımdaki ghrelin düzeyleri arasında cinsiyete bağlı fark göstermemiştir (69). Bununla birlikte bazı çalışmalarda, kadınlarda ghrelin düzeylerinin daha yüksek olduğunu bildirilmiştir (4). Menopozal durumun ghrelin düzeylerini etkilemediği bildirilmiştir (69).

Yaş

Bazı çalışmalar, insanlarda ve farede ghrelin ile yaş arasında negatif korelasyon bulmuşlardır (6). Hamilelik sırasında ilk dönemde ghrelin düzeyleri yüksek, ikinci dönemde ise düşüktür (32).

Diabetes Mellitus ve insülin direnci

Tip 2 diyabetli veya insülin direnci olan kişilerde düşük ghrelin düzeyleri gözlenmiştir. Düşük ghrelin düzeyleri olan bu kişilerde yapılan çalışmada yüksek insülin direnci, yüksek açlık insülin düzeyleri ve tip 2 diyabet prevalansı bulunmuştur (68). Obez çocuklarda ve yetişkinlerde ghrelin düzeyleri ile insülin duyarlılığı arasında negatif korelasyon bulunmuştur (39). Bununla birlikte zayıf ancak tip 2 diyabeti olan kişilerde ghrelin düzeyleri düşük bulunmamıştır (72).

Streptozotosinle indüklenmiş diabetes mellitusu (tip 1 diyabet modeli) olan sıçanlarda dolaşımdaki ghrelin düzeyleri negatif enerji dengesine bağlı olarak yüksek bulunmuş ve insülin uygulanmasından sonra ghrelin düzeyleri normale dönmüştür (52).

Prader-Willi sendromu

Prader-Willi sendromu (PWS) en sık rastlanan genetik obezite sendromudur. Bu kişilerde ghrelin düzeyleri yüksek bulunmuştur. PWS deki hiperghrelineminin nedeni anlaşılmamış, ancak PWS deki sempatik ile parasempatik otonom sinir sistemi dengesine bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Diğer bir görüş ise PWS'li kişilerde karakteristik olan GH eksikliğinin kronik hiperghrelineminin neden olduğu reseptör duyarsızlığına bağlı olabileceğidir (49).

Negatif enerji dengesi

Ghrelin kilo ile negatif koreledir. Düşük kalori diyetiyle beslenen kişilerde yüksek ghrelin düzeyleri bulunmuştur (17). Ayrıca kansere bağlı anoreksialı (82), kardiyak hastalığı olan kişilerde (59) ve anoreksia nervozalı kişilerde de (61), ghrelin düzeyleri yüksek bulunmuştur. Sıçanlarda 48 saat açlık sonrası, açlığın dolaşımdaki ghrelin düzeylerini

arttırdığı, mide grelin mRNA ve protein ekspresyonunu ve hipotalamik GHS-R mRNA ekspresyonunu 8 kez arttırdığı gösterilmiştir (44).

Obezite

Obez kişilerde zayıf kişilere göre grelin düzeyleri düşüktür (77). Diyete bağlı kilo kaybı dolaşımdaki grelin düzeylerini artırır (17). Grelinin vücut ağırlığı üzerindeki rolünün büyük olasılıkla insülin düzenlemesi sonucu olduğu, yağ kütlesi veya yağ dağılımı ile değişmediği gösterilmiştir (69). Obezite, düşük GH düzeyleri ve düşük grelin düzeyleri ile karakterizedir ancak birçok çalışmada bu iki parametre arasında belirleyici bir ilişki bulunamamıştır (58).

Polikistik over sendromu

Polikistik over sendromlu (PCOS) kişilerde düşük grelin düzeyleri ile birlikte insülin direnci bulunmuştur. POCS'li obez kişilerde grelin düzeyleri BMI'yi normal sınırlarda olan kontrollere göre düşük bulunmuştur (62)

Hipertansiyon

Hamile kadınlarda yapılan bir çalışmada, vücut kitle indeksinden (BMI)'inden bağımsız yüksek kan basıncı ile birlikte düşük grelin düzeyleri bulunmuştur (50). Bu çalışmaya paralel olarak insanlarda yapılan pek çok çalışmada grelin enjeksiyonundan sonra kan basıncının azaldığı gözlenmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalar grelinin vazodilatör etkisi olduğunu göstermiştir (43).

Karaciğer hastalığı

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğerde obeziteden bağımsız insülin direncine bağlı düşük grelin düzeyleri bulunmuştur (51).

Büyüme hormonu eksikliği

GH uygulanması GH eksikliği olan kişilerde akut olarak grelin düzeylerini düşürür (18) buna rağmen uzun-sürelili GH alımı grelin düzeyleri üzerinde inhibitör (26) veya etkisiz (40) kalmıştır.

Akromegali

Akromegalik kişilerde grelin düzeyleri düşük bulunmuştur (10), ancak ameliyat sonrasında artış göstermektedir. Bu artış GH, IGF-I ve insülin düzeyleri ile negatif koreledir. Aktif akromegalide bu hormonlardan birinin veya hepsinin grelin düzeylerini baskıladığı düşünülmektedir (10, 28).

Hipertiroidizm

Hipertiroidizmde grelin düzeyleri düşüktür ve antitiroid uygulaması sonucu grelin düzeyleri normale gelir (70). Tiroid hormonlarının grelin üzerinde direkt inhibitör etkisi vardır.

Grelin ekspresyonunun ve sekresyonunun düzenlenmesi

Grelin salgılanmasının düzenlenmesinde en önemli faktör yemek yemektir. Plazma grelin konsantrasyonları açlıkta yüksektir ve gıda alımı sonrasında azalır (16). Ancak bu

faktörlerin grelin salgılanmasının düzenlenmesi üzerine etkili olup olmadığı açıklık kazanmamıştır. Oral ve intravenöz glukoz uygulanması, plazma grelin düzeylerini düşürür (72)

İnsanlarda plazma grelin düzeyi, gece 02.00 dolayında tepe noktasına ulaşarak nokturnal artış gösterir. Yemekten önce 2 kez artar ve yemekten 1 saat sonra başlangıç değerine düşer (25).

Su alımı sonucu midenin dolması ile plazma grelin konsantrasyonları değişmez. Düşük protein diyeti ile beslenmede grelin düzeyleri artar ve yüksek yağlı diyetle beslenmede düşer (27). Gastrik by-pass ameliyatından sonra düştüğü gösterilmiştir (17)

Grelin salgılanımını arttıran ve azaltan faktörler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Grelin salgılanımını etkileyen faktörler

Grelin Salgılanımını Arttıranlar	Grelin Salgılanımını Azaltanlar
Açlık, düşük BMI	Gıda alımı, yüksek BMI
Leptin (?)	Glikoz
GHRH	İnsülin (?)
Hipotiroidizm	Somatostatin
Testosteron	GH
Parasempatik aktivite	GHS, grelin
	PYY 3-36
	Ürokortin-I

İnsanlarda grelin gen ve obezite polimorfizmleri

İnsanlarda grelin geni ve obezitede genomik değişiklikler arasında ilişki saptanmıştır. İnsanlarda iki polimorfizm bildirilmiştir: Arg51Gln ve Leu72Met (54, 67). Obezlerle normal kilolularda, her iki polimorfizmde de allel sıklıkları benzerdir. Bununla birlikte Met72 allelli obez kişilerin homozigot Leu72 allelli kişilerden daha erken obezleştikleri gösterilmiştir. Bu polimorfizmin grelin aktivitesini etkileyebileceği düşünülmektedir.

Grelin konsantrasyonunun ölçülmesi

Grelinin açılınmış aktif formu, örneklerin ekstraksiyonu ile ayrılabilir. Ancak peptid örnekler hücredeki birçok proteazın etkilerine açıktır ve kolayca bu şekilde sindirilebilir. Bu nedenle plazma ve doku grelin düzeylerini ölçmek için grelin peptidini parçalayan proteazı inhibe etmek gereklidir.

Plazma grelin düzeylerini ölçmek için kan örneklerini EDTA ve aprotinin (proteaz inhibitörü) içeren tüplere almak gereklidir (35, 38). Örnekler santrifuj edildikten sonra 1/10 hacim 1 N HCl içeren tüplere alınmalıdır. Örnekler -800 C'de 6-12 ay kadar saklanabilir.

Grelinin doku düzeylerini ölçmek için su banyosunda 5-10 dk dokuları kaynatmak yeterlidir (41). Bu yöntem aktif grelini saklamak için uygundur.

İnsanlarda plazmada normal grelin düzeyi n-oktanoil grelin için 10-20 fmol/mL, total grelin (açılınmış ve açılınmamış grelin) için 100-150 fmol/mL dir. Plazma grelin

değerleri pg/mL ve pmol/L olarak da verilebilir. Açillenmemiş insan grelinin molekül ağırlığını kullanarak (Deoktanoil-ser3, MW: 3.245) birimler arasında dönüştürme yapılabilir: pmol/L= pg/mL X 0.296.

SONUÇ

Grelinin keşfi uzun bir sürece yayılmış, ancak GH salgılatıcı özelliğinin tanımlanması endokrinoloji ve metabolizmada yeni bir bakış açısı yaratmıştır. Yaklaşık 25 yıl önce GHRH yoluyla ve GHS'ların etkisiyle GH salınımının olduğunun anlaşılmasından sonra, birçok GHS bulunmuş ve GHS-R tanımlanmıştır. Ancak grelinin keşfine kadar GHS-R endojen ligandının kimliği belirsiz kalmıştır. Bu buluş, GH ve iştahın düzenlenmesi konusunda yeni bir kapı açmıştır. Ayrıca grelin sadece hipotalamusdan değil, öncelikle mideden salgılanan bir hormon olması nedeniyle ayrı bir önem taşımaktadır. İştah düzenleyici etkisinin leptine zıt olması dikkat çekici özelliklerinden birini oluşturur. Grelinin aktivite göstermesi için n-oktanlanması gereken ilk biyoaktif peptiddir.

Grelinin biyolojik fonksiyonları incelendiğinde, hala aydınlanmayı bekleyen birçok nokta olduğu görülmektedir. Örneğin, açillenmemiş grelinin reseptörünün ne olduğu bunlardan biridir. Grelinin obezitedeki rolü ve obezitenin kontrolündeki olası etkileri, grelin salınımının baskılanması ile obezitenin önlenip önlenemeyeceği, yanıt bekleyen diğer sorulardır. Önümüzdeki dönemlerde yapılacak çalışmalarla, özellikle açillenmemiş grelinin biyolojik fonksiyonlarının incelenmesi ve etki mekanizmasının bulunması grelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin aydınlanmasına yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, 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.
2. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Kasuga M. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut* 2003; 52: 947-952.
3. Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonisconi S, Fubini A, Malan D, Baj G, Granata R, Broglio F, Papotti M, Surico N, Bussolino F, Isgaard J, Deghenghi R, Sinigaglia F, Prat M, Muccioli G, Ghigo E, Graziani A. 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.
4. Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA. Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2180-2184.
5. Bedendi I, Alloatti G, Marcantoni A, Malan D, Catapano F, Ghe C, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G. Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoyl ghrelin and des-Gln14-ghrelin. *Eur J Pharmacol* 2003; 22: 476: 87-95.
6. Bellone S, Rapa A, Vivenza D, Castellino N, Petri A, Bellone J, Me E, Broglio F, Prodam F, Ghigo E, Bona G. Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: 13-15.
7. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083-5086.
8. Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Filtri L, Arvat E, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 192-196.
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. Cappiello V, Ronchi C, Morpurgo PS, Epaminonda P, Arosio M, Beck-Peccoz P, Spada A. Circulating ghrelin levels in basal conditions and during glucose tolerance test in acromegalic patients. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 189-194.
11. Cassoni P, Papotti M, Ghe C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, Deghenghi R, Reissmann T, Ghigo E, Muccioli G. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1738-1745.
12. Cassoni P, Ghe C, Marrocco T, Tarabra E, Allia E, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, Papotti M, Muccioli G. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:173-184.
13. Chanoine JP, Wong AC. Ghrelin gene expression is markedly higher in fetal pancreas compared with fetal stomach: effect of maternal fasting. *Endocrinology* 2004; 145:3813-3820.
14. Cheng K, Chan WW, Barreto A Jr, Convey EM, Smith RG. The synergistic effects of His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂ on growth hormone (GH)-releasing factor-stimulated GH release and intracellular adenosine 3',5'-monophosphate accumulation in rat primary pituitary cell culture. *Endocrinology* 1989; 124: 2791-2798.
15. Cortelazzi D, Cappiello V, Morpurgo PS, Ronzoni S, Nobile De Santis MS, Cetin I, Beck-Peccoz P, Spada A. Circulating levels of ghrelin in human fetuses. *Eur J Endocrinol* 2003; 149:111-116.
16. 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.

17. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002; 346: 1623-1630.
18. Dall R, Kanaley J, Hansen TK, Moller N, Christiansen JS, Hosoda H, Kangawa K, Jorgensen JO. Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 65-70.
19. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. 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.
20. Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 904-907.
21. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Yada T. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51:124-129.
22. 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.
23. Dornonville De La Cour C, Lindstrom 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.
24. Druce M, Bloom SR. Central regulators of food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 361-367.
25. Dzaja A, Dalal MA, Himmerich H, Uhr M, Pollmacher T, Schuld A. Sleep enhances nocturnal plasma ghrelin levels in healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286: 963-967.
26. Eden-Engstrom B, Burman P, Holdstock C, Karlsson FA. Effects of growth hormone (GH) on ghrelin, leptin, and adiponectin in GH-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5193-5198.
27. Erdmann J, Lippl F, Schusdziarra V. Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man. *Regul Pept* 2003; 116: 101-107.
28. Freda PU, Reyes CM, Conwell IM, Sundeen RE, Wardlaw SL. Serum ghrelin levels in acromegaly: effects of surgical and long-acting octreotide therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2037-2044.
29. Gauna C, Meyler FM, Janssen JAMJL, Delhanty PJD, Abribat T, van Koetsveld P, Hofland LJ, Broglio F, Ghigo E, van der Lely AJ. Administration of Acylated Ghrelin Reduces Insulin Sensitivity, Whereas the Combination of Acylated Plus Unacylated Ghrelin Strongly Improves Insulin Sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5035-5042.
30. 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.
31. Grube D, Forssmann WG. Morphology and function of the entero-endocrine cells. *Horm Metab Res* 1979; 11: 589-606.
32. Gualillo O, Caminos JE, Kojima M, Kangawa K, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF, Dieguez C. Gender and gonadal influences on ghrelin mRNA levels in rat stomach. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 687-690.
33. Halem HA, Taylor JE, Dong JZ, Shen Y, Datta R, Abizaid A, Diano S, Horvath T, Zizzari P, Bluet-Pajot MT, Epelbaum J, Culler MD. Novel analogs of ghrelin: physiological and clinical implications. *Eur J Endocrinol* 2004; 151: 71-75.
34. 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; 86:552-4555.
35. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 909-913.
36. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 21995-22000.
37. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
38. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M, Ono F, Kangawa K. Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem* 2004; 50: 1077-1080.
39. Ikezaki A, Hosoda H, Ito K, Iwama S, Miura N, Matsuoka H, Kondo C, Kojima M, Kangawa K, Sugihara S. Fasting plasma ghrelin levels are negatively correlated with insulin resistance and PAI-1, but not with leptin, in obese children and adolescents. *Diabetes* 2002; 51: 3408-3411.
40. Janssen JA, Der Toorn FM, Hofland LJ, van Koetsveld P, Broglio F, Ghigo E, Lamberts SW, Jan VDL. Systemic ghrelin levels in subjects with growth hormone deficiency are not modified by one year of growth hormone replacement therapy. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 711-716.
41. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118: 131-139.
42. Kato M, Sakuma Y. The effect of GHRP-6 on the intracellular Na⁺ concentration of rat pituitary cells in primary culture. *J Neuroendocrinol* 1999; 11: 795-800.
43. Katugampola SD, Kuc RE, Maguire JJ, Davenport AP. G-protein-coupled receptors in human atherosclerosis: comparison of vasoconstrictors (endothelin and thromboxane) with recently de-orphanized (urotensin-II, apelin and ghrelin) receptors. *Clin Sci* 2002; 103: 171-175.

44. 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.
45. Kitamura S, Yokota I, Hosoda H, Kotani Y, Matsuda J, Naito E, Ito M, Kangawa K, Kuroda Y. Ghrelin concentration in cord and neonatal blood: Relation to fetal growth and energy balance. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5473-5477.
46. 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.
47. Korbonits M, Ciccarelli E, Ghigo E, Grossman AB. The growth hormone secretagogue receptor. *Growth Horm* 1999; 9: 93-99.
48. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. 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.
49. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin—a hormone with multiple functions. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2004; 25: 27-68.
50. Makino Y, Hosoda H, Shibata K, Makino I, Kojima M, Kangawa K, Kawarabayashi T. Alteration of plasma ghrelin levels associated with the blood pressure in pregnancy. *Hypertension* 2002; 39: 781-784.
51. Marchesini G, Pagotto U, Bugianesi E, De Iasio R, Manini R, Vanni E, Pasquali R, Melchionda N, Rizzetto M. Low ghrelin concentrations in nonalcoholic fatty liver disease are related to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5674-5679.
52. Masaoka T, Suzuki H, Hosoda H, Ota T, Minegishi Y, Nagata H, Kangawa K, Ishii H. Enhanced plasma ghrelin levels in rats with streptozotocin-induced diabetes. *FEBS Lett* 2003; 541: 64-68.
53. McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, Smith RG, Howard AD, Van der Ploeg LH. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997; 46:426-434.
54. Miraglia del Giudice E, Santoro N, Cirillo G, Raimondo P, Grandone A, D'Aniello A, Di Nardo M, Perrone L. Molecular screening of the ghrelin gene in Italian obese children: the Leu72Met variant is associated with an earlier onset of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 447-450.
55. Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obesity Relat Metab Disord* 2001; 25: 56-62.
56. Muccioli G, Pons N, Ghe C, Catapano F, Granata R, Ghigo E. Ghrelin and des-acyl ghrelin both inhibit isoproterenol-induced lipolysis in rat adipocytes via a non-type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Eur J Pharmacol* 2004; 498: 27-35.
57. Muller AF, Janssen JA, Hofland LJ, Lamberts SW, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Der Lely AJA. Blockade of the growth hormone (GH) receptor unmasks rapid GH-releasing peptide-6-mediated tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 590-593.
58. Murdolo G, Lucidi P, Di Loreto C, Parlanti N, De Cicco A, Fanelli C, Perriello G, Mugghetti D, Pippi R, Brozzetti A, Santeusano F, De Feo P. Circulating ghrelin levels of visceral obese men are not modified by a short-term treatment with very low doses of GH replacement. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 244-249.
59. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, Hosoda H, Shimizu W, Yamagishi M, Oya H, Koh H, Yutani C, Kangawa K. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 2001; 104: 2034-2038.
60. Ott V, Fasshauer M, Dalski A, Meier B, Perwitz N, Klein HH, Tschöp M, Klein J. Direct peripheral effects of ghrelin include suppression of adiponectin expression. *Horm Metab Res* 2002; 34: 640-645.
61. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C, Riepl RL, Heiman ML, Lehnert P, Fichter M, Tschöp M. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 669-673.
62. Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschöp M, Pasquali R. Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5625-5629.
63. Papotti M, Ghe C, Volante M, Muccioli G. Ghrelin and tumors. In: Ghrelin (More Than Simply a Natural GH Secretagogue and/or on Orexigenic Factor) (ed. E. Ghigo), Kluwer Academic, Boston, 2004; 143-164.
64. Pemberton C, Wimalasena P, Yandle T, Soule S, Richards M. C-terminal pro-ghrelin peptides are present in the human circulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 567-573.
65. Pettersson I, Muccioli G, Granata R, Deghenghi R, Ghigo E, Ohlsson C, Isgaard J. Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation. *J Endocrinol* 2002; 175: 201-209.
66. Pong SS, Chung LY, Dean DC, Nargund RP, Patchett AA, Smith RG. Identification of a new G-protein-linked receptor for growth hormone secretagogues. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 57-61.
67. Poykko S, Ukkola O, Kauma H, Savolainen MJ, Kesaniemi YA. Ghrelin Arg51Gln mutation is a risk factor for type 2 diabetes and hypertension in a random sample of middle-aged subjects. *Diabetologia* 2003; 46: 455-458.
68. Pöykkö SM, Kellokoski E, Horkko S, Kauma H, Kesaniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2546-2553.
69. Purnell JQ, Weigle DS, Breen PA, Cummings DE. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5747-5752.

70. Riis AL, Hansen TK, Moller N, Weeke J, Jorgensen JO. Hyperthyroidism is associated with suppressed circulating ghrelin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 853-857.
71. Ruter J, Kobelt P, Tebbe JJ, Avsar Y, Veh R, Wang L, Klapp BF, Wiedenmann B, Tache Y, Monnikes H. Intraperitoneal injection of ghrelin induces Fos expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in rats. *Brain Res* 2003; 991: 26-33.
72. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-244.
73. Smith RG, LHT, Van der Ploeg AD, H, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, Wyvratt MJ, Fisher Jr, MH., Nargund RP, Patchett AA. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 1997; 18: 621-645.
74. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-4911.
75. Thompson NM, Gill DA, Davies R, Loveridge N, Houston PA, Robinson IC, 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.
76. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913.
77. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707-709.
78. van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25: 426-457.
79. Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E, Papotti M. 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.
80. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, Mathias S, Schmid DA, Uhr M, Steiger A. Ghrelin promotes slow-wave sleep in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 284: 407-415.
81. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: A novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002; 107:63-69.
82. Wisse BE, Frayo RS, Schwartz MW, Cummings DE. Reversal of cancer anorexia by blockade of central melanocortin receptors in rats. *Endocrinology* 2001; 142: 3292-3301.
-