

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI



HİPOTİROİDİLİ HASTALARDA SERUM AKTİF GHRELİN SEVİYELERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mustafa KULAKSIZOĞLU

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Neslihan BAŞÇIL TÖTÖNCÖ

Ankara 2008

TEŞEKKÜR

Tüm üst ihtisas eğitimim boyunca, bana yardımlarını esirgemeyen, beni her konuda destekleyip, gözeten, bu çalışmayı planlamam, uygulamam ve sonuçlandırmam sırasında bana her konuda yardımcı olan tez hocam sayın Doç. Dr. Neslihan Başçıl Tütüncü'ye, sayın hocam Doç. Dr. Nilgün Güvener Demirağ'a, eğitimimde katkısı olan tüm hocalarıma, bana bu bilimsel ortamı ve imkanları sağladığı için sayın rektörümüz Prof. Dr. Mehmet Haberal'a, değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim

Eğitimim süresince bana destek olan eşime ve yeni doğmuş kızıma en içten sevgilerimle.

Dr.Mustafa Kulaksızoğlu

ÖZET

Hipotiroidili Hastalarda Serum Aktif Ghrelin Seviyeleri

GİRİŞ VE AMAÇ:

Ghrelin, esas olarak mide fundusundaki oxyntic-XA benzeri hücrelerinden salgılanan 28 aminoasitli bir peptittir. Ghrelinin büyüme hormonu uyarıcı etkilerinin yanında; enerji metabolizmasında, gıda alımı üstünde, gastrik asit salgılanması ve motilitede, pankreas salgısında etkileri bilinmektedir. Tiroid fonksiyon bozukluklarında iştah ve kilo değişmektedir. Hipertiroidi durumunda ghrelin seviyeleri beklenenin aksine azalmış bulunmuştur. Hipotiroidi durumunda ise çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı hipotiroidi durumunda ghrelin seviyelerinin nasıl etkilendiğinin araştırılmasıdır.

YÖNTEM:

30 hipotiroid hasta, 23 yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksi eşleştirilmiş kontrol vakası çalışmaya alındı. Sabah aç karnına alınan kanda TSH, sT4, sT3, anti-tiroglobulin, anti-tiroidperoksidaz, total-LDL-HDL kolesterol, trigliserid, c-reaktif protein, gastrin, insülin, açlık plazma glukozu ve ghrelin düzeyleri çalışıldı. Ghrelin düzeyleri, Linco active ELISA KIT ile çalışıldı. Örnekler Aprotinin SIGMA eklendi. Numuneler alındıktan sonra +4 ° C 'de 1500g'de 15 dakika santrifüj edildi. Örnekler analiz edilene kadar - 40 ° C' de saklandı.

SONUÇLAR:

Ghrelin düzeyleri hipotiroid grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Tedaviyle ötiroidizm sağlandıktan sonra ise ghrelin seviyeleri kontrol grubuna benzer seviyelerdeydi. Ghrelin ile sT3 ve sT4 arasında negatif korelasyon, HDL ile pozitif korelasyon saptandı.

TARTIŞMA:

Hipotiroidide artmış kilo alımının ve adipozitenin sebebi artmış ghrelin seviyeleri olabilir. Dolaşımdaki ghrelinin beslenme davranışı ve enerji dengesi üzerinde önemli rol alıp almadığı hala açık değildir. Bununla birlikte bizim sonuçlarımız hipotiroideki artmış kilo alımında ghrelinin etkileri olabileceğini gösterir. Fakat bu mekanizmayı aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

Serum Active Ghrelin Levels in Hypothyroidism

OBJECTIVE:

Ghrelin is a 28 aminoacid peptide predominantly produced by the stomach oxyntic-XA like cells. Ghrelin has been discovered as a natural ligand of the growth hormone receptor but has effects on energy metabolism, food intake, gastric acidity and motility also on pancreas function. Alterations in thyroid function are associated with a large variety of symptoms, including changes in body weight and food intake. Unexpectedly, ghrelin levels in hyperthyroidism is found to be decreased. In the case of hypothyroidism controversial results have been reported. The aim of this study is to evaluate ghrelin levels in hypothyroidism.

DESIGN:

30 hypothyroid patients were evaluated with 23 age, sex, body mass index matched controls. Fasting plasma TSH, fT4, fT3, anti-thyroglobulin, anti-thyroidperoxidase, total-LDL-HDL cholesterol, triglyceride, c-reactive protein, gastrin, insulin, glucose and ghrelin levels were studied. Ghrelin was evaluated with Linco active ELISA KIT. Aprotinin SIGMA was added to samples. Samples were centrifugated at +4 °C 1500g for 15 minutes. They were kept - 40°C till the time for evaluation.

RESULTS:

Ghrelin levels were significantly elevated according to the control group. After euthyroidism was maintained ghrelin levels were similar with the controls. Ghrelin correlated negatively with fT3 and fT4 and positively with HDL levels.

CONCLUSION:

Ghrelin could be the reason for weight gain and increased adiposity in hypothyroidism. Whether circulating ghrelin plays an important role in feeding behaviour and energy homeostasis is not still known. However, our results indicate that active ghrelin may have some critical actions in hypothyroidism induced weight gain. Further studies are needed to clarify the exact mechanism.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BH: Büyüme Hormonu

BHS: Büyüme hormon salgılatıcı

BHS-R1a: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör 1a

aa: Aminoasit

BHSP: Büyüme hormon salgılatıcı peptid

BHSH : Büyüme hormonu salgılatıcı hormon

TSH: Tiroid stimulan hormon

DNA: Deoksiribonükleik asit.

RNA: Ribonükleik asit.

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

TG: Trigliserit

NPY: Nöropeptid Y

AGRP: Agouti-related protein

Kst: Kortistatin

Ss: Somatostatin

POMC: Proopiomelanokortin

BKİ: Beden kitle indeksi

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Teşekkür.....	ii
Özet.....	iii
Abstract.....	iv
Kısaltmalar.....	v
İçindekiler.....	vi
Şekiller Dizini.....	vii
Tablolar Dizini.....	viii
1. Giriş.....	1
2. Genel Bilgiler.....	2
3. Tarihçe.....	3
4. Hormon Biyolojisi ve Reseptör Ailesi.....	7
4.1. BH salgılatıcı reseptörler.....	7
4.2. BH sekrete eden reseptör ligandları.....	9
5. Biyolojideki Önemi Açısından Ghrelin Sekresyonunun Kontrolü.....	10
6. Ghrelinin Fizyolojik ve Patofizyolojik Etkileri.....	14
6.1. Hipotalamik – pitüiter etkiler.....	14
6.2. Ghrelinin Santral Etkileri.....	15
6.3. Sentetik ve Doğal BHS'lerinin Periferik Etkileri.....	18
7. Farmakolojik ve Klinik Yaklaşımlar.....	22
8. Hipotiroidi.....	23
8.1. Metabolizma.....	24
9. Hastalar ve Yöntem.....	26
9.1. Hasta seçimi.....	26
9.2. Çalışmaya Uygunluk Kriterleri.....	26
9.3. Antropometrik Ölçümler.....	27
9.4. Laboratuvar İncelemeleri.....	27
9.5. İstatistiksel Analiz.....	27
10. Sonuçlar.....	29
11. Tartışma.....	37
12. Kaynaklar.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1: Ghrelin, memeli biyolojisinde biyolojik aktivite gösterebilmesi için asetillenmesi gereken bilinen tek doğal peptiddir	4
Şekil 2: Ghrelinin bilinen biyolojik aktiviteleri.....	7
Şekil 3: Ghrelinin enerji dengesini etkileyebileceği olası yollar.....	17
Şekil 4: Ghrelin ile sT4 korelasyonu.....	34
Şekil 5: Ghrelin ile sT3 koralasyonu.....	34
Şekil 6: Ghrelin ile HDL korelasyonu.....	35
Şekil 7: Grupların ortalama ghrelin seviyeleri.....	36

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1: Hipotiroid ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet, antropometrik ölçümler, insülin, açlık plazma glukozu, insülin resistansı, C-reaktif protein, gastrin, ghrelin, TSH, sT4, sT3, Anti-Tg, Anti-TPO, Total-LDL-HDL kolesterol ve trigliserid seviyeleri.....	29
Tablo 2: Hipotiroidi grubunda tedavi öncesi ve sonrası antropometrik ölçümler, ghrelin seviyeleri ve biyokimyasal değerler.....	32
Tablo 3: Hipotiroid grubun ötiroid hali ile kontrol grubunun karşılaştırılması.....	33
Tablo 4: Ghrelin ile HDL, sT4 ve sT3 arasındaki korelasyon.....	33

GİRİŞ

Ghrelin, esas olarak mide fundusundaki oxyntic-XA benzeri hücrelerinden salgılanan 28 aminoasitli bir peptittir (1). Daha az miktarlarda bağırsak, pankreas, böbrekler, immün sistem, plasenta, testisler, hipofiz, akciğerler ve hipotalamustan da salgılandığı bulunmuştur (2-8). Ghrelinin büyüme hormonu uyarıcı etkilerinin yanında; enerji metabolizmasında, gıda alımı üstünde, gastrik asit salgılanması ve motilitede, pankreas salgısında etkileri bilinmektedir (5).

Ghrelinin asetile edilmiş ve asetile edilmemiş olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Biyolojik aktivitesi için asetile edilmesi gerekir (6). Yemek yemeğe başlama süreci ile ghrelinin ilişkisi olduğuna dair yapılan çalışmalar vardır (7). Yine dışarıdan ghrelin verilmesi ile yemek alımının ve vücut ağırlığının arttığı bildirilmiştir (8).

Hipertiroidili hastalarda iştahın arttığı bilinmektedir. Hipertiroidili hastalarda ghrelinin artmış olması beklenirken seviyelerinin düştüğü bulunmuştur (9,10). Hipotiroidili hastalarda yapılmış çalışma sayısı oldukça azdır. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada hipotiroidide ghrelin seviyeleri artmış bulunmuştur (11). Yapılmış insan çalışmalarında farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bir çalışmada ghrelin seviyelerinin değişmediği bulunmuştur fakat burada seviyesi ölçülen ghrelin asetilsiz yani biyolojik olarak aktif olmayan ve dolayısıyla endokrin etkisi olmayan formudur (12).

Çalışmada, hipotiroidisi olan hastalarda serum aktif (asetile) ghrelin seviyeleri ölçülecek, antropometrik ve metabolik değişiklikler ile ilişkileri araştırılacaktır.

Bu çalışmada amaç, hipotiroidi durumunda insanlarda ghrelin seviyelerindeki değişiklikleri saptayarak, iştah kontrol mekanizması ve kilo değişimiyle olan olası etkilenmeleri saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Ghrelin başlıca mide tarafından üretilen 28 aminoasitli bir peptiddir (1) (Şekil 1). Daha az miktarlarda bağırsak, pankreas, böbrekler, bağışıklık sistemi, plasenta, testis, hipofiz, akciğer, ve hipotalamusta bulunmaktadır (2-10). Ghrelin, büyüme hormonu (BH) sekrete edici reseptör tip 1a aracılığı ile BH salgılatıcı (BHS) aktivite göstermektedir. Ghrelinin buluşundan önce, BHS reseptörün bir grup sentetik, peptidil ve nonpeptidil BHS için spesifik olduğu gösterilmiştir. BH reseptörleri hipotalamus-hipofiz ünitesinde konsantredir, fakat başka santral ve periferel dokulara da yayılmıştır. Aslında BH sekresyonunun aktivasyonundan başka ghrelin ve birçok sentetik BHS'ları, prolaktin ve ACTH sekresyonunun stimülasyonu ile sonuçlanan hipotalamik aktiviteler göstermektedir (Şekil 2). Pitüiter-gonodal aks santral ve periferel düzeyde negatif etkilenmektedir; iştahı aktive etmekte ve pozitif enerji balansı sağlamaktadır. Uyku ve davranışı, gastrik aktivite ve asit sekresyonunu, pankreatik endokrin ve ekzokrin fonksiyonlarını düzenlemekte ve glukoz seviyelerini etkilemektedir.

Ghrelin, biyolojik aktivitesi için amino asitlerinin asetilasyonu gerektiren, memeli biyolojisinde bilinen tek doğal peptiddir. Hala bilinmeyen asil-transferaz etkisi altında ghrelin molekülünün 3. pozisyonundaki hidroksil grubu oktanile edilir. Ghrelin bu translasyon sonrası oluşan kimyasal değişimi ve bağlanması, ghrelinin BH salıverici kapasitesi, endokrin aks üzerindeki etkisi, enerji balansı ve glukoz homestazı için gereklidir. 3. pozisyonundaki ghrelinin asetilasyonuna dayanarak bir sürü doğal ghrelin varyantı gösterilmiştir. Örneğin nonasile, oktanile (C8:0), deoktanile (C10:10) ve desoktanile (C10:1) ghrelin gibi. Ghrelinin diğer sentetik varyantları (amino asit dizisinin N terminal veya asil gruplarının kimyasal değişimleri) büyüme hormonu salgılatıcı reseptör 1a (BHS-R1a)'ya bağlanmaz ve aktive etmez. Fakat ghrelin C terminal amino asidinin önemli eksilme ve değişimi sonrası in vitro koşullarda BHS-R1a bağlanır ve aktive eder. Fakat in vivo bu özellikleri gösterip göstermediği hala açık değildir. İnsan ghrelinin ana aktif formu 3. pozisyonundaki serinin oktanile edilmiş olduğu 28 aa peptid olmasına

rağmen, dolaşan ghrelinin büyük çoğunluğu (%80-90) nonasiledir. Serumdaki bu baskın formun endokrin aks ve enerji balansı üzerine etkisi yoktur. Tek bilinen ghrelin reseptörü olan BHS-R1a 'ya bağlanamaz ve aktive edemez.; fakat nonasile ghrelinin kardiyovasküler ve antiproliferatif etkileri vardır. Bu aktivitelerinin henüz keşfedilmeyen reseptör aileleri alttipleri tarafından aracılık edildiği ileri sürülmektedir.

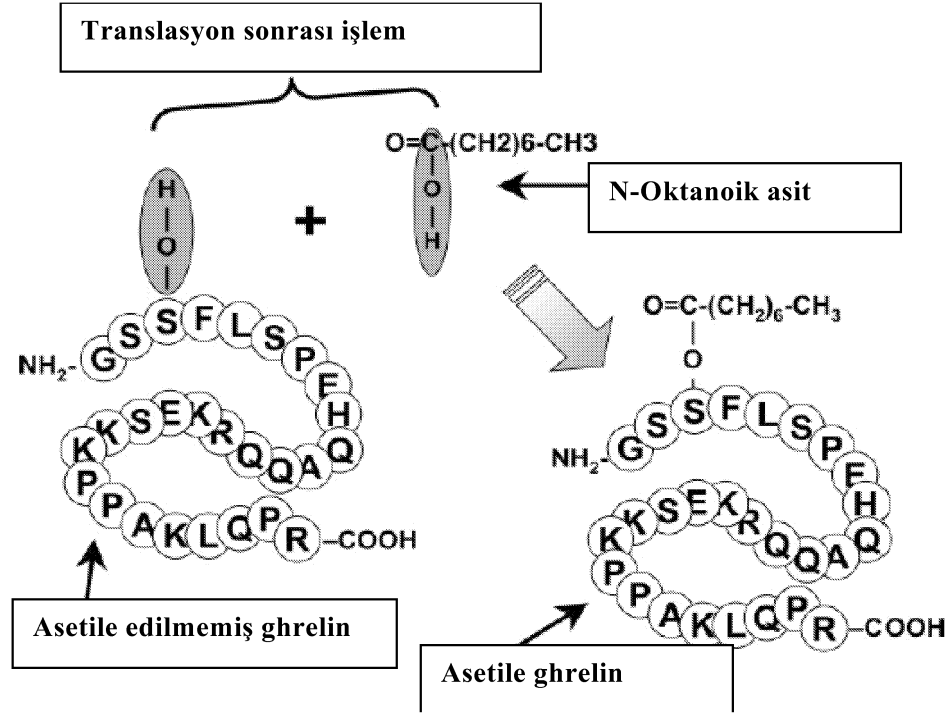
Kardiyovasküler fonksiyonlar, neoplastik hücreler ve bağışıklık sistemin proliferasyonunun düzenlenmesi, ghrelin ve/veya başka BHS'larının fonksiyonlarıdır. Bu geniş spektrumlu biyolojik aktivitelerinden dolayı ghrelinin buluşu nöroendokrin ve metabolik araştırmalarda yeni birçok perspektifin açılmasına neden olmuştur. Gastroenteroloji, endokrinoloji; immunoloji, onkoloji ve kardiyoloji gibi birçok iç hastalıkları alanlarını etkilemiştir. Bu yüzden ghrelin ve onun BHS analogları farklı fizyolojik ve patofizyolojik işlevlerde agonist veya antagonist gibi davranarak klinik etki ve tedavi edici potansiyel sağlayabilir.

3. TARİHÇE

Gastrik hormon olan ghrelin daha önce tanımlanan BHS-R1a endojen bağ olarak bulunmuştur (1;11). Ghrelinin buluşu ters farmakolojiye bir örnektir. Analoglarının sentezi ile başlamıştır. Doğal reseptörlerinin buluşu ile doğal ligand bulunarak sonlanmıştır.

Sentetik BHS'ler peptidil ve nonpeptidil molekülleri içeren bağ ailesindedir. İlk sentezlenen moleküller 1970'lerde Bowers ve Momany (12;13) tarafından dizayn edilen doğal olmayan peptidlerdir (BH salgılatan peptidler-BHSP). Bunlar herhangi bir opioid aktivitesi olmayan metenkephalin türevleridir.

GHRP-6 (His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) in vivo ortamda BH'nu salgılatan ilk heksapeptiddir. En önemli özelliklerinden biri oral alımdan sonra



Şekil 1: Ghrelin, memeli biyolojisinde biyolojik aktivite gösterebilmesi için asetillenmesi gereken bilinen tek doğal peptiddir.

güçlü BH salgılatıcı aktivite göstermesidir. Düşük biyoyararlanımları ve kısa süreli etkisi olmasına rağmen başka çalışmalar daha iyi biyoyararlanımlı ve uzun yarı ömrü olan oral aktif moleküllerin üzerinde durmuştur. Böylece başka büyüme hormon salgılatıcı peptidler (BHSP) ve oral aktif nonpeptidil moleküller sentezlenmiştir. Bu nonpeptidil BHS'lardan en fazla insanlarda çalışılanı spirindolindir (L-163,191; MK-0677) (14;15). MK-0677'nin yüksek biyoyararlanımı olduğu ve tek doz oral alımdan sonra 24 saat BH salgısı sağladığı gösterilmiştir. Bu bölgeler çocuklarda BH eksikliğinde ilaç tedavisi olarak MK-0677'nin en güçlü adaylar arasına sokmuştur. Oral aktif anabolik ilaç olarak yaşlı insanlarda yaşlandırmayı geciktirici amaçlar için tedavi edici rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (14-16).

Yakınlarda başka bir yeni, potent ve selektif BH salgılatıcı aktivitesi olan peptidomimetik BHS sentezlenmiştir ve EP1572 UMV1843 [Aib-D-Trp-DgTrp-CHO]) adı verilmiştir. EP1572 hayvan ve insanlarda BHS-R'e ghrelin ve peptidil BHS gibi bağlanmaktadır. Neonatal farelere subkutan uygulandıktan sonra BH'da

artıŖa neden olmaktadır. İnsandaki bilgiler ise intravenöz EP1572 uygulanmasının (1.0µg/kg) BH düzeylerinde kuvvetli ve selektif artıŖa neden olduğunu göstermektedir.

MK-0677, BHS-R'ünün buluŖu ve klonlanmasına neden olmuŖtur. BHS-R'ü bağlanma alıŖmaları ile gsterilmiŖtir (14,17). BHS-R'lerinin dağılımını gösteren alıŖmalar bu reseptörlerin hipotalamus-hipofiz alanlarında konsantre olduğunu gstermiŖtir. Fakat BHS-R ifade edilmesi ve/veya spesifik bağlanma yerleri beynin diğer alanlarında, periferel, endokrin, nonendokrin hayvan ve insan dokularında bulunmaktadır. Bağlanma bölgelerinin konsantrasyonu ve peptid-raydoligandın ghrelin tarafından yer deđiŖtirmesi periferel dokulardaki bağlanmasının ghrelin ve MK-0677 iin spesifik olmadığını gstermiŖtir. İŖaretli BHSP kullanan alıŖmalar spesifik ghrelin bağlanma konsantrasyonunu tahmin etmektedir. nk sınırlı kapasitede ghrelin, spesifik bağlanma olmasına rağmen yüksek kapasite ve dŖk afinitede bağlanma göstermektedir. BHS-R'lerin hipotalamo-pitüiter ve periferel dağılımı BHS'nin BH salgılatıcı etkisini ve diğer endokrin nonendokrin biyolojik aktivitelerini göstermektedir. 1999 yılında Kojima ve arkadaŖları (1) tarafından bulunduğu gibi ghrelin 28 aa bir peptiddir. BaŖlıca mide tarafından üretilir. BaŖka diğer dokularda da grlmŖtir. Ghrelin, oksintik mukozada baŖlıca endokrin populasyonunu oluŖturan enteroendokrin X/A benzeri hücrelerde üretilir. Bu hücrelerin hormonal ürünleri aıklığa kavuŖmamıŖtır. Ghrelin retimi gastrik,intestinal karsinoidler ve medüller tiroid kanseri gibi neoplastik dokularda da grlmŖtir.

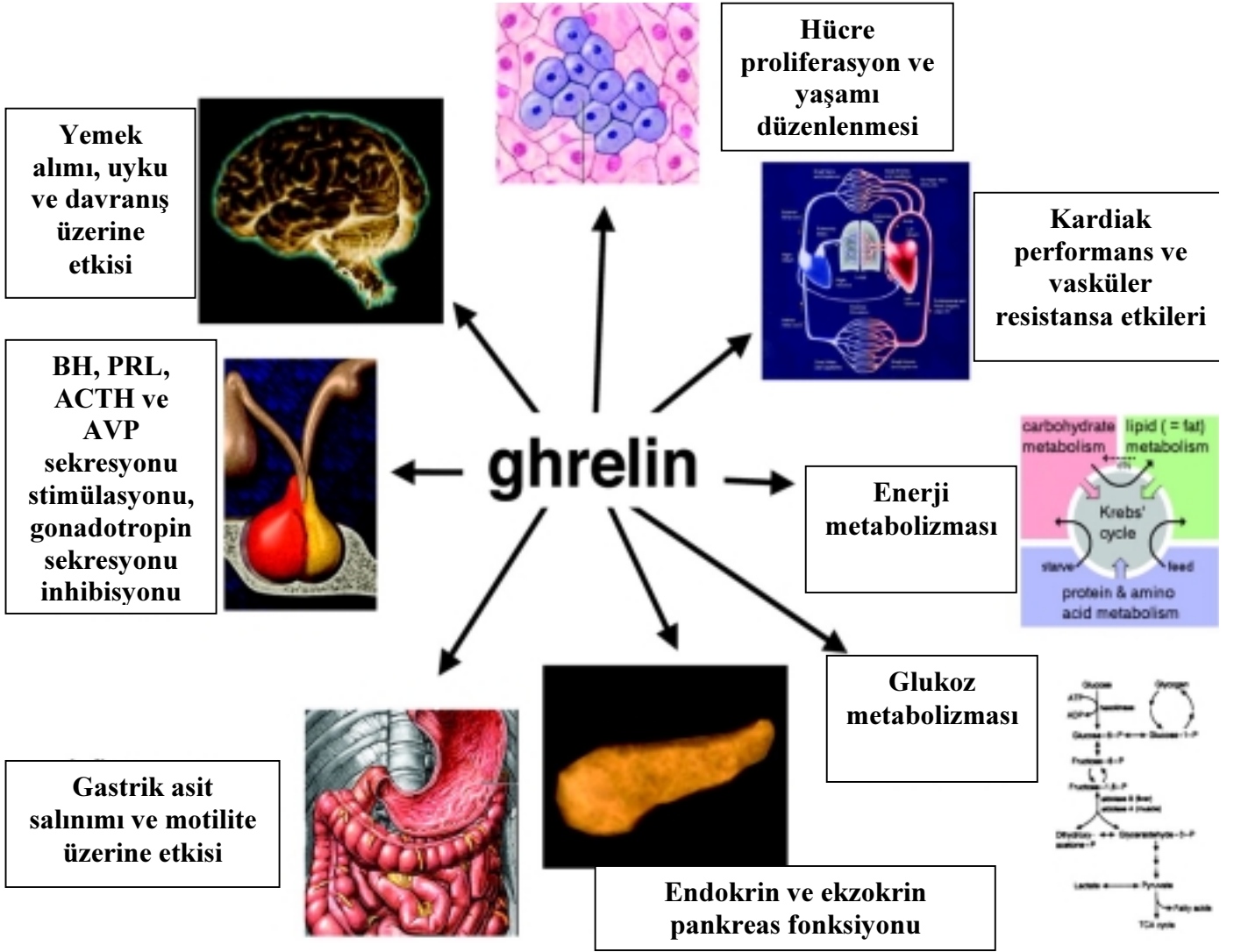
Ghrelin, serin aminoasidinin hidroksil grubunun n-oktanoid asit tarafından asetile edilen ilk doğal hormondur. Bu asetilasyon, BHS-R1a'ya bağlanmak, BH salgılatıcı kapasite ve diğer endokrin fonksiyonları iin gereklidir. İnsan serumunda asetile ghrelin daha fazla miktarlarda bulunan asetile-edilmemiŖ ghrelinin herhangi bir endokrin fonksiyonu yoktur. Farklı BHS-R altgrupları veya reseptör ailelerine bağlanarak, kardiyovasküler ve antiproliferatif etkiler gibi bazı nonendokrin fonksiyonlar göstermektedir.

BHS-R1a iin midenin endokrin mukozasından izole edilen farklı bir endojen bağ bulunmaktadır. Des-Gln14-ghrelin, ghreline homologtur. nc pozisyondaki serin aynı asetilasyona uğrar, fakat bir tane glutamini yoktur. Des-

Gln14-ghrelin, ghrelin geninin alternatif aktivasyonu sonucu oluşmuştur ve aynı etkilere sahiptir (1,18). Yan zincirinde 3. pozisyonda farklı alifatik ve aromatik gruplara sahip çeşitli ghrelin analogları ile yapılan çalışmalar maksimum agonist aktivite için yan zincirdeki 3. pozisyonda hidrofobik grupların gerekli olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak ghrelinin ilk 4 veya 5 aminoasidini içeren kısa peptidlerin tüm ghrelin gibi BHS-R1a'yı aktive ettiği bulunmuştur. Sonuç olarak aktivasyon için tüm ghrelin gerekli değildir. BHS-R1a'daki agonist aktivite için Gly-Ser-Ser(n-oktanil)-Phe kısmından oluşan aktif kısım gereklidir. Hosada ve arkadaşları(19) midenin ghrelin arıtma işlemi sırasında 3. pozisyondaki serinin asetilasyonuna göre 4 tip ghrelin izole etmişlerdir. Bu peptidler: nonasetile (asetile edilmemiş), oktanile (C8:0), deoktanile (C10:0) ve muhtemel deoktanile (C10:1) formlardır. İnsan ghrelininin ana aktif formu 3. pozisyondaki serinden oktanile edilmiş 28 aa peptiddir. Ghrelinde oluşan bütün moleküller mide dokusunda olduğu gibi plazmada da bulunmaktadır. Del Rincon ve arkadaşları (20), Tomasetto ve arkadaşları (21,22) tarafından motilin ilişkili peptid olarak adlandırılan gastrik peptid hormonunun karakterize edilmesinin ghreline bağlı olduğunu bildirmiştir. Motilin ilişkili peptid, ghrelin gibi aynı amino asit dizisine, aynı genetik kodlamaya sahiptir. İki farklı grup tarafından bulunmuş ve farklı iki isim verilmiştir.

BHS'ları üzerindeki bilimsel çalışma motilin reseptörünün bulunmasına neden olmuştur. Motilin reseptörü BHS-R ailesinin bir üyesidir ve %52 benzerlik gösterir (23). G-protein eşleşmiş reseptör BHS-R'ne olan yüksek benzerliğinden dolayı izole edilmiştir. Motilin onun endojen ligandı olarak tanımlanmıştır. Fakat reseptör aktivasyonu için motilinin asetilasyonuna gerek yoktur. Midenin enteroendokrin hücreleri tarafından üretilen prepromotilin insan prepromotilin ilişkili peptidde oktanile değildir. İnsan ghrelin ve motilini %36 benzerlik göstermektedir (1,23). Motilin ve motilin reseptörleri insan ve köpeklerde görülmüştür. Fakat kemiricilerde motilin reseptörü yoktur. Motilinin BH silgılanması üzerindeki uyarıcı etkisi ve santral uygulanımından sonraki bazı oroksijenik etkileri BHS-R1a üzerinden değildir. Çünkü motilin BHS-R1a'yı aktive etmez. Ghrelin motilin reseptörlerini de aktive etmez. Bu yüzden ghrelin ve

motilin; bağırsak, beyin aksının çeşitli fonksiyonlarını kontrol eden gastrointestinal peptid ailesinin birer temsilcileridir.



Şekil 2: Ghrelinin bilinen biyolojik aktiviteleri

4. HORMON BİYOLOJİSİ ve RESEPTÖR AİLESİ

4.1. BH salgılatıcı reseptörler

Hipotalamik BSHH (büyüme hormonu salgılatıcı hormon) tarafından fizyolojik uyarıma ek olarak pitüiter bezden BH salınımı “BH sekrete edenler”

olarak adlandırılan küçük sentetik peptidil ve peptidil olmayan moleküller tarafından stimüle edilir. Bu moleküller BHS-R olarak adlandırılan G protein eşleşmiş reseptör yoluyla hareket ederler. M. Kojima (1) önderliğinde Japon bir grup tarafından ghrelin olarak adlandırılan ve midede bulunan BHS-R için endojen bir bağ izole edilmiştir. 3. pozisyondaki serinin n-oktanil değişimi olan 28 aa'ten oluşan gastrik hormon ghrelin daha önceden Bowers (24), Kojima (25) ve Muccioli (26) tarafından da ifade edilmiştir. BHS-R'ü insan kromozomunda 3q26.2 lokasyonunda bulunan tek bir gen tarafından kodlanır (27). Pre-mRNA'nın farklı işlenmesi sonucu oluşan iki tip BHS-R cDNA'sı bulunmuş ve reseptör 1a ve 1b olarak adlandırılmıştır (11,14,27). Bunların dizeleri diğer bilinen reseptörlerle önemli benzerlik göstermez. En yakın benzerlik gösteren reseptörler nörotensin %34.9 benzerlik ve %51.6 benzerlikle motilin 1a'dır. CDNA1a BHS-R1a olarak adlandırılan bir reseptör kodlar. 7 tane transmembran bölgesi olan 366 aa'den oluşur. Moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 41kDa'dır. 1b cDNA ise daha kısa bir form olan BHS-R1b'yi kodlar. Sadece 5 transmembran bölgesi vardır, 289aa'den oluşmuştur.

İnsan BHS-R1a'sı fare ve domuz BHS-R1a'sı ile sırasıyla %96 ve %93 benzerlik gösterir (28).

Asetile formdan daha fazla miktarlarda bulunan nonasetile ghrelin farelerde hipotalamik ve pitüiter bağlanma bölgelerinden işaretlenmiş ghrelini ayıramamaktadır, yani BH salgılatıcı ve endokrin aktiviteleri yoktur (29). İnsanlarda nonasetile ghrelin uygulanması hormonal parametrelerde veya glukoz düzeylerinde herhangi bir değişiklik yapmaz.

Plazma esteraz, paraoksanaz ve klusterinle ilgili olan HDL'ye ghrelinin bağlandığı gösterilmiştir. Bu ilişki oroksijenik bir hormon olan ghrelinin lipid transportu yaptığını ve düşük dansiteli lipoproteinlerdeki okside lipidleri yıkan bir plazma enzimi olduğunu açıklamaktadır.

İnsan ve domuz BHS-R'lerini içeren aynı hücrelerle yapılan diğer çalışmalar adenozinin bu reseptörleri aktive ettiğini göstermiştir (30), fakat BH salgılanmasını aktive etmek gibi ve normal pitüiter hücre kültüründeki BHSR etkilerini arttırmak gibi kısa ghrelinin analog özelliklerine sahip değildir. Somatostatine benzer nöropeptid olan kortikostatin de BHS-R'ne

bağlanmaktadır(31). Bu buluş ghrelinden başka diğer doğal ligandlar veya adenozinin BHS-R aktivitesini modüle ettiği hipotezini desteklemektedir. BHS-R1a somatotrof pitüiter hücrelerde ve arkuat nükleusta yer almaktadır (11,14). Arkuat nükleus, ghrelin ve sentetik BHS'lerin nöroendokrin ve iştah aktive edici fonksiyonlarını yürüten hipotalamik bir alandır. Bu ise ghrelinin ve sentetik BHS'lerin arkuat nükleus nöronlarında c-fos ve erken büyüme cevap faktör-1 gibi bazı nöral aktivite işaretlerini aktive etmeleri ile desteklenmektedir. Aktive olmuş hipotalamik hücreler BSHSH içeren nöronları, iştahı aktive eden nöropeptid y'yi içeren hücreleri (NPY), endojen melanokortin reseptör zıt agonisti agouti-related protein (AGRP) içeren hücreleri kapsamaktadır. BHS-R1a mRNA'nın farkedilebilir düzeyleri, hipokampusun dentate girusunda, hipokampusun CA2 ve CA3 bölgeleri, substantia nigra, ventral tegmental alan, dorsal ve mediyal raphe nükleus, Edinger-Westphal nükleus, pons ve medulla oblongata gibi hipotalamik alan dışında da gösterilmiştir (32,33). Mide, bağırsak, pankreas, böbrek, kalp, aorta, insan pitüiter adenomları, akciğerin, midenin ve pankreasın çeşitli endokrin neoplazmlarında BHS-R1a ekspresyonu gösterilmiştir. Bu bilgiler ghrelin ve sentetik BHS BH salınımı ve yemek alınımı kontrolü dışındaki geniş fonksiyonlarını açıklamaktadır.

İnsan tiroid, meme tümörleri ve ilişkili kanser hücrelerindeki BHS-R1a ghrelin reseptörlerinden farklı bağlanma profili olan ghrelin reseptörleri bulunmuştur. Bu reseptörlere asetile ghrelin bağlanması nonasetile ghrelin ve bazı sentetik BHS'lar tarafından inhibe edilmektedir. Nonasetile ghrelin klasik BHS-R1a'ya bağlanamamakta ve herhangi bir endokrin aktivite gösterememesine rağmen antiproliferatif (34,35) ve kardiyoprotektif (36,37) etkiler göstermektedir.

4.2. BH sekrete eden reseptör ligandları

Asetile ghrelin ve Des-Gln14-ghrelin BHS-R1a'nın doğal ligandlarıdır. Her iki molekülde aynı endokrin aktiviteleri göstermektedir. BHS-R1a'nın diğer doğal bağları vardır. Adenozin bu reseptöre bağlanmakta ve aktive etmektedir. Bir nöropeptid olan kortistatin de insan hipotalamus ve pitüiter dokularda BHS-

R1a'ya yüksek afinite ile bağlanmaktadır (23,31,31). Kortistatin (Kst) yeni tanımlanmış bir nöropeptiddir. Somatostatin (Ss) ile yüksek yapısal homoloji göstermektedir. Ss reseptör altgruplarına benzer afinite ile bağlanmaktadır. Gerçekte insan ve hayvanlarda Kst ve Ss aynı endokrin aktiviteyi göstermektedir. Kst ve Ss farklı uyaranlar tarafından düzenlenen aynı nöronlarda gösterilmesi gerçeğine ve Kst'nin Ss'den farklı bir fonksiyon profili olması kanıtına dayanılarak selektif olarak bağlanan spesifik reseptörlerin var olduğu hipotez edilmiştir. Klasik sentetik Ss analogları olan oktreotid, lanreotid ve vapreotid BHS-R1a'ya Kst'den daha düşük bir afinite ile bağlanmaktadır (23,30,31,38). Bütün bu bulgular Kst'nin Ss ve BHS-R'ler yoluyla somatotrof salgı kontrolünde potansiyel bir rol oynadığı hipotezini ortaya koymaktadırlar. Kst, ghrelin ve Ss/Kst sistemi arasındaki bağı açıklayabilir. BHS-R1a tek BHS-R'üdür. Asetile ghreline olduğu gibi nonasetile ghreline bağlanan ve biyolojik aktivite gösteren bir BHS-R alttipi de gösterilmiştir (35). Bu da BHS-R1a'ya farklı moleküllerin bağlanabildiğine fakat aktive edemediğine açıklık getirebilir (23). Farklı bir BHS-R alttipi ghrelinin insülin salgı ve glukoz metabolizması üzerindeki etkisini düzenlemektedir (39). Çünkü bu etki ghrelin fonksiyonlarını taklit eden sentetik peptidil BHS tarafından paylaşılmamaktadır. Sadece peptidil BHS'na bağlanan kardiyovasküler reseptör BHS-R'dür, çünkü ghreline bağlanmamaktadır.

Ghrelinin BHS-R1a'yı aktive eden tek bağ veya birkaç bağdan biri olduğuna ve ghrelin izolasyonu için kullanılan reseptörün tek reseptör veya bu tür ligandlar için olan bir grup reseptörlerden bir tanesi olduğunu anlamak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. BİYOLOJİDEKİ ÖNEMİ AÇISINDAN GHRELİN SEKRESYONUN KONTROLÜ

Kan dolaşımındaki ghrelinin büyük bir kısmı mide ve ince bağırsaktan salgılanmasına rağmen ghrelin; mide, bağırsak, hipofiz, plasenta, lenfosit, testis, akciğer, böbrek, pankreas ve hipotalamusu içeren bir çok dokuda da ifade

edilmektedir (1-9). Ghrelin reseptörlerinin aktivasyon düzeyi, ghrelin fonksiyonunu tamamlayıcı parametredir. Ghrelin fonksiyonunun şiddetinin ve dağılımının regülasyonu çeşitli mekanizmalar içermektedir. Bunların hepsi birbirinden bağımsızdır. Bu mekanizmalar: 1) ghrelin geninin transkripsiyon ve translasyonunun düzenlenmesi 2) ghrelin molekülünün posttranslasyonel oktinilasyonundan sorumlu asil transferaz enziminin aktivite düzeyi 3) biyoaktif ghrelin molekülünün salgılanma hızı 4) kanda dolaşan ghrelin molekülünün inaktifleştirilmesi 5) ghrelina bağlanan proteinlerin hormonun biyoaktivite üzerine etkileri 6) hedef dokuya girişi (örn: kan-beyin bariyer transportu) 7) ghrelinin böbrek veya karaciğer tarafından temizlenmek veya diğer çapraz reaksiyon oluşturan hormonların kandaki konsantrasyonları 9) hedef dokulardaki ghrelin reseptör ekspresyon düzeyi 10) hücre içi sinyal mekanizmalarına olan sensitiviteyi. Bugüne kadarki bütün çalışmalar gastrik ghrelin mRNA ekspresyonundaki değişiklikler ve kanda dolaşan ghrelinin konsantrasyonundaki varyasyonlara odaklanmıştır. Ghrelini aktive eden asiltransferaz, ek olarak endojen bağlar ve spesifik ghrelin bağlayıcı protein için araştırmalar halen devam etmektedir. Fakat birkaç çalışma ghrelinin kan-beyin bariyer transportu ve ghrelin reseptörünün hipotalamusta ekspresyonunun regülasyonu üzerine ışık tutmuştur (40;41). Mide dışındaki dokularda ghrelin ekspresyon düzeyinin regülasyonunun analizi bu organlarda az miktarlarda bulunduğu için oldukça zordur.

Ghrelinin immunoreaktivitesinin ölçümü teknik açıdan bazı zorluklar içermektedir. İmmünoölçüm çalışmaları ile ölçülen ghrelin konsantrasyonu ile ilgili çalışmalar iyi yorumlanmalıdır. Varolan ghrelin immünoölçümlerin total ghrelin peptidin konsantrasyonunu yansıtmalarına rağmen, ghrelin türlerini ölçen güvenilir metodlar halen yoktur. En ideal metod, biri oktanil yan zincirdeki epitopu farkedene diğeri ise 28 aa peptidin C terminalini farkedene iki monoklonal antikora dayanan, sensitif ve spesifik sandviç immünoölçümdür. Molekülün C terminalini hedef alan ölçümler kanda dolaşan oktanile ghrelinin yüzdesindeki değişiklikleri kaçırmaktadır. Molekülün oktanile yan zincirini hedef alan immünoölçümlerde diğere oktanile moleküllerle interferans verebilir. Bu yüzden farklı çalışma grupları tarafından verilen plazma ghrelin düzeyleri kullanılan antiseruma göre farklılık göstermektedir ve kullanılan çeşitli teknikler tarafından da

etkilenmektedir. Plazma numunelerindeki ghrelin stabilitesi ile ilgili çelişkili bölgeler bulunmaktadır. Depolanma süresi, eritme-dondurma siklusları, pH değişiklikleri veya ghrelin ölçümünden önce plazma numunelerine konulan enzim bloke edicilerinin gerekliliği, plazma ghrelin düzeylerinin ve ghrelin referans standartlarının belirlenmesi gerekmektedir. Ghrelin peptidi gibi ghrelin mRNA ekspresyonu oksintik bezlere, özellikle de gastrointestinal yolun X/A benzeri hücrelerine lokalize edilmiştir. Bu hücreler oksintik mukozadaki endokrin hücrelerin ¼ 'ünü oluşturmaktadırlar. Bu bezlerdeki diğer hücreler örneğin histaminden zengin enterokromafin benzeri hücreler (%70) ve D-(SS) hücreleri (%10), ghrelin pozitif değillerdir. Ghrelin mideden kolona kadar azalan ekspresyon dansitesi ile uyumlu olarak bulunmaktadır. Bu da X/A benzeri hücrelerin oksintik mukozada sınırlı olmadığı gerçeği ile uyumludur. Ghrelin içeren enteroendokrin hücreler lümen ile devamlılık göstermezler. Bu hücreler bazolateral bölgeden gelen fiziksel ve/vaya kimyasal uyarılara cevap vermektedir. Lamina propriadaki kapsüler ağ ile ilişkilidirler. Yakın bir çalışma ghrelin salgılayan hücrelerin açık ve kapalı tip hücreler olarak (lümene doğru açık veya kapalı) bulunduğunu göstermiştir. Açık tip hücrelerin sayısı mideden aşağı gastrointestinal yola doğru artmaktadır. Ghrelinin klasik endokrin rolü kapiller ağa salgılanan bir peptid hormon olarak açık olmasına rağmen, ghrelinin lokal parakrin aktiviteleri ek rol oynayabilir. Farelerde midenin veya asit sekresyonu salgılayan kısmının alınması serum ghrelin konsantrasyonunu %80 azaltmaktadır. Bu da midenin bu endojen BHS-R ligandının tek kaynağı olduğu görüşünü desteklemektedir. Fakat yakın bir çalışmada total gastrektomi sonrası ghrelin plazma düzeyi artmıştır. Çünkü mide kandaki ghrelinin asıl kaynağı olmasına rağmen diğer dokular gastrektomi sonrası bu eksikliği kompanse etmişlerdir. Cumming's ve arkadaşları gastrik bypass ameliyatından sonra total plazma ghrelinin zorlukla ölçülebildiğini göstermişlerdir. Bunu ise gastrik ghrelin salgılayan hücrelerin sindirilen besinlerle temasla olmadığı için ölçülemediği şeklinde yorumlamışlardır. Başka bir çalışmada ise Roux-en-Y gastrik bypass ameliyatının kilo kaybı dışında ghrelin düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi görülmemiştir (42).

Ghrelin düşük konsantrasyonlarda pankreasın pankreastatin için pozitif boyanan enterokromafin benzeri hücrelerinde de bulunmuştur (43). Ghrelin mRNA ve peptidi sıçan ve insan plasentasındaki sitotrofoblastlarında da gösterilmiştir; hamileliğin ilk haftalarında artan, doğuma doğru azalan bir seyir gösterir. İnsanlarda hamileliğin ilk yarısında saptanabilirse de doğumda ölçülemeyecek seviyelere düşer (9).

Ghrelin normal hipofiz hücrelerinde ve hipofiz tümörlerinde de gösterilmiştir (4,44,45). Kortikotrof, tirotof, laktotrof ve somatotrof hücrelerde PCR ile saptanmışsa da en yüksek konsantrasyonları fonksiyon göstermeyen adenomlarda saptanmıştır (4,45).

Beynin çeşitli bölgelerinde de immünohistokimya ile ghrelin saptanmıştır. 3. ventrikül yakınında NPY, AGRP, proopiomelanokortin (POMC) ve CRH nöronlarında efferent nöronlar saptanmıştır (46). Bu da lokal ghrelinin enerji dengesini sağlamada düzenleyici bir rol aldığını düşündürülebilir.

Özet olarak ghrelin esas olarak mideden daha sonra da gastrointestinal sistemin diğer bölümlerinden salgılanır. Diğer organlardaki ghrelin seviyeleri düşüktür.

Ghrelin sekresyonu sıçanlarda pulsatildir (47). 24 saatlik varyasyonları insanlarda da gösterilmiştir (48,49). Yaşlanmanın etkisi ise bilinmemektedir. Ghrelin sekresyon belirleyicilerinden en belirginini insülin, glukoz, ve SS'dir (50-52). Muhtemelen BH, leptin, melatonin, tiroid hormonları (49,53), glukagon, ve parasempatik sinir sistemi de ghrelin metabolizmasında rol oynarlar (54-58). İnsanlarda açlık ghrelin seviyelerini artırırken yemek sonrası seviyeler düşer bu da enerji metabolizmasındaki rolünü sorgulama gerekliliğini getirir (59).

Cummings ve arkadaşlarının da belirttiği gibi yemek öncesi ghrelin seviyelerinin artıp yemek sonrası düşmeleri besin alımının başlatılmasında rol aldığını gösterebilir (49,60). Sağlıklı gönüllü deneklerde de ghrelin verilmesi açlık hissini ortaya çıkarır (39,61,62).

Özetle ghrelin ekspresyonu ve salınımı esas olarak enerji dengesindeki değişimler, glukoz hemostazı ve endokrin akslardaki değişimlere bağlıdır (BH Yükselmesi). Ghrelin enerji dengesi glukoz metabolizması ve endokrin akslarının

kontrol ettiği fizyolojik olaylar (büyüme, üreme) arasında moleküler regülasyonun bir parçası gibi görünmektedir.

6. GHRELİNİN FİZYOLOJİK ve PATOFİZYOLOJİK ETKİLERİ

6.1. Hipotalamik – pitüiter etkiler

BH–salgılatıcı etkisi : Ghrelin ve sentetik BHS güçlü ve doz bağımlı BH – salgılatıcı aktivite gösterirler (1,14,62). Pitüiter bez düzeyinde BHS’larının BH üzerindeki salgılama etkisi özel BHS antagonistleriyle sona erdirilirken BSHH antagonistleriyle sona erdirilemez (63,64). BHS ve BSHH sinerjistik etki gösterirler bu da farklı mekanizmalar üzerinden etki etmelerine bağlıdır (14). BHS, BH salgılatıcı etkilerinin hepsini göstermeleri için BSHH aktivitesine ihtiyaç duyarlar. İnsanlarda BH’nun BHS’na cevabı BSHH ile güçlü olarak inhibe edilirse de tamamen sonlandırılmaz (65,66). Bu BHS’larının en önemli etkisini hipotalamik seviyede gösterdiği hipotezini destekler (14,66). BHRH reseptör eksikliği gösteren insanlarda BHS’na BH cevabı görülmez, fakat prolaktin, ACTH ve kortizol cevabı görülür (67,68). Yaş arttıkça ghrelinin BH salgılatıcı etkisinde azalmalar görülür, fakat laktotrof ve somatotrof sekresyonunda görülmez (69).

Ghrelinin güçlü BH salgılatıcı etkisine rağmen bu etkinin ghrelinin en önemli fizyolojik etkisi olup olmadığı sorgulanmıştır. Aslında BSHH antogonisti güçlü olarak 24 saatlik BH salgısını baskılamasına rağmen dolaşımdaki ghrelin seviyeleri etkilenmemiştir (52). Ek olarak ghrelin insüline bağlı hipoglisemi gibi provokatif testlere BH salgısını düzenlememektedir (70,71). Bu gözlemler, ghrelin salınımının pulsatil ve BH salgılanmasından daha çok yiyeceklerle ilişkisi olduğunu düşündürür (47).

Teorik olarak ghrelinin tanı ve tedavide etkisi olabilir, özellikle BHS ile birlikte kullanıldığında BH salgı potansiyeli hakkında, limit değerleri iyi konulursa insüline bağlı hipoglisemi testi kadar sensitif ve spesifik olabilir (72,73). Uzun etkili oral ghrelin preparatları yaşlı hastalarda anabolik tedavide

kullanılabilir (72). Yine BH eksikliği olan bireylerde günde tek doz rekombinan BH enjeksiyonundan daha fizyolojik olarak pulsatil BH salgısını sağlayabilir (74).

Prolaktin ve ACTH salgılatıcı etkileri : Ghrelin ve sentetik BHS'lerinin etkileri sadece BH'na spesifik değildir. Çünkü laktotrof ve kortikotrof sistemde uyarıcı etkileri vardır (62,66,75,76). Ghrelinin insanlarda prolaktin salınımı üzerindeki etkileri yaş ve cinsiyete bağlıdır (69).

BHS indüklenmiş ACTH salınımı cinsiyet açısından bağımsız fakat yaşla değişim gösterir (77). Pubertede yükselir, daha sonra biraz düşer yaşlanmayla tekrar yükselir (77,78). Fizyolojik durumlarda BHS'lerinin ACTH salgılatıcı etkisi merkezi sinir sisteminde CRH, vazopresin, NPY, GABA üzerindedir (65,66). İlginç olarak insanlara CRH uygulanması ghrelin seviyelerini etkilemez (79).

6.2. Ghrelinin Santral Etkileri

Yiyecek alımı üzerine : Ghrelinin keşfinden yıllar önce BHS'lerinin kemirgenler üzerinde oroksijenik aktiviteleri gözlemlenmiştir (80). S. Dickson önderliğindeki araştırma grubu hipotalamusta BHS tarafından indüklenmiş nöronal aktivite saptadılar ve bunun enerji dengesini yöneten merkez olduğunu düşündüler (81). Bu nöronlarda ghrelin tarafından da aktive edilen G protein-reseptör eşleşmiş BHS-R 1a ekspresyonu saptadılar. BHS-R'ünün memeli fizyolojisindeki en güçlü oroksijenik reseptör olması da sürpriz oldu (51,82). İlk başlarda lipolitik bir hormon olan BH salgısını arttırması ile adipojenik etkileri yorumlamak zor oldu, fakat toplanan bilgiler eşliğinde ghrelinin enerji dengesi, glukoz hemostazı ve hipotalamik nöropeptitler üzerindeki mozaik paterni hakkında bilgi vermeye başladı (83). Leptinin doyumluk üzerindeki etkilerini keşfi ile birlikte ghrelinin de enerji metabolizması üzerindeki etkisi midenin endokrin rolü üzerindeki etkisini arttırdı (84). Yakın zamanda ghrelinin ifade edilmesi, 3. ventriküle komşu dorsal, ventral, paraventriküler ve arkuat hipotalamik nükleuslarda saptandı. Bu nöronlar NPY, AGRP, POMC ve CRH üreten hipotalamik devrelere efferentler gönderirler. Hipotalamus içinde ghrelin en çok paraventriküler nükleustaki arkuat

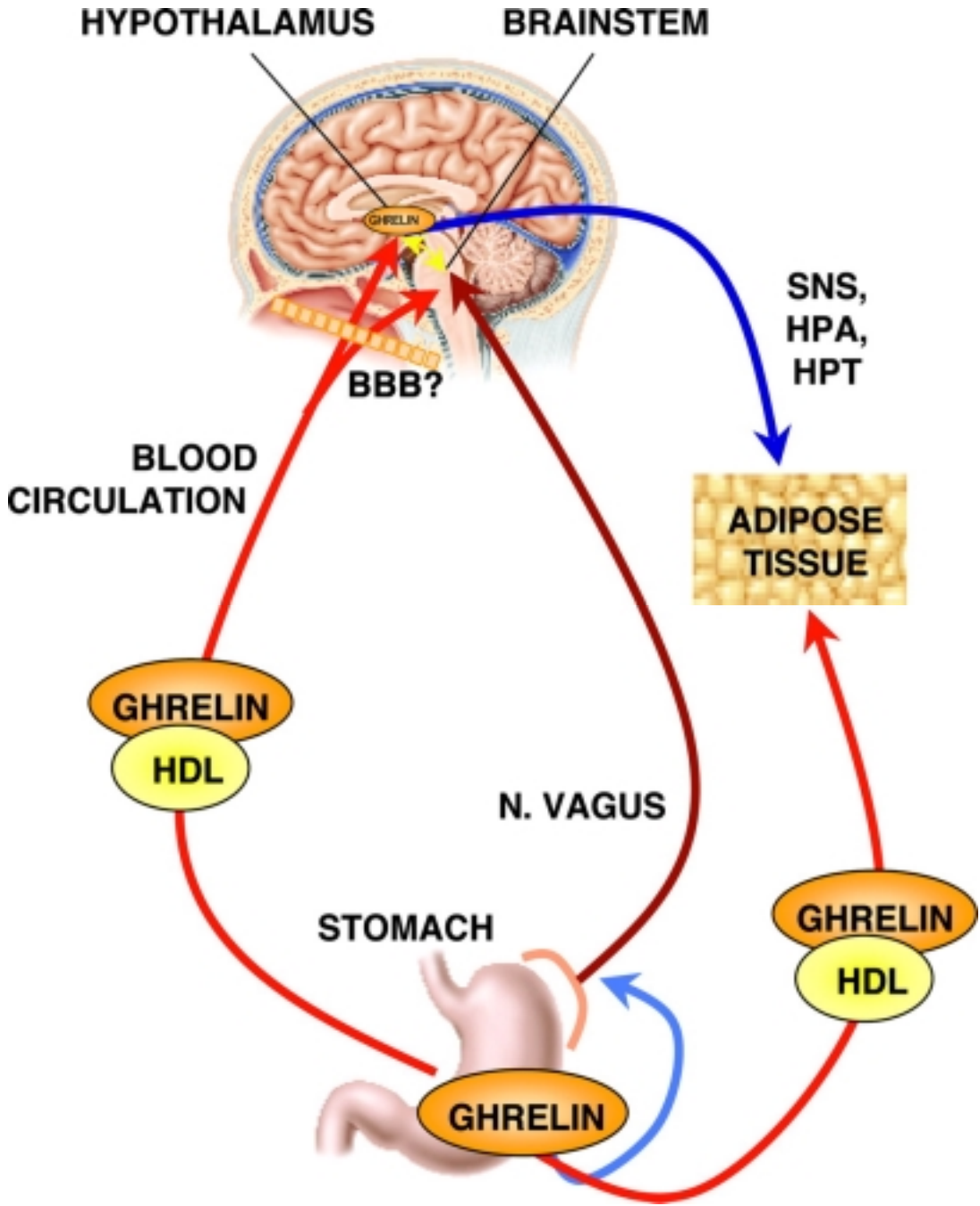
NPY nöronlarını stimüle etmekte dolayısıyla ghrelin salınımı oroksijenik peptitler ve nörotransmitterlerin salgılanmasını arttırmakta bu da enerji dengesinde ghrelinin ayarlayıcı rol oynadığını düşündürmektedir (46,85).

Kemirgenlerde ghrelin uygulanması kilo alımına sebep olur, boy uzaması ve kas kitlesindeki artış BH salınımı sonucu beklenen etkilerdir (51,86). Fakat toplanan bilgiler ghrelinin sadece yağ kütlesini arttırdığını göstermiştir (51). Bu etki ilk 48 saatte ortaya çıkmakta 2 hafta sonra ise bitmektedir. Pozitif enerji dengesinin hipotalamustaki leptine cevap veren nöronlar aracılığıyla sağlandığı düşünülmektedir (86).

Kemirgenlerde ghrelin uygulanması enerji alımı ve metabolizmasını etkiler (87). Ghrelin yemek alımını artırır (33), doz bağımlıdır ve santral uygulanması periferik uygulanmasına göre daha güçlü etki gösterir ki bu da santral etki gösterdiğini düşündürür (51).

Ghrelin enjeksiyonu sonrası yemek alımındaki artış kısa etkilidir(60 dakika).Santral olarak uygulandığında ghrelinin oroksijenik etkisi beyin kaynaklı NPY ile benzerdir ve diğer bilinen iştah açıcılardan daha güçlüdür (34). Periferik uygulanan ghrelinin etkisi bu kadar güçlü değildir (82).

Oroksijenik ajanlardan NPY, AGRP, melanin-konsantre edici hormon, sadece santral enjeksiyonla etki gösterirken periferik yolla verilen ghrelin hala oroksijenik ve adipojenik etkilerini gösterebilir (24). Bu asetile edilmiş bir peptit olan ghrelinin kan beyin bariyerini geçebildiğini göstermez; bazı çalışmalar ghrelinin kandan beyine geçebildiğini gösterse de ghrelinin hipotalamustaki etkisi bu bariyerin zayıf olduğu ve enerji metabolizmasında rol alan arkuat nükleusun ventromedial kısmı üzerinden olabilir (40) (Şekil 3).



Şekil 3: Ghrelinin enerji dengesini etkileyebileceği olası yollar

Enerji dengesini kontrol eden nöron, nöropeptitler ve reseptörler ağı ileri derecede karışık ve çok merkezli bir sistemdir. Hipotalamus, periferden gelen sinyaller, merkezi sinir sistemi komutları ve enerji metabolizmasını ayarlayan nöroendokrin akslar arasında hayati bağı ve dengeyi sağlar.

Ghrelinin enerji metabolizmasındaki rolü hipotalamus üzerinden iki yolla olur; birincisi NPY nöronları üzerinden diğeri de melanokortin reseptörleri ve onların agonistik ve antagonistik kanalları üzerindedir (86,88).

Ghrelin AGRP ve NPY seviyelerini akut ve kronik uygulamayla arttırır (88,89). NPY akut etkiler için önemliken AGRP'in kronik etkiler üzerinde etkisi olabilir (90).

Ghrelinin hipotalamustaki sinyallerini düzenleyen muhtemel diğeri ajanlar POMC, kokain ve amfetamin-regulated transkript, melanin konstantre edici hormon, hipokretin, GABA ve galanindir (90,91).

Yağ dokusundaki artış, artmış gıda alımı dışında azalmış enerji harcanması veya azalmış hücrel yağ oksidasyonu yoluyla olabilir (91). Özet olarak ghrelin uygulanması kemirgenlerde pozitif enerji metabolizması ve artmış yağlanma yaratır. Muhtemel mekanizmalar artmış yiyecek alımı ve azalmış yağ oksidasyonudur.

Uyku üzerine etkileri : Uyku düzenindeki değişiklikler yaşla birlikte nörotransmitter ve nöropeptitlerin değişmesi sebebiyle olur; ghrelinin uyku başlatıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (92,93).

Davranış üzerine etkileri : Yeme düzenindeki etkileri yanında ghrelinin hipotalamik-pitiüter-adrenal aks üzerinden endişe benzeri etki yarattığı gösterilmiştir. Bu da stres yapan faktörlere nöroendokrin ve davranış cevaplarını mide üzerinden olabileceğini düşündürür (94).

6.3.Sentetik ve Doğal BHS'larının Periferik Etkileri

Periferik dokularda ghrelin reseptörlerinin gösterilmesi ile bu maddenin periferik endokrin ve endokrin dışı aktiviteleri gösterilmiştir. BH salgılatıcı etkisinden ayrı olarak, ghrelin ve sentetik BHS'ları gastrik motilite ve asiditeyi kontrol eder, endokrin pankreas fonksiyonunu etkiler, glukoz metabolizması ve kardiyovasküler fonksiyonları değiştirir, adipositlerin adipokin modülasyonunu

ayarlar ve neoplastik tiroid, meme, akciğer hücreleri üzerinde antiproliferatif etkileri vardır (Şekil 2).

Gastroenteropankreatik fonksiyonları : Sıçanlarda gastrektomi dolaşan ghrelin seviyelerinin %80 azalmasına sebep olur ki bu da midenin BHS-R'ünün en büyük endojen kaynağı olduğunu gösterir(2;84). Daha düşük miktarlarda ghrelin enterik sistemde ve pankreasta da bulunur (1,84).

Ghrelinin gastroenteropankreatik seviyede de etki göstermesi sürpriz değildir çünkü BHS-R 1a ve 1b ekspresyonu buralarda gösterilmiştir (2,44). İlginç olarak motilin ve ghrelin öncüleri arasında yakın yapısal bağ vardır fakat bu iki peptit arasında sadece %36 benzerlik vardır (95). Ayrıca gastrointestinal motilin reseptör 1a ve BHS-R 1a yüksek derecede yapısal benzerlik gösterir (23). Ghrelin ve motilin etkileri de benzerlik gösterir ayrıca ghrelin ve glukagon benzeri peptit (GLP)-1 seviyeleri de glukoz alımıyla ters orantı gösterir (96,97).

Ghrelin mide asit salınımını ve motilitesini farelerde artırır (98). İnsanlarda ise ghrelin seviyelerinin mide boşalma zamanıyla korelasyonu vardır (99). Ghrelinin salgı arttırıcı etkileri kolinerjik sistem sayesinde olur çünkü muskarinik blokajla sonlandırılır (98). İlginç olarak asetilkolin ile oluşan salgı arttırıcı etkisinin bir kısmı santral düzeyde olur (100). Açlıkta ve BH salgısı için mide kaynaklı ghrelinin sinyalleri beyine vagal sinir aracılığıyla iletilmektedir (101). Ama başka bir çalışmada da pirenzepinin kolinerjik blokajını ghrelinin endokrin etkilerini engelleyemediği de gösterilmiştir(102). Ghrelin/motilin ilişkili peptidin güçlü prokinetik etkisini kullanarak farelerde ameliyat sonrası oluşan ileusun tedavisi için çalışmalar yapılmaktadır (103).

Ghrelin ve BHS-R 1a mRNA normal ve neoplastik endokrin pankreasta gösterilmiştir (44).

Egzokrin pankreas düzeyinde ise ghrelin, pankreatik kolesistokinine bağımlı salgısını anestezi altındaki farelerde inhibe etmiştir.

Ghrelin bazı yazarlar tarafından pankreatik α (alfa)-hücreleri bazıları tarafından da pankreatik β (beta)-hücrelerinde de gösterilmiştir (43). Fötal hayatta pankreasta mideden daha fazla ghrelin ekspresyonu olduğu raporlanmıştır. Pankreas ghrelin hücreleri yetişkin hayatta düşük miktarlarda adacık hücrelerinde kalırlar. Wierup ve arkadaşlarına göre ghrelin bilinen hiçbir pankreatik adacık

hormonları ile beraber bulunmaz ve dolayısıyla yeni bir hücre grubunu oluşturur (104).

Ghrelin farelerde insülin sekresyonu üzerine tonik inhibe edici etki gösterir, insanlarda ise ghrelin ve insülin sekresyonu arasında negatif ilişki birçok yazar tarafından gösterilmiştir (47,49,50). Ghrelin insanlarda plazma glukoz seviyelerini belirgin olarak arttırırken insülin salınımında da azalma gözlenmiştir (39,47,69). BHS ile tedavinin özellikle obez ve yaşlı hastalarda hiperglisemi ve insülin rezistansı yapabildiği gözlenmiştir; bu gözlemlere dayanarak ghrelinin bir gastroenteropankreatik hormon olduğu ve insülin salgısı ve glukoz metabolizmasında belirgin bir rol üstlendiği söylenebilir. Ghrelin açlıkta hormonal ve metabolik aktiviteyi ilişkilendirerek BH seviyelerinde artışa insülin sekresyonunda azalmaya sebep olabilir. Ghrelin ve GLP1 arasındaki ters ilişki de bunu gösterebilir. Ghrelinin insülinin glukoneogenezi baskılayıcı etkisini bloke ettiği gösterilmiştir (105). Hiperinsülinemik öglisemik klemp testinin sağlıklı insanlarda gösterdiği gibi artmış plazma glukozu ve insülin ghrelin seviyelerini düşürür (50). Bu sonuca bakarak ghrelinin direkt glikojenolizisi de stümüle ettiği söylenebilir. Ghrelin salınımı vücut kitesiyle ters orantılı ve anoreksiya nervoza ve kaşekside artmış bulunur. Ayrıca sabah ghrelin seviyeleri obez kişilerde azalmış bulunmuştur. Bunlarda ghrelinin insülin salgısı ve glukoz metabolizması üzerinde etkileri olduğunu düşündürür. Ghrelinin sıçanlarda adipogenezde rol oynadığı gösterilmiştir. Ghrelin uygulanması peroksizom proliferator activated reseptör γ -2 mRNA seviyelerini kültürdeki sıçan adipositlerinde arttırmıştır. İzoproterenol bağımlı lipoliz ghrelin tedavisiyle azalmıştır. Ek olarak ghrelin preadipositlerin farklılaşmasını arttırmış lipolizi antagonize etmiştir (106).

Ghrelin ve obezite ile ilgili çalışmalarda ghrelin ve beden kütle indeksiyle negatif ilişki sadece Prader-Willi sendromlu olgularda gözlenmiştir (107).

Kardiyovasküler ve hemodinamik etkileri : BHS-R1a mRNA varlığı kalpte ve aortada gösterilmiştir. İnsan ve sıçan arterlerinde ghrelin için özel bağlanma yerleri mevcuttur ve ateroskleroz arttıkça sayıları artar (108).

BHS – R'lerinin gösterilmesi dışında kardiyovasküler sistemde ghrelin, BH bağımsız etkilerden de sorumludur. Yüksek dozlarda BHS uygulanması sıçan kalbinde koroner vazokonsriksiyon yaratmıştır (109). BHS'larının BH bağımsız

etkileri hipofizektomi yapılmış sıçanlarda miyokardiyal reseptörlerin direkt aktivasyonunun kardiyoprotektif etki yarattığı çalışmadan sonra düşünülmüştür (110). BHS'larının pozitif inotropik etkileride gösterilmiştir. Heksarelin sol ana koroner arterin bağlanması yoluyla oluşturulmuş kalp krizi modelinde 4 hafta içinde kardiyak output ve strok hacmini arttırmıştır. Kronik ghrelin uygulanması BH eksik sıçanlarda ve konjestif kalp yetmezliği olan sıçanlarda kardiyak kontraktiletiyi arttırmıştır ek olarak sol ventrikül remodellingi de sağlamıştır(111-114).

İlginç olarak heksarelin asetile-ghrelinle asetile edilmemiş ghrelin kültürdeki kardiyomiyosit ve endotel hücre ölümlerini; doksorubisin, serum çekilmesi veya FAS-ligand aktivasyonu yapılmış modellerde engellemiştir. Bu moleküller muhtemelen hücre içi sinyal yollarını aktive ederek (tirozin fosforilasyonu, hücre dışı sinyal bağımlı kinaz 1 ve 2 aktivasyonu) kültürdeki kardiyomiyositlerin yaşamasını sağlamışlardır. Sağlıklı deneklerde ve hipofiz yetmezlikli ileri BH eksikliği olan hastalarda ghrelin uygulanması sonucunda sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ani artmaya sebep olur (111,113).

Neoplastik hücre proliferasyonu modülasyonu: Normal ve neoplastik insan tiroid bezinde peptidil ve peptidil olmayan BHS için bağlanma noktaları mevcuttur. BHS için bağlanma noktaları foliküler, papiller ve anaplastik tiroid kanserlerinde gösterilmiştir. Medüller tiroid kanserlerinde de ghrelin ekspresyonu bulunmuştur. Ghrelin timidin birleşmesini ve hücre proliferasyonunu 24 saat içinde engellemiştir. İlginç olarak aynı etki asetilsiz ghrelin içinde tiroid kanserlerinde saptanmıştır (115-117).

BHS-R'leri normalde olmamasına rağmen kanserli dokularda gösterilmiştir. Meme kanseri buna örnektir. İlginç olan fibroadenom ve normal meme parankiminde bu reseptörler yoktur.

Ghrelin östrojen bağımlı yada bağımsız meme kanserlerinde hücre proliferasyonunu engeller. Kardiyovasküler sistemde olduğu gibi tiroid kanserlerinde de asetile olmamış ghrelin asetile olmuş ghrelinin etkilerini paylaşır ve bu da asetile olmamış ghrelinin en azından antiproliferatif etkileri olduğunu gösterir (35).

BHS-R 1a ve 1b ghrelin gibi tüm prostat kanserlerinde ifade edilirler. Tüm bu potansiyel proliferasyon etkilerine rağmen ghrelin antikaşektik ilaç olarak tümörlü hayvan modellerinde anabolik etkilerinden dolayı denenmektedir (112,118).

7. FARMAKOLOJİK ve KLİNİK YAKLAŞIMLAR

Ghrelin biyolojisi iyi korunmuş bir peptittir ve insanlar dışında sıçanlar, fareler ve birçok türde ekspresyonu ve biyolojik aktiviteleri gösterilmiştir.

Ghrelin, beslenme, vücut kompozisyonu ve büyümeyi ayarlayan fizyolojik olaylarda endokrin bağı temsil edebilir (90). BH'nun büyüme onarımı yapmak için gerekli yeterli enerjiyi sağlar. Pozitif enerji dengesi sağlamak ghrelinin en önemli fizyolojik görevlerindedir ki bunu artmış gıda alımı (33) azalmış yağ oksidasyonu ve vücut bazal ısısını baskılamakla gerçekleştirir (51).

Dolaşımdaki ghrelin seviyeleri obez bireylerde ve yemek sonrası baskılanmış, yemek öncesi, kaşektik, anorektik ve yemek kıtlığı durumlarında artmıştır.

Obezitede azalmış ghrelin seviyeleri obezitenin daha da artmasını engelliyor olabilir (119). Gastrik bypass ameliyatından sonra obez hastalar, kalori azaltılmasıyla yapılmış diyetten daha iyi kilo kaybı sağlarlar. Cummings ve arkadaşları bypass sonrası ghrelin seviyelerinin tespit edilebilir seviyelerin biraz üstünde olduğunu bulmuştur. Kalori kısıtlamasıyla kaybedilmiş kilolardan sonra ise ghrelin seviyeleri artmıştır bu da muhtemelen artmış açlık ve azalmış yağ oksidasyonuna sebep olur. Farmakolojik bir antagonist etkili bir obezite ilacı olabilir.

Prader Willi Sendromu olan hastalarda kontrol edilemeyen açlık, artmış yağ dokusu ve fiziksel aktivite azlığına ek olarak artmış ghrelin seviyeleri bulunur bunun sebebi hipoinsülinemi ve BH eksikliği olabilir (107).

BH salgılatıcı etkisi, parantral ya da inhalasyon yoluyla kullanılması gereken BH'na alternatif olabilir. Kalp yetmezliği ve hipertansiyonda da ghrelin tedavi seçeneği olabilir.

İnsan kanser hücrelerinde ghrelin reseptörleri gösterilmiştir, dolayısıyla antagonistlerinin antiproliferatif etkileri olabilir (34). İleride ghrelin antagonistleri akromegalide ve obezitede de tedavi seçenekleri olarak karşımıza çıkabilir.

8. HİPOTİROİDİ

Hipotiroidi, tiroid hormonlarının eksikliği veya nadiren etkisizliği sonucu ortaya çıkan bir sendromdur ve metabolik genel bir yavaşlama ve karakterlidir. Ortaya çıktığı yaşa ve tiroid hormonlarının eksiklik veya etkisizlik derecesine bağlı olarak özellikler gösterir.

Hipotiroidi, subklinik şekilde olabileceği gibi miksödem hatta acil tedaviyi gerektiren miksödem koması şeklinde kendini gösterebilir. Hipotiroidi bebeklikte (Kretinizm) ve çocukluk çağlarında (jüvenil hipotiroidizm ve jüvenil miksödem) ortaya çıktığında kayda değer büyüme ve gelişme eksikliğine yol açar, erken tanı ve zamanında tedaviye başlanması gerekir. Gecikme geri çevrilemeyecek kalıcı bozukluklara neden olur.

Hipotiroidi primer tiroid patolojisine bağlı olarak (Primer Hipotiroidi) veya hipofiz hastalığı nedeniyle (Sekonder Hipotiroidi) veya hipotalamustaki bozukluktan (Tersiyer Hipotiroidi) ileri gelebileceği gibi nadiren de, tiroid hormonlarının periferik dokulardaki etkisizliğine bağlı olarak ortaya çıkabilir veya tiroid hormonlarının periferde aşırı tüketilmesi sonucu da gelişebilir.

Göz önünde bulundurulması gereken hususlardan biri de geçici hipotiroididir. Tedavi yönünden önem taşır.

Hipotiroidinin guatrlı ve guatrsız olarak da ayırımı yapılmaktadır. Ancak otoimmün tiroidite bağlı bir primer hipotiroidide tiroid büyük de olabilir veya atrofisinde guatr tespit edilmeyebilir. Anatomik tasniften ziyade etyopatogenetik sınıflandırma daha uygun görülmektedir.

Hipotiroidinin nedenleri üzerinde durularak etyolojik inceleme mutlaka yapılmalıdır. Hipotiroidi, hastanın esas sorunu olabileceği gibi daha ciddi prognoz taşıyan hipofiz veya hipotalamusu ilgilendiren başka bir hastalığın sonucunda da gelişebilir. Hipotiroidili bir hastanın hipotalamo-hipofizer aksına ait belirtiler gösterip göstermediği özellikle dikkate alınmalı, tiroid hastalığı geçirip geçirmediği, tiroidi baskılayan ilaç alıp almadığı soruşturulmalıdır. Çok nadir olarak tiroid hormonlarına periferik direnç nedeniyle hipotiroidi oluşabilir. Dirençte karakteristik olarak tiroid hormonları (T3 ve T4) yüksektir (diğer hipotiroidilerin aksine) ve TSH'da yüksektir veya azalmamıştır (Refetoff Sendromu). Yine nadir olarak (Viseral Hemangiomalar ve benzeri tümör dokularında tiroid hormonlarının aşırı tüketilmesine bağlı olarak) hipotiroidi gelişmektedir.

8.1. Metabolizma

Enerji metabolizmasında yavaşlama O₂ tüketiminde azalmaya, hafif ağırlık artışına bazal metabolizmanın düşmesine iştah kaybolmasına, bazal beden ısısının termogenezin azalmasına, soğuk intoleransına sebep olur. Protein sentezinde ve degradasyonunda azalış mevcuttur. Sentez azlığı kemik ve yumuşak dokularda büyüme duraklamasına yol açar, bunda TSH sekresyonunun hem de etkisinin azalışının rolü vardır. Karaciğerde lipoprotein-lipaz, seks hormon bağlayan globulin, faktör VIII ve ACE azalmıştır. Hipotiroidiye bağlı protein sentezi azalması bebeklerde sinirsel gelişim ve büyümede yetmezliğe yol açar. Proteolipidlerin ve proteinlerin neonotal sinir sisteminde sentezi azalmıştır. Kartilaj sentezi büyüme hormonu ve büyüme faktörleri de azalmıştır. Kapillerlerden protein permeabilitesinde artış vardır. Efüzyonlarda protein artar. Proteinuri gelişebilir. Serum total proteini ve albümini, degradasyondaki yavaşlama nedeni ile artmış bulunur.

Oral glukoz tolerans testi karakteristik olarak yassıdır ve insülin cevabı gecikmiştir. Glukoz absorpsiyonu yavaşlamıştır; intravenoz verilen glukozun plazmadan kaybolması da gecikmektedir (dokuların glukoz alışının yavaşlaması). İnsülin degradasyonu da normalden yavaştır. Periferik glukoz utilizasyonu ve hepatik glukoneogenez azalmıştır. Ekzojen insüline duyarlılık normal veya

artmıştır. Diabetes Mellitus'lu hastalarda hipotiroidi gelişirse insülin ihtiyacı azalmaktadır.

Lipidlerin sentez ve degradasyon hızı yavaşlamıştır. Lipid klerensi azalmıştır bunun sonucu serum serbest yağ asitleri total ve düşük dansiteli kolesterol lipoproteini artar. Hipotiroidi vakalarında %56 hiperkolesterolemi, %34 hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi, %4,5 hipertrigliseridemi sadece %8,5 vakada normal lipid profili saptanmıştır. Potasyumda değişiklik yoktur. Hipotiroidi ile birlikte hiperpotasemi bulunuyorsa adrenal yetmezlik düşünülmelidir. Serum kalsium ve fosforu normaldir. Değişik derecelerde hipotiroidisi olan hastaların %89'unda ödem bulunmuştur. Protein zengin sıvı, sıklıkla subkütanöz kesimde toplanır. Önemli bulgulardan biri glikozaminglikanların interstisyel mesafede (miksödem) birikmesidir. Post-heparin lipolitik aktivite azalmış lipidlerin degradasyon bölgelerine girişi ağırlaşmıştır. Kolesterol yüksekliği primer hipotiroidide en sık rastlanan bulgulardan biridir, sekonder de görülmez. Trigliseridlerde de artış olabilir. LDL yükselmiştir. HDL kolesterol ve serbest yağ asitleri (SYA) genellikle normal veya yüksektir. Plasma homosistein miktarı bazı hipotiroid hastalarda yüksektir. T4 replasmanı ile normale döndüğü bildirilmektedir. Hipotiroidide T4 tedavisi serum apoproteinlerini ve LDL'yi normalleştirir. HDL subfraksiyonundaki azalma nedeniyle düşebilir.

Yapılmış hayvan çalışmasında hipotiroidide ghrelin seviyeleri artmış bulunmuştur (120). İnsanlarda yapılmış çalışmalarda ise hipotiroid hastalarda ghrelin seviyelerinde değişiklik saptanmamıştır (121,122).

Bu çalışmada amaç, hipotiroidi durumunda insanlarda ghrelin seviyelerindeki değişiklikleri saptayarak, iştah kontrol mekanizması ve kilodeğişimiyle olan olası etkilenmeleri saptamaktır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışma Ocak 2006-Mart 2007 tarihleri arasında, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji bilim dalında gerçekleştirildi. Çalışma tek merkezli, prospektif bir çalışma olarak planlandı. Çalışma için Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Etik Kurul onayı alındı(KA06/252). Çalışmayla ilgili olarak aday katılımcı ön bilgilendirmesi yapıldı. Kabul eden adaylara “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” esas alınarak çalışmayla ilgili ayrıntılar verildi. Çalışma süresince WHO Helsinki Bildirgesi ve Dünya Psikiyatri Birliği İyi Klinik Uygulamaları ve İyi Laboratuvar Uygulamaları Kurallarına uyuldu.

9.1. Hasta seçimi

Çalışmaya endokrinoloji ve metabolizma hastalıkları polikliniğine başvuran hipotiroidisi olan hastalar dahil edildi. Kontrol grubuna yaş, cinsiyet ve beden kitle indeksi eşleştirilecek şekilde; tiroid ve glukoz metabolizması bozukluğu olmayan hastalar dahil edildi. Hipotiroidi tanısı serum TSH seviyesinin yüksek, sT4 ve sT3 seviyelerinin düşük olmasıyla koyuldu. Hipotiroidisi olan hastalardan hipotiroid oldukları ve tedavi sonrası ötiroid oldukları dönemde olmak üzere 2 kez, kontrol grubundan da sabah aç karnına 1 kez kan alınarak serum aktif ghrelin, TSH, sT3, sT4, açlık plazma glukozu, kreatinin, ALT, total-LDL-HDL kolesterol, trigliserid, C-reaktif protein, insülin, anti-tiroglobulin, anti-tiroid peroksidaz seviyeleri ölçüldü.

9.2. Çalışmaya Uygunluk Kriterleri

- 1) Hasta ve kontrol grubunda, kronik böbrek yetmezliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu, kalp yetmezliği, kronik inflamatuvar hastalığı, glukoz metabolizma bozukluğu olmaması
- 2) Mide operasyonu geçirmemiş olması

9.3. Antropometrik Ölçümler:

Hastaların boy, kilo, bel ve kalçaları ölçüldü. Bel çevresi umbilikus hizasında horizontal düzlemde veya gövdenin en dar noktasından ölçüldü. Kalça çevresi kalçanın en geniş noktasında horizontal düzlemde ölçüldü. Bel kalça oranı hesaplandı. Vücut kitle indeksi (BMI), vücut ağırlığının (kg), boy'un karesine (m²) bölünmesiyle elde edildi.

9.4. Laboratuvar İncelemeleri

Venöz kan örnekleri en az 12 saat açlıktan sonra sabah 8:00 ile 9:00 arasında alındı. sT3, sT4, TSH, anti-tiroglobulin, anti-tiroidperoksidaz, C-reaktif protein, ghrelin, glukoz, insülin, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, trigliserid, kreatinin, ALT testleri çalışıldı. Ghrelin Linco active ELISA KIT ile çalışıldı. Örnekler Aprotinin (Biochemika lyophilized, -80 % HPCE) SIGMA eklendi. Numuneler alındıktan sonra +4 ° C 'de 1500g'de 15 dakika santrifüj edildi. Örnekler analiz edilene kadar - 40 ° C' de saklandı.

Serbest T3, serbest T4 ve TSH Architect ci2000 otoanalizöründe Architect kiti kullanılarak Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) yöntemi ile ölçüldü.

Anti-Tg, anti-TPO, insülin, gastrin; Immulite 2000 otoanalizöründe, Siemens BIODPC kitleri kullanılarak ölçüldü.

CRP Abbott Aeroset otoanalizöründe Abbott CRP Ultra kiti kullanılarak lateks immunoassay yöntem ile ölçüldü.

Serum glukoz ,total kolesterol, trigliserid, kreatinin, ALT, HDL kolesterol Abbott Aeroset otoanalizöründe Abbott kitleri kullanılarak ölçülmüştür. LDL kolesterol Fridewald formülü ile hesaplanmıştır.

9.5. İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler SPSS 13.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Gruplar independent sample T-test ile karşılaştırıldı. Hipotiroid grubun 0 ve 3. ay değerleri paired sample two-tailed testi ile karşılaştırıldı. P değeri < 0.05

olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Pearson korelasyon testi ile ilişkiler araştırıldı.

SONUÇLAR

Çalışmaya 30 hipotiroid, 23 kontrol olmak üzere toplam 53 hasta alındı. Hipotiroid grubun yaş ortalaması $42,6\pm 10,5$ yıl, kontrol grubunun ise $39,9\pm 6,5$ yıl idi. Hipotiroid grupta 22 kadın(%73), 8 erkek(%26); kontrol grubunda ise 17 kadın(%73) altı erkek ((%26) bulunmaktaydı. Hipotiroid grup; kür olmuş 14 tiroid papiller kanseri (vücut taraması öncesi ilaç kesilmiş durumda), yedi postoperatif, üç RAI ablasyonu almış (TNG), altı da otoimmün hipotiroidisi olan hastalardan oluşmaktaydı. Gruplar arasında cinsiyetler ve yaşlar arasında anlamlı fark saptanmadı. Hastalarla kontrol grubu; beden kitle indeksi (BKİ), bel, kalça, açlık plazma glukozu, insülin, HOMA insülin resistansı, c-reaktif protein ve gastrin seviyeleri bakımından benzer özellikler taşıyordu (Tablo 1).

Hipotiroid hastalarla kontrol grubu arasında lipid parametreleri, TSH, sT4, sT3, anti-Tg, anti-TPO arasında beklendiği gibi anlamlı farklar vardı. Hipotiroid grupta TSH, lipid parametreleri ve tiroid otoantikor seviyeleri yüksek, sT3 ve sT4 seviyeleri düşüktü. Ghrelin seviyeleri ise hipotiroid grupta anlamlı olarak yükseldi(Tablo 1).

Hipotiroid hasta grubunda tedavi sonrası ötiroidizm sağlanınca ghrelin, BKİ, bel, Total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol değerlerinde istatistiki olarak anlamlı düşme gözlemlendi. Açlık plazma glukozunda anlamlı olarak yükselme gözlemlendi. Kalça, insülin, HOMA insülin resistansı, trigliserid değerlerinde ise anlamlı farklılık yoktu (Tablo 2).

	HİPOTİROİD	KONTROL	p
n(K,E)	30 (22,8)	23 (17, 6)	AD
Yaş(yıl)	42,6±10,5	39,9±6,5	AD
BKİ(kg/m²)	29,0±4,9	28,4±3,1	AD
Bel(cm)	91,3±7,9	94,5±13,3	AD
Kalça(cm)	109,2±10,6	108,0±7,3	AD
Açlık Plazma Glukozu(APG)(mg/dl)	89,5±7,8	92,7±5,5	AD
İnsülin(µu/ml)	10,2±6,1	8,7±3,3	AD
HOMA İnsülin Resistansı	2,2±1,4	1,9±0,7	AD
C-reaktif protein(mg/L)	3,8±5,8	3,8±1,8	AD
Ghrelin (fmol/ml)	34,5±25,9	18,1±10,8	<0,007
TSH (µU/ml)	62,9±46,9	1,4±0,7	<0,0001
sT4 (ng/dl)	0,4±0,2	1,2±0,2	<0,0001
sT3 (pg/ml)	1,5±0,5	3,0±0,4	<0,0001
Anti-Tg (IU/ml)	279,8±681	23,0±8,7	<0,0001
Anti-TPO (IU/ml)	236,0±371,0	11,6±5,0	<0,0001
Total Kolesterol (mg/dl)	246,9±56,7	190,0±26,8	<0,0001
LDL-K (mg/dl)	153,5±46,2	121,0±24,9	<0,004
HDL-K (mg/dl)	55,9±14,3	44,2±6,0	<0,0001
Trigliserid (mg/dl)	152,7±103,6	122,0±45,5	AD

Tablo 1: Hipotiroid ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet, antropometrik ölçümler, insülin, açlık plazma glukozu, insülin resistansı, C-reaktif protein, gastrin, ghrelin, TSH, sT4, sT3, Anti-Tg, Anti-TPO, Total-LDL-HDL kolesterol ve trigliserid seviyeleri seviyeleri. AD: Anlamlı Değil, p>0,05

Hipotiroid hasta grubunda tedavi sonrası ötiroidizm sağlanınca ghrelin, BKİ, bel, Total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol değerlerinde istatistiki olarak anlamlı düşme gözlemlendi. Açlık plazma glukozunda anlamlı olarak yükselme gözlemlendi. Kalça, insülin, HOMA insülin resistansı, trigliserid değerlerinde ise anlamlı farklılık yoktu (Tablo 2).

Hipotiroid gruptaki hastaların tedaviyle ötiroid olduktan sonraki ortalama ghrelin seviyeleri, tiroid fonksiyonları, lipid değerleri, antropometrik ölçümleri kontrol grubuyla benzerdi(Tablo 3).

Ghrelin ile korelasyon araştırıldığında HDL ile doğru, sT3 ve sT4 ile ters korelasyon saptandı(Tablo 4, Şekil 4,5,6).

Ortalama ghrelin seviyeleri karşılaştırıldığında hipotiroid hastalarda değerler yüksek iken ötiroidizm sağlandıktan sonraki ortalama seviyeler kontrol grubuna benzer olarak saptandı(Şekil 7).

Kadın ve erkek cinsiyetlerde ortalama ghrelin seviyeleri sırasıyla $28,8 \pm 27,8$ fmol/ml ile $27,0 \pm 20,2$ fmol/ml idi ve istatistiki olarak anlamlı değildi. Yaş ile ghrelin arasında da korelasyon saptanmadı.

Hipotiroidi grubunda alt grup olarak otoimmün hipotiroidisi olan 6 hastanın ortalama ghrelin seviyeleri, 0. ayda $22,3 \pm 15,4$ fmol/ml tedavi sonrası 3 ayda ise $13,1 \pm 7,4$ fmol/ml idi. Otoimmün hipotiroidisi olmayanların ise sırasıyla $28,0 \pm 22,9$ fmol/ml ve $20,6 \pm 21,0$ fmol/ml idi, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hipotiroidi etyolojisine göre gruplar karşılaştırıldığında, ghrelin seviyeleri tedavi öncesi ve sonrası benzerdi.

HİPOTİROİD GRUP			
	Hipotiroid (0. ay)	Ötiroid (3. ay)	p
Ghrelın (fmol/ml)	34,5±25,9	19,1±19,2	<0,0001
BKİ (kg/m²)	29,0±4,9	28,4±4,6	<0,003
Bel (cm)	94,5±13,3	93,4±12,2	<0,04
Kalça (cm)	109,2±10,6	108,7±10,4	AD
APG (mg/dl)	89,5±7,8	93,9±6,9	<0,001
İnsülin (µu/ml)	10,2±6,1	10,2±6,2	AD
HOMA-IR	2,2±1,4	2,4±1,7	AD
T-Kolesterol (mg/dl)	246,9±56,7	186,3±36,0	<0,001
LDL-K (mg/dl)	153,5±46,2	112,2±28,3	<0,001
HDL-K (mg/dl)	55,9±14,3	42,9±9,5	<0,001
TG (mg/dl)	152,7±103,6	127,6±80,3	AD
TSH (µU/ml)	62,9±46,9	1,7±0,9	<0,0001
sT4 (ng/dl)	0,4±0,25	1,5±0,27	<0,0001
sT3 (pg/ml)	1,5±0,5	3,0±0,5	<0,0001

Tablo 2: Hipotiroidi grubunda tedavi öncesi ve sonrası antropometrik ölçümler, ghrelın seviyeleri ve biyokimyasal değerler. AD: Anlamlı Değil, p>0,05

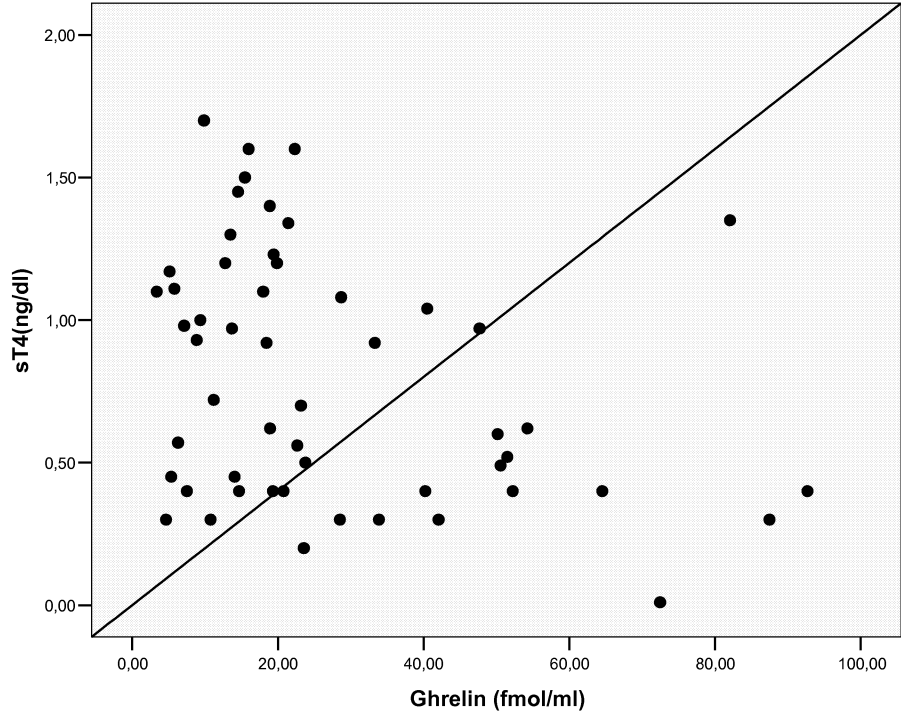
	Hipotiroid Grup 3. ay (Ötiroid)	Kontrol	p
Ghrelin (fmol/ml)	19,1±19,2	18,1±10,8	AD
BKİ (kg/m ²)	28,4±4,6	28,4±3,1	AD
Bel (cm)	93,4±12,2	91,3±7,9	AD
Kalça (cm)	108,7±10,4	108,0±7,3	AD
İnsülin (µu/ml)	10,2±6,2	8,7±3,3	AD
APG (mg/dl)	93,9±6,9	92,7±5,5	AD
HOMA IR	2,4±1,7	1,9±0,7	AD
TSH (µU/ml)	1,7±0,9	1,4±0,7	AD
sT4 (ng/dl)	1,5±0,2	1,3±0,2	AD
sT3 (pg/ml)	3,0±0,5	3,0±0,4	AD
T. Kolesterol (mg/dl)	186,3±36,0	190,8±26,8	AD
LDL (mg/dl)	112,5±28,3	121,0±24,9	AD
HDL (mg/dl)	42,9±9,5	44,2±6,0	AD
TG (mg/dl)	127,6±80,3	122,0±45,5	AD

Tablo 3: Hipotiroid grubun ötiroid hali ile kontrol grubunun karşılaştırılması.
AD: Anlamlı Değil, p>0,05

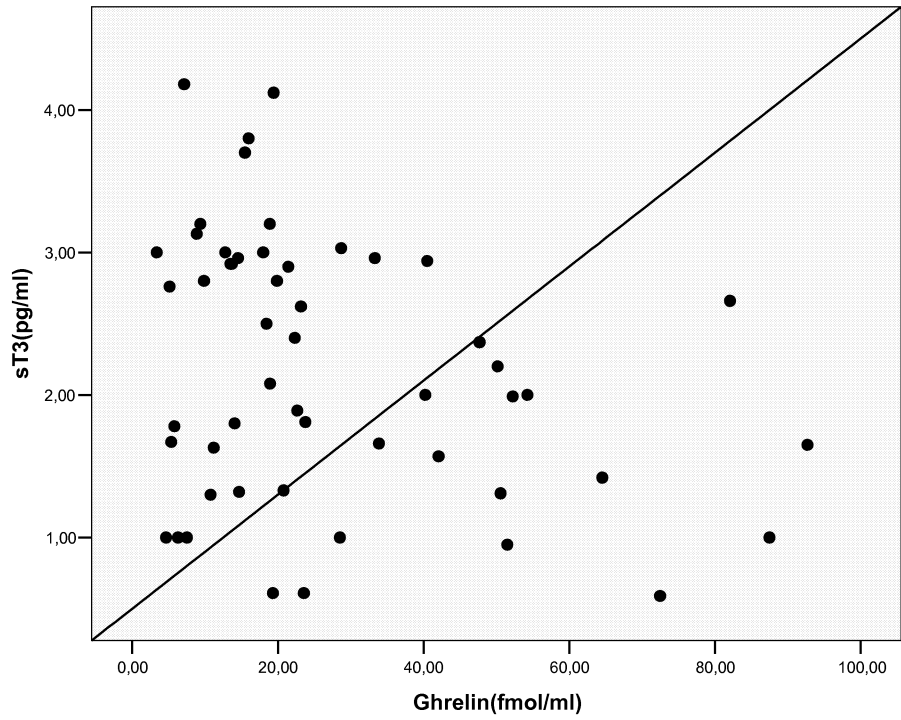
		HDL	sT4	sT3
Ghrelin	Pearson Korelasyonu	,328(*)	-,329(*)	-,295(*)
	p	,017	,016	,032
	n	53	53	53

* Korelasyon 0,05 seviyesinde anlamlı

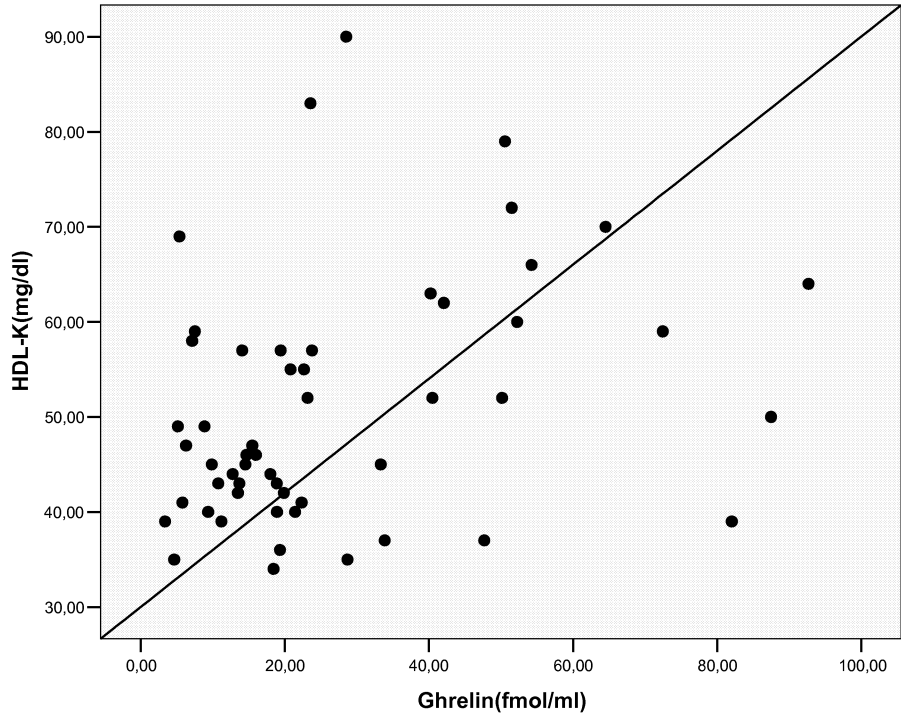
Tablo 4: Ghrelin ile HDL, sT4 ve sT3 arasındaki korelasyon



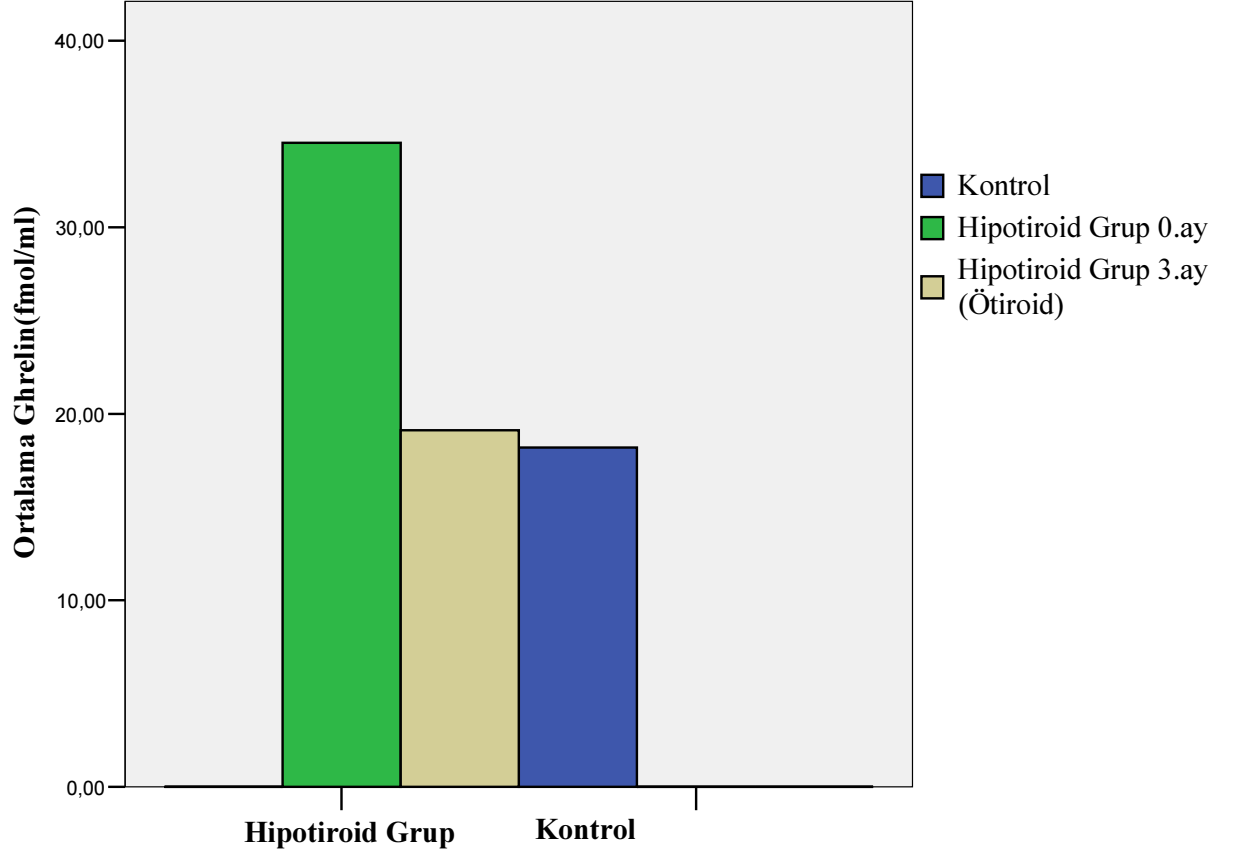
Şekil 4: Ghrelin ile sT4 korelasyonu



Şekil 5: Ghrelin ile sT3 korelasyonu



Şekil 6: Ghrelin ile HDL korelasyonu



Şekil 7: Grupların ortalama ghrelin seviyeleri

TARTIŞMA

Ghrelin keşfinden sonra BH salgılatıcı etkisinden daha çok enerji metabolizması ve yemek alımı ile olan etkileri ile gündemde kalmaktadır. Ghrelin uygulanması enerji alımı ve metabolizmasını etkiler (87). Ghrelin yemek alımını artırır (33), doz bağımlıdır ve santral uygulanması periferik uygulanmasına göre daha güçlü etki gösterir ki bu da santral etki gösterdiğini düşündürür (51). Ghrelin, artmış yemek alımı, azalmış yağ oksidasyonu , artmış yağlanma ile pozitif enerji dengesi yaratır (82,86). Ghrelinin yemek başlatılmasında ve uzun dönemli kilo kontrolünde etkili olduğu da saptanmıştır (49,123). Obezite, insülin resistansı durumlarında seviyeleri azalmış bulunmuşken; kalori kısıtlanması, kanser kaşeksisi, anoreksiya nervosa gibi negatif enerji dengesi olan durumlarda artmış bulunmuştur (59,91,112,119,124-126).

Ghrelin dolaşımında asetilli ve asetilsiz form olarak başlıca iki ana durumda bulunur. Asetilsiz/asetilli ghrelin oranı yaklaşık 2,5 'dur (25,26). Fakat ghrelinin nöroendokrin etkilerinden esas olarak asetilli olan sorumluyken, asetilsiz ghrelin ise metabolik etkilerinden sorumludur (127).

Enerji alımı ve tüketilmesi sıkıca bağlantılıdır ve tiroid işleviyle bu enerji düzeninin önemli ilişkileri vardır. Şiddetli açlıkta tiroid aksında baskılanmalar oluşur. Hipotiroid veya hipertiroid hastalarda yemek alımında, enerji tüketiminde ve vücut ağırlığında değişiklikler olur (128). Tirotoksik hastalarda kilo kaybı hastaların %85'inde mevcutken; hipotiroidide hastaların % 59'unda kilo alımı görülür (128).

Bu çalışmamızda ortalama ghrelin seviyeleri, hipotiroid bireylerde artmış, tedavi sonrası ise kontrol grubuna benzer şekilde düşmüştür. Ghrelin ile sT4 ve sT3 arasında negatif korelasyon, HDL ile pozitif korelasyon bulunmuştur. Tiroid fonksiyon bozuklukları ile ghrelin arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalar literatürde oldukça kısıtlıdır.

Caminos J.E. ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılan çalışmada, sıçanlara iki hafta boyunca L-tiroksin ve amino-triazol verilerek hipertiroid ve hipotiroid grup yaratılmıştır (120). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, anlamlı

olarak hipotiroidizm gastrik ghrelin mRNA seviyelerinde artış, hipertiroidizm ise düşüş yaratmıştır. Yine dolaşımdaki ghrelin seviyeleri de hipotiroid ratlarda anlamlı olarak artarken, hipertiroid grupta ise düşmüştür.

Riis A.L. ve arkadaşları 2003 yılında dokuz hipertiroid Graves' hasta ve sekiz kontrol üzerinde yaptıkları 2-3 aylık çalışma sonucunda ghrelin seviyelerinin hipertiroidide azaldığı, ötiroidizm sağlandıkça yükseldiğini bulmuşlardır (57). Fakat yine ötiroid halleri bile kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Serbest ve total T3 ve T4 seviyeleri ile negatif korelasyon gösterilmiştir. Dolaşımdaki ghrelin seviyelerinin hipertiroidideki artmış iştah ile ilgisi olamadığını öne sürmüşlerdir.

Beaumont N.J. ve arkadaşları, ghrelinin hareketsiz formunun plazmada HDL-kolesterole bağlandığını ve bununla taşındığını göstermişlerdir (129).

Kamegai J. Ve arkadaşları sıçanlarda T3 ve metimazol vererek oluşturdukları hipertiroid ve hipotiroid gruplarda pitüiter ghrelin içeriği ve pitüiter ghrelin mRNA seviyelerine bakmışlardır (130). Hipotiroid grupta pitüiter ghrelin peptid içeriği ve mRNA seviyeleri artmış, hipertiroid grupta ise azalmış saptanmıştır. Bunu da hipotiroidide artan, hipertiroidide düşen hipotalamik BSHH düzeylerine bağlamışlardır çünkü pitüiter ghrelin mRNA seviyeleri ile hipotalamik BSHH düzeyleri arasında pozitif korelasyon göstermişlerdir. Fakat bu çalışmada dolaşımdaki ghrelin seviyeleri ölçülmemiştir.

Gimenez-Palop O. ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan çalışmaya 24 hipertiroid, 17 hipotiroid hasta ve 45 kontrol alınmıştır (122). Hasta grupları tedavi sonrası tekrar değerlendirilmiştir. Hastaların antropometrik ve biyokimyasal ölçümleri de yapılmıştır. Hipertiroid grupta ghrelin seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuş, hipotiroid grupta ise değişiklik saptanmamıştır. Ghrelin, hipertiroid grupta BKİ, insülin, glukoz ve HOMA-IR ile negatif korelasyon göstermiştir. Hipertiroidideki azalmış ghrelin seviyelerinin, artmış insülin ve HOMA-IR'na bağlamışlardır. Fakat yazarların da belirttiği gibi çalışmada oroksijenik etkisi olmayan total ghrelin seviyeleri ölçülmüştür.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden de Altınova A. ve arkadaşları tarafından ghrelin ve tiroid disfonksiyonuyla ilgili iki çalışma yayınlanmıştır. Hipertiroid hastalarda ghrelin seviyelerinin bakıldığı çalışmaya 48 hasta 43

kontrol alınmıştır (131). Bu çalışmada da hipertiroidi durumunda ghrelin seviyeleri baskılanmış olarak bulunmuş; sT3, sT4, TSH, açlık plazma glukozu ile korelasyon saptanmıştır. İkinci çalışmada ise Hashimoto's Hipotiroidisi olan 47 hasta 48 kontrol ile karşılaştırılmıştır (121). Ghrelin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmış, tedavi sonrası ötiroidizm sağlandıktan sonra bile seviyeler kontrol grubunun altında kalmıştır. Bu düşüklük tiroid otoantikör seviyeleri yükseldikçe daha da belirginleşmiştir. Ghrelin; sT3 ve sT4 ile pozitif, yaş, anti-Tg, anti-TPO, total-LDL-VLDL kolesterol ile negatif korelasyon göstermiştir.

Literatürde bulabildiğimiz kadarıyla hipotiroidi ile ghrelin ilişkisini inceleyen iki hayvan ve iki insan olmak üzere toplam dört çalışma mevcuttur ve sonuçları da birbiriyle çelişkilidir. Bu yüzden hipotiroid ile ghrelin arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

Bu çalışmamızda ortalama ghrelin seviyeleri, hipotiroid bireylerde artmış, tedavi sonrası ise kontrol grubu seviyelerine benzer şekilde düşmüştür. Bu bulgular Caminos J.E. (120) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki sonuçlarla uyumlu; Gimenez-Palop O. ve arkadaşları (122), Altınova A. ve arkadaşlarının(121) yaptığı çalışmalardaki sonuçlarla uyumsuzdur. Gimenez-Palop O. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bakılan ghrelin formu total olandır. Daha önce yayınlanan çalışmalardan bilindiği gibi endokrinolojik olarak aktif olan form asetilli yani aktif formdur, dolayısıyla burada bakılan total ghrelinle ilişki saptanmamış olabilir(29,127).

Altınova A. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise aktif ghrelin seviyelerine bakılmış olmasına rağmen buradaki hasta popülasyonu otoimmün hipotiroidisi olan gruptur. Bizim çalışmamızda da otoimmün hipotiroidisi olan altı hasta diğerleriyle karşılaştırıldığında; bu alt gruptaki hastaların ortalama ghrelin seviyeleri diğer hipotiroidisi olan hastalardan daha düşük bulunmuştur, bu da Altınova A. çalışmasıyla uyumludur. İstatistiksel olarak anlamlı olmaması ise hasta sayısının azlığına bağlı olabilir. Bilindiği gibi otoimmün hastalıkların beraber görülmesi sık rastlanılan bir durumdur, pernisiyöz anemili hastaların yaklaşık yarısında, tiroid antijenlerine karşı oluşmuş antikorlar bulunmaktadır. Otoimmün tiroid hastalığı bulunanların %30'unda ise anti-pariyetal hücre

antikorları saptanmıştır (132). Checchi S. ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınladığı çalışmada 233 otoimmün gastriti olan hasta 211 kontrolle karşılaştırılmış ve ghrelin sekresyonunun otoimmün gastritte azaldığını belirtmişlerdir (133). Atrofik gastrit için risk altında olan hastaların saptanmasında serum ghrelin seviyeleri ölçümünü tavsiye etmişlerdir. Altınova A. ve arkadaşlarının çalışmasında ise tiroid otoantikorları ne kadar yüksekse ghrelin seviyeleri o kadar düşük bulunmuştur fakat otoimmün mide hastalığı yönünden bir araştırma belirtilmemiştir. Bu düşüklük atrofik gastrit varlığına bağlı olabilir.

Bu çalışmada ghrelin ile sT3 ve sT4 arasında negatif korelasyon saptanmıştır, ki bu da Riis A.L. ve arkadaşları, Altınova A. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur (57,131).

Ghrelin ile HDL arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Altınova ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da benzer sonuç bulunmuştur (131). Yine yapılan bir çalışmada ghrelinin bazı formlarının HDL kolesterole bağlanabildiği belirtilmiştir (129).

İnsülinin ghrelin sekresyonu üzerindeki etkisi hakkındaki bilgiler çelişkilidir. Birçok çalışmada ters ilişki saptanmışken (50,70,134) başka çalışmalar da ghrelinin insülin ile regüle edilmediğini söylemektedir (135,136). Bizim çalışmamızda da ilişki bulunamamıştır.

Obezite azalmış ghrelin seviyeleriyle ilişkili bulunmuştur (125). Ayrıca obez hastalarda, kilo kaybı sonrası ve anoreksiya nervosada arttığı gösterilmiştir (119,126,137). Bu sonuçlara bakarak hiperfaji ve kilo kaybının görüldüğü hipertiroidi gibi durumlarda artmış ghrelin seviyeleri beklenirken tam tersi durum saptanmıştır (57,120,122,131). Hipertiroidide tedavi sonrası artmış kiloya rağmen ghrelin seviyeleri yükselmektedir (57,122). Bu da hipertiroidideki artmış yemek alımının başka yollarla kontrol edildiğini düşündürebilir.

Hipotiroidi durumunda ise azalmış iştaha rağmen hastaların % 59'unda kilo alımı görülür (128). Ghrelin ise azalmış yağ oksidasyonu ve artmış yağlanma ile ilişkilidir. Bu çalışma sonucunda ghrelin seviyelerinin hipotiroidi durumunda arttığı bulunmuştur. Hipotiroidideki artmış kilo alımının ghrelinin hiperfaji etkisi ile olmadığı belirgindir.

Ghrelin plazma esterazlar tarafından yıkılır ve yarı ömrü kısadır. Hipertiroidide görülen artmış metabolik klerens etkisiyle prolaktin veya BH seviyelerinin azaldığı daha önce bildirilmiştir (138,139). Ghrelin için de bu ihtimal geçerlidir. Hipertiroidideki azalmış, hipotiroidideki artmış ghrelin seviyeleri belki de sadece klerense bağlı değişikliklerdir. Bu ihtimal hipertiroidide azalmış, hipotiroidide artmış ghrelin seviyelerini açıklayabilir, yine de bununla ilgili yapılmış çalışma yoktur ve hipotez olarak ileri sürülebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada hipotiroid hastalarda ortalama ghrelin seviyeleri artmış bulunmuştur. Hipotiroidide artmış kilo alımının ve adipozitenin sebebi artmış ghrelin seviyeleri olabilir. Dolaşımdaki ghrelinin beslenme davranışı ve enerji dengesi üzerinde önemli rol alıp almadığı hala açık değildir. Bununla birlikte bizim sonuçlarımız hipotiroidideki artmış kilo alımında ghrelinin etkileri olabileceğini gösterir. Fakat bu mekanizmayı aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K 1999 Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656-660
2. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M 2000 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* 141:4255-4261
3. Goto M, Arima H, Watanabe M, Hayashi M, Banno R, Sato I, Nagasaki H, Oiso Y 2006 Ghrelin increases neuropeptide Y and agouti-related peptide gene expression in the arcuate nucleus in rat hypothalamic organotypic cultures. *Endocrinology* 147:5102-5109
4. Karbonits M, Kojima M, Kangawa K, Grossman AB 2001 Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine* 14:101-104
5. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K 2000 Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 486:213-216
6. Tena-Sempere M, Barreiro ML, Gonzalez LC, GF, ZF 2002 Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 143:717-725

7. Volante M, Fulcheri E, Allia E, Cerrato M, Pucci A, Papotti M 2002 Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung. *J Histochem Cytochem* 50:1013-1021
8. Zhang YF, Wang HN, Hong TP 2006 [Ghrelin expression in the tissues of different thyroid diseases]. *Beijing Da Xue Xue Bao* 38:193-196
9. Gualillo O, Caminos J, Blanco M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, Dieguez C, Casanueva FF 2001 Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 142:788-794
10. Hattori N, Saito T, Yagyu T, Jiang BH, Kitagawa K, Inagaki C 2001 GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4284-4291
11. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberators PA, Rosenblum CL, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Van der Ploeg LH 1996 A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273:974-977
12. FA Momany, CY Bowers, GA Reynolds, D Chang, A Hong and K Newlander 1981 Design, synthesis, and biological activity of peptides which release growth hormone in vitro. *Endocrinology* 108, 31-39
13. Momany FA, Bowers CY, Reynolds GA, Hong A, Newlander K 1984 Conformational energy studies and *in vitro* and *in vivo* activity data on growth hormone-releasing peptides. *Endocrinology* 114:1531--1536
14. Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, Wyvratt Jr MJ, Fisher MH, Nargund RP, Patchett AA 1997

Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 18:621--645

15. Patchett AA, Nargund RP, Tata JR, Chen MH, Barakat KJ, Johnston DB, Cheng K, Chan WW, Butler B, Hickey G 1995 Design and biological activities of L-163,191 (MK-0677): a potent, orally active growth hormone secretagogue. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:7001--7005
16. Copinschi G, Van Onderbergen A, L Hermite-Baleriaux M, Mendel CM, Caufriex A, Leproult R, Bolognese JA, De Smet M, Thorner MO, Van Cauter E 1996 1996 Effects of a 7-day treatment with a novel, orally active, growth hormone (GH) secretagogue, MK-677, on 24-hour GH profiles, insulin-like growth factor I, and adrenocortical function in normal young men. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2776--2782
17. Papotti M, Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G 2000 Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3803-3807
18. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K 2000 Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 279:909--913
19. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K 2003 Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 278:64-70
20. Del Rincon JP, Thorner MO, Gaylinn BG 2001 Motilin-related peptide and ghrelin: lessons from molecular techniques, peptide chemistry, and receptorbiology
Gastroenterology 120:587-588

21. Tomasetto C, Wendling C, Rio MC, Poitras P 2001 Identification of cDNA encoding motilin related peptide/ghrelin precursor from dog fundus. *Peptides* 22:2055-2059
22. Tomasetto C, Karam SM, Ribieras S, Masson R, Lefebvre O, Staub A, Alexander G, Chenard MP, Rio MC 2000 Identification and characterization of a novel gastric peptide hormone: the motilin-related peptide. *Gastroenterology* 119:395-405
23. Smith RG, Leonard R, Bailey AR, Palyha O, Feighner S, Tan C, McKee KK, Pong SS, Griffin P, Howard A 2001 Growth hormone secretagogue receptor family members and ligands. *Endocrine* 14:9--14
24. Bowers CY 2001 Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1464--1469
25. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K 2001 Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab* 12:118--122
26. Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E 2002 Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 440:235--254
27. McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, Smith RG, Howard AD, Van der Ploeg LH 1997 Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 46:426--434
28. Palyha OC, Feighner SD, Tan CP, McKee KK, Hreniuk DL, Gao YD, Schleim KD, Yang L, Morriello GJ, Nargund R, Patchett AA, Howard AD, Smith RG 2000 Ligand activation domain of human orphan growth

hormone (GH) secretagogue receptor (GHS-R) conserved from Pufferfish to humans. *Mol Endocrinol* 14:160-169

29. Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Filtri L, Arvat E, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E 2003 Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 26:192-196
30. Tullin S, Hansen BS, Ankersen M, Moller J, Von Cappelen KA, Thim L 2000 Adenosine is an agonist of the growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology* 141:3397-3402
31. Deghenghi R, Papotti M, Ghigo E, Muccioli G 2001 Cortistatin, but not somatostatin, binds to growth hormone secretagogue (GHS) receptors of human pituitary gland. *J Endocrinol Invest* 24:RC1-RC3
32. Muccioli G, Ghe C, Ghigo MC, Papotti M, Arvat E, Boghen MF, Nilsson MH, Deghenghi R, Ong H, Ghigo E 1998 Specific receptors for synthetic GH secretagogues in the human brain and pituitary gland. *J Endocrinol* 157:99-106
33. Katayama M, Nogami H, Nishiyama J, Kawase T, Kawamura K 2000 Developmentally and regionally regulated expression of growth hormone secretagogue receptor mRNA in rat brain and pituitary gland. *Neuroendocrinology* 72:333-340
34. Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Marrocco T, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G, Papotti M 2002 The antiproliferative effect of synthetic peptidyl GH secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology* 143:484-491
35. Cassoni P, Papotti M, Ghe C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, Deghenghi R, Reissmann T, Ghigo E, Muccioli G 2001 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* 86:1738-1745
36. 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 2002 Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 159:1029-1037
 37. Filigheddu N, Fubini A, Baldanzi G, Cutrupi S, Ghe C, Catapano F, Broglio F, Bosia A, Papotti M, Muccioli G, Ghigo E, Deghenghi R, Graziani A 2001 Hexarelin protects H9c2 cardiomyocytes from doxorubicin-induced cell death. *Endocrine* 14:113-119
 38. Deghenghi R, Papotti M, Ghigo E, Muccioli G, Locatelli V 2001 Somatostatin octapeptides (lanreotide, octreotide, vapreotide, and their analogs) share the growth hormone-releasing peptide receptor in the human pituitary gland. *Endocrine* 14:29--33
 39. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, Van Der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E 2001 Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5083--5086
 40. Banks WA, Tschop M, Robinson SM, Heiman ML 2002 Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 302:822-827

41. Luckman SM, Rosenzweig I, Dickson SL 1999 Activation of arcuate nucleus neurons by systemic administration of leptin and growth hormone-releasing peptide-6 in normal and fasted rats. *Neuroendocrinology* 70:93-100
42. Holdstock C, Engstrom BE, Ohrvall M, Lind L, Sundbom M, Karlsson FA 2003 Ghrelin and adipose tissue regulatory peptides: effect of gastric bypass surgery in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3177-3183
43. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Yada T, Matsukura S 2002 Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 51:124-129
44. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M 2002 The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2988
45. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB 2001 The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 86:881-887
46. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL 2003 The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37:649-661

47. Tolle V, Bassant MH, Zizzari P, Poindessous-Jazat F, Tomasetto C, Epelbaum J, Bluet-Pajot MT 2002 Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with GH, feeding behavior, and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology* 143:1353-1361
48. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ 2002 Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery
42. *N Engl J Med* 346:1623-1630
49. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS 2001 A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50:1714-1719
50. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, Boyadjian R 2002 Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3997-4000
51. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML 2000 Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407:908-913
52. Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA 2003 Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2180-2184
53. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ 2002 Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery *N Engl J Med* 346:1623-1630
54. Freda PU, Reyes CM, Conwell IM, Sundeen RE, Wardlaw SL 2003 Serum ghrelin levels in acromegaly: effects of surgical and long-acting octreotide therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2037-2044

55. Geloneze B, Tambascia MA, Pilla VF, Geloneze SR, Repetto EM, Pareja JC 2003 Ghrelin: a gut-brain hormone: effect of gastric bypass surgery. *Obes Surg* 13:17-22
56. Mustonen AM, Nieminen P, Hyvarinen H 2001 Preliminary evidence that pharmacologic melatonin treatment decreases rat ghrelin levels. *Endocrine* 16:43-46
57. Riis AL, Hansen TK, Moller N, Weeke J, Jorgensen JO 2003 Hyperthyroidism is associated with suppressed circulating ghrelin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 88:853-857
58. Sugino T, Yamaura J, Yamagishi M, Kurose Y, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y 2003 Involvement of cholinergic neurons in the regulation of the ghrelin secretory response to feeding in sheep. *Biochem Biophys Res Commun* 304:308-312
59. Ariyasu H, Takaya K, Hosoda H, Iwakura H, Ebihara K, Mori K, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K 2002 Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: evidenced by a specific RIA for the active form of ghrelin. *Endocrinology* 143:3341-3350
60. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ 2002 Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery *N Engl J Med* 346:1623-1630
61. Arvat E, Di VL, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E 2000 Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 23:493-495

62. Arvat E, Maccario M, Di VL, Broglio F, Benso A, Gottero C, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E 2001 Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1169-1174
63. Bowers CY 1998 Growth hormone-releasing peptide (GHRP). *Cell Mol Life Sci* 54:1316-1329
64. Cheng K, Chan WW, Barreto A, Jr., Convey EM, Smith RG 1989 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* 124:2791-2798
65. Hickey GJ, Drisko J, Faidley T, Chang C, Anderson LL, Nicolich S, McGuire L, Rickes E, Krupa D, Feeney W, Friscino B, Cunningham P, Frazier E, Chen H, Laroque P, Smith RG 1996 Mediation by the central nervous system is critical to the in vivo activity of the GH secretagogue L-692,585. *J Endocrinol* 148:371-380
66. Ghigo E, Arvat E, Giordano R, Broglio F, Gianotti L, Maccario M, Bisi G, Graziani A, Papotti M, Muccioli G, Deghenghi R, Camanni F 2001 Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine* 14:87-93
67. Maheshwari HG, Pezzoli SS, Rahim A, Shalet SM, Thorner MO, Baumann G 2002 Pulsatile growth hormone secretion persists in genetic growth hormone-releasing hormone resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282:E943-E951

68. Gondo RG, guiar-Oliveira MH, Hayashida CY, Toledo SP, Abelin N, Levine MA, Bowers CY, Souza AH, Pereira RM, Santos NL, Salvatori R 2001 Growth hormone-releasing peptide-2 stimulates GH secretion in GH-deficient patients with mutated GH-releasing hormone receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3279-3283
69. 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 2003 The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 88:1537-1542
70. Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP, Rife F, Heptulla RA, Tamborlane WV, Sherwin RS 2003 The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E313-E316
71. Lucidi P, Murdolo G, Di LC, De CA, Parlanti N, Fanelli C, Santeusanio F, Bolli GB, De FP 2002 Ghrelin is not necessary for adequate hormonal counterregulation of insulin-induced hypoglycemia. *Diabetes* 51:2911-2914
72. Ghigo E, Arvat E, Aimaretti G, Broglio F, Giordano R, Camanni F 1998 Diagnostic and therapeutic uses of growth hormone-releasing substances in adult and elderly subjects. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 12:341-358
73. Hataya Y, Akamizu T, Takaya K, Kanamoto N, Ariyasu H, Saijo M, Moriyama K, Shimatsu A, Kojima M, Kangawa K, Nakao K 2001 A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4552
74. Ghigo E, Bellone J, Aimaretti G, Bellone S, Loche S, Cappa M, Bartolotta E, Dammacco F, Camanni F 1996 Reliability of provocative tests to assess

- growth hormone secretory status. Study in 472 normally growing children. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3323-3327
75. Bowers CY, Reynolds GA, Durham D, Barrera CM, Pezzoli SS, Thorner MO 1990 Growth hormone (GH)-releasing peptide stimulates GH release in normal men and acts synergistically with GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 70:975-982
 76. 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 2000 Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85:4908-4911
 77. Ghigo E, Arvat E, Camanni F 1998 Growth hormone secretagogues as corticotrophin-releasing factors. *Growth Horm IGF Res* 8 Suppl B:145-148
 78. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Prodam F, Grottoli S, Papotti M, Muccioli G, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E 2002 Endocrine activities of cortistatin-14 and its interaction with GHRH and ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3783-3790
 79. van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E 2004 Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 25:426-457
 80. Locke W, Kirgis HD, Bowers CY, Abdoh AA 1995 Intracerebroventricular growth-hormone-releasing peptide-6 stimulates eating without affecting plasma growth hormone responses in rats. *Life Sci* 56:1347-1352

81. Dickson SL, Luckman SM 1997 Induction of c-fos messenger ribonucleic acid in neuropeptide Y and growth hormone (GH)-releasing factor neurons in the rat arcuate nucleus following systemic injection of the GH secretagogue, GH-releasing peptide-6. *Endocrinology* 138:771-777
82. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR 2000 The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 141:4325-4328
83. Vernon RG 1996 GH inhibition of lipogenesis and stimulation of lipolysis in sheep adipose tissue: involvement of protein serine phosphorylation and dephosphorylation and phospholipase C. *J Endocrinol* 150:129-140
84. Dornonville de la CC, Bjorkqvist M, Sandvik AK, Bakke I, Zhao CM, Chen D, Hakanson R 2001 A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul Pept* 99:141-150
85. Seoane LM, Lopez M, Tovar S, Casanueva FF, Senaris R, Dieguez C 2003 Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology* 144:544-551
86. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S 2001 A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409:194–198
87. Hewson AK, Dickson SL 2000 Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *J Neuroendocrinol* 12:1047-1049
88. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I 2001 Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic

neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 50:2438-2443

89. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I 2000 Central effect of ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, on hypothalamic peptide gene expression. *Endocrinology* 141:4797-4800
90. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschop M 2001 Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance--a hypothalamic perspective. *Endocrinology* 142:4163-4169
91. Spiegelman BM, Flier JS 2001 Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 104:531-543
92. Schmid DA, Wichniak A, Uhr M, Ising M, Brunner H, Held K, Weikel JC, Sonntag A, Steiger A 2006 Changes of sleep architecture, spectral composition of sleep EEG, the nocturnal secretion of cortisol, ACTH, GH, prolactin, melatonin, ghrelin, and leptin, and the DEX-CRH test in depressed patients during treatment with mirtazapine. *Neuropsychopharmacology* 31:832-844
93. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, Mathias S, Schmid DA, Uhr M, Steiger A 2003 Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E407-E415
94. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Fujimiya M, Katsuura G, Makino S, Fujino MA, Kasuga M 2001 A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioral responses to stress in mice. *Neuroendocrinology* 74:143-147
95. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Nijima A, Fujino MA, Kasuga M 2001 Ghrelin is an

appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 120:337-345

96. Djurhuus CB, Hansen TK, Gravholt C, Orskov L, Hosoda H, Kangawa K, Jorgensen JO, Holst JJ, Schmitz O 2002 Circulating levels of ghrelin and GLP-1 are inversely related during glucose ingestion. *Horm Metab Res* 34:411-413
97. Djurhuus CB, Hansen TK, Holst JJ, Schmitz O 2002 Feast or famine - are GLP-1 and ghrelin secretion intertwined? *Horm Metab Res* 34:353-354
98. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K 2000 Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 276:905-908
99. Tschop M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, Folwaczny C 2001 Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 24:RC19-RC21
100. Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M 2000 Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 275:477-480
101. Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijjima A, Matsuo H, Kangawa K, Nakazato M 2002 The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 123:1120-1128
102. Broglio F, Gottero C, van KP, Prodam F, Destefanis S, Benso A, Gauna C, Hofland L, Arvat E, van der Lely AJ, Ghigo E 2004 Acetylcholine regulates ghrelin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2429-2433

103. Trudel L, Tomasetto C, Rio MC, Bouin M, Plourde V, Eberling P, Poitras P 2002 Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282:G948-G952
104. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F 2002 The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 107:63-69
105. Murata M, Okimura Y, Iida K, Matsumoto M, Sowa H, Kaji H, Kojima M, Kangawa K, Chihara K 2002 Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 277:5667-5674
106. Choi K, Roh SG, Hong YH, Shrestha YB, Hishikawa D, Chen C, Kojima M, Kangawa K, Sasaki S 2003 The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *Endocrinology* 144:754-759
107. Cummings DE, Clement K, Purnell JQ, Vaisse C, Foster KE, Frayo RS, Schwartz MW, Basdevant A, Weigle DS 2002 Elevated plasma ghrelin levels in Prader Willi syndrome. *Nat Med* 8:643-644
108. Katugampola SD, Pallikaros Z, Davenport AP 2001 [125I-His(9)]-ghrelin, a novel radioligand for localizing GHS orphan receptors in human and rat tissue: up-regulation of receptors with atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 134:143-149
109. Bodart V, Febbraio M, Demers A, McNicoll N, Pohankova P, Perreault A, Sejlitz T, Escher E, Silverstein RL, Lamontagne D, Ong H 2002 CD36 mediates the cardiovascular action of growth hormone-releasing peptides in the heart. *Circ Res* 90:844-849

110. Locatelli V, Rossoni G, Schweiger F, Torsello A, De GC, V, Bernareggi M, Deghenghi R, Muller EE, Berti F 1999 Growth hormone-independent cardioprotective effects of hexarelin in the rat. *Endocrinology* 140:4024-4031
111. Nagaya N, Kangawa K 2006 Therapeutic potential of ghrelin in the treatment of heart failure. *Drugs* 66:439-448
112. Nagaya N, Itoh T, Murakami S, Oya H, Uematsu M, Miyatake K, Kangawa K 2005 Treatment of cachexia with ghrelin in patients with COPD. *Chest* 128:1187-1193
113. Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y, Uematsu M, Ono F, Shimizu W, Ueno K, Kitakaze M, Miyatake K, Kangawa K 2004 Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure. *Circulation* 110:3674-3679
114. Nagaya N, Kangawa K 2004 [Ghrelin in the treatment of cardiovascular disease]. *Nippon Rinsho* 62 Suppl 9:430-434
115. Kanamoto N, Akamizu T, Hosoda H, Hataya Y, Ariyasu H, Takaya K, Hosoda K, Saijo M, Moriyama K, Shimatsu A, Kojima M, Kangawa K, Nakao K 2001 Substantial production of ghrelin by a human medullary thyroid carcinoma cell line. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4984-4990
116. Cassoni P, Muccioli G, Marrocco T, Volante M, Allia E, Ghigo E, Deghenghi R, Papotti M 2002 Cortistatin-14 inhibits cell proliferation of human thyroid carcinoma cell lines of both follicular and parafollicular origin. *J Endocrinol Invest* 25:362-368
117. Cassoni P, Papotti M, Catapano F, Ghe C, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G 2000 Specific binding sites for synthetic growth hormone

- secretagogues in non-tumoral and neoplastic human thyroid tissue. *J Endocrinol* 165:139-146
118. Nagaya N, Kojima M, Kangawa K 2006 Ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in the treatment of cardiopulmonary-associated cachexia. *Intern Med* 45:127-134
119. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ 2002 Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 346:1623-1630
120. Caminos JE, Seoane LM, Tovar SA, Casanueva FF, Dieguez C 2002 Influence of thyroid status and growth hormone deficiency on ghrelin. *Eur J Endocrinol* 147:159-163
121. Altinova AE, Toruner F, Karakoc A, Yetkin I, Ayvaz G, Cakir N, Arslan M 2006 Serum Ghrelin Levels in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* 16:1259-1264
122. Gimenez-Palop O, Gimenez-Perez G, Mauricio D, Berlanga E, Potau N, Vilardell C, Arroyo J, Gonzalez-Clemente JM, Caixas A 2005 Circulating ghrelin in thyroid dysfunction is related to insulin resistance and not to hunger, food intake or anthropometric changes. *Eur J Endocrinol* 153:73-79
123. Cummings DE, Frayo RS, Marmonier C, Aubert R, Chapelot D 2004 Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287:E297-E304
124. Ostergard T, Hansen TK, Nyholm B, Gravholt CH, Djurhuus CB, Hosoda H, Kangawa K, Schmitz O 2003 Circulating ghrelin concentrations are reduced in healthy offspring of Type 2 diabetic subjects, and are increased

in women independent of a family history of Type 2 diabetes.
Diabetologia 46:134-136

125. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML 2001 Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50:707-709
126. Broglio F, Gianotti L, Destefanis S, Fassino S, Abbate DG, Mondelli V, Lanfranco F, Gottero C, Gauna C, Hofland L, van der Lely AJ, Ghigo E 2004 The endocrine response to acute ghrelin administration is blunted in patients with anorexia nervosa, a ghrelin hypersecretory state. *Clin Endocrinol (Oxf)* 60:592-599
127. Broglio F, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Muccioli G, Papotti M, Abribat T, van der Lely AJ, Ghigo E 2004 Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3062-3065
128. Ingbar DH 2000 The Thyroid Gland. *Textbook of Endocrinology*. 2000 ed.; 975-1170
129. Beaumont NJ, Skinner VO, Tan TM, Ramesh BS, Byrne DJ, MacColl GS, Keen JN, Bouloux PM, Mikhailidis DP, Bruckdorfer KR, Vanderpump MP, Srai KS 2003 Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase. *J Biol Chem* 278:8877-8880
130. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Tatsuguchi A, Sugihara H, Oikawa S, Kineman RD 2004 The role of pituitary ghrelin in growth hormone (GH) secretion: GH-releasing hormone-dependent regulation of pituitary ghrelin gene expression and peptide content. *Endocrinology* 145:3731-3738

131. Altinova AE, Toruner FB, Akturk M, Elbeg S, Yetkin I, Cakir N, Arslan M 2006 Reduced serum acylated ghrelin levels in patients with hyperthyroidism. *Horm Res* 65:295-299
132. Bernard M, Babior H, Franklin Bunn 2001 Megaloblastic Anemias. *Harrison's Principles of Internal Medicine* .; 677-678
133. Checchi S, Montanaro A, Pasqui L, Ciuoli C, Cevenini G, Sestini F, Fioravanti C, Pacini F 2007 Serum ghrelin as a marker of atrophic body gastritis in patients with parietal cell antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 92:4346-4351
134. Murdolo G, Lucidi P, Di LC, Parlanti N, De CA, Fatone C, Fanelli CG, Bolli GB, Santeusanio F, De FP 2003 Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. *Diabetes* 52:2923-2927
135. Caixas A, Bashore C, Nash W, Pi-Sunyer F, Laferrere B 2002 Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1902
136. Schaller G, Schmidt A, Pleiner J, Woloszczuk W, Wolzt M, Luger A 2003 Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes* 52:16-20
137. Hansen TK, Dall R, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Christiansen JS, Jorgensen JO 2002 Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 56:203-206
138. Taylor AL, Finster JL, Mintz DH 1969 Metabolic clearance and production rates of human growth hormone. *J Clin Invest* 48:2349-2358

139. Snyder PJ, Jacobs LS, Utiger RD, Daughaday WH 1973 Thyroid hormone inhibition of the prolactin response to thyrotropin-releasing hormone. *J Clin Invest* 52:2324-2329