

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Ο ρόλος της γκρελίνης στην ομοιόσταση της γλυκόζης

Η γκρελίνη, ένα πρόσφατα αναγνωρισμένο ακυλιωμένο πεπτιδίο 28 αμινοξέων, αποτελεί ένα ενδογενές μόριο σύνδεσης για τον υποδοχέα των εκκρινικών αναλόγων της αυξητικής ορμόνης υπότυπου 1a (GHS-R1a). Η γκρελίνη είναι περισσότερο γνωστή για τις υποθαλαμικές της δράσεις στους νευρώνες που εκκρίνουν την ορμόνη έκκρισης της αυξητικής ορμόνης (GHRH) και στους νευρώνες τους σχετιζόμενους με το νευροπεπτίδιο Υ και το agouti-related πεπτιδίο. Επιπλέον, ενώ η γκρελίνη επηρεάζει διάφορα συστήματα και δρα σε ποικίλα όργανα, πρόσφατα μόνο αναγνωρίστηκε η πολυπλοκότητα των λειτουργιών της στα θηλαστικά και ιδιαίτερα στον άνθρωπο. Η γκρελίνη παράγεται κυρίως στο στόμαχο, αλλά εκκρίνεται σε χαμηλότερα επίπεδα στον υποθάλαμο και σε πολλούς άλλους περιφερικούς ιστούς. Η γκρελίνη ρυθμίζει την πρόσληψη τροφής και κατά συνέπεια το σωματικό βάρος, ενώ ο υποδοχέας GHS-R1a, που εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα στον εγκέφαλο, περιλαμβάνοντας και τους υποθαλαμικούς νευρώνες, φαίνεται να συμμετέχει στη ρύθμιση της λήψης τροφής και των επιπέδων της γλυκόζης. Η αμοιβαία σχέση αλληλεξάρτησης που υπάρχει μεταξύ γκρελίνης και ινσουλίνης φανερώνει ότι η γκρελίνη μετέχει επίσης στη ρύθμιση της ομοιόστασης της γλυκόζης. Αποκοπή του μορίου της γκρελίνης με μηχανισμούς μετάλλαξης σε ποντίκια αύξησε την προκαλούμενη από τη γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης και βελτίωσε την ινσουλινική ευαισθησία στους περιφερικούς ιστούς. Επιπλέον, πρόσφατες εργασίες υποδεικνύουν τη συμμετοχή των μηχανισμών δράσης της γκρελίνης στο μεταβολικό σύνδρομο. Επομένως, η γκρελίνη και ο υποδοχέας της αποτελούν έναν πιθανό και πολλά υποσχόμενο στόχο δράσης για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων σχετικά με τη θεραπεία του διαβήτη. Παράγοντες που δεσμεύουν το σύστημα σύνδεσης-μεταφοράς σήματος της γκρελίνης αποτελούν επίσης πιθανά μόρια-στόχους. Η ανασκόπηση αυτή εστιάζεται στο νέο αναδυόμενο ρόλο της γκρελίνης στην ομοιόσταση της γλυκόζης και στην έκκριση της ινσουλίνης, αναζητώντας ένα νέο πιθανό θεραπευτικό στόχο για το σακχαρώδη διαβήτη, γεγονός που θα οδηγήσει στη μείωση των υψηλών ποσοστών νοσηρότητας και θνησιμότητας στα σακχαροδιαβητικά άτομα.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Δεκέμβριο του 1999, οι Kojima et al ανέφεραν για πρώτη φορά την εντόπιση, στο στόμαχο επιμύων, ενός ενδογενούς παράγοντα σύζευξης για τον υποδοχέα των εκκρινικών αναλόγων της αυξητικής ορμόνης υπότυπου-1a (GHS-R1a), που προκαλεί στον άνθρωπο την έκκριση αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση.¹ Έως τότε, οι επιστήμονες γνώριζαν την ύπαρξη πολλών ενδογενών πεπτιδίων (φυσικών και συνθετικών) που προκαλούσαν εκλεκτικά την έκκριση αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση (ονομάζονταν growth hormone secretagogues, GHSs) με μηχανισμό δράσης διαφορετικό από αυτόν της GHRH.

Πρώτοι οι Bowers και Momany, το 1976, στην προσπάθειά τους να αναπτύξουν περισσότερο ισχυρά και λιγότερο εθιστικά ναρκωτικά αναλγητικά, μελετώντας συνθετικά ανάλογα των μετεγκεφαλινών παρατήρησαν ότι ορισμένα νέα συνθετικά οπιοειδικά παράγωγα εμφάνιζαν ασθενή εκκρινική δράση αυξητικής ορμόνης.²⁻⁴ Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στην παραγωγή των εκκρινικών αναλόγων της αυξητικής ορμόνης (GHSs), με πρώτο το πεπτιδίο-6 απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GHRP-6) και ακολούθως των GHRP-2, GHRP-1, της εξαρελίνης (hexarelin), της ηπαμορελίνης (ipamoreline) και μετέπειτα, το 1993, των μη πεπτιδικών αναλόγων L-692, 429, MK-0677 και NN703.^{5,6}

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2009, 26(1):42-50
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2009, 26(1):42-50

Δ. Νικολόπουλος,
Γ. Κουράκλης

Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική,
Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Νοσοκομείο «Λαϊκό», Αθήνα

The role of ghrelin on glucose
homeostasis

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Γκρελίνη
Έκκριση ινσουλίνης
Εκκρινικά ανάλογα αυξητικής ορμόνης (GHSs)
Ομοιόσταση γλυκόζης
Σακχαρώδης διαβήτης

Υποβλήθηκε 7.2.2008
Εγκρίθηκε 20.2.2008

Το 1996 έγινε από τους Smith et al⁷ ο προσδιορισμός ενός ειδικού G-πρωτεϊνικού συζευκτικού υποδοχέα, όπου συνδέονταν μόρια τα οποία προκαλούσαν την έκκριση αυξητικής ορμόνης [growth hormone secretagogues receptor (GHS-R)], και λίγο αργότερα, το 1999, ακολούθησε η ανακάλυψη του ενδογενούς μορίου σύζευξης για τον υποδοχέα αυτόν, το οποίο ονομάστηκε γκρελίνη.^{1,8} Το όνομα «γκρελίνη» (ghrelin) προήλθε από την πρωτο-ινδοευρωπαϊκή λέξη «γκρε» (“ghre”), που σημαίνει ανάπτυξη, και «ρελίνη» (“relin”), μια και δράση της είναι η έκκριση αυξητικής ορμόνης (“release”).

Η ανακάλυψη της γκρελίνης αποτελεί ένα παράδειγμα ανάστροφης φαρμακολογίας (reverse pharmacology), εφόσον από τα συνθετικά εκκριτικά ανάλογα GHSs οδηγήθηκαν στην ανακάλυψη του φυσικού υποδοχέα της γκρελίνης (GHS-R) και τελικά στην ανακάλυψη του φυσικού παράγοντα σύζευξης, της γκρελίνης.^{9,10}

Κατά τη διάρκεια της περιόδου 1990–1993 ερευνήθηκε ο μηχανισμός δράσης των GHSs. Παρόλο που η απελευθέρωση αυξητικής ορμόνης (GH) από την υπόφυση ήταν γνωστό ότι ενεργοποιείται από την υποθαλαμική GHRH, οι ερευνητές θεώρησαν ότι εξωγενώς χορηγούμενα GHSs μπορεί να προκαλέσουν έκκριση αυξητικής ορμόνης μέσω άλλου υποδοχέα και διαφορετικής οδού. Η ορμόνη απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GHRH), δρώντας στον GHRH-υποδοχέα, αυξάνει την ενδοκυτταρική κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP), η οποία δρα ως δεύτερος αγγελιοφόρος. Αντίθετα, η γκρελίνη και τα εκκριτικά ανάλογα της αυξητικής ορμόνης (GHSs) δρουν σε διαφορετικό υποδοχέα αυξάνοντας την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ασβεστίου (Ca²⁺) μέσω της 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης, η οποία δρα ως σήμα μεταγωγής.¹¹

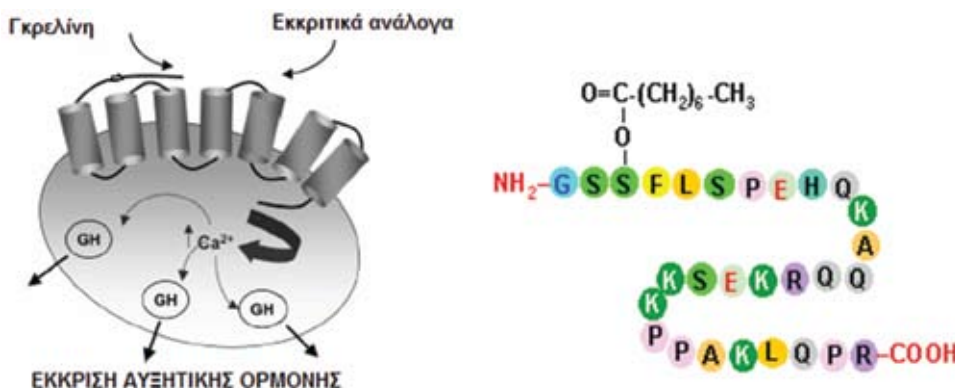
2. ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΤΗΣ ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ GHS-R1A ΥΠΟΔΟΧΕΑ

Η γκρελίνη είναι ένα πεπτιδίο αποτελούμενο από 28 αμινοξέα, με ένα χαρακτηριστικό λιπαρό οξύ τοποθετημένο

στο N-τελικό άκρο του τρίτου αμινοξέος και, συγκεκριμένα, στην αμινομάδα του αμινοξέος σερίνης (Ser). Χρησιμοποιώντας υψηλής πίεσης υγρή χρωματογραφία (high pressure liquid chromatography, HPLC) και φασματομετρία μάζας, προσδιορίστηκε η αλληλουχία αμινοξέων του μορίου της γκρελίνης. Πιο συγκεκριμένα, το άτομο του υδρογόνου της υδροξυ-ομάδας (-OH) στο αμινοτελικό άκρο (N-άκρο) του τρίτου αμινοξέος (σερίνης) έχει αντικατασταθεί (εστεροποιηθεί) από το υδροφοβικό τμήμα C₇H₁₅CO- (οκτανοϊκή κετόνη ή οκτανόνη). Με δύο λόγια, η υδροξυ-ομάδα της σερίνης (Ser) είναι ακυλιωμένη με την κετονομάδα του καπρυλικού οξέος (εικ. 1). Η εστεροποίηση αυτή λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων της γκρελίνης, πριν από την έκκριση αυτής στην κυκλοφορία και όχι σε όλο το ποσοστό της παραγόμενης γκρελίνης (στον άνθρωπο, στο 80%).¹²

Στη φύση (στα θηλαστικά) δεν υπάρχει κανένα άλλο πεπτιδίο που να έχει την ακυλομάδα ως μετα-μεταφραστική τροποποίηση [με μόνη εξαίρεση τις G-πρωτεΐνες και τους υποδοχείς τους, όπου υπάρχει σύζευξη με το παλμιτικό οξύ (C₁₆) και το μυριστικό οξύ (C₁₄)]. Αυτή η τροποποίηση –ακυλίωση της Ser³– θεωρείται σημαντική για την άσκηση τόσο των ενδοκρινικών όσο και των μη ενδοκρινικών ενεργειών του πεπτιδίου της γκρελίνης.¹¹ Εικάζεται επίσης ότι η ακυλομάδα καθιστά υδρόφοβο το αμινοτελικό (N-τελικό) άκρο της γκρελίνης, παρέχοντας έτσι στην γκρελίνη τη δυνατότητα να εισέρχεται στον εγκέφαλο, δηλαδή να διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και με τον τρόπο αυτόν να φθάνει στο στόχο της, που είναι ο υποθάλαμος και η υπόφυση.^{13,14}

Η n-οκτανοϊκή ομάδα της σερίνης στο μόριο της γκρελίνης φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για κάποιες από τις βιολογικές ενέργειες του πεπτιδίου, συμπεριλαμβανομένων της απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GH), της ρύθμισης της ενεργειακής ομοιόστασης και της επίδρασης στην όρεξη. Μη ακυλιωμένα μόρια γκρελίνης (desoctanoyl ή desacyl) κυκλοφορούν σε πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απ’ ό,τι



Εικόνα 1. Η γκρελίνη, εκκριτικά ανάλογα αυξητικής ορμόνης (GHSs) και υποδοχέας GHS-R.

η ακυλιωμένη μορφή, χωρίς όμως να μετατοπίζουν την γκρελίνη από τις θέσεις σύνδεσής της στον υποθάλαμο και στην υπόφυση,¹⁵ ενώ δεν μπορεί να ενεργοποιήσουν την απελευθέρωση GH *in vivo*, σε επίμυες ή σε ανθρώπους.^{1,16} Η βιοενεργός γκρελίνη δεν αποτελεί μια σταθερή αναλογία στο σύνολο της ολικής γκρελίνης στα διάφορα είδη. Για παράδειγμα, στους ανθρώπους η αναλογία αυτή είναι 4:1.^{12,17,18} Η συγκέντρωση της γκρελίνης στο πλάσμα υγιών ανθρώπων κυμαίνεται φυσιολογικά μεταξύ 80–154,4 fmol/mL (117,2±37,2) [συνολική συγκέντρωση γκρελίνης: ακυλιωμένη γκρελίνη και μη ακυλιωμένη (acyl- και des acyl-), έναντι 10–20 fmol/mL της η-οκτανοϊκής γκρελίνης].¹ Τέλος, το ανθρώπινο γονίδιο της γκρελίνης έχει εντοπιστεί στο χρωμόσωμα 3 (3p25–26).¹⁹

Στον άνθρωπο έχουν ταυτοποιηθεί δύο ισομορφές για τον GHS-R υποδοχέα: ο GHS-R1a και ο GHS-R1b. Ο GHS-R1a υποδοχέας εντοπίστηκε στην κυτταρική μεμβράνη των ηπατοκυττάρων, ενώ ο GHS-R1b στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων και αργότερα και άλλων περιφερικών ιστών.²⁰ Η πλήρης άλυσος του ανθρώπινου συμπληρωματικού DNA (cDNA) του υποδοχέα GHS-R1a έχει αποκωδικοποιηθεί και παρουσιάζει πολύ υψηλή ομοιότητα με τους GHS υποδοχείς άλλων θηλαστικών.^{7,21} Το γονίδιο του ανθρώπινου υποδοχέα GHS-R1 εντοπίστηκε από τους Howard et al στο χρωμόσωμα 3q26.2 και συγκροτείται από δύο εξόνια, τα οποία χωρίζονται ενδιάμεσα από ένα εσώνιο (ή ιντρόνιο). Τα εξόνια κωδικοποιούν μια περιοχή επτά διαμεμβρανικών πρωτεϊνών.²¹

Τα συνθετικά ανάλογα GHSs, δρώντας μέσω των GHS-R1a υποδοχέων, προκαλούν άμεσα απελευθέρωση αυξητικής ορμόνης από τα σωματοτρόπα κύτταρα της υπόφυσης μέσω ενεργοποίησης των G-πρωτεϊνών, με επακόλουθη ενεργοποίηση της ενδοκυττάριας πρωτεϊνικής κινάσης C, ως συστήματος σήματος, και αύξηση των επιπέδων του ενδοκυττάρου ασβεστίου.²² Ο υποδοχέας GHS-R1b δεν έχει ενεργό βιολογική δράση στην απελευθέρωση GH. Σε λειτουργικές δοκιμασίες, όπου χορηγήθηκαν GHSs σε κύτταρα επιμολυσμένα με GHS-R1b, δεν παρατηρήθηκε ούτε επαγωγή της πρωτεϊνικής κινάσης C ούτε μεταβολή του ενδοκυττάρου ασβεστίου.⁷ Παρόλα αυτά, σύγχρονες μελέτες παρουσιάζουν λειτουργική δράση του GHS-R1b υποδοχέα στο καρδιαγγειακό σύστημα και σε διάφορους νεοπλασματικούς ιστούς.

3. ΠΩΣ Η ΓΚΡΕΛΙΝΗ ΕΠΙΔΡΑ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Η ακριβής σχέση ανάμεσα στην γκρελίνη και στην ινσουλίνη, τόσο στη μεταξύ τους αλληλεπίδραση όσο και στη ρύθμιση του σωματικού βάρους, παραμένει αμφιλεγόμενη.

Φαρμακολογικές μελέτες σχεδιάστηκαν προκειμένου να μελετήσουν τις δράσεις της γκρελίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης και στην έκκριση ινσουλίνης, χωρίς όμως να καταλήξουν σε ασφαλή συμπεράσματα, αφού άλλοτε η δράση της φαινόταν ανασταλτική και άλλοτε ενισχυτική στην έκκριση ινσουλίνης.

Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η γκρελίνη αναστέλλει ταχέως την έκκριση ινσουλίνης στον άνθρωπο μετά από ενδοφλέβια έγχυση, παρά τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης^{23,24} (τόσο σε παχύσαρκους όσο και σε άτομα φυσιολογικού βάρους), και, αντιστρόφως, ότι η ινσουλίνη αναστέλλει την έκκριση γκρελίνης. Οι Egido et al έδειξαν ότι σε απομονωμένο παγκρεατικό ιστό επιμύων η έγχυση γκρελίνης ανέστειλε την απελευθέρωση ινσουλίνης, γεγονός που υποδεικνύει μια περιοδική ανασταλτική δράση της γκρελίνης στη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος.²⁵ Σε απομονωμένα νησιδιακά κύτταρα επιμύων παρατηρήθηκε δοσο-εξαρτώμενη αναστολή της έκκρισης ινσουλίνης σε ένα περιβάλλον υψηλής συγκέντρωσης σε γλυκόζη (16–25 mmol/L), ενώ δεν διαπιστώθηκε κάποια επίδραση στα επίπεδα της ινσουλίνης σε χαμηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης.²⁶ Η γκρελίνη, τέλος, ανέστειλε *-in vivo* και *in vitro* τη διεγερόμενη από τη γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης σε νησιδιακά κύτταρα παρασκευασμάτων ποντικών.²⁷

Παρόμοια είναι αποτελέσματα της μελέτης των Esler et al, όπου μετά από χορήγηση ενός νέου μικρομοριακού GHS-R1a ανταγωνιστή σε ποντικούς παρατηρήθηκε αναστολή της δράσης της γκρελίνης, με αποτέλεσμα αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης, βελτίωση των μηχανισμών ομοιόστασης της γλυκόζης, μείωση της πρόσληψης τροφής και απώλεια βάρους (εκλεκτική απώλεια λιπώδους μάζας).²⁸

Από την άλλη πλευρά, σε κλινικές μελέτες δεν παρατηρήθηκε κάποια αξιοσημείωτη καταστολή –μετά από χορήγηση γκρελίνης– στα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης μετά από του στόματος δοκιμασία γλυκόζης.²⁹ Ωστόσο, όταν η γκρελίνη συγχρηγήθηκε με ανταγωνιστή του υποδοχέα της GH, παρατηρήθηκε σαφής αύξηση της ινσουλινικής αντίστασης.³⁰

Αντίθετα αποτελέσματα από τα προαναφερθέντα παρατηρήθηκαν και σε άλλες *in vitro* και *in vivo* μελέτες σε ανθρώπους και επίμυες. Πιο συγκεκριμένα, σε επίμυες φυσιολογικούς ή πάσχοντες από διαβήτη (πρόκληση του διαβήτη με στρεπτοζοτοκίνη) η γκρελίνη προκάλεσε απελευθέρωση ινσουλίνης σε απομονωμένα νησιδιακά κύτταρα³¹ και διέγειρε την έκκριση ινσουλίνης, όταν προστέθηκε σε απομονωμένα παγκρεατικά νησίδια.³² Επίσης, ενδοφλέβια χορήγηση γκρελίνης σε επίμυες προκάλεσε απελευθέρωση ινσουλίνης,³³ ενώ παράλληλα αύξησε τη συγκέντρωση του ελεύθερου ασβεστίου στο κυτταρόπλα-

σμα των β-νησιδιακών κυττάρων του παγκρέατος. Στην τελευταία αυτή μελέτη εντοπίστηκε γκρελίνη αποκλειστικά στα α-παγκρεατικά κύτταρα τα σχετιζόμενα με την έκκριση γλυκαγόνου, σε αντίθεση με άλλες μελέτες, όπου εφαρμόζοντας ανοσοχρωστικές μεθόδους διαπιστώθηκε εντοπισμός της γκρελίνης στα β-κύτταρα.³⁴

Οι Wierup et al^{35,36} παρατήρησαν έκφραση της γκρελίνης σε ανεξάρτητο αριθμό ανθρώπινων νησιδιακών παγκρεατικών κυττάρων, σε εμβρυϊκής και νεογνικής ηλικίας ιστούς, όπως και σε ιστούς ενηλίκων. Στη συγκεκριμένη μελέτη η γκρελίνη δεν εκφραζόταν μαζί με κάποια γνωστή νησιδιακή ορμόνη, γι' αυτό και θεωρήθηκε ότι τα κύτταρα γκρελίνης πιθανόν να αποτελούν ένα νέο τύπο νησιδιακών κυττάρων, που ονομάστηκαν ε-κύτταρα. Σε ζώα όπου απουσιάζουν οι παράγοντες μεταγραφής –οι οποίοι είναι σημαντικοί για την ανάπτυξη των β-παγκρεατικών κυττάρων– υπήρχαν σχετικά νησιδία, φυσιολογικού μεγέθους, ωστόσο η πλειοψηφία των νησιδιακών αυτών κυττάρων περιείχαν γκρελίνη,³⁵ γεγονός που υποδεικνύει ότι τα ινσουλινο-εκκριτικά β-κύτταρα και τα ε-κύτταρα που συνθέτουν γκρελίνη πιθανόν να έχουν κοινά άωρα πρόδρομα κύτταρα.

Η δράση της γκρελίνης στην ινσουλίνη μελετήθηκε επίσης και σε μια σειρά κυττάρων ηπατώματος στον άνθρωπο.³⁶ Παρατηρήθηκε ότι η γκρελίνη ενεργοποιούσε τον υποδοχέα της ινσουλίνης τύπου 1 (IRS1) και ακολούθως διάφορα μόρια σήματος [όπως τη δεσμευτική πρωτεΐνη 2 του υποδοχέα του παράγοντα ανάπτυξης (GRB2) και την πρωτεϊνική κινάση που ενεργοποιεί τη μιτογένεση (MAPK)], ενώ από την άλλη ανέστειλε την ενεργοποίηση του ενζύμου Akt (πρωτεϊνική κινάση) και ανταγωνιζόταν τη δράση της ινσουλίνης πάνω στο καθοριστικό ρυθμιστικό ένζυμο της νεογλυκογένεσης, τη φωσφοενολο-πυροσταφυλική καρβοξυ-κινάση. Συνεπώς, η γκρελίνη ασκεί άμεση αντι-ινσουλινική δράση –με την καταστολή της δράσης της Akt– και έμμεση θετική δράση στη νεογλυκογένεση. Επειδή σε αρκετές μελέτες δεν κατέστη δυνατό να βρεθεί έκφραση υποδοχέα GHS-R1a στον ηπατικό ιστό, ο υποδοχέας που εμπλέκεται σε αυτή τη διαδικασία παραμένει άγνωστος.^{7,37,38}

Η γκρελίνη, τέλος, ασκεί άμεση δράση στα επίπεδα της γλυκόζης, οδηγώντας σε υπεργλυκαιμία. Ενδοφλέβια έγχυση γκρελίνης αυξάνει τα επίπεδα γλυκόζης τόσο σε φυσιολογικού σωματικού βάρους άτομα όσο και σε παχύσαρκους.^{25,39} Είναι απίθανο αυτή η δράση να οφείλεται στην πτώση των επιπέδων της ινσουλίνης, αφού η αύξηση της γλυκόζης μπορεί να ανιχνευτεί μέσα σε 15 min από τη χορήγηση γκρελίνης, ενώ η μείωση των επιπέδων ινσουλίνης ανιχνεύεται μόνο μετά από 30 min.²⁵

Σε μια πρόσφατη μελέτη των Sun et al,⁴⁰ όπου εφαρμόστηκε ανάστροφη γενετική ώστε να ερευνηθεί ο ρόλος

της γκρελίνης στην ομοίωση της γλυκόζης, μελετώντας τη λειτουργία β-νησιδιακών κυττάρων και την ευαισθησία περιφερικών ιστών σε ινσουλίνη σε ποντικούς με έλλειψη του γονιδίου της γκρελίνης (ghrelin^{-/-}) παρατηρήθηκαν τα εξής:

Υπό κανονικές συνθήκες νηστείας και πρόσληψης τροφής στο εργαστήριο, τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και ινσουλίνης στο πλάσμα στους ghrelin^{-/-} ποντικούς ήταν φυσιολογικά.

Υπό δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη, οι ποντικοί εμφάνισαν μείωση των επιπέδων της γλυκόζης και αύξηση των επιπέδων της ινσουλίνης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (wild-type ποντικοί), γεγονός που δείχνει ότι η έλλειψη γκρελίνης βελτιώνει τη λειτουργία των β-κυττάρων, αυξάνοντας την προκαλούμενη από τη γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης.

Η χορήγηση ινσουλίνης σε ghrelin^{-/-} ποντικούς προκάλεσε μικρή αλλά στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της γλυκόζης 30 min μετά από τη χορήγηση, γεγονός που υποδεικνύει βελτίωση της ινσουλινικής ευαισθησίας σε ghrelin^{-/-} ποντικούς.⁴⁰

Συνοψίζοντας, οι Sun et al κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η καταστολή της γκρελίνης όχι μόνο βελτιώνει τη λειτουργία των β-νησιδιακών κυττάρων του παγκρέατος, αλλά αυξάνει και την ινσουλινική ευαισθησία στους περιφερικούς ιστούς.^{40,42} Σε συμφωνία με τα ανωτέρω ευρήματα ήταν και αυτά της μελέτης των Dezaki et al σε ghrelin^{-/-} επίμυες, όπου διαπιστώθηκε μείωση της ινσουλινικής ανταπόκρισης στη γλυκόζη μετά από εξωγενή χορήγηση γκρελίνης.⁴¹

Συμπερασματικά, παρά τις αντικρουόμενες απόψεις σχετικά με τη δράση της γκρελίνης στην απελευθέρωση ινσουλίνης και στην ομοίωση της γλυκόζης, φαίνεται ότι η γκρελίνη τροποποιεί τα κυκλοφορούντα επίπεδα της γλυκόζης μέσω (α) απελευθέρωσης GH, κορτιζόλης, αδρεναλίνης και πιθανόν γλυκαγόνου, (β) αύξησης της ινσουλινικής αντίστασης και (γ) ενεργοποιώντας το μηχανισμό της νεογλυκογένεσης.^{28,35,38}

4. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΓΚΡΕΛΙΝΗ

Στο πάγκρεας, μερικές έρευνες εντόπισαν την γκρελίνη στα ανθρώπινα β-νησιδιακά κύτταρα του Langerhans, όπου η γκρελίνη συνεκφραζόταν με την ινσουλίνη,³⁴ ενώ κάποιες άλλες στα α-κύτταρα του παγκρέατος, όπου η γκρελίνη συνεκφραζόταν με τη γλυκαγόνη.³² Τέλος, σε άλλες μελέτες η γκρελίνη εντοπίστηκε σε κάποια νέα ομάδα νησιδιακών κυττάρων, τα ε-κύτταρα, που περιείχαν μόνο γκρελίνη και καμιά άλλη γνωστή ορμόνη.^{35,36} Στη μελέτη των Prado et al³⁵ παρατηρήθηκε η ύπαρξη των ε-κυττάρων της γκρε-

λίνης στην περιφέρεια των νησιδίων του παγκρέατος σε ποντικούς και μάλιστα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα νεογνά σε σχέση με τους ενήλικες. Τα 2/3 των κυττάρων αυτών εξέφραζαν αποκλειστικά την γκρελίνη, ενώ το 1/3 συνεξέφραζαν και γλουκαγόνη. Επιπλέον, σε ποντικούς με μετάλλαξη του παράγοντα μεταγραφής Nkx2.2 ή του Pax4 –οπότε απουσιάζουν εντελώς τα ινσουλινοπαραγωγά β-κύτταρα από το πάγκρεας– τα ε-κύτταρα καταλάμβαναν >90% των παγκρεατικών νησιδίων. Θεωρήθηκε μάλιστα ότι τα κύτταρα της ινσουλίνης και τα κύτταρα της γκρελίνης έχουν κοινό πρόγονο.³⁵

Επιπρόσθετα, ενδιαφέρον έχει η μελέτη των Wierup et al, όπου μελετώντας ιστούς ανθρώπινου παγκρέατος και στομάχου από νεογνά και ενήλικες οι ερευνητές παρατήρησαν (α) ότι η γκρελίνη εκφράζεται αρχικά στο πάγκρεας από το μέσο της κύησης και μετά, ενώ στο στόμαχο εκφράζεται μετά από τη γέννηση, και (β) ότι στο πάγκρεας των νεογνών στο μέσο της κύησης τα ανοσοθετικά κύτταρα για την γκρελίνη αποτελούν το 9% του συνόλου των ενδοκρινικών κυττάρων του παγκρέατος, γεγονός που μπορεί να υποδηλώνει τη συμμετοχή της γκρελίνης στην προαγωγή –τοπικά– της κυτταρικής ανάπτυξης και ωρίμανσης, όπως και γενικότερα τη συμμετοχή της στην ανάπτυξη του εμβρύου.³⁶

Ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) τύπου 2 ή ινσουλινοική αντοχή (μεταβολικό σύνδρομο ή σύνδρομο X) έχουν χαμηλά επίπεδα γκρελίνης. Σε μελέτη που έγινε στο γενικό πληθυσμό παρατηρήθηκε ότι τα άτομα με χαμηλότερα επίπεδα γκρελίνης είχαν μεγαλύτερο βαθμό ινσουλινοική αντοχή και υπερινσουλιναμία νηστείας και ότι σε υψηλότερο ποσοστό κυριαρχούσε ο ΣΔ τύπου 2.⁴³ Τα επίπεδα της γκρελίνης σε –κατά τα άλλα υγιή– νεογνά με ινσουλινοική αντοχή λόγω διαβητικών γονέων ήταν χαμηλότερα.

Σε περίοδο νηστείας και στα πρώτα 120 min μετά από τη δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη από το στόμα (OGTT) τα επίπεδα της γλυκόζης ήταν υψηλότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αντίστοιχης ηλικίας, φύλου και δείκτη μάζας σώματος (BMI).⁴⁴ Επίσης, σε παχύσαρκα παιδιά και εφήβους παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της γκρελίνης και της ευαισθησίας στην ινσουλίνη.⁴⁵ Τέλος, λεπτόσωμοι σακχαροδιαβητικοί τύπου 2 δεν είχαν μειωμένα επίπεδα γκρελίνης.⁴⁶

Σε άλλη μελέτη με διαβητικά πειραματόζωα παρατηρήθηκαν μικρότερου βαθμού αλλαγές στα επίπεδα γκρελίνης κατά τη διάρκεια δοκιμασιών με υψηλά επίπεδα ινσουλίνης –συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου– γεγονός που δείχνει ότι οι μικρότερες αλλαγές στα επίπεδα της γκρελίνης σχετίζονται με το βαθμό ευαισθησίας στην ινσουλίνη και αυτό μπορεί να αποτελεί ένα επιπλέον χαρακτηριστικό

γνώρισμα του μεταβολικού συνδρόμου.⁴⁷

Σε πληθυσμιακές ομάδες με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔ τύπου 2, όπως είναι τα παχύσαρκα άτομα και οι λεπτοφυείς Ινδιάνοι Pima, παρατηρήθηκε ότι και οι δύο ομάδες είχαν χαμηλότερη συγκέντρωση γκρελίνης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.⁴⁸ Σε άλλη μελέτη με μετεμνηνοπαυσιακές, σακχαροδιαβητικές γυναίκες παρατηρήθηκε έντονη αρνητική συσχέτιση αφενός ανάμεσα στα επίπεδα νηστείας της γκρελίνης και στη σπλαγχνική εναπόθεση λίπους, σε σχέση με την υποδόρια εναπόθεση, και αφετέρου ανάμεσα στην γκρελίνη και στην ινσουλινοική αντοχή.⁴⁹ Με τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα δεν μπορεί να αποδειχθεί με ασφάλεια το κατά πόσο σχετίζονται αιτιολογικά τα υψηλά επίπεδα ινσουλίνης με τα χαμηλά επίπεδα γκρελίνης, ωστόσο υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις περί αυτού.

Η ινσουλίνη είναι απαραίτητη προκειμένου να επιτευχθεί μείωση των επιπέδων γκρελίνης μετά από την πρόσληψη τροφής. Σε φυσιολογικά άτομα, η γκρελίνη αυξάνεται σε φάση νηστείας και μειώνεται μετά από λήψη τροφής.⁵⁰ Η απουσία μείωσης των επιπέδων γκρελίνης μετά από πρόσληψη τροφής πιθανολογεί τη συμμετοχή της στην αυξημένη κατανάλωση τροφής που εμφανίζουν οι πάσχοντες από σοβαρή ανεπάρκεια ινσουλίνης στο ΣΔ τύπου 1. Μη φυσιολογική έκκριση γκρελίνης μπορεί να επηρεάσει τόσο την ενεργειακή ομοιόσταση όσο και τη μεταβολική ομοιόσταση των διαβητικών ατόμων.^{51,52}

Σε επίμυες όπου προκλήθηκε ΣΔ με στρεπτοζοτοκίνη (STZ) (ένα μοντέλο ΣΔ τύπου 1), διαπιστώθηκαν υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούσας γκρελίνης (προφανώς λόγω αρνητικής ενεργειακής ισορροπίας), σε συνδυασμό με μειωμένα επίπεδα λεπτίνης και αυξημένη έκφραση του υποθαλαμικού γονιδίου για το νευροπεπτίδιο Υ (NPY). Τα αυξημένα επίπεδα της γκρελίνης επανήλθαν σε φυσιολογικές τιμές μετά από θεραπεία υποκατάστασης με ινσουλίνη.^{53,54} Επομένως, η αυξημένη λήψη τροφής, η υπεργλυκαιμία και η απώλεια βάρους –χαρακτηριστική στις περιπτώσεις ανεπαρκούς ελέγχου της ινσουλινοικής ανεπάρκειας σε ΣΔ– ίσως να προκαλούνται εν μέρει από τα υψηλά επίπεδα γκρελίνης σε συνδυασμό με τα χαμηλά επίπεδα λεπτίνης, μέσω NPY και AGRP νευρικών οδών. Υπέρ της άποψης αυτής συνηγορεί και η μερική αναστροφή της υπερφαγίας με τη χορήγηση ενός ανταγωνιστή του υποδοχέα της γκρελίνης, του D-Lys3-GHRP-6.^{53,54}

Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη ποντικών με έλλειψη του γονιδίου της γκρελίνης, όπου χορηγήθηκε στρεπτοζοτοκίνη, παρατηρήθηκε καθυστερημένη και ελάχιστη αύξηση στη λήψη τροφής σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.⁵⁵ Οι ποντικοί με την ανεπάρκεια γκρελίνης αρχικά παρουσίασαν μια μέγιστη μείωση στην πρόσληψη τροφής, σταδιακά

όμως αύξησαν την πρόσληψη μέχρις ότου τελικά γίνουν υπερφαγικοί, όπως και τα ποντίκια όπου είχε προκληθεί ΣΔ με στρεπτοζοτοκίνη. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι ενώ το σήμα της γκρελίνης χρειάζεται για την έναρξη της διαβητικής υπερφαγίας, δεν έχει δράση για μακρύ χρονικό διάστημα. Αυτό πιθανόν να σχετίζεται με έναν έντονα προσαρμοστικό και προστατευτικό μηχανισμό που ρυθμίζει την ομοίωση.

Σε παιδιά με ΣΔ τύπου 1 που μελετήθηκαν –αμέσως μετά από τη διάγνωση του ΣΔ και ενώ δεν ελάμβαναν θεραπεία με ινσουλίνη– τόσο πριν όσο και μετά από την πρόσληψη φαγητού, δεν παρατηρήθηκε μεταβολή των επιπέδων της γκρελίνης μετά από το γεύμα (τα επίπεδα γκρελίνης ήταν υπερβολικά χαμηλά), γεγονός που πιθανολογεί μια μη φυσιολογική δραστηριότητα της γκρελίνης σε ΣΔ τύπου 1.⁵⁶ Η αρνητική συσχέτιση μεταξύ γκρελίνης και γλυκόζης (υψηλά επίπεδα γλυκόζης με χαμηλά επίπεδα γκρελίνης) αποκαθίσταται σε πάσχοντες από ΣΔ τύπου 1 μετά από την έναρξη θεραπείας με ινσουλίνη.⁵⁶

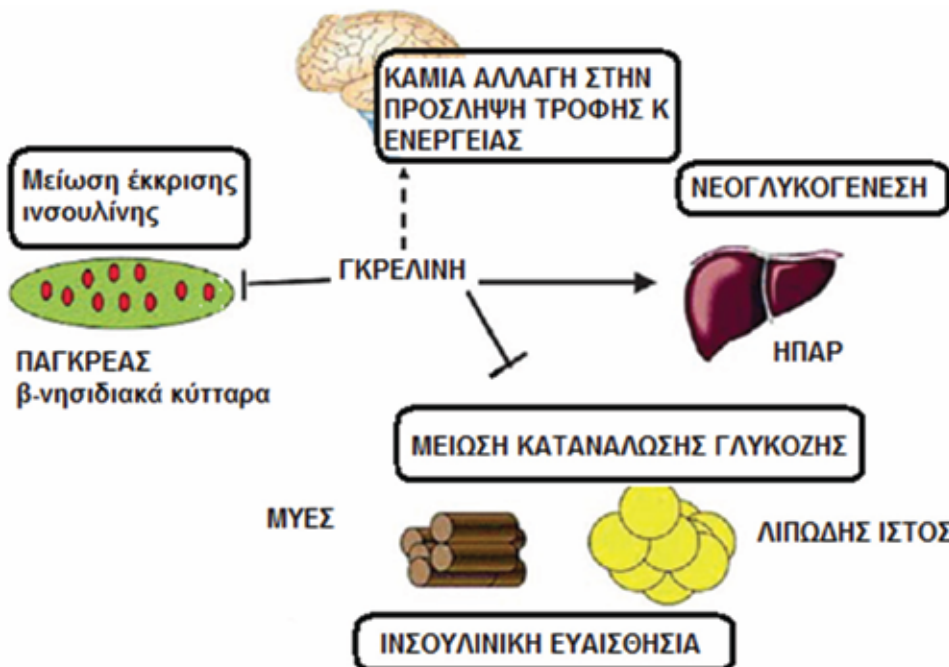
Η ομοίωση της γλυκόζης ελέγχεται από δύο βασικούς παράγοντες: (α) την έκκριση ινσουλίνης από τα β-παγκρεατικά κύτταρα και (β) την ευαισθησία των περιφερικών ιστών-στόχων στην ινσουλίνη. Διατηρώντας βιώσιμα β-παγκρεατικά κύτταρα και βελτιώνοντας τη λειτουργία τους, βελτιώνεται και ο ΣΔ τύπου 1 και 2. Αν και η αυτοανοσία επηρεάζει την πλειονότητα των β-κυττάρων στο ΣΔ τύπου 1, ένας πολύ μικρός αριθμός από β-παραγωγά κύτταρα παραμένουν άθικτα, τουλάχιστον στην αρχή. Η ινσουλινική αντίσταση

αποτελεί σημαντικό παθογενετικό παράγοντα για το ΣΔ τύπου 2. Επομένως, με τη βελτίωση της ευαισθησίας των ιστών στην ινσουλίνη στους διαβητικούς ασθενείς θα επιτευχθούν καλύτερα επίπεδα ελέγχου της γλυκόζης του αίματος, με σχετικά χαμηλές δόσεις ινσουλίνης (εικ. 2).

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΜΦΙΛΕΓΟΜΕΝΑ ΘΕΜΑΤΑ

Η δράση της γκρελίνης στην πρόσληψη τροφής ασκείται μέσω του GHS-R1a υποδοχέα, χωρίς όμως να είναι βέβαιο αν η δράση της και στην έκκριση ινσουλίνης πραγματοποιείται αποκλειστικά μέσω του ίδιου υποδοχέα.⁵⁷ Πιο συγκεκριμένα, αρχικά θεωρήθηκε ότι η απο-ακυλιωμένη γκρελίνη (desacyl-ghrelin) είναι ένα ανενεργό μόριο, από τη στιγμή που δεν υπάρχει δυνατότητα σύνδεσης στον GHS-R1a υποδοχέα.⁷ Στη συνέχεια όμως παρατηρήθηκε ότι ενώ η χορήγηση γκρελίνης σε νέους υγιείς ανθρώπους οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και πτώση των επιπέδων της ινσουλίνης, η χορήγηση απο-ακυλιωμένης γκρελίνης δεν είχε κάποια επίδραση στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης. Ωστόσο, όμως περιέργως, η συγχορήγηση και των δύο μορφών γκρελίνης οδήγησε σε κατάργηση της δράσης της γκρελίνης.¹⁶

Επομένως, τόσο η γκρελίνη όσο και η απο-ακυλιωμένη γκρελίνη φαίνεται να ασκούν δράση στην ομοίωση της γλυκόζης στο ήπαρ. Αν και ο GHS-R1a υποδοχέας δεν εκφράζεται στα ηπατοκύτταρα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η έκκριση γλυκόζης από τα ηπατοκύτταρα ενεργοποιείται από



Εικόνα 2. Σχηματικό διάγραμμα της δράσης της γκρελίνης στην ομοίωση της γλυκόζης. Η γκρελίνη ρυθμίζει την ομοίωση της γλυκόζης, μειώνοντας την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας, διεγείροντας τη νεογλυκογένεση στο ήπαρ και μειώνοντας την κατανάλωση γλυκόζης από τους μύς και το λιπώδη ιστό.

την γκρελίνη και αναστέλλεται από την απο-ακυλιωμένη γκρελίνη, ενώ ο συνδυασμός και των δύο οδηγεί στην εξουδετέρωση της δράσης της γκρελίνης από την απο-ακυλιωμένη γκρελίνη.⁵⁸ Επίσης, έχει δημοσιευτεί ότι ενώ η γκρελίνη μειώνει την ινσουλινική ευαισθησία στους περιφερικούς ιστούς, ο συνδυασμός γκρελίνης και απο-ακυλιωμένης γκρελίνης βελτιώνει την ιστική ευαισθησία στην ινσουλίνη.⁵⁹ Επιπρόσθετα, μια πρόσφατη μελέτη αναφέρει αντι-αποπτωτική δράση της γκρελίνης και της απο-ακυλιωμένης γκρελίνης στα β-κύτταρα μέσω των cAMP/PKA, ERK1/2 και PI3K/Akt οδών. Συνεπώς, από τις παραπάνω μελέτες φαίνεται ότι και η απο-ακυλιωμένη γκρελίνη έχει κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της ομοιόστασης της γλυκόζης, η οποία πραγματοποιείται μέσω ενός άγνωστου ακόμα υποδοχέα.⁶⁰

Η γκρελίνη παίζει κάποιο ρόλο στην έκκριση ινσουλίνης, όμως πολλά έχουμε ακόμα να μάθουμε για το ρόλο της στην ομοιόσταση της γλυκόζης, καθώς και για το αν αποτελεί προστατευτικό ή παθογενετικό παράγοντα για ανάπτυξη ΣΔ. Πρέπει επίσης να διαπιστώσουμε κατά πόσο

η γκρελίνη είναι ο μοναδικός παράγοντας σύνδεσης στον GHS-R1a υποδοχέα, καθώς και αν ο GHS-R1a υποδοχέας είναι ο μοναδικός υποδοχέας που συμμετέχει στις δράσεις της γκρελίνης και της απο-ακυλιωμένη γκρελίνης, κεντρικά και περιφερικά. Ακολούθως, θα πρέπει να διερευνήσουμε την ενδεχόμενη διαφορά των φαρμακολογικών δράσεων της γκρελίνης και της απο-ακυλιωμένης γκρελίνης στα νησιδιακά κύτταρα του παγκρέατος.

Συμπερασματικά, με τη συστηματικότερη έρευνα του ρόλου της γκρελίνης στην ομοιόσταση της γλυκόζης ανακύπτουν όλο και περισσότερα ερωτηματικά για τη δράση της γκρελίνης στην ομοιόσταση της γλυκόζης και το σακχαρώδη διαβήτη, τις οδούς μέσω των οποίων ασκεί τη δράση της η γκρελίνη και η απο-ακυλιωμένη γκρελίνη, καθώς και τον υποδοχέα δράσης της γκρελίνης τόσο στο πάγκρεας όσο και στους περιφερικούς ιστούς. Χρειάζεται επομένως περαιτέρω έρευνα, προκειμένου να διασαφηνιστεί ο ακριβής ρόλος της γκρελίνης και των αναλόγων της στην ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη και στη θεραπευτική του αντιμετώπιση.

ABSTRACT

The role of ghrelin on glucose homeostasis

D. NIKOLOPOULOS, G. KOURAKLIS

2nd Department of Propedeutic Surgery, University of Athens, "Laiko" Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2009, 26(1):42-50

Ghrelin, a newly identified acylated 28-amino-acid peptide and an endogenous ligand of the growth hormone secretagogue type 1a receptor (GHS-R1a), is produced mainly in the stomach, but is also secreted in low levels by the hypothalamus and by many other peripheral tissues. Ghrelin is best known for its hypothalamic actions on growth hormone-releasing hormone neurons and neuropeptide Y/agouti-related peptide neurons. Although ghrelin affects multiple systems and many organs, only currently the complexity of its functions has been realized in mammals and especially in humans. Ghrelin regulates food intake and body weight, and GHS-R1a that is expressed at lower levels in the brain, including the hypothalamic neurons, regulates feeding behavior and glucose sensing. A reciprocal relationship exists between ghrelin and insulin, suggesting that ghrelin regulates glucose homeostasis. Ablation of ghrelin in mice increases glucose-induced insulin secretion and improves peripheral insulin sensitivity. Recent reports suggest that most of the actions of ghrelin could contribute to the metabolic syndrome. The ghrelin signaling system is, therefore, a promising target for the development of new drugs for the treatment of diabetes. Agents that block the ghrelin signaling system might be especially useful. This review focuses on the newly emerging role of ghrelin in glucose homeostasis and insulin secretion, and on the exploration of whether it may be a potential therapeutic target for diabetes mellitus; if so, it is possible that the high rates of morbidity and mortality of diabetes mellitus patients could be diminished.

Key words: Diabetes, Ghrelin, Growth hormone secretagogues (GHSs), Glucose homeostasis, Insulin secretion

Βιβλιογραφία

1. KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, NAKAZATO M, MATSUO H, KANGAWA K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999, 402:656–660
2. BOWERS CY, CHANG J, MOMANY F, FOLKERS K. Effect of the enkephalins and enkephalin analogues on release of pituitary hormones *in vitro*. In: MacIntyre I, Szelke M (eds) *Molecular endocrinology*. Elsevier Science, Amsterdam, 1977:287–292
3. ROSICKA M, KRSEK M, JARKOVSKA Z, MAREK J, SCHREIBER V. Ghrelin – a new endogenous growth hormone secretagogue. *Physiol Res* 2002, 51:435–441
4. MURRAY CDR, KAMM MA, BLOOM SR, EMMANUEL AV. Ghrelin for the gastroenterologist: History and potential. *Gastroenterology* 2003, 125:1492–1502
5. SMITH RG. Development of growth hormone secretagogues. *Endocr Rev* 2005, 26:346–360
6. KORBONITS M, GROSSMAN AB. Growth hormone-releasing peptide and its analogues; novel stimuli to growth hormone release. *Trends Endocrinol Metab* 1995, 6:43–49
7. HOWARD AD, FEIGNER SD, CULLY DF, LIBERATOR PA, ARENA JP, ROSENBLUM CI ET AL. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996, 273:974–977
8. KOJIMA M, KANGAWA K. Ghrelin: Structure and function. *Physiol Rev* 2005, 85:485–522
9. KORBONITS M, GOLDSTONE AP, GUEORGUIEV M, GROSSMAN AB. Ghrelin – a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol* 2004, 25:27–68
10. ARVAT E, BROGLIO F, AIMARETTI G, BENSO A, GIORDANO A, DEGHENGI R ET AL. Ghrelin and synthetic GH secretagogues. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002, 16:505–517
11. KOJIMA M, HOSODA H, MATSUO H, KANGAWA K. Ghrelin: Discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2001, 12:118–122
12. CASANUEVA FF, DIEGUEZ C. Ghrelin: The link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocr Metab Disord* 2002, 3:325–338
13. BANKS WA, TSCHOP M, ROBINSON SM, HEIMAN ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 2002, 302:822–827
14. JEFFERY PL, HERINGTON AC, CHOPIN LK. The potential autocrine/paracrine roles of ghrelin and its receptor in hormone-dependent cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, 14:113–122
15. HOSODA H, KOJIMA M, MATSUO H, KANGAWA K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: Two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 279:909–913
16. BROGLIO F, BENSO A, GOTTERO C, PRODAM F, GAUNA C, FILTRI L ET AL. Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 2003, 26:192–196
17. MURAKAMI N, MURAKAMI K, MODI K. Ghrelin in domestic animals: Distribution in stomach and its possible role. *Domest Anim Endocrinol* 2001, 21:17–24
18. ARIYASU H, TAKAYA K, HOSODA H, IWAKURA H, EBIHARA K, MORIKI ET AL. Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: Evidenced by a specific RIA for the active form of ghrelin. *Endocrinology* 2002, 143:3341–3350
19. WANG HJ, GELLER F, DEMPFLER A, SCHAUBLE N, FRIEDEL S, LICHTNER P ET AL. Ghrelin receptor gene: Identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:157–162
20. GNANAPAVAN S, KOLA B, BUSTIN SA, MORRIS DG, MCGEE P, FAIRCLOUGH P ET AL. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:2988–2991
21. MCKEE KK, PALYHA OC, FEIGNER SD, HRENIUK DL, TAN CP, PHILLIPS MS ET AL. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol Endocrinol* 1997, 11:415–423
22. CHENG K, CHAN WW, BUTLER B, BARRETO A Jr, SMITH RG. Evidence for a role of protein kinase-C in His-D-Trp-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH₂-induced growth hormone release from rat primary pituitary cells. *Endocrinology* 1991, 129:3337–3342
23. TASSONE F, BROGLIO F, DESTEFANIS S, ROVERE S, BENSO A, GOTTERO C ET AL. Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:5478–5483
24. BROGLIO F, ARVAT E, BENSO A, GOTTERO C, MUCCIOLI G, PAPOTTI M ET AL. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:5083–5086
25. EGIDO EM, RODRIGUEZ-GALLARDO J, SILVESTRE RA, MARCO J. Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 2002, 146:241–244
26. COLOMBO M, GREGENSEN S, XIAO J, HERMANSEN K. Effects of ghrelin and other neuropeptides (CART, MCH, Orexin A and B, and GLP-1) on the release of insulin from isolated rat islets. *Pancreas* 2003, 27:161–166
27. REIMER MK, PACINI G, AHREN B. Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2003, 144:916–921
28. ESLER WP, RUDOLPH J, CLAUS TH. Small-molecule ghrelin receptor antagonists improve glucose tolerance, suppress appetite and promote weight loss. *Endocrinology* 2007, 26:239–256
29. BROGLIO F, GOTTERO C, BENSO A, PRODAM F, DESTEFANIS S, GAUNA C ET AL. Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine, or free fatty acids load in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:4268–4272
30. MULLER AF, JANSSEN JA, HOFLAND LJ, LAMBERTS SW, BIDLINGMAIER M, STRASBURGER CJ ET AL. Blockade of the growth hormone (GH) receptor unmasks rapid GH-releasing peptide-6-mediated tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:590–593
31. ADEGHATE E, PONERY AS. Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 2002, 14:555–560
32. DATE Y, NAKAZATO M, HASHIGUCHI S, DEZAKI K, MONDAL MS, HOSODA H ET AL. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002, 51:124–129

33. LEE HM, WANG G, ENGLANDER EW, KOJIMA M, GREELEY JG Jr. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: Enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 2002, 143:185–190
34. VOLANTE M, ALLIA E, GUGLIOTTA P, FUNARO A, BROGLIO F, DEGHENGI R ET AL. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:1300–1308
35. PRADO CL, PUGH-BERNARD AE, ELGHAZI L, SOSA-PINEDA B, SUSSEL L. Ghrelin cells replace insulin-producing (beta) cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:2924–2929
36. WIERUP N, SVENSSON H, MULDER H, SUNDLER F. The ghrelin cell: A novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002, 107:63–69
37. MURATA M, OKIMURA Y, IIDA K, MATSUMOTO M, SOWA H, KAJI H ET AL. Ghrelin modulates the downstream of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 2002, 277:5667–5674
38. GUAN M, YU H, PALLYA OC, MCKEE KK, FEIGNER SD, SIRINATHSINGHI DJ ET AL. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Mol Brain Res* 1997, 48:23–29
39. TASSONE F, BROGLIO F, DESTEFANIS S, ROVERE S, BENSO A, GOTTERO C ET AL. Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:5478–5483
40. SUNY, ASNICAR M, SAHA PK, CHAN L, SMITH RG. Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice. *Cell Metab* 2006, 3:379–386
41. DEZAKI K, HOSODA H, KAKEI M, HASHIGUCHI S, WATANABE M, KANGAWA K ET AL. Endogenous ghrelin in pancreatic islets restricts insulin release by attenuating Ca²⁺ signaling in β-cells: Implication in the glycemic control in rodents. *Diabetes* 2004, 53:3142–3151
42. SUN Y, ASNICAR M, SMITH RG. Central and peripheral roles of ghrelin on glucose homeostasis. *Neuroendocrinology* 2007, 86:215–228
43. POYKKO SM, KELLOKOSKI E, HORKKO S, KAUMA H, KESANIEMI YA, UKKOLA O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2003, 52:2546–2553
44. OSTERGARD T, HANSEN TK, NYHOLM B, GRAVHOLT CH, DJURHUUS CB, HOSODA H ET AL. 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* 2003, 46:134–136
45. IKEZAKI A, HOSODA H, ITO K, IWAMA S, MIURA N, MATSUOKA H ET AL. Fasting plasma ghrelin levels are negatively correlated with insulin resistance and PAI-1, but not with leptin, in obese children and adolescents. *Diabetes* 2002, 51:3408–3411
46. SHIYA T, NAKAZATO M, MIZUTA M, DATE Y, MONDAL MS, TANAKA M ET AL. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:240–244
47. ANDERWALD C, BRABANT G, BERNROIDER E, HORN R, BREHM A, WALDHAUSL W ET AL. Insulin-dependent modulation of plasma ghrelin and leptin concentrations is less pronounced in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2003, 52:1792–1798
48. TSCHOP M, WEYER C, TATARANNI PA, DEVANARAYAN V, RAVUSSIN E, HEIMAN ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001, 50:707–709
49. GOLDSTONE AP, THOMAS EL, BRYNES AE, CASTROMAN G, EDWARDS R, GHATEI MA ET AL. Elevated fasting plasma ghrelin in Prader-Willi syndrome adults is not solely explained by their reduced visceral adiposity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:1718–1726
50. CUMMINGS DE, PURNELL JQ, FRAYO RS, SCHMIDOVA K, WISSE BE, WEIGLE DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001, 50:714–719
51. MURDOLO G, LUCIDI P, DI LORETO C, PARLANTI N, DE CICCO A, FATTONE C ET AL. Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. *Diabetes* 2003, 52:2923–2927
52. KAHN BB, FLIER JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000, 106:473–481
53. ISHII S, KAMEGAI J, TAMURA H, SHIMIZU T, SUGIHARA H, OIKAWA S. Role of ghrelin in streptozotocin-induced diabetic hyperphagia. *Endocrinology* 2002, 143:4934–4937
54. MASAOKA T, SUZUKI H, HOSODA H, OTA T, MINEGISHI Y, NAGATA H ET AL. Enhanced plasma ghrelin levels in rats with streptozotocin-induced diabetes. *FEBS Lett* 2003, 541:64–68
55. DONG J, PEETERS TL, DE SMET B, MOECHARS D, DELPORTE C, VANDEN BERGHE P ET AL. Role of endogenous ghrelin in the hyperphagia of mice with streptozotocin-induced diabetes. *Endocrinology* 2006, 147:2634–2642
56. HOLDSTOCK C, LUDVIGSSON J, KARLSSON FA. Abnormal ghrelin secretion in new onset childhood type 1 diabetes. *Diabetologia* 2003, 47:150–151
57. SUN Y, WANG P, ZHENG H, SMITH RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:4679–4684
58. GAUNA C, DELHANTY PJ, HOFLAND LJ, JANSSEN JA, BROGLIO F, ROSS RJ ET AL. Ghrelin stimulates, while des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90:1055–1060
59. GAUNA C, MEYLER FM, JANSSEN JA, DELHANTY PJ, ABRIBATT, VAN KOETVELD P ET AL. Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity, whereas the combination of acylated plus unacylated ghrelin strongly improves insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:5035–5042
60. GRANATA R, SETTANNI F, CATAPANO F, TROVATO L, DESTEFANIS S, GALLO D ET AL. Acylated and unacylated ghrelin promote proliferation and inhibit serum starvation- and cytokine-induced apoptosis of pancreatic β-cells through camp/pka, erk1/2 and pi3k/akt: ENDO 2006. The Endocrine Society, Boston/Mass, 2006:2–166

Corresponding author:

G. Kouraklis, Second Department of Propedeutic Surgery, Medical School, University of Athens, “Laiko” General Hospital, 17 Agiou Thoma street, GR-115 27 Athens, Greece
e-mail: gkouraklis@hotmail.com