

Ghrelina – peptydowy hormon żołądkowy

Ewa Ocloń, Mariusz Pietras

Instytut Zootechniki,

Dział Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa

32-083 Balice k. Krakowa

Słowa kluczowe: ghrelina, wydzielanie, hormon wzrostu, pobieranie pokarmu

Wstęp

Pod koniec lat 70. ubiegłego stulecia Cirył Bowers ze współpracownikami [3] uzyskali syntetyczny analog Met-enkefaliny, który uwalniał GH z przysadki *in vitro*. Dalsze prace doprowadziły do syntezy następnych związków uwalniających GH zarówno *in vitro* jak i *in vivo*. Wszystkie te substancje, które objęto wspólną nazwą GHSs (*Growth Hormone Secretagogues*), nie miały naturalnego pochodzenia – były syntetyzowane i modyfikowane, tak jak GHRP-6 – syntetyczny heksapeptyd, analog enkefaliny czy heksarelina (HEX) [33].

Badania potwierdziły, że GHSs działają poprzez nieznany dotąd receptor, który w 1996 roku sklonowano i nazwano GHS-R (z ang. *growth hormone secretagogue-receptor*) [46]. Receptor ten jest związany z białkiem G, a jego aktywacja prowadzi do uwolnienia jonów wapnia z siateczki śródplazmatycznej do cytoplazmy komórki. Przekazywanie sygnału odbywa się przez enzym fosfolipazę C, która aktywuje przekaznik wewnątrzkomórkowy – trifosfoinozytol [19]. Istnienie receptora dowodziło, że funkcjonuje jego endogenny ligand, który ostatecznie w 1999 roku został zidentyfikowany w żołądku szczura i nazwany ghreliną (w języku praindoeuropejskim: „*ghre*” od słowa *growth*, czyli wzrost oraz „*rel*in” od *release* – uwalniać) [23].

Wiele obserwacji poczynionych nad rolą ghreliny wskazuje między innymi, że hormon ten stymuluje wydzielanie somatotropiny (GH) [12, 13] oraz reguluje pobieranie pokarmu [16, 52].

Izolacja i identyfikacja ghreliny

Identyfikacja ghreliny jest wynikiem wykorzystania najnowszych technik biologii molekularnej i biologii komórki w poszukiwaniu nieznanego liganda dla zdefiniowanego receptora. W badaniach wykorzystano stabilną linię komórkową z komórek CHO (*Chinese Hamster Ovary*), nazwaną CHO-GHSR62. Do komórek wprowadzono wektor zawierający fragment cDNA z sekwencją dla receptora GHS-R, powielony przy użyciu techniki wykorzystującej łańcuchową reakcję polimerazy – PCR. W stabilnych (wykazujących aktywność receptora) komórkach badano zmiany poziomu jonów Ca^{2+} pod wpływem dodawanych do hodowli ekstraktów z różnych tkanek. Największe zmiany stwierdzono po podaniu wyciągu sporządzonego z żołądka. Białko z tego ekstraktu oczyszczono stosując: filtracje na żelu, wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) i HPLC o odwróconej fazie (RP-HPLC).

Dalsze oczyszczanie uzyskanej aktywnej frakcji pozwoliło na otrzymanie niewielkiej ilości ghreliny z wyciągu. Badania z wykorzystaniem analizatora aminokwasów umożliwiły identyfikację sekwencji reszt aminokwasowych z wyjątkiem reszty w pozycji 3, która przypominała serynę. Kolejne prace wykazały, że trzecia seryna w cząsteczce ghreliny jest zmodyfikowana przez podstawienie grupy hydroksylowej tego aminokwasu grupą oktanylową. Uzyskany drogą syntezy polipeptyd ze zmodyfikowaną seryną w pozycji 3, zwiększał wewnątrzkomórkową zawartość Ca^{2+} jak endogenna ghrelina.

W banku genów, które ulegają ekspresji w żołądku szczura (GenBank) znaleziono fragment DNA odpowiedzialny za syntezę ghreliny (AI599172). Na podstawie tej sekwencji opracowano startery do PCR i powielono odcinki cDNA kodujące ghrelinę. Uzyskane fragmenty, użyte jako sonda, umożliwiły identyfikację całego cDNA kodującego ghrelinę. Następnie zidentyfikowano ludzki gen *ghrl* (ghreliny) w bibliotece genów ludzkiego cDNA i sklonowano go, stosując jako sondę molekularną cDNA homologicznego genu szczura [17, 23]. Oczyszczenie ludzkiej ghreliny pozwoliło na opracowanie metody radioimmunologicznej (RIA) przez uzyskanie poliklonalnych przeciwciał skierowanych na C i N-końcowy fragment cząsteczki [17].

Analiza DNA ghreliny

Gen kodujący prekursor ghreliny zlokalizowany jest u ludzi na krótszym ramieniu trzeciego chromosomu – 3p26-p25 [49]. Transkrypt zawiera 600 bp. Istnieją dwa typy mRNA, kodowane przez ten sam gen. Jeden z transkryptów – zawierający sekwencje dla 117 aminokwasów – koduje preproghrelinę, drugi – zawierający sekwencje dla 116 aminokwasów – koduje prepro-des-Gln14-ghrelinę. Obydwie cząsteczki są ligandami dla GHS-R i są produktami jednego genu. Analiza genu kodującego szczurzą ghrelinę dowodzi, że pomiędzy sekwencjami kodującymi

trzynastą i czternastą glutaminę istnieje intron. Kodon CAG (kodujący trzynastą glutaminę) oraz następująca po nim sekwencja GT stanowią koniec 5' pierwszego intronu, natomiast dwa powtórzenia AG stanowią koniec 3'. Jeżeli w wyniku alternatywnego składania genu zostanie usunięte pierwsze powtórzenie AG – powstanie ghrelina, jeśli drugie – powstanie des-Gln14-ghrelina [6, 18].

Budowa chemiczna cząsteczki ghreliny

Ekspresja tego genu u ludzi prowadzi do powstania 28 aminokwasowej cząsteczki ghreliny. Ulega ona unikalnej, potranslacyjnej zmianie, która polega na dodaniu krótkiego, prostego łańcucha grupy oktanylowej. Reszta kwasu oktanolowego kowalencyjnie związana z resztą hydroksylową trzeciej seryny poprzez wiązanie estrowe gwarantuje biologiczną aktywność cząsteczki ghreliny. Masa cząsteczkowa peptydu wynosi 3314 Daltonów. Zgodność sekwencji aminokwasów w prekursorze ludzkiej ghreliny z preproghreliną szczura jest równa 82,9%. Szczurza ghrelina ma w pozycji jedenastej lizynę, a w dwunastej alaninę [23]. Tak znaczne podobieństwo może świadczyć o konserwatywności tego związku w biologii ssaków.

Badania ostatnich lat potwierdziły obecność tego hormonu także u innych kręgowców: ryb, płazów i ptaków. W ciągu długiej, niezależnej ewolucji poszczególnych gromad mutacje i inne procesy ewolucyjne spowodowały substytucję jednych aminokwasów innymi w różnych miejscach cząsteczki ghreliny. Im wcześniej rozeszły się ich drogi rozwoju, tym większe różnice można dostrzec w sekwencji aminokwasów ghreliny.

1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
G	S	S(O-n-octanoyl)		F	L	S	P	E	H	Q	R	V	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R	– u ludzi
G	S	S(O-n-octanoyl)		F	L	S	P	E	H	Q	R	V	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R		
1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26			
G	S	S(O-n-decanoyl)		F	L	S	P	T	Y	K	N	I	Q	Q	Q	K	D	T	R	K	P	T	A	R	L	H		– u ptaków	
G	S	S(O-n-octanoyl)		F	L	S	P	T	Y	K	N	I	Q	Q	Q	K	D	T	R	K	P	T	A	R	L	H			
1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27		
G	L	T(O-n-octanoyl)		F	L	S	P	A	D	M	Q	K	I	A	E	R	Q	S	Q	N	K	L	R	H	G	N	M		– u płazów
G	L	T(O-n-decanoyl)		F	L	S	P	A	D	M	Q	K	I	A	E	R	Q	S	Q	N	K	L	R	H	G	N			
G	L	T(O-n-octanoyl)		F	L	S	P	A	D	M	Q	K	I	A	E	R	Q	S	Q	N	K	L	R	H	G	N			
1	2	3		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19										
G	T	S(O-n-decanoyl)		F	L	S	P	A	Q	K	P	Q	G	R	R	P	P	R	M										– u ryb
G	T	S(O-n-octanoyl)		F	L	S	P	A	Q	P	Q																		

Rysunek 1. Budowa chemiczna cząsteczki ghreliny

Wydaje się, że szczególnie ważne są różnice w budowie tzw. aktywnego rdzenia cząsteczki ghreliny. Jest to 4 aminokwasowy odcinek znajdujący się na N – końcu, który gwarantuje prawidłowe wiązanie ghreliny z jej receptorem (rys.1) Kluczową rolę odgrywa – wspomniany wcześniej – modyfikowany związek hydrofobowym aminokwas w pozycji 3. Jest nim seryna (ssaki, ptaki, ryby) [22, 23, 52] lub treonina (płazy) [21]. Alternatywa ta jest wynikiem mutacji punktowej, kodon AGC (seryna) zostaje zamieniony na ACC (treonina) w wyniku substytucji G w C. Modyfikacja treoniny jest możliwa, ponieważ aminokwas ten – podobnie jak seryna – ma grupę hydroksylową.

Aminokwasy w pozycjach: 1,4,5,6,7 są konserwatywne u wszystkich gatunków. Funkcja C – końcowego fragmentu cząsteczki tego hormonu jest nadal słabo poznana. W poszczególnych gromadach występują różne formy tej cząsteczki, ale wszystkie one są produktami tego samego genu. Różnice są wynikiem wspomnianego wcześniej procesu alternatywnego składania genu (*splicing*). Okta- lub deka-acetylacja cząsteczki ghreliny w pozycji 3 jest nieznanym dotychczas w biologii procesem nadawania aktywności polipeptydom.

Miejsce występowania ghreliny

Badania wykonywane techniką hybrydyzacji *in situ*, RT-PCR lub z wykorzystaniem technik radioimmunologicznych wykazały, że ghrelina jest przede wszystkim syntetyzowana przez endokrynne komórki, znajdujące się w nabłonku śluzowym żołądka, tzw. X/A komórki, które stanowią dużą populację, 20% wszystkich komórek [42]. Usunięcie dna żołądka obniża poziom ghreliny w plazmie krwi [31]. Istnieje gradient występowania ghreliny w przewodzie pokarmowym, który zbadano dokładnie u szczura. Na odcinku żołądkowo-jelitowym najwyższy poziom ekspresji mRNA ghreliny oraz najwyższe stężenie samego białka występuje w rejonie dna żołądka, najniższy zaś poziom mRNA i najniższe stężenie białka w okrężnicy [24].

Poza przewodem pokarmowym ghrelina występuje w mniejszych ilościach także w przysadce [28], nerkach [34], podwzgórzu [20], łożysku [10], także w limfocytach T i B oraz neutrofilach [15]. Ghrelina jest obecna we krwi człowieka i zwierząt [23].

Zespół z Uniwersytetu Stanu Kolorado w Denver zidentyfikował produkujące ghrelinę komórki epsilon w trzustce oraz wykazał, że rozwijają się one z tych samych komórek prekursorowych co komórki beta. O tym, jaki rodzaj komórek powstanie, decyduje obecność białek nazywanych w skrócie Nkx2 i Pax4. Produkcja pierwszego z nich jest niezbędna do rozwoju komórek beta. Badania nad zmienionymi genetycznie myszami, które nie produkowały Nkx2 wskazują, że jego brak sprzyja rozwojowi komórek epsilon. W dodatkowych doświadczeniach udało się także wykazać, że podobny udział w rozwoju komórek beta i epsilon odgrywa białko – Pax4, które reguluje wzrost rozwijających się komórek trzustki [38].

Ghrelina w regulacji wydzielania GH

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że ghrelina stymuluje wydzielanie hormonu wzrostu (GH) z przysadki. W warunkach hodowli *in vitro* komórek bydlęcej i świńskiej przysadki ghrelina powoduje wydzielanie GH [13, 14]. Hashizume i in. [12] stwierdzili istotny wzrost koncentracji GH w plazmie krwi kóz pozbawionych jajników po dożylniej iniekcji 3 μ g ghreliny na kg masy ciała, przy czym najwyższy poziom tego hormonu obserwowano w 15 min po iniekcji. Również u buhajków dopodwzgórzowa infuzja 10 nmol ghreliny istotnie stymulowała wydzielanie GH. Podobne wyniki uzyskano w badaniach na kurczętach, u których stwierdzono wzrost koncentracji GH we krwi w ciągu 10 min po dożylnym wprowadzeniu ghreliny [2]. U owiec wzrost poziomu ghreliny we krwi bezpośrednio przed karmieniem wywołuje przejściowy wzrost koncentracji GH [48]. Takiej zależności nie stwierdzono jednak u krów i cieląt rasy holsztyńskiej [32].

Siłę oddziaływania ghreliny zestawiono z aktywnością GHRH oraz syntetycznych GHSs (HEX, heksarelina) [1]. Działanie ghreliny w stosunku do GHRH jest synergistyczne i komplementarne, ale jego mechanizm nie jest jasny. Przypuszcza się, że istnieje nieznaną jeszcze czynnik (*unknown factor* – UF), który uwalnia się pod wpływem ghreliny i działa synergistycznie z GHRH na komórki somatotropowe. Tamura i in. [49] wykazali obecność komórek produkujących ghrelinę w jądrze łukowatym podwzgórza. Przypuszcza się, że transport drogą neurokrynną samej ghreliny, ale także GH-RH i UF do przedniego płata przysadki odbywa się poprzez neurony jądra łukowatego, które kończą się na wyniosłości pośredkowej. Ghrelina może zatem działać na uwalnianie GH bezpośrednio lub pośrednio przez GHRH, NPY i UF [7, 27, 30].

Nie jest jednak dokładnie wyjaśnione, jaki zakres działania w regulacji wydzielania hormonu wzrostu ma ghrelina produkowana w podwzgórzu i przysadce, a jaki ghrelina wytwarzana w żołądku. Z drugiej strony ma ona zdolność uwalniania także innych hormonów, w tym ACTH (człowiek), prolaktyny (płazy i ssaki) [21] i kortykosteronu (ptaki) [22].

Poza klasycznymi neurohormonami GHRH oraz somatostatyną na uwalnianie GH wpływa pośrednio lub bezpośrednio wiele substancji, w tym peptydy opiatowe. Jest to szczególnie interesujące, ponieważ endorfiny i enkefaliny działają poprzez receptory związane z białkiem G, podobnie do GHS-R. Pionierskie prace Bowersa i in. [3] udowodniły, że syntetyczny analog Met-enkefaliny działał poprzez receptor ghrelinowy. Wyniki prac Koziec i in. potwierdzają interakcje pomiędzy receptorami opioidowymi a GHS-R [39]. Regulacja wydzielania ghreliny z tkanek mózgowych jest uzależniona od aktywności receptorów opioidowych. Zastosowanie antagonisty tych receptorów – naltreksonu wywołało spadek podstawowego wydzielania ghreliny [40].

Ghrelina w kontroli pobierania pokarmu

Pobieraniem pokarmu steruje rozległa sieć nerwowa, w skład której wchodzi dwa podwzgórzowe ośrodki: ośrodek głodu – odpowiedzialny za uruchamianie mechanizmów szukania, pobierania pokarmu (część boczna podwzgórza) oraz ośrodek sytości – hamujący apetyt (jądro brzuszno-przyśrodkowe). Ośrodek głodu pozostaje pod kontrolą układu limbicznego, który hamuje jego działanie oraz pod kontrolą kory mózgowej i ośrodków podkorowych, które zarówno hamują jak i pobudzają ten ośrodek. Występujący w podwzgórzu neuropeptyd Y (NPY) pobudza ośrodek głodu. W regulacji kontroli pobierania pokarmu uczestniczą także inne struktury mózgowia, takie jak: jądro łukowate, jądro przykomorowe, jądro grzbietowo-przyśrodkowe. Sygnały z przewodu pokarmowego dochodzą nerwami błędnymi do jądra samotnego, a stąd do ośrodków podwzgórza [25].

Odkryta w 1994 roku leptyna [54] jest wydzielanym przez adipocyty białkowym hormonem, działającym bezpośrednio lub pośrednio poprzez insulinę z wysp trzustkowych na ośrodki pokarmowe w podwzgórzu, hamując pobieranie pokarmu.

Badania potwierdzają także istotną rolę, jaką pełni ghrelina w procesie zachowania równowagi energetycznej w organizmie. Działanie ghreliny polega na stymulacji pobierania pokarmu [52]. Jednym z ważniejszych czynników w regulacji równowagi energetycznej jest równowaga pomiędzy anabolicznymi neuropeptydami, takimi jak NPY czy AGRP (Agouti – related protein), które stymulują magazynowanie energii, a katabolicznymi neuropeptydami, takimi jak POMC (pro-opiomelanokortyna), które uwalniają energię [47]. Receptory GHS-R są obecne w neuronach NPY/AGRP podwzgórza i jest to prawdopodobnie droga działania ghreliny na równowagę energetyczną w organizmie.

Wydaje się zatem, że ghrelina jest czynnikiem zawiadamiającym ośrodki podwzgórza o konieczności pobierania pokarmu. Potwierdzają to doświadczenia na gryzoniach, które znacznie zwiększały pobieranie paszy po podaniu im tego hormonu. Jednocześnie odnotowano spadek intensywności spalania tkanki tłuszczowej, co w konsekwencji prowadziło do zwiększenia masy ciała [51]. Zaburzenia w wydzielaniu ghreliny mogą więc prowadzić do otyłości [36, 51]. Dodatni wpływ ghreliny na pobieranie pokarmu stwierdzono u owiec [16, 48] i świń [43]. Interesujący jest fakt, że u młodych kurcząt ghrelina ma hamujący wpływ na pobieranie pokarmu. Nieliczne prace w tym zakresie sugerują, że ptasia ghrelina hamuje syntezę AGRP, jednocześnie stymulując wydzielanie kortykoliberyny (CRH), ale mechanizm jej działania ciągle pozostaje nieznany [9, 41]. W doświadczeniach na przepiórkach japońskich wykazano, że iniekcja niewielkich ilości ghreliny dootrzewnowo stymuluje pobieranie pokarmu, podobnie jak u szczurów, natomiast podanie dokomorowe tego hormonu dawało efekt przeciwny. Podanie ptakom ghreliny w dużym stężeniu, zarówno dootrzewnowo jak i dokomorowo, powodowało pobieranie mniejszych ilości paszy i zwiększało temperaturę ciała [45].

Poziom ghreliny w plazmie krwi podlega rytmice dobowej, związanej z harmonogramem żywienia. Miura i in. [32] wykazali, że koncentracja tego hormonu u krów obniża się w 40 do 60 min po nakarmieniu, a następnie stopniowo wzrasta. Takiej zależności nie obserwowano jednak u cieląt w wieku 3 miesięcy, co wg wymienionych autorów jest wynikiem niedojrzałości systemu wydzielniczego w pierwszych miesiącach życia.

Udowodniono, że podanie ghreliny wpływa hamująco na wydzielanie insuliny, czego efektem może być jednoczesny wzrost poziomu glukozy we krwi. Iniekcja syntetycznych GHSs, konkretnie zaś heksareliny, nie zmieniała poziomu insuliny i glukozy we krwi [5].

Praktyczne zastosowanie ghreliny

Dotychczasowe prace wskazują na liczne możliwości wykorzystania badań nad ghreliną w praktyce. Zastosowania te mogą dotyczyć zarówno samej ghreliny jak i jej analogów oraz GHSs. Szczególne nadzieje wiązane są z możliwością zastosowania tego hormonu w walce z otyłością czy anoreksją. Shiiya i in. [44] wykazali, że stężenie ghreliny we krwi ludzi otyłych jest niższe niż u osób zdrowych. Pacjenci chorzy na anoreksję mają z kolei wyższe stężenie tego hormonu we krwi w porównaniu z osobami zdrowymi. Obserwacje te wskazują na możliwość wykorzystania agonistów i antagonistów receptora ghreliny w walce z tymi schorzeniami. Zespół Halema [11] ze Stanów Zjednoczonych wykazał, że związek o nazwie BIM28163 ma wysokie powinowactwo do receptora GHS-R i jako jego antagonistę hamuje wydzielanie GH w warunkach *in vivo*.

Uważa się, że ghrelina może okazać się skuteczna w walce z chorobami układu krążenia, udowodniono bowiem jej bezpośredni wpływ na mięsień sercowy i naczynia wieńcowe [35]. Wyniki uzyskane przez Otero i in. [37] sugerują udział tego hormonu w stanach zapalnych. Dembiński i in. [8] wykazali protekcyjny charakter ghreliny w przebiegu ostrego zapalenia trzustki, manifestujący się wzrostem syntezy DNA komórek trzustki [8]. Prace Konturka i in. [24–26] potwierdzają ochronne działanie ghreliny w żołądku po wcześniejszej ekspozycji na alkohol etylowy [24]. Jednocześnie udowodniono, że podanie egzogennej ghreliny wzmacnia sekrecję kwasu żołądkowego [5] oraz moduluje czynność wydzielniczą trzustki [31].

Dalszy postęp w badaniach doświadczalnych nad ghreliną oraz wyniki kolejnych prób klinicznych z pewnością zwiększą możliwości zastosowania tego hormonu w przyszłości.

Podsumowanie

Pod koniec lat 70 ubiegłego stulecia rozpoczęto badania nad syntetycznymi związkami uwalniającymi hormon wzrostu – GHS. W roku 1996 wykryto i sklonowano receptor dla GHS, trzy lata później oczyszczono z wyciągów żołądka szczura, a następnie sklonowano endogenny ligand dla tego receptora. Był to peptyd złożony z 28 reszt aminokwasowych ze zmodyfikowaną seryną w pozycji trzeciej – ghrelina. Ten peptydowy hormon został także zidentyfikowany i wyizolowany u ptaków, płazów i ryb. Ghrelina działa stymulująco na uwalnianie GH z przysadki, a mechanizm jej działania jest odmienny niż GH–RH. Ghrelina działa także stymulująco (ssaki, ryby) lub hamująco (ptaki) na pobieranie pokarmu.

Literatura

- [1] Arvat E., Maccario M., Di Vito L., 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 peptide, and GH-releasing hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 1169–1174.
- [2] Baudet M.L., Harvey S. 2003. Ghrelin-induced GH secretion in domestic fowl in vivo and in vitro. *J. Endocrinol.* 179(1): 97–105.
- [3] Bowers C.Y., Momany F.A., Reynolds G.A., Hong A. 1984. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic heptapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology* 114: 1537–1545.
- [4] Broglio F., Arvat E., Benso A., Gottero C., Muccioli G., Papotti M., Deghenghi R., van der Lely J., 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.
- [5] Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecien S., Drozdowicz D., Bielanski W., Pajdo R., Ptak A., Nikiforuk A., Pawlik W.W., Hahn E.G. 2004. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Pept.* 15; 120(1–3): 39–51.
- [6] Casanueva F.F., Dieguez C. 2002. Ghrelin: the link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocr Metab Disord.* 3(4): 325–338.
- [7] Chabot G-J., Enjalbert A., Pelletier G., Dubois P.M., Morel G. 1998. Evidence for a direct action of neuropeptide Y in the rat pituitary gland. *Neuroendocrinology* 47: 511–517.
- [8] Dembinski A., Warzecha Z., Ceranowicz P., Tomaszewska R., Stachura J., Konturek S.J., Konturek P.C. 2003. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J. Physiol Pharmacol.* 54(4): 561–573.
- [9] Furuse M., Tachibana T., Ohgushi A., Ando R., Yoshimatsu T., Denbow D.M. 2001. Intracerebroventricular injection of ghrelin and growth hormone releasing factor inhibits food intake in neonatal chicks. *Neurosci Lett.* 301(2): 123–126.

- [10] Gualillo O., Caminos J., Blanco M., Garcia-Caballero T., Kojima M., Kangawa K., Dieguez C., Casanueva F. 2001. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 142: 788–794.
- [11] Halem H.A., Taylor J.E., Dong J.Z., Shen Y., Datta R., Abizaid A., Diano S., Horvath T., Zizzari P., Bluet-Pajot M.T., Epelbaum J., Culler M.D. 2004. Novel analogs of ghrelin: physiological and clinical implications. *Eur. J. Endocrinol.* 151 Suppl 1: S71–5.
- [12] Hashizume T., Horiuchi M., Nonaka S., Kasuya E., Kojima M., Hosoda H., Kangawa K. 2005. Effects of ghrelin on growth hormone secretion in vivo in ruminants. *Regul Pept.* 126(1–2): 61–65.
- [13] Hashizume T., Horiuchi M., Tate N., Nonaka S., Kojima M., Hosoda H., Kangawa K. 2003. Effects of ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in cattle. *Endocr. J.* 50(3): 289–295.
- [14] Hashizume T., Horiuchi M., Tate N., Nonaka S., Mikami U., Kojima M. 2003. Effects of ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in pigs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 24(3): 209–218.
- [15] Hattori N., Saito T., Yagyu T., Jiang B.-H., Kitagara 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.
- [16] Hayashida T., Murakami K., Mogi K., Nishihara M., Nakazato M., Mondal M.S., Horii Y., Kojima M., Kangawa K., Murakami N. 2001. Ghrelin in domestic animals: distribution in stomach and its possible role. *Domest Anim. Endocrinol.* 21(1): 17–24.
- [17] Hosoda H., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K. 2000. Purification and characterization of rat des-Gln¹⁴-ghrelin, a second endogenous ligand for growth hormone secretagogue receptor. *J. Biol. Chem.* 275: 21995–22000.
- [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] Howard A.D., Feighner S.D., Cully D.F., Arena J.P., Liberatore P.A., Rosenblum C.I., Hamelin M., Hreniuk D.L., Palyha O.C., Anderson J., Paress P.S., Diaz C., Chou M., Liu K.K., McKee K.K., Pong S.S., Chung L.Y., Elbrecht A., Dashkevich M., Heavens R., Rigby M., Sirinathsinghji D.J., Dean D.C., Melillo D.G., Van der Ploeg L.H., et al. 1996. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* vol.273: 974–977.
- [20] Kagotani Y., Sokata I., Yamazani M., Nakamura K., Hagashi Y., Kangawa K. 2001. Localization of ghrelin-immunopositive cells in the rat hypothalamus and intestinal tract. *Proceeding of the 83rd Annual of The Endocrine Society, Denver, CO, 200: 1337.*
- [21] Kaiya H., Kojima M., Hosoda H., Koda A., Yamamoto K., Kitajima Y., Matsumoto M., Minamitake Y., Kikuyama S., Kangawa K. 2001. Bullfrog ghrelin is modified by n-octanoic acid at its third threonine residue. *J. Biol. Chem.* 276(44): 40441–40448.
- [22] Kaiya H., Van Der Geyten S., Kojima M., Hosoda H., Kitajima Y., Matsumoto M., Geelissen S., Darras V.M., Kangawa K. 2002. Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology* 143(9): 3454–3463.
- [23] 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.

- [24] Konturek P.C., Brzozowski T., Pajdo R., Nikiforuk A., Kwiecien S., Harsch I., Drozdowicz D., Hahn E.G., Konturek S.J. 2004. Ghrelin-a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *J. Physiol. Pharmacol.* 55(2): 325–336.
- [25] Konturek S.J., Konturek J.W., Pawlik T., Brzozowski T. 2004. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J. Physiol. Pharmacol.* 55(1 Pt 2): 137–154.
- [26] Konturek S.J., Zabielski R., Konturek J.W., Czarnecki J. 2003. Neuroendocrinology of the pancreas; role of brain-gut axis in pancreatic secretion. *Eur. J. Pharmacol.* 481(1): 1–14.
- [27] Korbonits M., Little J.A., Forsling M.L., Tringali G., Costa A., Navarra P., Trainer P.J., Grossman A.B. 1999. The effect of growth hormone secretagogues and neuropeptide Y on hypothalamic explants. *J. Neuroendocrinol.* 11: 521–528.
- [28] Korbonits M., Kojima M., Kangawa K., Grossman A.B. 2001. Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine.* 14: 101–104.
- [29] Lee H.M., Wang G., Englander E.W., Kojima M., Greeley G.H. Jr. 2002. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine and dietary manipulations. *Endocrinology* 143: 185–190.
- [30] Loche S., Colao A., Cappa M., Bellone J., Aimaretti G., Farello G., Faedda A., Lombardi G., Deghenghi R., Ghigo E. 1997. The growth hormone response to hexarelin in children: reproducibility and effect of sex steroids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82: 861–864.
- [31] Matyjek R., Kapica M., Puzio J., Babelowska M., Zabielski R. 2004. The effect of fundectomy on pancreatic secretion in anaesthetized rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 55 Suppl. 2: 69–75.
- [32] Miura H., Tsuchiya N., Sasaki I., Kikuchi M., Kojima M., Kangawa K., Hasegawa Y., Ohnami Y. 2004. Changes in plasma ghrelin and growth hormone concentrations in mature Holstein cows and three-month-old calves. *J. Anim. Sci.* 82: 1329–1333.
- [33] Momany F., Bowers C.Y., Reynolds G.A., Chang D., Hong A., Newlander K. 1981. Design, synthesis and biological activity of peptides which release GH in vitro. *Endocrinology* 108: 31–39.
- [34] 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.
- [35] 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(24): 3674–3679.
- [36] Nakazato M., Murakami N., Date Y., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K., Matsukura S. 2001. A role of ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409: 194–198.
- [37] Otero M., Nogueiras R., Lago F., Dieguez C., Gomez-Reino J.J., Gualillo O. 2004. Chronic inflammation modulates ghrelin levels in humans and rats. *Rheumatology (Oxford)* 43(3): 306–310.
- [38] Prado C., Pugh-Bernard A., Elghari L., Sosa-Peda B., Sussel L. 2004. Ghrelin cells replace insulin – producing β cells in two model of pancreas development. *PNAS* 101: 2924–2929.
- [39] Pierzchała-Koziec K., Rząsa J., Zubel J. 2005. Wpływ naltreksonu na wydzielanie ghreliny z tkanek. XIX Ogólnopolskie Seminarium „Mechanizmy służące utrzymaniu życia i regulacji fizjologicznych” 10 IX 2005, Kraków: 120.

- [40] Pierzchała-Koziec K., Zubeł J., Kęps B. 2005. The effect of ghrelin on the opioids receptors binding in lamb tissues. 14th International Symposium „Molecular and physiological aspects of regulatory processes of the organism” 2–3 VI 2005, Kraków: 365–366.
- [41] Saito E.S., Kaiya H., Takagi T., Yamasaki I., Denbow D.M., Kangawa K., Furuse M. 2002. Chicken ghrelin and growth hormone-releasing peptide-2 inhibit food intake of neonatal chicks. *Eur. J. Pharmacol.* 453(1): 75–79.
- [42] Sakata I., Nakamura K., Yamazaki M., Matsubara M., Hayashi Y., Kangawa K., Sakai T. 2002. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 23: 531–536.
- [43] Salfen B.E., Carroll J.A., Keisler D.H., Strauch T.A. 2004. Effects of exogenous ghrelin on feed intake, weight gain, behavior, and endocrine responses in weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 82(7): 1957–1966.
- [44] Shiiya T., Nakazato M., Mizuta M., Date Y., Mondal M.S., Tanaka M., Nozoe S., Hosoda H., Kangawa K., Matsukura S. 2002. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87(1): 240–244.
- [45] Shousha S., Nakahara K., Kojima M., Miyazato M., Hosoda H., Kangawa K., Murakami N. 2005. Different effects of peripheral and central ghrelin on regulation of food intake in the Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.* 141(2): 178–183.
- [46] Smith R.G., Pong S.S., Hickey G., Jacks T., Cheng K., Leonard R., Cohen C.J., Arena J.P., Chang C.H., Drisko J., Wyvrat M., Fisher M., Nargund R., Patchett A. 1996. Modulation of pulsative GH release through a novel receptor in hypothalamus and pituitary gland. *Rec. Prog. Horm. Res.* 51: 261–286.
- [47] Spiegelman B.M., Flier J.S. 2001. Obesity and regulation of energy balance. *Cell* 104: 531–543.
- [48] Sugino T., Hasegawa Y., Kurose Y., Kojima M., Kangawa K., Terashima Y. 2004. Effects of ghrelin on food intake and neuroendocrine function in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 82–83: 183–194.
- [49] Tamura H., Kamegai J., Sugihara H., Kineman RD., Frohman LA., Wakabayashi I. 2000. Glucocorticoids regulate pituitary growth hormone secretagogue receptor gene expression. *J. Neuroendocrinol.* 12: 481–485.
- [50] Torsello A., Scibona B., Di Credico S., Avallone R., Bresciani E., Deghengi R., Muller E.E., Locatelli V. 2000. Tissue-specific expression of ghrelin mRNA in the CS and peripheral organs of young-adult and old rats. The Endocrine Society’s 82nd Annual Meeting, Toronto, 21–24 VI 2000:165.
- [51] Tschop M., Weyer C., Tataranni P.A., Devanarayan V., Ravussin E., Heiman M.L. 2001. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50: 707–709.
- [52] Unniappan S., Lin X., Cervini L., Rivier J., Kaiya H., Kangawa K., Peter R.E. 2002. Goldfish ghrelin: molecular characterization of the complementary deoxyribonucleic acid, partial gene structure and evidence for its stimulatory role in food intake. *Endocrinology* 143(10): 4143–4146.
- [53] Wren A.M., Seal L.J., Cohen M.A., Brynes A.E., Frost G.S., Murphy K.G., Dhillo W.S., Ghatei M.A., Bloom S.R. 2001. Ghrelin enhances appetite and increase food intake in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 86: 5992–5995.
- [54] Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.L. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its humane homologue. *Nature* 372: 425–432.

Ghrelin – a peptide gastric hormone

Key words: ghrelin, secretion, growth hormone, food intake

Summary

Growth hormone secretagogues are synthetic unnatural peptides and non-peptide molecules that stimulate GH secretion by acting on the GHS-R. Ghrelin is a natural ligand of the orphan receptor GHS-R. It is a peptide hormone in which the third amino acid, usually a serine but in some species a threonine, is modified by a fatty acid; this modification is essential for ghrelin's activity. The majority of ghrelin is produced in the stomach, but it is also expressed in the hypothalamus, pituitary gland, intestine, kidney, heart, and pancreas. Ghrelin stimulates growth hormone secretion via growth hormone secretagogue receptors and also stimulates the appetite by acting on the hypothalamic arcuate nucleus, the region known to controlling the food intake.