

Grelina a płodność

Ghrelin and fertility

Krzysztof Katulski, Błażej Męczekalski

Katedra i Klinika Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu;
kierownik Katedry: dr hab. n. med. Błażej Męczekalski

Przeгляд Menopauzalny 2012; 1: 26–30

Streszczenie

Grelina jest oreksygennym hormonem, który pierwotnie został zidentyfikowany w żołądku. Jest peptydem składającym się z 28 aminokwasów. Reguluje szeroko pojętą równowagę energetyczną oraz wiele innych procesów zachodzących w organizmie człowieka. Jej wpływ na łaknienie wywierany jest prawdopodobnie w sposób pośredni, poprzez interakcję greliny z okotoposłtkową glikemią i insulinemią. Grelina oddziałuje na tzw. układ nagrody w mózgu. Jest on odpowiedzialny za odczuwanie przyjemności i uzależnianie się od rzeczy, które ją sprawiają.

Grelina oprócz stymulującego wpływu na wydzielanie hormonu wzrostu (*growth hormone* – GH), zwiększa sekrecję prolaktyny (PRL), kortykotropiny (*adrenocorticotropic hormone* – ACTH) i kortyzolu. Wpływ greliny na wydzielanie luteiny (*luteinizing hormone* – LH) nie jest jednoznaczny. Dotychczasowe badania na zwierzętach i ludziach są sprzeczne i nie można jednoznacznie stwierdzić, czy ma ona stymulujące, czy hamujące działanie. Sugeruje się, że zmniejsza ona częstość pulsów LH. W tym mechanizmie grelina może odgrywać istotną fizjologiczną rolę w funkcji reprodukcyjnej.

W zespole policystycznych jajników (*polycystic ovary syndrome* – PCOS) stwierdzono mniejsze stężenie greliny w porównaniu z kobietami zdrowymi, choć doniesienia na ten temat nie są jednoznaczne. Grelina jest hormonem, który ma ścisły związek z równowagą energetyczną, otyłością, insulinopornością oraz – najprawdopodobniej – z funkcją rozrodczą. Ponieważ PCOS predysponuje do otyłości i zmian metabolicznych, takich jak m.in. insulinoporność, można przypuszczać, że funkcja greliny wiąże się z patogenezą PCOS.

W związku z powyższym całkowicie zrozumiałe wydają się obserwacje wskazujące, że niedobór tego hormonu może prowadzić do zaburzeń płodności.

Słowa kluczowe: grelina, płodność.

Summary

Ghrelin is an orexigenic hormone which was primarily located in the stomach. It is a peptide which is made of 28 amino acids. It regulates the energetic balance and many more processes which take place in the human organism. Its influence on hunger is probably exerted indirectly by the interaction of ghrelin with glycemia and insulinemia. Ghrelin influences the so-called brain's prize system which is responsible for sensing pleasure and addiction.

Apart from the stimulating influence on production of GH, it also increases the secretion of PRL, ACTH and cortisol. The influence of ghrelin on LH production is unambiguous. Previous research conducted on animals and people is contradictory and it cannot be clearly stated whether it has a stimulating or restraining effect. It is suggested that it decreases the frequency of LH pulsing. Ghrelin may play an important physiological role in the reproductive function.

It was discovered that in the Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) the concentration of ghrelin was lower comparing to the one of healthy women, but unfortunately the news regarding this subject is unambiguous. Ghrelin is a hormone that is closely related to energetic balance, obesity, insulin resistance and probably also with the reproductive function. Because PCOS predisposes to obesity and metabolic changes such as for instance insulin resistance, we can assume that the function of ghrelin is connected with the origins of PCOS. Therefore, the observations that the deficiency of this hormone may lead to fertility dysfunctions seem to be understandable.

Key words: ghrelin, fertility.

Adres do korespondencji:

Krzysztof Katulski, Katedra i Klinika Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego, ul. Polna 33, 60-535 Poznań

Wstęp

Grelina jest oreksygennym hormonem, który pierwotnie został zlokalizowany w żołądku. Jest to peptyd składający się z 28 aminokwasów, który jest endogenym ligandem receptora dla substancji pobudzających wydzielanie hormonu wzrostu (*growth hormone secretagogues* – GHS) – GHS-R [1].

Odkrycia tego endogenego liganda, naturalnego hormonu działającego przez GHS-R, dokonała grupa badaczy japońskich, a wyniki ich pierwszej pracy zostały opublikowane w „Nature” w grudniu 1999 r. [2].

Oktaacetylacja cząsteczki greliny w pozycji trzeciej okazała się podstawą nowej struktury nadającej aktywność polipeptydom. Zawiera n-oktaacylową modyfikację na serynie w pozycji trzeciej, która jest istotna dla wywołanej greliną stymulacji uwalniania hormonu wzrostu (*growth hormone* – GH), natomiast des-acylowana grelina w formie des-n-oktaacylowanej jest nieaktywna biologicznie. Stwarza to nowe możliwości syntezy biologicznie czynnych peptydów i peptydomimetyków. Działanie biologiczne greliny i GHS potwierdził w 2000 r. Bowers, odkrywca GHS, który dowiódł, że związek uzyskany przez Kojimę i wsp. jest poszukiwanym od wielu lat nowym hormonem uwalnającym hormon wzrostu (*growth-hormone-releasing hormone* – GHRH) [3].

Gen ludzkiej greliny został opisany i zlokalizowany na 3 chromosomie (3p25-26). Grelina podlega innym mechanizmom ujemnych sprzężeń zwrotnych niż GHRH oraz działa synergistycznie i komplementarnie z tym neurohormonem [3].

Grelina inaktywowana jest przez proteazy osoczowe i esterazy tkankowe. Jej czas półtrwania wynosi 30 minut. Ekspresję tego peptydu opisano głównie w komórkach endokrynych gruczołów właściwych żołądka. Wykazano jednak, że po gastrektomii wydzielanie peptydu zmniejsza się o 65%. Wskazuje to na fakt, że musi ona być uwalniana również przez komórki innych narządów. Grelina wydzielana jest przez komórki jelita cienkiego i grubego, jądro łukowate podwzgórza, przysadkę, nerki oraz łożysko [4]. Stwierdza się jej występowanie w jądrach, jajnikach, tarczycy, trzustce [5].

Grelina ludzka i szczurza różnią się tylko dwoma podstawnikami aminokwasowymi. Grelina, która jest produkowana i wydzielana w żołądku, ma różne działania regulacyjne w mózgu i na obwodzie. Przy podaniu obwodowo lub centralnie gryzoniom grelina powoduje szybki wzrost ilości przyjmowanego pokarmu i przyrost masy ciała. Ponadto zwiększa motorykę i wydzielanie kwasów żołądkowych [6].

Najbliższym homologiem receptora dla greliny jest receptor dla motyliny, która wydzielana jest w podobnych miejscach i również oddziałuje na autonomiczny układ nerwowy. U gryzoni stężenie greliny we krwi zwiększa się podczas głodzenia, natomiast zmniejsza

się po podaniu pokarmu lub jego wprowadzeniu do żołądka. Takiego działania nie wywołuje woda [7].

W surowicy dorosłego człowieka znajduje się 100–260 pmol/ml greliny. Oznacza to, że w żołądku grelina nie jest wydzielana do światła przewodu pokarmowego, jak inne enzymy, tylko do naczyń krwionośnych [5].

Zawartość greliny w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) jest mała. Za pomocą analizy immunohistochemicznej stwierdzono, że komórki nerwowe zawierające receptory dla greliny znajdują się jedynie w jądrze łukowatym podwzgórza. Rejon ten odpowiada za regulację łaknienia, co może świadczyć o udziale greliny w regulacji tego procesu. Ponadto w jądrze łukowatym podwzgórza zlokalizowane są neurony wydzielające gonadoliberynę (*gonadotropin-releasing hormone* – GnRH) [8].

Najsilniejszym znanym impulsem powodującym wydzielenie greliny jest głodzenie. Następuje wówczas wydzielenie greliny, głównie w obrębie żołądka, co wywołuje w mózgu uczucie głodu. Wcześniejsze badania wykazywały, że zwiększone stężenie tego hormonu nasila uczucie przyjemności związane z zażywaniem kokainy lub pić alkoholu [4].

Doświadczalnie wykazano, że najedzone do syta myszy wybierają pomieszczenie, w którym wcześniej znajdowały bardzo tłuste pożywienie, lub pomieszczenie, w którym udostępniano im zwykłą karmę. Okazało się, że gryzonie nie miały żadnych preferencji. Jednak gdy wstrzyknięto im grelinę, wybierały pomieszczenie, które kojarzyły z tłustą żywnością, choć było ono zupełnie puste. Grelina pobudzała myszy do szukania tłustego pokarmu, ponieważ zapamiętały, jak wielką przyjemność im sprawiał. Kojarzyły pomieszczenie, w którym był pokarm, z czymś przyjemnym, nawet gdy było już puste. Badacze zaobserwowali też, że przegłodzone zwierzęta, u których zablokowano działanie greliny, nie spędzały tak dużo czasu w miejscu, w którym podawano im tłustą żywność. W innych testach sprawdzano, jak długo myszy będą gotowe czekać w jednym miejscu po to, by otrzymać tłustą karmę. Okazało się, że zwierzęta, którym nie podano greliny, poddawały się znacznie szybciej niż te, którym wstrzyknięto hormon. Obserwacje te wskazują, że grelina wzmacnia uczucie przyjemności związane ze smacznym jedzeniem. To właśnie dzięki działaniu tego hormonu po zjedzeniu sytego obiadu ciągle mamy ochotę na różne smakołyki, np. kaloryczny deser [9].

Grelina oddziałuje na tzw. układ nagrody w mózgu. Jest on odpowiedzialny za odczuwanie przyjemności i uzależnianie się od rzeczy, które ją sprawiają. Dlatego grelina jest tak silnym czynnikiem motywacyjnym, warunkującym zdobycie czegoś, co sprawi przyjemność oraz powoduje zapamiętanie informacji, jak ten cel osiągnąć.

Grelina stymuluje pobieranie pokarmu i wpływa na równowagę energetyczną organizmu (ryc. 1.) [10].

Poprzez swoje liczne interakcje z systemem neurotransmisyjnym w podwzgórzu wpływa na regulację

łaknienia i szeroko pojętą gospodarkę hormonalną organizmu. Grelina powoduje zwiększenie produkcji neuropeptydu Y (NPY) i AgRP (*agouti-related peptide*) przez jądro łukowate podwzgórza, a to prowadzi do wzmożonej produkcji oreksyny i hormonu koncentrującego melanicę (*melanin-concentrating hormone* – MCH) w podwzgórzu. Wiadomo również, że oreksyna i MCH przekazują w podwzgórzu sygnał o zwiększonym zapotrzebowaniu energetycznym organizmu. Grelina hamuje powstawanie hormonu stymulującego melanocyty alfa (*alpha melanocyte stimulating hormone* – α MSH), a to z kolei hamuje sekrecję kortykoliberyny (*corticotropin-releasing hormone* – CRH), czego następstwem jest magazynowanie tkanki tłuszczowej [10].

Zwiększenie stężenia greliny stwierdzono przed posiłkiem, a zmniejszenie – po posiłku. U chorych z anoreksją i po krótkotrwałym poście obserwuje się zwiększone stężenie greliny, natomiast zmniejszone – u osób otyłych [11].

W badaniach doświadczalnych zaobserwowano, że szybkie podanie greliny stymuluje pobieranie pokarmu u wielu gatunków zwierząt, a także u ludzi, natomiast przewlekłe podawanie powoduje wzrost masy ciała – nie tylko przez ciągłą stymulację łaknienia, ale także poprzez zmniejszenie katabolizmu tłuszczów i zużycia energetycznego [12].

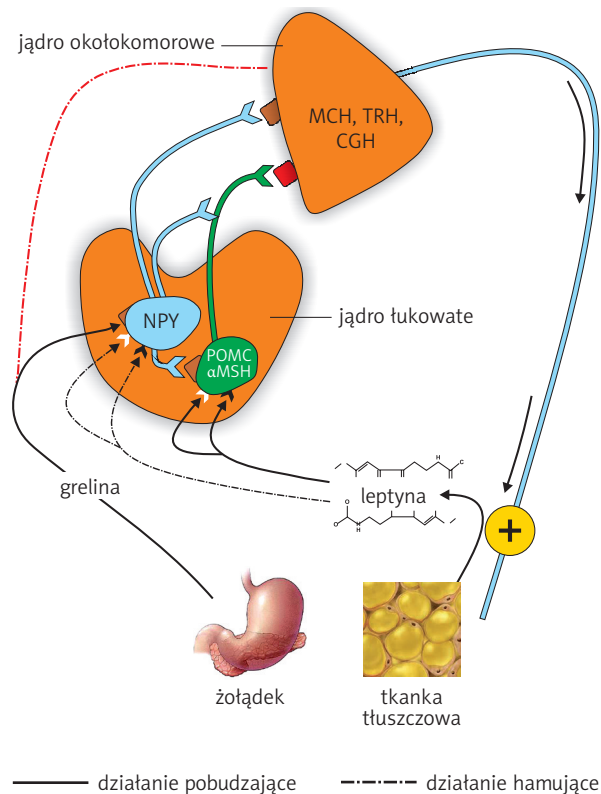
Zablokowanie, przy użyciu technik genetycznych, przekazywania sygnału przez grelinę, poprzez zastosowanie antagonistów receptorów dla greliny i przeciwciał przeciwgrelinowych, wykazało zmniejszenie spożycia pokarmów i spadek masy ciała. Niska masa ciała i utrata masy ciała są wynikiem zwiększonego stężenia greliny, natomiast duża masa ciała i jej zwiększanie wiąże się ze zmniejszaniem jej stężenia [13].

Te obserwacje sugerują, że grelina przekazuje sygnał do podwzgórza o stanie odżywienia organizmu [14].

Grelina reguluje szeroko pojętą równowagę energetyczną oraz wiele innych procesów zachodzących w organizmie człowieka. Jej wpływ na łaknienie wywierany jest prawdopodobnie w sposób pośredni, poprzez interakcje greliny z okołoposiłkową glikemią i insulinemią. Wykazano istnienie kilku istotnych korelacji między insulinemią a grelinemią w poszczególnych etapach doustnego testu obciążenia glukozą. Uważa się, że o zmniejszeniu stężenia greliny po podaniu glukozy oraz poposiłkowo u osób zdrowych najprawdopodobniej decyduje insulinemia [15].

Sugeruje się, że leptyna i insulina mogą regulować produkcję greliny. Nie jest jednak jasne, jak grelina, jako hormon wydzielany przez przewód pokarmowy, może odpowiadać za zmiany w magazynowaniu energii [16].

Stężenie insuliny u osób z insulinopornością jest duże. Jest to typowe dla otyłości, a zmiany stężeń insuliny przed posiłkiem i po nim są odzwierciedleniem wahań stężenia greliny – wydaje się, że insulina jest tym czynnikiem, który reguluje sekrecję greliny. U ludzi podanie insuliny powoduje zmniejszenie stężenia gre-



Ryc. 1. Rola greliny w regulacji równowagi energetycznej organizmu

liny, co jest zgodne z możliwym hamującym wpływem insuliny na wydzielanie greliny [17].

W przeciwieństwie do greliny, stężenie insuliny zwiększa się wraz ze wzrostem masy tłuszczowej i zmniejsza się podczas głodzenia i utraty masy ciała. Można więc przypuszczać, że insulina może odgrywać rolę mediatora pomiędzy masą ciała a stężeniem greliny. Ponadto hiperinsulinemia i insulinoporność jako wykładniki nadmiernego odżywienia mogą hamować oreksygenne stężenie greliny, ale dotychczasowe doniesienia w tym zakresie nie są spójne [18]. Wpływ greliny na insulinę nie jest do końca poznany, ponieważ istnieją sprzeczne doniesienia na ten temat. Najprawdopodobniej jednak to grelina hamuje sekrecję insuliny poprzez pobudzenie sekrecji NPY w trzustce [19].

Grelina powoduje zwiększenie stężenia glukozy u ludzi. Wynika to najprawdopodobniej z jej hamującego wpływu na wydzielanie insuliny. Adipogeny i pobudzający wpływ na apetyt jest niezależny od GH, ale najprawdopodobniej zależny od systemu leptyny. Leptyna i grelina działają przeciwstawnie [20].

Mechanizm działania greliny w jajniku

Grelina jest endogennym ligandem dla GHS-R, którego działanie polega przede wszystkim na stymulacji wydzielania GH oraz zwiększaniu łaknienia i indukowaniu otyłości.

Ostatnie badania wskazują na znaczącą rolę tego hormonu w regulacji funkcji rozrodczych. Grelina jest hormonem wydzielanym przez pęcherzyk jajnikowy i reguluje procesy steroidogenezy w jajniku, stymulując proliferację komórek oraz wykazując działanie antyapoptotyczne. Związanie greliny z funkcjonalnym receptorem, GHS-R1a aktywuje białko G, a transdukcja sygnału odbywa się przez aktywację kinazy białkowej C oraz fosfolipazy C, która hydrolizuje 4,5-difosforan fosfatydyloinozytolu do 1,2-diacylglicerolu (DAG) i 1,4,5-trójfosforanu inozytolu (IP3). Zmiany te powodują zwiększenie stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia. Liczne badania wskazują również na możliwość istnienia alternatywnych szlaków przekazywania sygnału, np. aktywacja zależnej od 3',5'-cyklicznego adenozynomonofosforanu (cAMP) kinazy białkowej A lub kinazy aktywowanej mitogenem (*mitogen-activated protein kinases* – MAPK) [21].

Biorąc pod uwagę fakt istnienia możliwości działania greliny przez aktywację szlaku fosfatydyloinozytolu, badania koncentrują się na mechanizmie działania tego hormonu poprzez określenie wpływu greliny na aktywność enzymatyczną kinazy fosfatydyloinozytolu, katalizującą powstawanie IP3 oraz ekspresję białka dla kinazy IP3. Kolejny badany etap to określenie udziału IP3 we wpływie greliny na proliferację i apoptozę komórek pęcherzyka jajnikowego. Grelina stymuluje w istotny sposób aktywność enzymatyczną kinazy IP3. Natomiast nie wykazano wpływu greliny na ekspresję białka dla kinazy IP3. Zaobserwowano obniżenie stymulowanej greliną proliferacji komórek pęcherzyka jajnikowego do poziomu kontrolnego po dodaniu inhibitora kinazy IP3. Równoległe zanotowano odwrócenie antyapoptotycznego działania greliny. Wnioskiem z tych badań jest potwierdzenie aktywacji szlaku kinazy fosfatydyloinozytolu jako jednego z mechanizmów działania greliny na proliferację i apoptozę komórek pęcherzyka jajnikowego [20, 22].

Badania *in vitro* sugerują, że jajniki mogą być ważnym miejscem działania greliny, ponieważ stwierdza się jej duże stężenie w jajnikach ludzkich [23, 24]. Zauważono również ujemną korelację pomiędzy stężeniem greliny a androgenów w surowicy kobiet. Dotychczasowe badania na zwierzętach wykazały, że estrogeny są zaangażowane w regulację wydzielania greliny. Wiele tych badań potwierdziło również wpływ estrogenów na wielkość spożywanych posiłków. Estradiol hamuje przyjmowanie pokarmu przez myszy, a grelina pełni funkcję sygnału inicjującego przyjmowanie pokarmu. Dokładny mechanizm działania estradiolu na przyjmowanie pokarmu nie jest, jak dotąd, poznany, ale najprawdopodobniej odgrywa on rolę modulatora działania greliny [20].

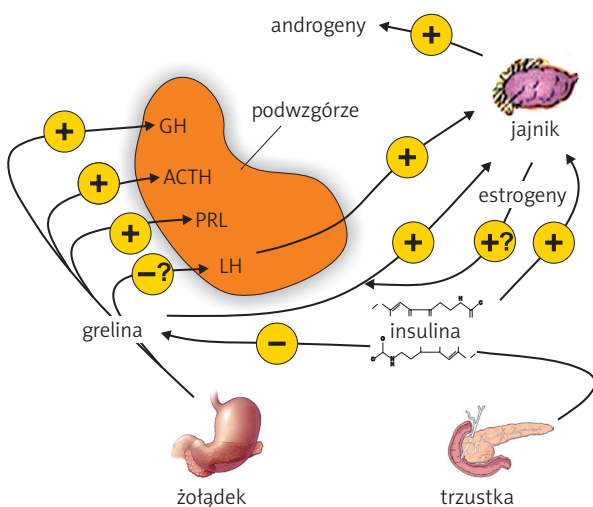
Wpływ greliny na płodność

Grelina, oprócz stymulującego wpływu na wydzielanie GH, zwiększa sekrecję prolaktyny (PRL), kortykotropiny (*adrenocorticotropic hormone* – ACTH) i kortyzolu [25, 26]. Wpływ greliny na wydzielanie luteiny (*luteinizing hormone* – LH) nie jest jednoznacznie poznane. Dotychczasowe badania na zwierzętach i ludziach są sprzeczne i nie można jednoznacznie stwierdzić, czy ma ona stymulujące, czy hamujące działanie. Sugeruje się, że grelina zmniejsza częstość pulsów LH. W tym mechanizmie grelina może odgrywać istotną fizjologiczną rolę w funkcji reprodukcyjnej (ryc. 2.) [27–29].

W badaniach na zwierzętach odnośnie wpływu greliny na steroidogenezę nadnerczową, stwierdzono, że może ona być dla nadnerczy czynnikiem pobudzającym proliferację komórek. Badania na szczurach dowiodły, że grelina stymuluje produkcję testosteronu przez hamowanie kluczowych enzymów steroidogenezy [30].

Niedobór greliny prowadzi do zaburzeń aktywności genów odpowiadających za prawidłowy rozwój macicy, jak również za zapewnienie odpowiednich warunków dla rozwoju zarodka w dojrzałej macicy. Takie odkrycie może wyjaśniać problemy z płodnością i zachodzeniem w ciążę przez otyłe kobiety, gdyż mają one małe stężenie greliny [18].

Kolejne obserwacje wskazują na jeszcze silniejsze i długofalowe związki greliny z płodnością. Uważa się, że niedobory greliny w okresie ciąży mogą źle wpływać na płodność żeńskiego potomstwa. Badania prowadzono na myszach, które z powodu modyfikacji genetycznych miały niedobory greliny. Okazało się, że samice tych myszy rodziły potomstwo z obniżoną płodnością, co objawiało się tym, że rodziły mniej dzieci. Niedobory greliny powodowały zmniejszenie aktywności genu *HOXA10*, który decyduje o prawidłowym rozwoju macicy u żeńskich zarodków. Z kolei w dojrzałej macicy gen ten jest niezbędny, by zapewnić zarodkowi odpowiednie warunki do rozwoju. Odkrycie to może tłumaczyć problemy z płodnością u kobiet bardzo otyłych. Paradoksalnie, mają one bowiem małe stężenie greliny. Otyłość matki może mieć negatywny wpływ na płodność następnych pokoleń [17].



ACTH – kortykotropina (*adrenocorticotropic hormone*); GH – hormon wzrostu (*growth factor*); LH – luteiny (*luteinizing hormone*); PRL – prolaktyna.

Ryc. 2. Funkcja greliny w układzie rozrodczym

Znaczna nadwaga u kobiet zwiększa ryzyko powikłań podczas ciąży. Nadmiar kilogramów podczas ciąży ma negatywny wpływ zarówno na organizm kobiety, jak i dziecka. Ryzyko nadciśnienia ciężarnej rośnie o 6–8 razy, zaś cukrzyca 7–20 razy. U płodu z kolei istnieje większe ryzyko rozwinięcia poważnych wad, zwłaszcza kardiologicznych i neurologicznych. W dłuższej perspektywie dziecko kobiety otyłej ma o wiele większe ryzyko zachorowania na cukrzycę lub skłonności do nadwagi. Co więcej, badania wskazują również, że balast tkanki tłuszczowej zmniejsza płodność, powodując 3 razy częściej zaburzenia owulacyjne niż u kobiet z wagą w granicach normy. Także leczenie niepłodności u kobiet z otyłością rzadziej kończy się sukcesem [31].

Stwierdzono, że stężenia greliny u ciężarnych zwiększają się wraz ze stopniem zaawansowania ciąży, przyrostem masy ciała i narastaniem insulinooporności, co może przemawiać za jej udziałem w indukowaniu insulinooporności. Grelina może mieć również pośredni wpływ na wzrastanie płodu i stan metaboliczny noworodka tuż po urodzeniu. Nie stwierdzono różnic w wielkości noworodków u matek z otyłością i prawidłową masą ciała ani bezpośrednich zależności między parametrami antropometrycznymi noworodków a stężeniami greliny w surowicy pępowinowej oraz w surowicy matek w końcowym okresie ciąży. Nie było również wzajemnych zależności między stężeniami greliny i insuliny w krwi pępowinowej [31].

W zespole policystycznych jajników (*polycystic ovary syndrome* – PCOS) stwierdzono mniejsze stężenie greliny w porównaniu z kobietami zdrowymi, choć doniesienia na ten temat nie są jednoznaczne. Grelina jest hormonem, który ma ścisły związek z równowagą energetyczną, otyłością, insulinoopornością oraz najprawdopodobniej z funkcją rozrodczą. Ponieważ PCOS predysponuje do otyłości i zmian metabolicznych, takich jak m.in. insulinooporność, można przypuszczać, że funkcja greliny wiąże się z PCOS [20, 22].

W związku z powyższym, całkowicie zrozumiałe wydają się obserwacje wskazujące, że niedobór tego hormonu może prowadzić do zaburzeń płodności.

Piśmiennictwo

- Mori Y, Yoshimoto A, Takaya K. Kindey produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 2000; 486: 213-6.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-60.
- Bowers C, Chang K. Unnatural GHRP and natural ghrelin linkage. The Endocrine Society's 82nd Annual Meeting, Toronto, 21-24 June 2000 (abstr. 689: 170).
- Korbonits M, Kojima M, Kangawa K, Grossman AB. Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine* 2001; 14: 101-4.
- Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, 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.
- Brunetti L, Recinella L, Orlando G, et al. Effects of ghrelin and amylin on dopamine, norepinephrine and serotonin release in the hypothalamus. *Eur J Pharmacol* 2002; 454: 189-92.
- 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: 118-22.
- Holst B, Cygankiewicz A, Jensen TH, et al. High constitutive signaling of the ghrelin receptor – identification of a potent inverse agonist. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 2201-10.
- Asakawa A, Inui A, Kaga T, et al. A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioral responses to stress in mice. *Neuroendocrinology* 2001; 74: 143-7.
- Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, et al. Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance—a hypothalamic perspective. *Endocrinology* 2001; 142: 4163-9.
- Herrington J, Hille B. Growth hormone-releasing hexapeptide elevates intracellular calcium in rat somatotropes by two mechanisms. *Endocrinology* 1994; 135: 1100-8.
- Asakawa A, Inui A, Kaga T, et al. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001; 120: 337-45.
- Shiiba T, Nakazato M, Mizuta 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: 240-4.
- Cummings DE, Shannon MH. Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight. *Arch Surg* 2003; 138: 389-96.
- Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3997-4000.
- Möhlh M, Spranger J, Otto B, et al. Euglycemic hyperinsulinemia, but not lipid infusion, decreases circulating ghrelin levels in humans. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: RC36-8.
- Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP, et al. The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284: E313-6.
- Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, et al. Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5625-9.
- Egido EM, Rodriguez-Gallardo J, Silvestre RA, Marco J. Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 241-4.
- Waśko R, Komarowska H, Warenik-Szymankiewicz A, Sowiński J. Elevated ghrelin plasma levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res* 2004; 36: 170-3.
- Vulliémaz NR, Xiao E, Xia-Zhang L, et al. Decrease in luteinizing hormone pulse frequency during a five-hour peripheral ghrelin infusion in the ovariectomized rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5718-23.
- Skommer J, Katulski K, Poreba E, et al. Ghrelin expression in women with polycystic ovary syndrome – a preliminary study. *Eur J Gynaecol Oncol* 2005; 26: 553-6.
- Tena-Sempere M, Barreiro ML, González LC, et al. Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 2002; 143: 717-25.
- Papotti M, Ghè C, Cassoni P, et al. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3803-7.
- Tassone F, Broglio F, Destefanis S, et al. Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5478-83.
- Broglio F, Gottero C, Prodam F, et al. Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3062-5.
- Fernández-Fernández R, Tena-Sempere M, Aguilar E, Pinilla L. Ghrelin effects on gonadotropin secretion in male and female rats. *Neurosci Lett* 2004; 362: 103-7.
- Katulski K, Warenik-Szymankiewicz A, Trzeciak WH. Podłoże molekularne zespołu policystycznych jajników. *Ginekol Pol* 1995; 66: 561-8.
- Katulski K, Bornstein S, Figiel M, et al. Typical hormonal profiles are accompanied by increased immunoreactivity of theca follicular steroid 17 alpha-hydroxylase P450 in polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 1998; 21: 304-9.
- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; 50: 1714-9.
- Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, et al. Ghrelin and measures of satiety are altered in polycystic ovary syndrome but not differentially affected by diet composition. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3337-44.