



วารสาร ไทยโอเพนยูนิเวอร์ซิตี

ปีที่ 3 ฉบับเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2549 (หน้า 1-18)

บทความเป็นวิทยาทาน สำหรับการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์ (on-line)



บทบาททางสรีรวิทยาของเกรลิน (Physiological Roles of Ghrelin)

ต่อศักดิ์ อินทรไพโรจน์

ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

รหัส 1-000-SPU-000-0608-02

จำนวน 1.5 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

วันที่รับรอง: 1 สิงหาคม พ.ศ. 2549

วันที่หมดอายุ: 1 สิงหาคม พ.ศ. 2551

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. เพื่อให้ทราบถึงลักษณะและคุณสมบัติโดยทั่วไปรวมถึงกลไกการออกฤทธิ์ของเกรลิน
2. เพื่อให้ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของเกรลิน
3. เพื่อให้รู้จักและเข้าใจถึงบทบาททางสรีรวิทยาที่สำคัญของเกรลินต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย
4. เพื่อให้ทราบถึงแนวโน้มและความเป็นไปได้ของการพัฒนาเกรลินและ GHS อื่นๆ ในการใช้เป็นยารักษาความผิดปกติต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง

บทคัดย่อ

เกรลิน (ghrelin) เป็นฮอร์โมนชนิดเพปไทด์ (peptide hormone) ที่ถูกสร้างจากกระเพาะอาหารเป็นหลัก จัดเป็นสมาชิกใน brain-gut peptide family สามารถกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต (growth hormone, GH) จากการศึกษาวิจัยพบว่าเกรลินมีบทบาททางสรีรวิทยาที่สำคัญหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับเมแทบอลิซึมและสมดุลของพลังงานโดยมีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนอื่นๆ อีกหลายชนิด มีกลไกการทำงานผ่านตัวรับ (receptor) ที่เรียกว่า growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) นอกเหนือจากบทบาทที่เกี่ยวข้องกับสมดุลพลังงานแล้ว เกรลินยังมีบทบาทในระบบต่างๆ ของร่างกายอีกหลายระบบ เช่นระบบหัวใจและหลอดเลือด ระบบทางเดินอาหาร มีผลต่อการหลั่งฮอร์โมนอื่นจาก

ต่อมใต้สมอง อีกหลายชนิด มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันรวมถึงมีบทบาทเกี่ยวกับการยับยั้งกระบวนการอักเสบ และมีแนวโน้มที่สามารถพัฒนาเป็นยารักษาความผิดปกติต่างๆ เช่น การขาดฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต ภาวะเบื่ออาหาร ความผิดปกติของระบบทางเดินอาหารบางชนิด ภาวะกระดูกพรุน รวมถึงพยาธิสภาพของระบบหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น

คำสำคัญ : ghrelin, growth hormone (GH) secretagogues, GHS-R1a, appetite regulation

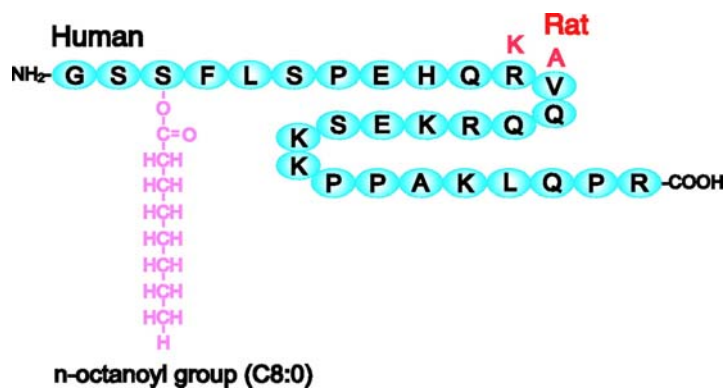
บทนำ

เกรลิน (ghrelin) เป็นฮอร์โมนชนิดหนึ่งซึ่งมีรายงานการค้นพบในปี ค.ศ.1999¹ ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 28 ตัว ถูกสร้างจากกระเพาะอาหารเป็นหลัก และพบว่ามีการสร้างจากอวัยวะอื่นๆ ในปริมาณต่ำๆ เช่น ตับอ่อน ลำไส้ ไต เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน รก ต่อมใต้สมอง อันตะ ปอดและไฮโปธาลามัส² เกรลินมีคุณสมบัติกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต (growth hormone, GH) มีกลไกในการทำงานผ่านตัวรับ (receptor) ที่เรียกว่า GH secretagogue (GHS) receptor ชนิด 1a (GHS-R1a)³ ซึ่งเป็น G-protein coupled receptor ตัวรับนี้พบมากในสมองส่วนไฮโปธาลามัสและต่อมใต้สมอง นอกจากนี้ยังพบในสมองส่วนอื่นและอวัยวะอื่นๆ ด้วย เกรลินยังมีผลต่อการทำงานของร่างกายหลายระบบเช่น การทำงานของต่อมใต้สมองซึ่งทำให้มีการหลั่งโปรแลคติน (prolactin, PRL) และฮอร์โมนกระตุ้นต่อมหมวกไตส่วนนอก (ACTH) กระตุ้นความอยากอาหารและสมดุลของพลังงานเชิงบวก (positive energy balance) มีผลเกี่ยวกับการหลั่งกรดและการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหาร ควบคุมการหลั่งน้ำย่อยและฮอร์โมนจากตับอ่อน มีผลต่อระดับกลูโคสในเลือด มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ตลอดจนมีผลต่อการปรับเปลี่ยนการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งและเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน⁴⁻⁹ ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวทำให้เกรลินมีผลต่อการศึกษาวิจัยหลายด้านโดยเฉพาะเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับพลังงาน มีผลต่อการศึกษาทางด้านการแพทย์ในระบบต่างๆ เช่นระบบทางเดินอาหาร ภูมิคุ้มกันวิทยา มะเร็งวิทยา และระบบหัวใจและหลอดเลือด และมีแนวโน้มที่จะมีการพัฒนาสารต่างๆ ที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประโยชน์ในการรักษาความผิดปกติในระบบดังกล่าวด้วย

ลักษณะโดยทั่วไปของเกรลิน

Ghrelin เป็นคำที่มีรากศัพท์มาจากคำว่า *ghre* มีความหมายตรงกับคำว่า *grow* ในภาษาอังกฤษที่หมายถึงการเจริญเติบโต สืบเนื่องมาจากการที่พบว่าเกรลินมีผลกระตุ้นการหลั่ง growth hormone (GH) ยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เกรลินอยู่บนโครโมโซมที่ 3 (3p25-26) โดยมีการสังเคราะห์เริ่มต้นเป็น prepro-ghrelin ซึ่งมีการดอะมิโนจำนวน 117 ตัว ต้องอาศัยกระบวนการในการตัดและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างก่อนออกฤทธิ์ ในกรดอะมิโนจำนวน 117 ตัวนี้มีกรดอะมิโนจำนวน 23 ตัวทำหน้าที่เป็นเพปไทด์สัญญาณ (signal peptide) และที่เหลือ 94 ตัวเป็น pro-ghrelin โดยรวมเอาเกรลินที่มีกรดอะมิโน 28 ตัวซึ่งเป็นส่วนออกฤทธิ์กับส่วนหางที่มีกรดอะมิโน

มิโน 66 ตัวไว้ เมื่อทำการทดสอบแบบ *in vitro* กรดอะมิโน 4-5 ตำแหน่งแรก (Gly-Ser-Ser(n-octanoyl)-Phe-Leu) มีฤทธิ์เพียงพอในการทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของแคลเซียม (calcium mobilization) ภายในเซลล์โดยการกระตุ้นผ่านตัวรับ โครงสร้างของเกรลินมีหมู่ n-octanoyl ของ serine ในตำแหน่งที่ 3 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการออกฤทธิ์¹⁰ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของเกรลินของคนและหนูขาว n-octanoyl group บน serine ตำแหน่งที่ 3 เป็นส่วนที่สำคัญต่อการออกฤทธิ์ของเกรลิน (คัดลอกจากรูปจากเอกสารหมายเลข 10)

ระดับปกติของเกรลินในพลาสมาโดยทั่วไปมีค่าประมาณ 100-160 เฟมโตโมลต่อมิลลิลิตร (fmol/ml)^{11, 12} แต่อาจมากหรือน้อยกว่านี้ขึ้นกับเทคนิคการตรวจวัด แม้ว่าเกรลินมีการสร้างจากกระเพาะอาหารเป็นหลัก แต่เกรลินไม่ได้ถูกปล่อยโดยตรงที่ระบบทางเดินอาหาร หลังจากการสังเคราะห์เกรลินจะถูกหลั่งเข้าสู่กระแสเลือดแล้วไปออกฤทธิ์ที่บริเวณไฮโปธาลามัส หากทำการตัดกระเพาะอาหารออกทั้งหมด (total gastrectomy) พบว่าระดับของเกรลินลดลงเหลือประมาณ 35%¹¹ โดยปริมาณเกรลินที่ยังเหลืออยู่นั้น การสังเคราะห์จากบริเวณตับอ่อน ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่และเซลล์อื่นๆ หลังจากนั้นร่างกายจะมีการสร้างเกรลินชดเชยจนมีระดับสูงขึ้นได้¹³

การกระจายของเกรลินในเนื้อเยื่อต่างๆ

เซลล์ที่สร้างเกรลินภายในกระเพาะอาหารเป็นเซลล์ที่เรียกว่า X/A-like cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีลักษณะกลมหรือเป็นรูปไข่อยู่ลึกลงไปไม่สัมผัสกับส่วนพื้นผิวของกระเพาะอาหารและอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับหลอดเลือดฝอย ภายในเซลล์ชนิดนี้พบแกรนูลลักษณะกลมซึ่งภายในมีเกรลินบรรจุอยู่ เกรลินถูกพบในบริเวณกระพุ้งกระเพาะอาหาร (fundus) ภายในต่อม oxyntic ซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร แต่ไม่พบในส่วนกระเพาะอาหารส่วนปลาย (pylorus) นอกจากกระเพาะอาหารแล้วสามารถพบเซลล์ที่สร้างเกรลินได้ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่โดยพบในปริมาณที่น้อยกว่าในกระเพาะอาหาร โดยทั่วไปแล้วสามารถจำแนกเซลล์ที่

สังเคราะห์เกรลินในระบบทางเดินอาหารได้เป็น 2 ประเภทคือ ชนิดที่อยู่ติดกับช่องว่างของทางเดินอาหารเรียกว่า opened cells และเซลล์ที่อยู่ลึกเข้าไปไม่ติดกับช่องว่างของระบบทางเดินอาหารเรียกว่า closed cells¹⁴

เกรลินยังสร้างจากตับอ่อนของคนอยู่ภายในกลุ่มเซลล์ส่วนไร้ท่อ (islet) โดยพบตั้งแต่ในระหว่างที่เป็นทารกในครรภ์ (fetus) และทารกหลังคลอดและพบปริมาณน้อยลงในผู้ใหญ่ ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีลักษณะกลมหรือเป็นรูปไข่คล้ายกับที่พบในระบบทางเดินอาหาร และมักพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่มเล็กๆ อยู่บริเวณขอบของกลุ่มเซลล์ส่วนไร้ท่อ เซลล์ที่มีเกรลินอยู่ไม่พบว่ามี somatostatin (SS), insulin, pancreatic polypeptide (PP) หรือ glucagon อยู่ร่วมด้วย อย่างไรก็ตามในตับอ่อนของระยะทารกในครรภ์สามารถพบเซลล์ที่มีเกรลินร่วมกับฮอร์โมนอื่นได้บ้าง¹⁵

นอกเหนือจากส่วนของระบบทางเดินอาหารแล้ว มีเนื้อเยื่อหลายชนิดตรวจพบว่ามีเกรลินสร้างเกรลินเช่นกันได้แก่ ในไฮโปทาลามัสบริเวณ arcuate nucleus (ARC), ventromedial nucleus (VMN), dorsomedial nucleus (DMN), paraventricular nucleus (PVN)¹⁶ ในต่อมใต้สมองพบเกรลินอยู่ร่วมกับเซลล์ที่สร้างและหลั่ง PRL (lactotroph), GH (somatotroph), thyroid stimulating hormone (thyrotrope) แต่ไม่พบว่ายู่ร่วมกับ adenocorticotrophic hormone หรือ ACTH (corticotroph) และ gonadotropin (gonadotroph) cell¹⁷ พบการสังเคราะห์เกรลินในไตของหนูขาวและหนูถีบจักร โดยพบการสังเคราะห์เกรลินจากบริเวณโกลเมอรูลัส (glomerulus) โปโดไซต์ (podocyte) และเซลล์มีแซงเจียล (mesangial cell)¹⁸ การสังเคราะห์เกรลินบริเวณไตนี้อาจมีความสำคัญและบทบาทเกี่ยวกับการทำงานของไต พบการแสดงออกของเกรลินในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันเช่น T-lymphocytes, B-lymphocytes และ neutrophils¹⁹ ในรกของหนูขาวและคนสามารถพบการแสดงออกของ mRNA ของเกรลินโดยพบได้มากในเซลล์ cytotrophoblast และพบเกรลินกระจายอยู่ในเซลล์ syncytiotrophoblast ระดับการแสดงออกของ mRNA ของเกรลินมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาของการตั้งครรภ์ ในหนูขาวมีการเพิ่มของระดับการแสดงออกของเกรลิน ในระยะ 3 สัปดาห์แรกและลดลงในระยะท้ายของการตั้งครรภ์จนกระทั่งคลอดซึ่งคล้ายคลึงกับการแสดงออกของเกรลินในรกของคนที่มีการแสดงออกในช่วงครึ่งแรกของการตั้งครรภ์แต่ไม่สามารถตรวจพบได้หลังจากนั้น²⁰ นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของ mRNA ของเกรลินทั้งในเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งอีกหลายชนิด เช่นต่อมใต้สมองต่อมไทรอยด์ ต่อมลูกหมาก ตับอ่อนและปอด²¹⁻²⁶

ตัวรับของ GHS (growth hormone secretagogue receptor, GHS-R)

การค้นพบเกรลินนั้นเป็นลักษณะที่เรียกว่า reverse pharmacology กล่าวคือได้มีความพยายามในการค้นหาสารต่างๆ ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง GH และเรียกสารดังกล่าวว่า growth hormone secretagogue หรือ GHS จากการศึกษาค้นคว้าทำให้ทราบว่า GHS ไม่ได้ออกฤทธิ์โดยจับกับตัวรับของฮอร์โมนกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต (growth

hormone releasing hormone receptor, GHRH-R) ในต่อมใต้สมอง ต่อมาจึงพบว่ามีตัวรับต่อสารที่สร้างขึ้น และให้ชื่อว่า growth hormone secretagogue receptor (GHS-R) หลังจากนั้นจึงพบเกรลินซึ่งเป็นสารธรรมชาติ (natural ligand) ที่สร้างขึ้นในร่างกายที่จับและออกฤทธิ์ต่อตัวรับนี้ สำหรับ GHS-R นั้นได้มีการจำแนกย่อย เป็น ชนิด 1a (GHS-R1a) และชนิด 1b (GHS-R1b) ตัวรับชนิด 1b พบได้ในหลายอวัยวะแต่เป็นตัวรับที่ไม่ให้ผลทางสรีรวิทยา สำหรับตัวรับชนิด GHS-R1a ซึ่งเป็น G-protein coupled receptor ประกอบด้วยกรดอะมิโน 366 ตัว แหล่งที่พบตัวรับจำเพาะนี้ได้แก่บริเวณต่างๆ ในไฮโปทาลามัส เช่น anteroventral preoptic nucleus, anterior hypothalamic area, suprachiasmatic nucleus, anterolateral hypothalamic nucleus, ARC, PVN และ tuberomammillary nucleus ในต่อมใต้สมองพบ GSH-R mRNA แต่มีระดับที่ต่ำกว่าในไฮโปทาลามัส โดยพบอยู่ที่ somatotroph และไม่พบในเซลล์ที่สร้างฮอร์โมนอื่นๆ²⁷ นอกจากนี้ยังสามารถพบ mRNA ของตัวรับนี้ได้ในส่วนอื่นๆ ของสมองเช่น dentate gyrus, parafascicular thalamic region, substantia nigra, ventral tegmental area, raphe nuclei, nodose ganglion และส่วน cortex ของสมองเป็นต้น^{28, 29} ส่วนตัวรับที่อยู่ตำแหน่งอื่นๆ ภายนอกสมองสามารถพบได้ในต่อมไทรอยด์ ตับอ่อน ม้าม กล้ามเนื้อหัวใจและต่อมหมวกไต²⁶

การควบคุมการหลั่งเกรลิน

การควบคุมการหลั่งและแสดงผลของเกรลิน เกิดได้ในหลายระดับตั้งแต่การแปลรหัสพันธุกรรม การควบคุมการปรับเปลี่ยนหลังการแปลรหัสพันธุกรรม การควบคุมอัตราการหลั่งจากเซลล์ในกระเพาะอาหาร ไฮโปทาลามัสหรือเซลล์อื่นๆ การควบคุมผ่านระดับของโปรตีนที่จับกับเกรลินในกระแสเลือด การกำจัดเกรลินออกทางตับหรือไต การแสดงออกของตัวรับต่อเกรลินเป็นต้น³⁰ ทั้งนี้มีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการเพิ่มหรือลดระดับของเกรลินแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปัจจัยที่มีผลควบคุมการหลั่งเกรลิน GHRH: growth hormone releasing hormone, GH: growth hormone, PP: pancreatic polypeptide, PYY: peptide YY, SS: somatostatin, BMI: body mass index (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 30)

Upregulates	Downregulates
Fasting	Food intake
Leptin	Glucose/Lipid
GHRH	Insulin
Thyroid hormones	Somatostatin and SS-analog
Testosterone	Exogenous GH
Sleep	PP/PYY Urocortin-1
Lean people/Anorexia nervosa/low BMI	Obese people/ high BMI

การอดอาหารและการกินอาหาร

ปัจจัยที่มีผลชัดเจนที่สุดต่อระดับของเกรลินคือการได้รับอาหาร การเปลี่ยนแปลงระดับของเกรลินเกี่ยวข้องกับภาวะทางโภชนาการ การอดอาหารช่วงสั้นๆ มีผลเพิ่มระดับของเกรลิน ระดับของเกรลินจะลดลงหลังได้รับอาหารแล้วภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง^{31, 32} ซึ่งเป็นลักษณะตรงข้ามกับรูปแบบของการหลั่งอินซูลิน การลดลงของเกรลินเป็นสัดส่วนกับปริมาณพลังงานที่ได้รับโดยเฉพาะจากอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและไขมัน โดยที่คาร์โบไฮเดรตมีผลลดระดับเกรลินได้มากกว่าไขมัน การได้รับอาหารเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการหลั่งเกรลินบริเวณกระเพาะอาหารแต่ไม่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการหลั่งเกรลินในต่อมใต้สมองหรือไฮโปธาลามัส ระดับของเกรลินมีการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งวันโดยมีระดับสูงเพิ่มขึ้นก่อนเวลาอาหารแต่ละมื้อ รวมทั้งพบว่าระดับของเกรลินสูงสุดเวลาประมาณ 2 นาฬิกาในช่วงเวลากลางคืน จากการที่ระดับของเกรลินลดลงเมื่อได้รับอาหารแสดงให้เห็นว่าเกรลินอาจเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดความอยากอาหาร กลไกเกี่ยวกับการลดระดับของเกรลินในขณะที่ได้รับอาหารนั้นไม่เกี่ยวข้องกับการขยายตัวของกระเพาะอาหารเมื่อมีอาหารตกสู่กระเพาะ แต่ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ระดับของเกรลินลดลงนั้นเกิดขึ้นหลังจากอาหารได้ผ่านออกจากกระเพาะไปแล้ว³³

กลูโคส ไขมันและโปรตีน

ในคนปกติพบว่าระดับของเกรลินลดลงเมื่อทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นโดยการกินหรือฉีดน้ำตาลกลูโคสเข้าทางหลอดเลือดดำ การเปลี่ยนแปลงของระดับเกรลินที่ลดลงนี้สามารถพบได้เช่นกันเมื่อทำการทดสอบในคนปกติโดยการให้อาหารที่มีปริมาณไขมันสูง ส่วนการได้รับกรดอะมิโนจำเป็น หรือการกินอาหารซึ่งมีโปรตีนสูงนั้นให้ผลตรงข้าม โดยพบว่าทำให้ระดับของเกรลินเพิ่มขึ้นจากระดับปกติ และมีผลให้ระดับของ GH เพิ่มขึ้น^{34, 35} การศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับกลูโคสและไขมันที่มีผลต่อระดับเกรลิน ให้ผลสอดคล้องกันคือสามารถลดระดับเกรลินได้ ส่วนการศึกษาถึงผลของอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูงนั้น บางส่วนยังมีความขัดแย้งกัน โดยมีรายงานว่าอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสูงสามารถลดระดับเกรลินได้³⁶⁻³⁸ ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและสัดส่วนของสารอาหารกลุ่มต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองด้วย

อินซูลิน

จากการศึกษาผลของอินซูลินต่อระดับของเกรลินโดยวิธีควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในระดับปกติ (euglycemic clamp) ต่ำกว่าปกติ (hypoglycemic clamp) และสูงกว่าปกติ (hyperglycemic clamp) และให้อินซูลินทางหลอดเลือดดำ พบว่าอินซูลินมีผลในการลดระดับของเกรลิน^{39, 40}

เลปติน (leptin)

เลปตินเป็นฮอร์โมนที่มีผลลดความอยากอาหารที่สร้างจากเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) การให้เลปตินเป็นการกระตุ้นให้ระดับ mRNA ของเกรลินในกระเพาะอาหารเพิ่มมากขึ้น ในหนูทดลองที่ไม่มีการสร้างเลปตินหรือไม่มีตัวรับต่อเลปตินพบว่าระดับของเกรลินต่ำเช่นเดียวกับผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเลปติน^{41, 42}

ฮอร์โมนอื่นๆ

pancreatic polypeptide (PP) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 36 ตัว ซึ่งเป็นเปปไทด์ที่มีผลลดความอยากอาหาร เมื่อให้ PP ไปกระตุ้นเซลล์ประสาททากัส (vagus neuron) มีผลยับยั้งการกินอาหารและมีผลในการลดระดับของ mRNA ของเกรลินในกระเพาะอาหารของหนูขาว แต่การให้ PP infusion ไม่มีผลลดเกรลินในคนปกติ^{43, 44}

มีการศึกษาผลของฮอร์โมนอีกหลายชนิดทั้งในคนและในสัตว์ทดลองเช่น somatostatin (SS) มีผลยับยั้งการหลั่งเกรลินทั้งในคนปกติและในผู้ป่วย acromegaly⁴⁵⁻⁴⁹ การให้ GH มีผลลดระดับของเกรลินในหนูขาว⁵⁰ GHRH มีผลเพิ่มการแสดงออกของเกรลินในต่อมใต้สมองของหนูขาว^{51, 52} ไทรอยด์ฮอร์โมน มีผลเพิ่มระดับเกรลินในเลือดและมีผลเพิ่มระดับ mRNA ของเกรลินในกระเพาะอาหาร ผู้ป่วยที่มีภาวะไทรอยด์ต่ำ (hypothyroidism) มีระดับเกรลินลดลง⁵³ นอกจากนี้พบว่าระดับของเกรลินลดลงในผู้ป่วยที่มีภาวะพร่อง testosterone และเมื่อให้การรักษาด้วยฮอร์โมนทดแทน เกรลินสามารถกลับสู่ระดับปกติได้⁵⁴

บทบาททางสรีรวิทยาของเกรลิน

ผลต่อการหลั่งฮอร์โมน

เกรลินมีผลในการกระตุ้นการหลั่ง growth hormone (GH) จาก somatotroph แต่ให้ผลกระตุ้นการหลั่งน้อยกว่า GHRH และสามารถให้ผลในลักษณะเสริมฤทธิ์ (synergistic) กับ GHRH⁵⁵ กลไกในการออกฤทธิ์ที่เกี่ยวกับการกระตุ้นการหลั่ง GH ของฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างกันโดยที่ GHRH ออกฤทธิ์โดยจับกับ GHRH-R และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับ cAMP ซึ่งทำหน้าที่เป็น second messenger ในขณะที่เกรลินออกฤทธิ์โดยจับกับ GHS-R และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับแคลเซียมภายในเซลล์ มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าเกรลิน กระตุ้นการหลั่ง GH โดยการกระตุ้นผ่านเซลล์ประสาทที่หลั่ง GHRH⁵² การให้เกรลินหรือ GHS อื่นๆ สามารถเพิ่มปริมาณของเซลล์ประสาทใน arcuate nucleus (ARC) ซึ่งเป็นบริเวณที่พบเซลล์ประสาทที่หลั่ง GHRH หนาแน่นที่สุดในไฮโปธาลามัส ในหนูถีบจักรที่ไม่มียีนสำหรับสร้าง GHRH-R พบว่าไม่มีการหลั่ง GH หลังจากให้ GHS กล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ เกรลินออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง GH ได้นั้นเป็นผลทางอ้อมโดยกระตุ้นผ่านเซลล์ประสาทที่หลั่ง GHRH

ทั้งในคนและในสัตว์ทดลองเกรลินให้ผลต้าน somatostatin (SS) ในระดับไฮโปทาลามัส และต่อมใต้สมอง โดยมีผลทำให้ลดการหลั่ง SS จากต่อมใต้สมอง นอกจากนี้ยังพบว่าเกรลินในขนาดสูงมีผลในการเพิ่มระดับ ACTH, PRL และ cortisol⁵⁶

ผลต่อความอยากอาหาร

จากการวิเคราะห์โดย immunohistochemistry พบเซลล์ประสาทที่มีแกนของเกรลินจำนวนมากบริเวณ ARC ในไฮโปทาลามัสซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมความอยากอาหาร เซลล์ประสาทเหล่านี้ส่ง efferent fiber ไปยังเซลล์ประสาทที่ภายในมี neuropeptide Y (NPY) และ Agouti-related protein (AgRP) ซึ่งเป็นเปปไทด์ที่มีผลกระตุ้นให้เกิดความอยากอาหาร (orexigenic peptides) เกรลินอาจส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการหลั่งเปปไทด์เหล่านี้ได้⁵⁷

ARC ในไฮโปทาลามัสเป็นบริเวณออกฤทธิ์หลักของเกรลินและเป็นบริเวณออกฤทธิ์หลักของเลปตินซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีผลลดความอยากอาหาร รวมทั้งเป็นบริเวณออกฤทธิ์ของ NPY และ AgRP ด้วย ผลของการกระตุ้นความอยากอาหารของ NPY และ AgRP สามารถถูกยับยั้งได้โดยเลปติน⁵⁸ จากการศึกษาด้วยการฉีดเกรลิน ทาง intracerebroventricular (ICV) มีผลให้ mRNA ของ NPY และ AgRP ใน ARC เพิ่มขึ้น สำหรับการฉีดเกรลินโดยทางหลอดเลือดดำ (intravenous, IV) ก็พบว่าสามารถกระตุ้นเซลล์ประสาทที่มี NPY และ AgRP ได้เช่นกัน^{59, 60}

เมื่อให้ NPY receptor-I antagonist หรือ AgRP inhibitor หรือ anti-NPY IgG หรือ anti-AgRP IgG เพื่อยับยั้งการทำงานของ NPY และ AgRP พบว่าสามารถยับยั้งผลการกระตุ้นความอยากอาหารที่เกิดจากเกรลินด้วย⁶¹ ผลดังกล่าวแสดงว่าเกรลินมีผลกระตุ้นความอยากอาหารและพฤติกรรมกรรมการกินอาหารโดยทางอ้อมโดยกระตุ้นให้เกิดการหลั่งเปปไทด์ที่กระตุ้นความอยากอาหารผ่านเซลล์ประสาทที่มี NPY และ AgRP ภายในไฮโปทาลามัส โดยทั่วไปแล้วสารที่เป็นเปปไทด์ไม่สามารถผ่าน blood brain barrier และจากการที่เกรลินสามารถให้ผลในการกระตุ้นความอยากอาหารผ่านทางไฮโปทาลามัสเมื่อให้โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ⁶² จึงมีการเสนอความเป็นไปได้ในการออกฤทธิ์ของเกรลินในไฮโปทาลามัส 3 สมมติฐานด้วยกันคือ 1) การออกฤทธิ์ของเกรลินที่สร้างจากกระเพาะอาหาร อาจเป็นการออกฤทธิ์จากภายนอกสมองผ่านทางเส้นประสาทวากัสเข้า (afferent vagal nerve) ซึ่งพบว่ามี GHS-R อยู่ จากนั้นมีการส่งสัญญาณเชื่อมต่อไปยัง nucleus tractus solitarius (NTS) ในก้านสมอง (brain stem) แล้วจึงมีการประสานงานกับไฮโปทาลามัสอีกทอดหนึ่ง 2) เกรลินในกระแสเลือดสามารถกระตุ้นตัวเซลล์ประสาทของ NPY และ AgRP โดยสามารถผ่านเข้าสมองโดยการขนส่งแบบใช้พลังงาน (active transport) โดยอาศัยโปรตีนสำหรับขนส่ง (transporter) และ 3) อาศัยเกรลินที่ถูกสร้างขึ้นเฉพาะที่ในไฮโปทาลามัส และส่งผลกระตุ้นเซลล์ประสาท NPY และ AgRP ใน ARC และเซลล์ประสาท orexin ใน lateral hypothalamic area³⁰

ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

เมื่อให้เกรลินทางหลอดเลือดดำพบว่าทำให้มีการหลั่งกรดจากกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้น และมีผลกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหาร การหลั่งกรดในกระเพาะอาหารที่เพิ่มขึ้นโดยการให้เกรลินนี้มีระดับสูงได้ใกล้เคียงกับการให้ฮีสตามีน (histamine) เข้าใต้ผิวหนัง ในขนาด 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม⁶³ การหลั่งกรดนี้สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยการให้ atropine แต่ไม่ถูกยับยั้งโดย H₂-receptor antagonist การให้เกรลินแบบ ICV มีผลเพิ่มการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารเช่นกัน โดยพบว่ามีผลเพิ่มการแสดงออกของ c-fos ใน solitary tract ซึ่งแสดงว่าเกรลินกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารส่วนหนึ่งผ่านเส้นประสาทวากัส⁶⁴

ผลต่อเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต

เกรลินมีผลในการลดการหลั่งอินซูลินอย่างรวดเร็วทั้งในคนที่มิมีน้ำหนักปกติและในคนอ้วนหลังจากที่มีการให้เกรลินทางหลอดเลือดดำแม้ว่าระดับน้ำตาลในเลือดในกลุ่มคนดังกล่าวอยู่ในระดับที่สูงก็ตาม จากการศึกษาทั้ง *in vitro* และ *in vivo* พบว่าเกรลินสามารถยับยั้งการหลั่งอินซูลินที่ถูกกระตุ้นให้เพิ่มขึ้นด้วยน้ำตาลกลูโคส^{65, 66} อย่างไรก็ตามมีผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าเกรลินกระตุ้นให้เกิดการหลั่งอินซูลิน⁶⁷ ซึ่งผลที่ขัดแย้งกันนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของสายพันธุ์ของสัตว์ทดลองและ/หรือการออกแบบการทดลอง โดยที่มีปัจจัยที่มีส่วนสำคัญประการหนึ่งคือระดับของน้ำตาลในเลือดเนื่องจากระดับน้ำตาลในเลือดนั้นส่งผลกระทบโดยตรงต่อระดับของเกรลินและอินซูลิน

เกรลินส่งผลโดยตรงต่อระดับของกลูโคส โดยออกฤทธิ์เพิ่มระดับน้ำตาลในกระแสเลือดซึ่งตรงข้ามกับอินซูลิน โดยพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นเมื่อให้เกรลินโดยการฉีดเข้าหลอดเลือดทั้งในคนที่มิมีน้ำหนักตัวปกติและในคนอ้วน ในเซลล์ตับเพาะเลี้ยง เกรลินให้ผลตรงข้ามกับผลของอินซูลินต่อเอนไซม์ phosphoenol pyruvate carboxykinase (PEPCK) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่กำหนดอัตราเร็ว (rate-limiting enzyme) ในกระบวนการ gluconeogenesis โดยที่เกรลินมีผลทำให้การทำงานของ PEPCK เพิ่มขึ้นส่งผลให้มี gluconeogenesis เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ยังไม่มีการพบว่ามีแสดงออกของ GHS-R1a ในเนื้อเยื่อตับ ซึ่งตัวรับต่อเกรลินในกระบวนการนี้ยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจน^{68, 69}

ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน

เนื่องจากพบว่ามีแสดงออกของ mRNA ของตัวรับเกรลินในอวัยวะน้ำเหลือง (lymphoid organ) และใน T-lymphocyte ทำให้มีสมมติฐานว่าเกรลินอาจมีบทบาทบางส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน และจากการศึกษาพบว่ามีการสร้างเกรลินจาก T-lymphocyte, B-lymphocyte และ neutrophil²⁶ นอกจากนั้นพบว่า เกรลินมีผลยับยั้งสารเริ่มต้นของการอักเสบ (pro-inflammatory interleukin) บางชนิดเช่น interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) และ

tumor necrosis factor- α (TNF- α)⁷⁰ นอกจากนี้ยังมีการศึกษายืนยันเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านการอักเสบในกระบวนการเกิดข้ออักเสบ (arthritis) ในหนูขาวซึ่งพบว่าเกรลินมีผลยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) และยับยั้งการหลั่ง IL-6 จาก macrophage และทำให้อาการข้ออักเสบดีขึ้น⁷¹

ผลต่อกระดูก

เกรลินมีผลโดยตรงต่อการสร้างกระดูก จากการศึกษาสามารถพบเกรลินและ GSH-R1a ได้ในเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) เกรลินมีผลทั้งต่อการแบ่งตัว (proliferation) และการพัฒนา (differentiation) ของเซลล์ดังกล่าวโดยขึ้นกับปริมาณ (dose-dependent) ทำให้มีการทำงานของ alkaline phosphatase (ALP) และ osteocalcin (OC) เพิ่มขึ้น มีการสะสมของแคลเซียมในส่วนแมทริกซ์ (matrix) ซึ่งทำให้ความหนาแน่นของกระดูก (bone mineral density, BMD) เพิ่มขึ้นด้วย^{72, 73}

ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด

เนื่องจากมีการพบ mRNA ของตัวรับเกรลินในหัวใจ หลอดเลือดแดงใหญ่ aorta และผลการทดสอบในอาสาสมัครพบว่าเกรลินมีผลทำให้ความดันโลหิตในอาสาสมัครลดลง แสดงให้เห็นว่าเกรลินมีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดด้วย จากการทดสอบโดยให้เกรลิน 10 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีผลลด mean arterial pressure 12 มิลลิเมตรปรอท โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงอัตราการเต้นของหัวใจ และมีผลเพิ่ม cardiac index และ stroke volume index ในอาสาสมัครดังกล่าว⁷⁴

ผลการศึกษา *in vitro* โดยใช้หัวใจของหนูขาวที่แยกออกมา พบว่าเกรลินมีผลทำให้ลดความแรงในการบีบตัวของหัวใจ (negative inotropic effect)⁷⁵ ซึ่งตรงข้ามกับผลที่ได้เมื่อทำการทดสอบในอาสาสมัคร ทั้งนี้อาจเป็นสาเหตุจากการที่เกรลินมีผลขยายหลอดเลือดส่งผลให้ร่างกายต้องปรับตัวโดยเพิ่มความแรงของการบีบตัวของหัวใจขึ้น ในขณะที่การศึกษา *in vitro* ไม่มีผลดังกล่าว

ความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เกรลินในทางคลินิก

เนื่องจากบทบาททางสรีรวิทยาที่หลากหลายของเกรลินทำให้เพิ่มความเป็นไปได้ในการนำมาประยุกต์ใช้ในโรคต่างๆ (ตารางที่ 2) ในผู้ป่วยที่ขาดฮอร์โมนเร่งการเติบโตอาจอาศัยข้อดีของเกรลินที่สามารถกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนนี้ได้ ในทางคลินิกนั้นมีการพบข้อดีของเกรลินหลายประการโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่นการลดความต้านทานในหลอดเลือดแดง (decrease peripheral artery resistance) ซึ่งมีผลทำให้ความดันโลหิตลดลง มีผลลดความเป็นพิษของสารบางชนิดเช่น doxorubicin รวมถึงผลต้านการอักเสบ จึงมีความเป็น

ไปได้อย่างมากในการนำเกรลินมาใช้ในผู้ป่วยหัวใจล้มเหลวเรื้อรัง (chronic heart failure) ภาวะหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) โดยเฉพาะในผู้ป่วยโรคหัวใจที่มีภาวะขาดอาหาร (cardiac cachexia) และความดันโลหิตสูง (hypertension) เป็นต้น^๖ ความเป็นไปได้ในการใช้ ในผู้ป่วยที่มีอาการเบื่ออาหารเช่น anorexia nervosa รวมทั้งมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารที่ ให้ผลตรงข้าม (antagonist) เพื่อประยุกต์ใช้ในผู้ป่วยโรคอ้วนแม้ว่าเกรลินอาจให้ผลจำกัดในผู้ป่วยโรคอ้วนเนื่องจากความอยากอาหารมีกลไกที่มีความซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับสารอื่นๆ ยังมีความผิดปกติอีกหลายชนิดที่มีแนวโน้มที่จะใช้เกรลินหรือให้เกรลินมีส่วนร่วมในการรักษาเช่น ภาวะกระดูกพรุน ความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร มะเร็ง หรือโรคอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ที่เกี่ยวข้องกับภาวะโภชนาการ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเกรลินในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือผู้ที่มีภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance) ซึ่งพบว่าระดับของเกรลินในผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวต่ำกว่าระดับปกติ^{76, 77} ดังนั้นในอนาคตจึงอาจมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเกรลินหรือ GHS อื่นๆ เพื่อใช้ในผู้ป่วยเบาหวานด้วย

ตารางที่ 2 โรคต่างๆ ที่มีความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เกรลินในทางคลินิก (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 10)

GH deficiency

Diagnosis of pituitary function
Child and adult GH deficiency

Eating disorder

Anorexia nervosa
Bulimia nervosa
Prader-Willi syndrome

Gastrointestinal disease

Gastric ileus
Gastric ulcer

Cardiovascular disease

Chronic heart failure
Dilated cardiomyopathy
Hypertension

Osteoporosis

Aging

Catabolic state or chronic wasting syndrome

Cachexia (cancer, cardiac cachexia)
AIDS (HIV-lipodystrophy)
Postoperative patients

Diabetes Mellitus

บทสรุป

จากการค้นพบเกรลิน ทำให้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปัจจัยที่เกี่ยวข้องและบทบาทของเกรลินจำนวนมากทั้ง *in vitro* และ *in vivo* มีการศึกษาในอาสาสมัครทั้งในภาวะปกติและมีพยาธิสภาพทำให้ได้ข้อมูลและรายละเอียดจำนวนมากโดยไม่สามารถกล่าวถึงได้หมดในที่นี้และมีความเป็นไปได้อย่างมากที่จะนำเอาเกรลินมาประยุกต์ใช้ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติต่างๆ อย่างไรก็ตาม บทบาททางสรีรวิทยาของเกรลินมีความซับซ้อนและเกี่ยวข้องเชื่อมโยงกับระบบต่างๆ หลายระบบ มีการศึกษาบางส่วนที่ให้ผลไม่สอดคล้องกันซึ่งยังคงต้องการหาข้อสรุป จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมให้เกิดความชัดเจนถึงบทบาททางสรีรวิทยาของเกรลินทั้งในคนปกติและในกรณีที่มีพยาธิสภาพ ตลอดจนความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับปัจจัยหรือกลไกในการเกิดโรคหรือความผิดปกติต่างๆ เพื่อนำไปใช้ประกอบการพิจารณาใช้เกรลินหรือ GHS อื่นๆ ได้อย่างถูกต้องและให้ประโยชน์แก่ผู้ป่วยมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402:656-60.
2. Hubina E, Goth M, Korbonits M. [Ghrelin--a hormone with multiple functions]. *Orv Hetil* 2005; 146:1345-51.
3. Camina JP, Carreira MC, Micic D, et al. Regulation of ghrelin secretion and action. *Endocrine* 2003; 22:5-12.
4. Barreiro ML, Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: a novel signal linking energy status and fertility? *Mol Cell Endocrinol* 2004; 226:1-9.
5. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C, et al. Metabolic and endocrine effects of physiological increments in plasma ghrelin concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15:410-7.
6. Ukkola O. Endocrinological activities of ghrelin: new insights. *Eur J Intern Med* 2003; 14:351-356.
7. Duxbury MS, Waseem T, Ito H, et al. Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309:464-8.
8. Garcia EA, Korbonits M. Ghrelin and cardiovascular health. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6:142-7.
9. Dixit VD, Taub DD. Ghrelin and immunity: a young player in an old field. *Exp Gerontol* 2005; 40:900-10.

10. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85:495-522.
11. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4753-8.
12. DelParigi A, Tschop M, Heiman ML, et al. High circulating ghrelin: a potential cause for hyperphagia and obesity in prader-willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:5461-4.
13. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, et al. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278:64-70.
14. Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M, et al. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 2002; 23:531-6.
15. Wierup N, Svensson H, Mulder H, et al. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002; 107:63-9.
16. Cowley MA, Smith RG, Diano S, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; 37:649-61.
17. Caminos JE, Nogueiras R, Blanco M, et al. Cellular distribution and regulation of ghrelin messenger ribonucleic acid in the rat pituitary gland. *Endocrinology* 2003; 144:5089-97.
18. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, et al. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 2000; 486:213-6.
19. Hattori N, Saito T, Yagyu T, et al. GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4284-91.
20. Gualillo O, Caminos J, Blanco M, et al. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001; 142:788-94.
21. Iwakura H, Hosoda K, Doi R, et al. Ghrelin expression in islet cell tumors: augmented expression of ghrelin in a case of glucagonoma with multiple endocrine neoplasm type I. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4885-8.

22. Kanamoto N, Akamizu T, Hosoda H, et al. Substantial production of ghrelin by a human medullary thyroid carcinoma cell line. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86:4984-90.
23. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, et al. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86:881-7.
24. Papotti M, Cassoni P, Volante M, et al. Ghrelin-producing endocrine tumors of the stomach and intestine. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86:5052-9.
25. Cassoni P, Ghe C, Marrocco T, et al. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. Eur J Endocrinol 2004; 150:173-84.
26. 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.
27. Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, et al. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. Endocr Rev 1997; 18:621-45.
28. Katayama M, Nogami H, Nishiyama J, et al. Developmentally and regionally regulated expression of growth hormone secretagogue receptor mRNA in rat brain and pituitary gland. Neuroendocrinology 2000; 72:333-40.
29. Guan XM, Yu H, Palyha OC, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. Brain Res Mol Brain Res 1997; 48:23-9.
30. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, et al. Ghrelin--a hormone with multiple functions. Front Neuroendocrinol 2004; 25:27-68.
31. 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.
32. Tschop M, Wawarta R, Riepl RL, et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. J Endocrinol Invest 2001; 24:RC19-21.
33. Williams DL, Cummings DE, Grill HJ, et al. Meal-related ghrelin suppression requires postgastric feedback. Endocrinology 2003; 144:2765-7.
34. Groschl M, Knerr I, Topf HG, et al. Endocrine responses to the oral ingestion of a physiological dose of essential amino acids in humans. J Endocrinol 2003; 179:237-44.

35. Erdmann J, Lippl F, Schusdziarra V. Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man. *Regul Pept* 2003; 116:101-7.
36. Blom WA, Lluch A, Stafleu A, et al. Effect of a high-protein breakfast on the postprandial ghrelin response. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:211-20.
37. Al Awar R, Obeid O, Hwalla N, et al. Postprandial acylated ghrelin status following fat and protein manipulation of meals in healthy young women. *Clin Sci (Lond)* 2005; 109:405-11.
38. Tannous Dit El Khoury D, Obeid O, Azar ST, et al. Variations in Postprandial Ghrelin Status following Ingestion of High-Carbohydrate, High-Fat, and High-Protein Meals in Males. *Ann Nutr Metab* 2006; 50:260-269.
39. Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP, et al. The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E313-6.
40. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3997-4000.
41. Ariyasu H, Takaya K, Hosoda H, 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; 143:3341-50.
42. Bagnasco M, Dube MG, Kalra PS, et al. Evidence for the existence of distinct central appetite, energy expenditure, and ghrelin stimulation pathways as revealed by hypothalamic site-specific leptin gene therapy. *Endocrinology* 2002; 143:4409-21.
43. Asakawa A, Inui A, Yuzuriha H, et al. Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology* 2003; 124:1325-36.
44. Batterham RL, Le Roux CW, Cohen MA, et al. Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:3989-92.
45. Silva AP, Bethmann K, Raulf F, et al. Regulation of ghrelin secretion by somatostatin analogs in rats. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:887-94.
46. Broglio F, Koetsveld Pv P, Benso A, et al. Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4829-32.
47. Schaller G, Schmidt A, Pleiner J, et al. Plasma ghrelin concentrations are not regulated by glucose or insulin: a double-blind, placebo-controlled crossover clamp study. *Diabetes* 2003; 52:16-20.

48. Wasko R, Jaskula M, Komarowska H, et al. Ghrelin concentrations in acromegalic patients in relation to the administered therapy. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; 27:162-168.
49. Gormsen LC, Gjedsted J, Gjedde S, et al. Free fatty acids decrease circulating ghrelin concentrations in humans. *Eur J Endocrinol* 2006; 154:667-73.
50. Tschop M, Flora DB, Mayer JP, et al. Hypophysectomy prevents ghrelin-induced adiposity and increases gastric ghrelin secretion in rats. *Obes Res* 2002; 10:991-9.
51. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, et al. Regulation of the ghrelin gene: growth hormone-releasing hormone upregulates ghrelin mRNA in the pituitary. *Endocrinology* 2001; 142:4154-7.
52. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, et al. The role of pituitary ghrelin in growth hormone (GH) secretion: GH-releasing hormone-dependent regulation of pituitary ghrelin gene expression and peptide content. *Endocrinology* 2004; 145:3731-8.
53. Caminos JE, Seoane LM, Tovar SA, et al. Influence of thyroid status and growth hormone deficiency on ghrelin. *Eur J Endocrinol* 2002; 147:159-63.
54. Pagotto U, Gambineri A, Pelusi C, et al. Testosterone replacement therapy restores normal ghrelin in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4139-43.
55. Hataya Y, Akamizu T, Takaya K, et al. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4552.
56. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, et al. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1169-74.
57. Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, et al. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology* 2004; 145:2607-12.
58. van den Top M, Lee K, Whyment AD, et al. Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Nat Neurosci* 2004; 7:493-4.
59. De Ambrogio M, Volpe S, Tamanini C. Ghrelin: central and peripheral effects of a novel peptidyl hormone. *Med Sci Monit* 2003; 9:RA217-24.

60. Tang-Christensen M, Vrang N, Ortmann S, et al. Central administration of ghrelin and agouti-related protein (83-132) increases food intake and decreases spontaneous locomotor activity in rats. *Endocrinology* 2004; 145:4645-52.
61. Toshinai K, Date Y, Murakami N, et al. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinology* 2003; 144:1506-12.
62. Wren AM, Small CJ, Fribbens CV, et al. The hypothalamic mechanisms of the hypophysiotropic action of ghrelin. *Neuroendocrinology* 2002; 76:316-24.
63. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276:905-8.
64. Date Y, Nakazato M, Murakami N, et al. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280:904-7.
65. Ahima RS. Ghrelin--a new player in glucose homeostasis? *Cell Metab* 2006; 3:301-2.
66. Damjanovic SS, Lalic NM, Pesko PM, et al. Acute Effects of Ghrelin on Insulin Secretion and Glucose Disposal Rate in Gastrectomized Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2006.
67. Takahashi H, Kurose Y, Kobayashi S, et al. Ghrelin enhances glucose-induced insulin secretion in scheduled meal-fed sheep. *J Endocrinol* 2006; 189:67-75.
68. Murata M, Okimura Y, Iida K, et al. Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 2002; 277:5667-74.
69. Gauna C, Delhanty PJ, Hofland LJ, et al. Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1055-60.
70. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114:57-66.
71. Granado M, Priego T, Martin AI, et al. Anti-inflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288:E486-92.
72. Fukushima N, Hanada R, Teranishi H, et al. Ghrelin directly regulates bone formation. *J Bone Miner Res* 2005; 20:790-8.
73. Maccarinelli G, Sibilio V, Torsello A, et al. Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *J Endocrinol* 2005; 184:249-56.

74. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280:R1483-7.
75. Bedendi I, Alloatti G, Marcantoni A, et al. Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoyl ghrelin and des-Gln14-ghrelin. *Eur J Pharmacol* 2003; 476:87-95.
76. Erdmann J, Lippl F, Wagenpfeil S, et al. Differential association of basal and postprandial plasma ghrelin with leptin, insulin, and type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54:1371-8.
77. Katsuki A, Urakawa H, Gabazza EC, et al. Circulating levels of active ghrelin is associated with abdominal adiposity, hyperinsulinemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2004; 151:573-7.