

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΜΗΤΕΡΑΣ – ΠΑΙΔΙΟΥ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ GHRELIN ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΛΑΚΤΙΝΗΣ
ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΦΙΝΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΧΡΙΣΤΙΝΑ Ι. ΜΕΣΣΗΝΗ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΛΑΡΙΣΑ 2009

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Αθανάσιος Καλλιτσάρης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, Επιβλέπων
2. **Παναγούλα Κόλλια**, Επίκουρη Καθηγήτρια Γενετικής του Ανθρώπου Πανεπιστημίου Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, μέλος
3. **Κωνσταντίνος Νταφόπουλος**, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, μέλος

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, συμπληρούμενα από τα παρακάτω μέλη ΔΕΠ:

4. **Αλέξανδρος Παπαδημητρίου**, Καθηγητής Νευρολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής
5. **Δημήτριος Αρβανίτης**, Καθηγητής Ανατομίας, Ιστολογίας, Εμβρυολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής
6. **Αλέξανδρος Δαπόντε**, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής
7. **Αντώνιος Γκαράς**, Λέκτορας Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής

Στους αγαπημένους μου γονείς

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΓΚΡΕΛΙΝΗ	8
Γενικά	8
Δομή της γκρελίνης	10
Παραγωγή της γκρελίνης	11
Υποδοχείς της γκρελίνης	15
Δράσεις της γκρελίνης	16
Φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις	19
Αναπαραγωγική λειτουργία	21
<i>Επίδραση στις ωοθήκες</i>	22
<i>Επίδραση στον υποθάλαμο και την υπόφυση</i>	27
<i>Κύηση</i>	31
Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH και της PRL	33
Αναπάντητα ερωτήματα	36
Σκοπός της εργασίας	39
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	41
ΟΡΜΟΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	48
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	49
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	50
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	83
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	106
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	109
SUMMARY	112
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	115

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η γκρελίνη αποτελεί μία πεπτιδική ορμόνη, η οποία απομονώθηκε σχετικά πρόσφατα από τον στόμαχο, ως ο ενδογενής διεγέρτης των ειδικών υποδοχέων έκκρισης της αυξητικής ορμόνης. Υπάρχουν δύο μορφές της ορμόνης αυτής, η ακυλιωμένη και η μη ακυλιωμένη γκρελίνη. Η ουσία αυτή ασκεί επιδράσεις σε πολλές λειτουργίες του οργανισμού και κυρίως στην όρεξη και το βάρος του σώματος. Μεταξύ άλλων όμως, η γκρελίνη επηρεάζει και την έκκριση διαφόρων ορμονών, κυρίως του πρόσθιου λοβού της υποφύσεως, όπως είναι η αυξητική ορμόνη και η προλακτίνη. Οι παραπάνω δράσεις οφείλονται στην ακυλιωμένη μορφή της γκρελίνης, αν και διάφορες βιολογικές δράσεις ασκεί και η μη ακυλιωμένη μορφή. Υποδοχείς της γκρελίνης υπάρχουν στον υποθάλαμο και την υπόφυση αλλά και σε άλλες περιοχές του σώματος.

Πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει ότι η γκρελίνη μπορεί να επηρεάζει την αναπαραγωγική λειτουργία τόσο στα ζώα όσο και στον άνθρωπο. Οι κύριες θέσεις δράσης της για το σκοπό αυτό είναι οι ωοθήκες και η υπόφυση. Στις ωοθήκες πιθανώς αναστέλλει την παραγωγή των στεροειδών ορμονών, στη δε υπόφυση την έκκριση των γοναδοτροφινών. Τα υπάρχοντα όμως μέχρι σήμερα δεδομένα σχετικά με τις παραπάνω ορμονικές δράσεις της γκρελίνης είναι πολύ περιορισμένα. Μελέτες έχουν γίνει κυρίως σε άνδρες, ενώ δεν είναι γνωστή η πιθανή διαμεσολάβηση των οιστρογόνων ούτε είναι γνωστή η επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών ορμονών σε γυναίκες. Μετά την ενδελεχή και τεκμηριωμένη μελέτη της βιβλιογραφίας,

καταλήξαμε στην ανάπτυξη ενός πρωτοκόλλου, με σκοπό να διερευνήσουμε το ρόλο της γκρελίνης στις παραπάνω ορμονικές λειτουργίες. Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε εξ' ολοκλήρου στη Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και οι ορμονικές μετρήσεις έγιναν στο Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας.

Θα ήθελα από τη θέση αυτή να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Ιωάννη Ε. Μεσσήνη, Διευθυντή της Κλινικής, για την ανυπολόγιστη βοήθεια του στην εξεύρεση του θέματος αυτού, με σκοπό την εκπόνηση διδακτορικής διατριβής και την αμέριστη συμπαράσταση και βοήθεια του στην ολοκλήρωση της. Επίσης, επιθυμώ να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Αθανάσιο Καλλιτσάρη, ως επιβλέποντα στην τριμελή Επιτροπή καθώς και στα άλλα δύο μέλη της Επιτροπής, την Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Παναγούλα Κόλλια και τον Επίκουρο Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Κωνσταντίνο Νταφόπουλο. Ευχαριστίες θέλω επίσης να εκφράσω στον κ. Νεκτάριο Χαλβατζά, Μαιευτήρα-Γυναικολόγο, για τη σημαντική του βοήθεια στην εξεύρεση εθελοντριών γυναικών και στις αιμοληψίες. Τέλος, ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Πυρηνικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Παναγιώτη Γεωργούλια για τις ορμονικές μετρήσεις.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΚΡΕΛΙΝΗ

Γενικά

Η γκρελίνη (διεθνής όρος ghrelin) είναι πεπτίδιο αποτελούμενο από 28 αμινοξέα, το οποίο απομονώθηκε το έτος 1999 (Kojima et al., 1999; Kojima, 2008). Η απομόνωση της ουσίας αυτής αποτέλεσε σημαντική ανακάλυψη στην προσπάθεια διερεύνησης διαφόρων νευροενδοκρινικών μηχανισμών. Η πηγή από την οποία έγινε η απομόνωση ήταν ο γαστρικός βλεννογόνο του στομάχου. Η γκρελίνη χαρακτηρίστηκε ως ο ενδογενής διεγέρτης (secretagogue) των ειδικών υποδοχέων έκκρισης της αυξητικής ορμόνης (Growth Hormone Secretagogue Receptor type 1a – GHS-R1a) (Howard et al., 1996; Kojima et al., 1999; Takaya et al., 2000). Παραγόμενη από το γαστρικό βλεννογόνο, η γκρελίνη κυκλοφορεί στο περιφερικό αίμα και ασκεί δράσεις σε διάφορα όργανα και συνεπώς μπορεί να χαρακτηριστεί ως μία ορμόνη (Soares and Leite-Moreira, 2008). Με τις δράσεις της αυτές, επηρεάζει ποικίλες όσες λειτουργίες του οργανισμού, όπως η όρεξη και το βάρος του σώματος, ο μεταβολισμός της γλυκόζης και των λιπιδίων, η λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος, το καρδιαγγειακό σύστημα, η ανοσορρύθμιση, η φυσιολογία των οστών, η αναπαραγωγή κ.α..

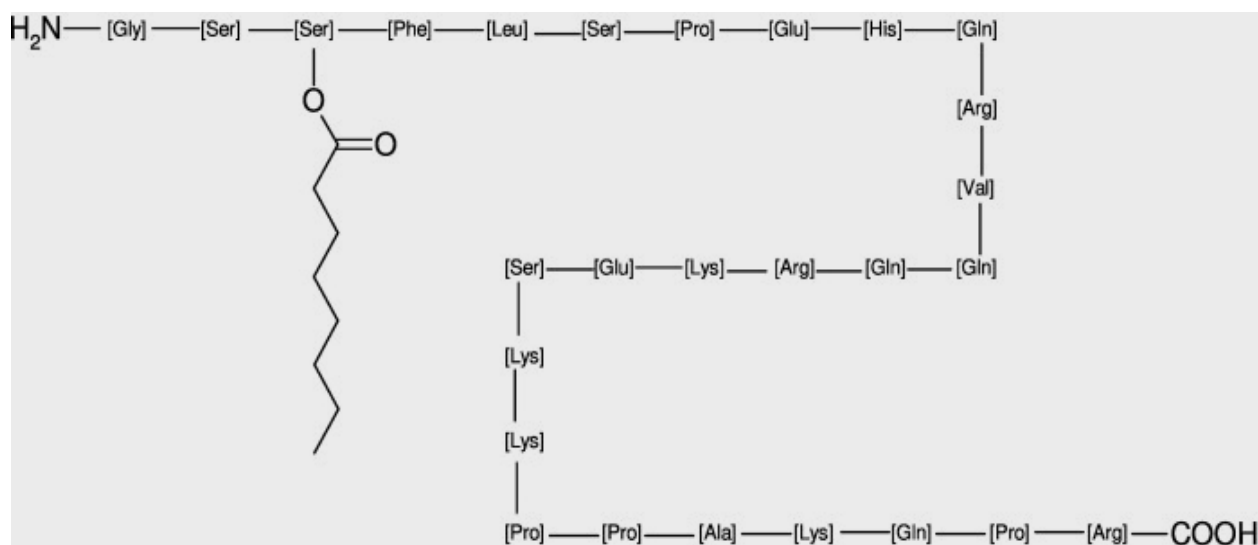
Υπάρχουν δύο σημαντικά στοιχεία, που προσδιορίζουν την ουσία αυτή ως ρυθμιστή φυσιολογικών λειτουργιών του οργανισμού. Το πρώτο στοιχείο είναι ότι, ενώ εκκρίνεται από τον στόμαχο, είναι σε θέση να επηρεάζει την έκκριση της αυξητικής ορμόνης (GH). Το δεύτερο στοιχείο αποτελεί η ανακάλυψη ότι η δραστηριότητα της γκρελίνης εξαρτάται από την τροποποίηση της σερίνης στη

θέση 3 από το η-οκτανοϊκό οξύ (ακυλιωμένη μορφή). Πρόσφατα, έχει διαπιστωθεί ότι το γονίδιο, που εκφράζει τη γκρελίνη, μπορεί επίσης να προκαλεί την παραγωγή και άλλων βιοδραστικών μορίων, τα οποία αποτελούν παράγωγα μεταγραφής εναλλακτικής έκφρασης. Τέτοια μόρια είναι η μη ακυλιωμένη γκρελίνη και η ομπεστατίνη (Tang et al., 2008). Η βιολογική δραστηριότητα των μορίων αυτών έχει διαπιστωθεί, παρά το γεγονός ότι οι υποδοχείς τους δεν έχουν ανακαλυφθεί. Η δράση τους πάντως φαίνεται να είναι αντίθετη της δράσης της γκρελίνης. Αυτό σημαίνει ότι η γκρελίνη λειτουργεί στα πλαίσια ενός συστήματος με πολλές παραμέτρους και διάφορες αλληλεπιδράσεις.

Εκτός από τη δράση της στην GH, η γκρελίνη επηρεάζει την έκκριση και άλλων ορμονών της υποφύσεως, όπως της προλακτίνης (PRL) από τα γαλακτοτρόφα κύτταρα. Η γκρελίνη χαρακτηρίζεται ως ορεξιογόνος ορμόνη, δηλαδή ασκεί δράση στον υποθάλαμο, διεγείροντας την πρόσληψη τροφής, κατά τρόπο παρόμοιο με το νευροπεπτίδιο Υ (Nakazato et al., 2001). Η δράση αυτή της γκρελίνης μπορεί να σχετίζεται και με την αύξηση του βάρους του σώματος κατά τη χρόνια χορήγηση της. Από την άλλη μεριά, η γκρελίνη επηρεάζει την ομοιόσταση της γλυκόζης και τη λειτουργία του παγκρέατος καθώς επίσης το γαστρεντερικό σύστημα, το καρδιαγγειακό σύστημα και άλλες λειτουργίες, περιλαμβανομένης της αναπαραγωγής. Αναφορές σχετικά με την ύπαρξη διαφόρων εκκριτογόνων της GH ουσιών είχαν περιγραφεί πριν από την ανακάλυψη της γκρελίνης.

Δομή της γκρελίνης

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η γκρελίνη είναι ένα πεπτίδιο με 28 αμινοξέα, στην οποία το αμινοξύ σερίνη στη θέση 3 τροποποιείται από n-οκτανοϊκό οξύ (Kukul, 2008) (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Δομή της γκρελίνης.

Μία ποικιλία της γκρελίνης με 27 αμινοξέα, δηλαδή με απουσία του 14^{ου} αμινοξέος, της γλουταμίνης, έχει επίσης περιγραφεί. Αν και ακόμη μικρότερα μόρια έχουν επίσης περιγραφεί, η κλασική μορφή της γκρελίνης, δηλαδή η ακυλιωμένη μορφή, είναι εκείνη η οποία έχει την κυρίως βιολογική δραστηριότητα. Η μη ακυλιωμένη μορφή της γκρελίνης κυκλοφορεί επίσης στο

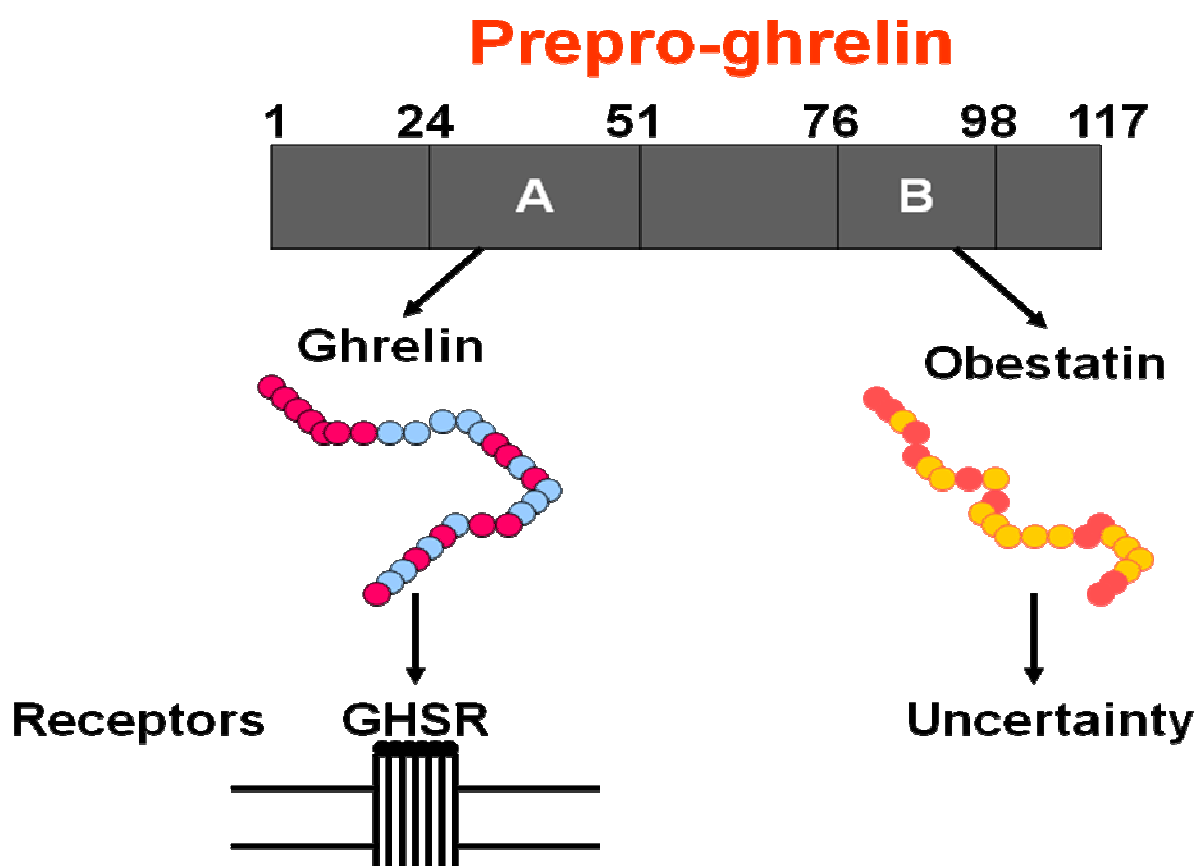
περιφερικό αίμα και μάλιστα σε υψηλότερα επίπεδα από την ακυλιωμένη μορφή (Patterson et al., 2005; Daforoulous et al., 2008), χωρίς να επηρεάζει την έκκριση της GH. Έχει διαπιστωθεί όμως ότι και η μη ακυλιωμένη μορφή ασκεί ποικίλες όσες άλλες βιολογικές δράσεις.

Το γονίδιο της ανθρώπινης γκρελίνης εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 3p25-26 (Kishimoto et al., 2003). Αρχικά, κωδικοποιεί ένα μεγαλύτερο μόριο την προ-προ-γκρελίνη, η οποία αποτελείται από 117 αμινοξέα. Από την τελευταία προκύπτει η προ-γκρελίνη, αποτελούμενη από 94 αμινοξέα και στη συνέχεια η γκρελίνη (1-28) από 28 αμινοξέα (Soares and Leite-Moreira, 2008). Μία άλλη μορφή με 27 αμινοξέα, η γκρελίνη 1-27, ανευρίσκεται σε πολύ μικρές ποσότητες στον στόμαχο. Από πλευράς ακυλίωσης, υπάρχουν η οκτανυλιωμένη και η δεκανυλιωμένη. Η οκτανυλιωμένη 1-28 αμινοξέων είναι η κυριότερη μορφή, ενώ υπάρχουν συνδυασμοί και των άλλων. Το έτος 2005, απομονώθηκε από την προ-προ-γκρελίνη μία άλλη ουσία, η οποία ονομάσθηκε ομπεστατίνη και αποτελείται από 23 αμινοξέα (Zhang et al., 2005; Tang et al., 2008) (Σχήμα 2). Η δράση της είναι αντίθετη από εκείνη της γκρελίνης, αφού ελαττώνει την πρόσληψη τροφής. Η ομπεστατίνη κωδικοποιείται από το ίδιο γονίδιο με τη γκρελίνη.

Παραγωγή της γκρελίνης

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η γκρελίνη παράγεται κατά κύριο λόγο από τα ενδοκρινή κύτταρα του στομάχου, από τα οποία απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος. Τα κύτταρα αυτά είναι χαρακτηριστικά, όπως

προκύπτει από μελέτες *in situ* υβριδισμού και ανοσοϊστοχημείας (Date et al., 2000; Rindi et al., 2002). Υπάρχουν τέσσερα διαφορετικά είδη κυττάρων, τα οποία εκκρίνουν τις δύο κύριες μορφές γκρελίνης από τον στόμαχο. Εκτός από τον στόμαχο, η γκρελίνη εκφράζεται και σε άλλους ιστούς, περιλαμβανομένων του παγκρέατος, του εγκεφάλου, των όρχεων, και των νεφρών. Κύτταρα, που εκφράζουν γκρελίνη, έχουν ανευρεθεί επίσης στο δωδεκαδάκτυλο, το λεπτό και το παχύ έντερο.



Σχήμα 2. Προέλευση της γκρελίνης και της ομπεστατίνης από την προ-προ-γκρελίνη. Ο τρόπος δράσης για τη γκρελίνη είναι μέσω ειδικών υποδοχέων, ενώ για την ομπεστατίνη παραμένει άγνωστος (Tang et al., 2008, τροποποιηθέν).

Διάφοροι παράγοντες διεγείρουν ή αναστέλλουν την έκκριση της γκρελίνης και συνεπώς μεταβάλλουν τα επίπεδα της ουσίας αυτής στο αίμα (Nonogaki, 2008). Τέτοιοι διεγέρτες της παραγωγής της γκρελίνης είναι η νηστεία και η διέγερση του παρασυμπαθητικού, από δε τις ορμόνες η τεστοστερόνη και η εκλυτική ορμόνη της GH. Στους αναστολείς της έκκρισης της γκρελίνης περιλαμβάνονται η πρόσληψη τροφής, η παχυσαρκία, η ινσουλίνη, η GH, η ιντερλευκίνη-1, η λεπτίνη, η σωματοστατίνη κ.α. Η παραγωγή της γκρελίνης σε συνδυασμό με τα παραπάνω θετικά ή αρνητικά ερεθίσματα δημιουργεί ένα είδος συστήματος παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (feedback) (Nonogaki, 2008).

Εχει διαπιστωθεί από πολλές μελέτες ότι τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα αυξάνουν κατά τη διάρκεια της νηστείας και ελαττώνονται μετά από την πρόσληψη τροφής (Nonogaki, 2008). Μάλιστα, η αντίδραση αυτή στα ερεθίσματα είναι άμεση, αφού η μείωση των τιμών της γκρελίνης στο χαμηλότερο επίπεδο παρατηρείται περίπου 1 ώρα μετά την πρόσληψη τροφής (Cummins et al., 2001). Το ίδιο συμβαίνει και κατά τη χορήγηση γλυκόζης. Παρόμοια αντίδραση παρατηρείται και μετά την πρόσληψη τροφής με μεγάλη περιεκτικότητα σε λίπος, όχι όμως πρωτεΐνης. Κατ' αντιστοιχία με την πρόσληψη ή όχι τροφής, τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα είναι χαμηλά σε παχύσαρκα και υψηλά σε λεπτόσωμα άτομα. Με άλλα λόγια, οι μεταβολές αυτές της γκρελίνης είναι αντίστροφες εκείνων της λεπτίνης. Εξαίρεση αποτελεί το σύνδρομο Prader-Willi, στο οποίο παράλληλα με την αύξηση των επιπέδων της λεπτίνης στο πλάσμα υπάρχει και αύξηση των επιπέδων της γκρελίνης (DelParigi et al., 2002). Σε άτομα με νευρογενή

ανορεξία, τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα είναι αυξημένα, όπως θα αναφερθεί παρακάτω. Η συμβολή της νηστείας στην αύξηση των επιπέδων της γκρελίνης πιθανώς να πραγματοποιείται μέσω μηχανισμών, που περιλαμβάνουν και το πνευμονογαστρικό (Williams et al., 2003).

Ορμονικοί παράγοντες, όπως η GH, επίσης επηρεάζουν την έκκριση της γκρελίνης, π.χ. η GH ελαττώνει την έκκριση της γκρελίνης από τον στόμαχο, χωρίς να επηρεάζει τις αποθήκες της (Qi et al., 2003). Όπως ήδη αναφέρθηκε, τόσο στον άνθρωπο όσο και σε πειραματόζωα, η γκρελίνη είναι σε θέση να διεγείρει την έκκριση της GH. Η δυνατότητα της τελευταίας να ελαττώνει την έκκριση της γκρελίνης οδηγεί στη σκέψη για την ύπαρξη ενός συστήματος παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Nonogaki, 2008). Η ινσουλίνη ελαττώνει την έκκριση της γκρελίνης στον άνθρωπο ανεξαρτήτως της στάθμης της γλυκόζης στο αίμα (Saad et al., 2002). Σε διαβητικούς ασθενείς, οι μεταβολές της γκρελίνης μετά από την πρόσληψη τροφής δεν ακολουθούν την εικόνα, που παρατηρείται σε υγιή άτομα. Μία άλλη ορμόνη του παγκρέατος, το γλυκαγόνο, προκαλεί επίσης ελάττωση των επιπέδων της γκρελίνης στο αίμα (Arafat et al., 2005). Μεταβολές στην έκκριση των ορμονών του θυρεοειδούς σε παθολογικές καταστάσεις, όπως υπερθυρεοειδισμό, οδηγούν σε ελάττωση των επιπέδων της γκρελίνης, αλλά ο μηχανισμός παραμένει άγνωστος. Άλλοι ορμονικοί παράγοντες είτε περιφερικοί, όπως η χολοκυστοκινίνη και η ουροκορτίνη-1 είτε με τη μορφή νευρομεταβιβαστών, όπως η ιντερλευκίνη-1 και η σεροτονίνη αλλά και η υποθαλαμική ορμόνη TRH (thyrotrophin releasing hormone), εκλυτική της

θυρεοειδοτρόφου ορμόνης (TSH), επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο η κάθε μία τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα.

Η γκρελίνη κυκλοφορεί στο πλάσμα και με τις δύο μορφές της. Η στάθμη όμως της μη ακυλιωμένης μορφής είναι, όπως αναφέρθηκε, πολύ υψηλότερη εκείνης της ακυλιωμένης (Patterson et al., 2005; Daforoulos et al., 2008). Η διαφορά πιθανώς οφείλεται στην ταχεία πρόσδεση της ακυλιωμένης μορφής στους υποδοχείς ή σε μετατροπή της σε μη ακυλιωμένη μορφή. Στο αίμα, η ακυλιωμένη μορφή κυκλοφορεί προσδεσμένη σε μεγαλύτερα μόρια, κυρίως λιποπρωτείνες.

Υποδοχείς της γκρελίνης

Ο υποδοχέας της γκρελίνης (GHS-R) κωδικοποιείται από ένα γονίδιο, το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3q26.2 (McKee et al., 1997). Υπάρχουν δύο μορφές του υποδοχέα αυτού, ο GHS-R1a και ο GHS-R1b. Και οι δύο μορφές εκφράζονται ευρέως. Η γκρελίνη όμως δεν προσδένεται στον υποδοχέα GHS-R1b. Ο βιολογικός ρόλος του τελευταίου δεν είναι γνωστός. Ο υποδοχέας GHS-R1a συνδέεται με G πρωτείνες και η ενεργοποίησή του οδηγεί στην είσοδο ασβεστίου στο κύτταρο και στην κινητοποίηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου (Pazos et al., 2008). Στα σωματοτρόφα κύτταρα της υποφύσεως, η διέγερση του υποδοχέα καταλήγει στο σχηματισμό τριφωσφορικής ινοσιτόλης και διασυλγλυκερόλης.

Στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ), ο υποδοχέας GHS-R1a εκφράζεται κυρίως στην υπόφυση και στον υποθάλαμο (Howard et al., 1996). Αυτό σχετίζεται με τις κύριες δράσεις της γκρελίνης, δηλαδή την έκκριση της GH και την επίδραση της στην όρεξη και την πρόσληψη τροφής. Αρκετοί ιστοί εκφράζουν επίσης τον υποδοχέα και αυτό εξηγεί τις ποικίλες όσες δράσεις της γκρελίνης σε διάφορα όργανα. Η έκφραση του υποδοχέα αναστέλλεται από την GH και ευοδώνεται από την GHRH (growth hormone releasing hormone). Μία άλλη ορμόνη, που ασκεί αντίθετη από τη γκρελίνη επίδραση στην πρόσληψη τροφής, η λεπτίνη, ελαττώνει την έκφραση του υποδοχέα της γκρελίνης στον υποθάλαμο. Η ίδια η γκρελίνη ευοδώνει την έκφραση του υποδοχέα της, ενώ άλλες ορμόνες, όπως τα γλυκοκορτικοειδή, οι ορμόνες του θυρεοειδούς και τα γοναδικά στεροειδή επίσης επηρεάζουν την έκφραση του.

Η πιθανότητα η γκρελίνη να δρα και μέσω άλλων υποδοχέων ενισχύεται από το γεγονός ότι εμφανίζει δράσεις και σε ιστούς, στους οποίους δεν εκφράζεται ο κύριος υποδοχέας της. Ως παράδειγμα αναφέρεται ο υποδοχέας CD36, μέσω του οποίου η γκρελίνη ασκεί επιδράσεις στα στεφανιαία αγγεία (Bodart et al., 2002). Η μη ακυλιωμένη μορφή της γκρελίνης δεν προσδένεται στον υποδοχέα GHS-R1a και συνεπώς οι όποιες βιολογικές της δράσεις ασκούνται μέσω άλλων υποδοχέων, που όμως μέχρι σήμερα δεν έχουν ανακαλυφθεί.

Δράσεις της γκρελίνης

Οι δράσεις της γκρελίνης είναι ποικίλες και ασκούνται σε διάφορα όργανα και ιστούς (Soares and Leite-Moreira, 2008). Η πλέον έκδηλη ορμονική δράση

της είναι η διέγερση της έκκρισης της GH. Μελέτες έχουν δείξει ότι η δράση αυτή είναι δοσο-εξαρτώμενη και ασκείται μόνο από την ακυλιωμένη μορφή. Η γκρελίνη διεγείρει ακόμη την έκκριση της PRL, της φλοιοεπινεφριδιοτρόφου ορμόνης (ACTH) και της TSH. Τόσο η μη ακυλιωμένη μορφή όσο και η ομπεστατίνη δεν εμφανίζουν τέτοιες δράσεις. Η κύρια δράση της γκρελίνης, όπως αναφέρθηκε, είναι στην όρεξη και την πρόσληψη τροφής (Cummings et al., 2004). Ετσι, επηρεάζει το βάρος του σώματος. Η γκρελίνη αυξάνει την όρεξη και την πρόσληψη τροφής, όταν χορηγείται σε ζώα ή στον άνθρωπο. Η ορεξιγόνο δράση της ασκείται στον υποθάλαμο μέσω διέγερσης του πνευμονογαστρικού ή/και με απ' ευθείας δράση της μεταφερόμενη με το αίμα. Στην τελευταία περίπτωση, ενεργοποιούνται νευρώνες, που εκκρίνουν το νευροπεπτίδιο Υ. Η δράση της γκρελίνης στην αύξηση του βάρους του σώματος προκαλείται όχι μόνο από την αύξηση της όρεξης και της πρόσληψης τροφής αλλά και μέσω άλλων μηχανισμών, που ρυθμίζουν την ενεργειακή ομοιόσταση. Ετσι, προάγει την πρόσληψη λιπαρών τροφών και τη λιπογένεση, ελαττώνοντας τη λιπόλυση και την κατανάλωση ενέργειας. Τα επίπεδα της γκρελίνης στο αίμα αυξάνουν με την απώλεια βάρους και ελαττώνονται με την αύξηση του βάρους. Σχετικά με τη δράση της μη ακυλιωμένης μορφής στην πρόσληψη τροφής, τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα, από αρνητική έως θετική επίδραση. Η δράση της ομπεστατίνης είναι αντίθετη της γκρελίνης, παρ' όλα αυτά νεώτερα δεδομένα αναφέρουν ότι η δράση της στην πρόσληψη τροφής είναι δευτερογενής της ικανότητας της να αναστέλλει τη δίψα (Soares and Leite-Moreira, 2008).

Η γκρελίνη ασκεί επίδραση στο μεταβολισμό, αφού επηρεάζει την έκκριση της ινσουλίνης και την παραγωγή γλυκόζης στο ήπαρ (Soares and Leite-Moreira, 2008). Παρά τα αντικρουόμενα δεδομένα, φαίνεται ότι η γκρελίνη αναστέλλει την έκκριση της ινσουλίνης καθώς και περιφερικές δράσεις της τελευταίας. Ως αποτέλεσμα αυτών αλλά και άλλων μηχανισμών, η στάθμη της γλυκόζης του αίματος μετά από τη χορήγηση γκρελίνης αυξάνει. Οι δράσεις της μη ακυλιωμένης μορφής είναι εν πολλοίς αντίθετες εκείνων της ακυλιωμένης μορφής. Περιορισμένα και αρκετά αντιφατικά δεδομένα υπάρχουν σχετικά με τη δράση της ομπεστατίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης.

Σχετικά με το μεταβολισμό των λιπών, η γκρελίνη ασκεί επιδράσεις στο ήπαρ, τους σκελετικούς μυς και το λιπώδη ιστό (Barazzoni et al., 2005). Γενικώς, οι δράσεις της ευνοούν τη λιπογένεση και ανταγωνίζονται τη λιπόλυση. Παρόμοιες θεωρούνται οι δράσεις της μη ακυλιωμένης μορφής, ενώ οι δράσεις της ομπεστατίνης στο μεταβολισμό των λιπιδίων δεν είναι γνωστές.

Άλλες επιδράσεις της γκρελίνης ασκούνται στο γαστρεντερικό σύστημα και στο καρδιαγγειακό σύστημα (Soares and Leite-Moreira, 2008). Η δράση της στη λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος ασκείται κατά κύριο λόγο στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση του επιθηλίου μέσω καταστολής της απόπτωσης. Επίσης, αυξάνει την κινητικότητα του παχέος εντέρου και την έκκριση πρωτεϊνών του παγκρέατος. Σχετικά με το καρδιαγγειακό σύστημα, οι δράσεις της είναι ποικίλες, προκαλώντας διαστολή των αγγείων και βελτίωση της μικροκυκλοφορίας. Η δράση της ομπεστατίνης στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι ασαφής και χρειάζεται περαιτέρω μελέτη.

Επιδράσεις της γκρελίνης έχουν επίσης αναφερθεί στη λειτουργία των λεμφικών οργάνων, στα Τ και Β λεμφοκύτταρα και στα μονοκύτταρα, όπου πιθανώς επηρεάζει την ανοσιακή αντίδραση (Soares and Leite-Moreira, 2008).. Επίσης, η γκρελίνη επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση αλλά και την απόπτωση διαφόρων φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυτταρικών σειρών. Άλλες επιδράσεις της γκρελίνης αφορούν στα οστά, όπου ασκεί οστεοβλαστική δράση και διεγείρει το σχηματισμό νέου οστού.

Φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις

Οι τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα μεταβάλλονται κατά την ήβη. Εχει διαπιστωθεί ότι οι τιμές είναι μεγαλύτερες πριν από την ήβη και ελαττώνονται κατά την ήβη ιδιαίτερα στα άρρενα άτομα, ενώ βρέθηκε αρνητική συσχέτιση με το δείκτη μάζας σώματος, την ηλικία και το στάδιο της ήβης (Whatmore et al., 2003; Soriano-Guillen et al., 2004). Η αιτία της ελάττωσης των τιμών της με την ήβη δεν είναι γνωστή, αν και η χορήγηση τεστοστερόνης σε άρρενα άτομα περί την ήβη ελάττωσε τα επίπεδα της γκρελίνης, κάτι που δεν έγινε σε θήλεα άτομα κατόπιν χορήγησης οιστραδιόλης (Lebenthal et al., 2006). Κατά πόσον η γκρελίνη υπεισέρχεται στη διαδικασία της ήβης δεν είναι γνωστό. Μία μελέτη σε ποντίκια έδειξε ότι η χρόνια χορήγηση γκρελίνης σε προηβικά ζώα δεν επηρέασε την έναρξη της ήβης στα θήλεα σε αντίθεση με τα άρρενα (Fernandez-Fernandez et al., 2005). Στον άνθρωπο, είναι πιθανόν οι παρατηρούμενες μεταβολές στις τιμές της γκρελίνης να μη σχετίζονται με την ήβη αυτή καθ' εαυτή, αλλά με άλλους παράγοντες, αφού σε θήλεα άτομα με

πρώιμη ήβη η χορήγηση ενός GnRH (gonadotrophin releasing hormone) αγωνιστή, με σκοπό την αναστολή της ήβης, δεν οδήγησε σε αύξηση αλλά σε ελάττωση της γκρελίνης στο πλάσμα (Maffeis et al., 2007).

Οι τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα γυναικών με ψυχογενή ανορεξία είναι αυξημένες και επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα μετά την ανάκτηση βάρους (Otto et al., 2001; Tanaka et al., 2003; Misra et al., 2005; Nakahara et al., 2007). Φαίνεται ότι στις περιπτώσεις αυτές υπάρχει μία ελαττωμένη ευαισθησία στη δράση της γκρελίνης (Misra et al., 2005). Αυτό έχει διαπιστωθεί σε περιπτώσεις χορήγησης γκρελίνης σε γυναίκες με ψυχογενή ανορεξία, οπότε τόσο η αύξηση της GH όσο και της όρεξης είναι μικρότερη από ό,τι σε φυσιολογικές γυναίκες (Broglia et al., 2004; Miljic et al., 2006). Αν και δεν είναι γνωστό τι επηρεάζει περισσότερο την έκκριση της γκρελίνης μετά τη λήψη τροφής σε ασθενείς με ψυχογενή ανορεξία, δηλ. η ποσότητα της προσλαμβανόμενης τροφής, η σύσταση ή η ποσότητα των θερμίδων, η ελάττωση της γκρελίνης μετά τη χορήγηση γλυκόζης επιδραρκεί στις γυναίκες αυτές (Nakai et al., 2003; Hotta et al., 2004; Harada et al., 2008).

Στην παχυσαρκία, τα επίπεδα της γκρελίνης είναι χαμηλότερα εκείνων των μη παχυσάρκων φυσιολογικών γυναικών και εξαρτώνται από την αντίσταση στην ινσουλίνη (Marzullo et al., 2006). Όσο μεγαλύτερη είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη τόσο χαμηλότερα και τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα (St-Pierre et al., 2007). Τα ελαττωμένα επίπεδα της γκρελίνης στην παχυσαρκία αυξάνουν μετά την απώλεια βάρους (Romon et al., 2006).

Σε ασθενείς με ψυχογενή πολυφαγία, δεν διαπιστώθηκε διαφορά στις τιμές της γκρελίνης από εκείνες σε φυσιολογικές γυναίκες (Nakazato et al., 2004; Monteleone et al., 2005; 2009), αν και από ορισμένους έχουν αναφερθεί αυξημένα επίπεδα (Tanaka et al., 2002; 2006; Kojima et al., 2005). Παρ' όλα αυτά, η μελέτη δύο πολυμορφισμών του γονιδίου της προ-προ-γκρελίνης έδειξε συσχέτισμό με την ψυχογενή πολυφαγία σε μία μελέτη (Ando et al., 2006) όχι όμως σε μία άλλη (Monteleone et al., 2006), ενώ υπήρξε συσχέτιση ενός πολυμορφισμού του υποδοχέα GHS-R με την ψυχογενή πολυφαγία (Miyasaka et al., 2006). Σε γυναίκες με ψυχογενή πολυφαγία, η ελάττωση της γκρελίνης ως απάντηση στη λήψη τροφής ήταν σημαντικά μικρότερη από εκείνη σε φυσιολογικές γυναίκες, δηλώνοντας έτσι μία πιθανή διαταραχή στην προσαρμογή του οργανισμού στη συγκεκριμένη διαδικασία (Monteleone et al., 2003; Kojima et al., 2005). Η ενδοφλέβια χορήγηση γκρελίνης σε γυναίκες με ψυχογενή πολυφαγία δεν έδειξε διαφορές από φυσιολογικές γυναίκες ως προς την απάντηση της GH, της PRL, της ACTH, της κορτιζόλης και της γλυκόζης (Fassino et al., 2005). Αντιθέτως, σε γυναίκες με νευρογενή ανορεξία, η απάντηση της GH είναι ελαττωμένη όχι όμως και των υπολοίπων υποφυσιακών ορμονών (Broglia et al., 2004).

Αναπαραγωγική λειτουργία

Τα τελευταία χρόνια έχουν προκύψει αρκετές ενδείξεις ότι η γκρελίνη παίζει ρόλο στην αναπαραγωγική λειτουργία. Οι ενδείξεις προέρχονται από μελέτες τόσο σε ζώα όσο και στον άνθρωπο (Garcia et al., 2007; Tena-Sempere, 2008). Η μέχρι σήμερα έρευνα αναφέρεται σε δύο επίπεδα, το ΚΝΣ και τις ωοθήκες, αν και μελέτες έχουν επίσης γίνει και σε άνδρες και αφορούν κυρίως

στους όρχεις. Όπως ήδη αναφέρθηκε, υποδοχείς της γκρελίνης υπάρχουν στον υποθάλαμο και την υπόφυση, μέσω των οποίων ασκείται η δράση της ουσίας αυτής στις περιοχές αυτές. Ακόμη, μελέτες σε ωοθήκες έχουν δείξει την παρουσία των υποδοχέων της γκρελίνης και στα όργανα αυτά (Gaytan et al., 2003; 2005). Επομένως, είναι πιθανή η επίδραση της ουσία αυτής στην αναπαραγωγική λειτουργία μέσω δράσης στις περιοχές αυτές.

Επίδραση στις ωοθήκες

Μελέτες σε ποντίκια έχουν δείξει την έκφραση της γκρελίνης σε επίπεδο mRNA και πρωτείνης στις ωοθήκες (Caminos et al., 2003). Διαπιστώθηκε διακύμανση των τιμών έκφρασης με τη φάση του κύκλου, με τις μεγαλύτερες τιμές στην ωχρινική φάση. Αυτό σημαίνει ότι η γκρελίνη στα ζώα αυτά πιθανώς να επηρεάζει κυρίως τη λειτουργία του ωχρού σωματίου. Παρ' όλα αυτά, πολύ πρόσφατα δεδομένα δείχνουν την έκφραση του mRNA της γκρελίνης και της πρωτείνης σε ωοθυλάκια προβάτου, με τη μέγιστη έκφραση κατά την ανάπτυξη των ωχρών σωματίων (Du et al., 2009). Επίσης, έκφραση του mRNA της γκρελίνης διαπιστώθηκε σε ωκύτταρα μετάφασης II και λιγότερο σε προέμβρυα και βλαστοκύστες προβάτου, ενώ ο υποδοχέας GHS-R1a βρέθηκε περισσότερο στα προέμβρυα (Du et al., 2009). Σε ωοθήκες χοίρων, η μέγιστη έκφραση του mRNA της γκρελίνης διαπιστώθηκε στον δίοιστρο-2 και η μικρότερη στον πρόοιστρο (Zhang et al., 2008). Η γκρελίνη φαίνεται να ασκεί ποικίλες επιδράσεις στις ωοθήκες ανάλογα και με το είδος του ζώου. Πρόσφατα δεδομένα όμως έχουν δείξει ότι η γκρελίνη είναι σε θέση να διεγείρει την έκκριση όχι όμως τη σύνθεση GH από ωοθυλάκια σε

καλλιέργεια βοοειδών, ενώ η GH διεγείρει τόσο την έκκριση όσο και τη σύνθεση της γκρελίνης, υποδηλώνοντας πιθανώς ένα είδος τοπικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Rak and Gregoraszczyk, 2008). Σε κουνέλια, η γκρελίνη αύξησε την παραγωγή της προγεστερόνης και του IGF-I αλλά όχι της οιστραδιόλης, ενώ σε διαγονιδιακά ζώα ελάττωσε την παραγωγή της προγεστερόνης (Sirotkin et al., 2008a). Σε καλλιέργεια ωχρινοποιημένων κοκκωδών κυτάρων χοίρων, η γκρελίνη δεν επηρέασε την παραγωγή του p53 ή της προγεστερόνης, αλλά ελάττωσε την έκκριση της MAP3K5 και αύξησε την έκκριση των προσταγλανδινών F και E (Sirotkin et al., 2008b). Από την άλλη μεριά, η υπερέκφραση του p53 μετέτρεψε σε ανασταλτική τη δράση της γκρελίνης στην έκκριση της προγεστερόνης (Sirotkin et al., 2008b). Η παρουσία της γκρελίνης και του υποδοχέα της έχει επίσης διαπιστωθεί και σε ορχικό ιστό του προβάτου (Miller et al., 2005).

Στον άνθρωπο, μελέτες με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας έχουν δείξει την παρουσία της γκρελίνης στην ωοθήκη καθώς επίσης και του υποδοχέα της, GHS-R1a. Η παρουσία της γκρελίνης διαπιστώθηκε στο ωχρό σωματίο και όχι στο ωοθυλάκιο (Gaytan et al., 2003; 2005). Αντιθέτως, ο υποδοχέας εντοπίστηκε τόσο στο ωχρό σωματίο όσο και στο ωοθυλάκιο. Στο τελευταίο, η έκφραση ήταν μεγαλύτερη σε ωριμάζοντα κοιλοτικά ωοθυλάκια. Η παρουσία των υποδοχέων της γκρελίνης στην ωοθήκη συνηγορεί υπέρ μιας πιθανής δράσης της ουσίας αυτής στο όργανο αυτό και συνεπώς ενός πιθανού ρόλου της στην ωοθηκική λειτουργία. Μία πρόσφατη μελέτη, στην οποία χρησιμοποιήθηκαν ωχρινοποιημένα κοκκώδη κύτταρα, τα οποία λήφθηκαν από γυναίκες, που υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση,

διαπιστώθηκε κατασταλτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της οιστραδιόλης, συνηγορώντας υπέρ πιθανού ρόλου της ουσίας αυτής στην ωοθηκική λειτουργία στον άνθρωπο (Viani et al., 2008). Τα δεδομένα πάντως αυτά είναι προς το παρόν ανεπαρκή, προκειμένου να δώσουν σαφή συμπεράσματα και συνεπώς απαιτούνται για το σκοπό αυτό περισσότερες μελέτες.

Η διαπίστωση ότι η γκρελίνη εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά σε ανθρώπινα ωχρινικά κύτταρα δείχνει ένα πιθανό ρόλο της στη λειτουργία του ωχρού σωματίου (Tropea et al., 2007). Συγκεκριμένα, η γκρελίνη ελάττωσε σημαντικά τη βασική και τη μετά διέγερση με χοριακή γοναδοτροφίνη (HCG) έκκριση της προγεστερόνης σε καλλιέργεια, ενώ αύξησε την παραγωγή της προσταγλανδίνης F2α και ελάττωσε την παραγωγή της E2, δηλαδή τη σχέση ωχρινολυτικών-ωχρινοτροφικών παραγόντων (Tropea et al., 2007). Φαίνεται λοιπόν ότι η δράση της γκρελίνης στη λειτουργία του ωχρού σωματίου στον άνθρωπο είναι κατασταλτική. Μπορεί να υπάρχουν διαφορές στο είδος της δράσης μεταξύ διαφορετικών ειδών ζώων, όπως π.χ στα πουλερικά, όπου διαπιστώθηκε ότι η γκρελίνη 1-18 μπορεί να διεγείρει, ενώ η γκρελίνη 1-28 να ελαττώνει την παραγωγή οιστραδιόλης και προγεστερόνης από τμήματα ωοθυλακίων σε καλλιέργεια (Sirotkin et al., 2006; Sirotkin and Grossmann, 2008). Οι παραπάνω επιδράσεις της γκρελίνης στην ωοθήκη μπορεί να χαρακτηρισθούν ενδοκρινικές, αν και μία παρακρινική ή αυτοκρινική δράση είναι επίσης πιθανή.

Παρά το γεγονός ότι η γκρελίνη εκφράζεται στην ωοθήκη διαφόρων ζώων καθώς και του ανθρώπου, δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι οι ωοθήκες αποτελούν πηγή παραγωγής της ορμόνης αυτής, η οποία κατά κύριο λόγο παράγεται από το βλεννογόνο του στομάχου. Η γκρελίνη κυκλοφορεί στο αίμα και είναι δυνατή η μέτρηση της στο πλάσμα. Μέχρι σήμερα υπάρχουν πολύ περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τις τιμές της ορμόνης αυτής στο αίμα γυναικών. Η μέτρηση της γκρελίνης στο αίμα γυναικών κατά την προχωρημένη ωοθυλακική φάση του κύκλου έδειξε τιμές τρεις φορές υψηλότερες από εκείνες στους άνδρες (Barkan et al., 2003). Αν και οι τιμές της γκρελίνης δεν επηρεάστηκαν από την ελάττωση των επιπέδων της GH, ελαττώθηκαν μετά από τη χορήγηση σωματοστατίνης (Barkan et al., 2003). Υψηλά επίπεδα εν τούτοις GH, όπως σε περίπτωση μεγαλακρίας, ελάττωσαν τις τιμές της γκρελίνης (Barkan et al., 2003). Υψηλότερες τιμές γκρελίνης σε γυναίκες παρά σε άνδρες βρέθηκαν και σε μία επόμενη μελέτη, στην οποία η ελάττωση της γκρελίνης ως απάντηση στη φόρτιση με γλυκόζη καθορίστηκε από το φύλο (Greenman et al., 2004). Η διαφορά στις τιμές της γκρελίνης μεταξύ ανδρών και γυναικών πιθανόν να σχετίζεται με τα φυλετικά στεροειδή και κυρίως τα ανδρογόνα, αν και ο μηχανισμός είναι ασαφής. Πράγματι, μία πρόσφατη μελέτη έδειξε θετική συσχέτιση των τιμών της γκρελίνης με τα επίπεδα της τεστοστερόνης τόσο σε άνδρες όσο και σε μετεμμηνοπαυσιακές αλλά όχι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Greenman et al., 2009). Μία προηγούμενη μελέτη όμως δεν έδειξε διαφορές στις τιμές της γκρελίνης μεταξύ ανδρών και γυναικών προ- ή μετεμμηνοπαυσιακών, ενώ οι τιμές αυξάνονταν με την ηλικία και ελαττώνονταν με το δείκτη μάζας σώματος και τα επίπεδα της ινσουλίνης (Purnell et al., 2003). Πρόσφατα, η γκρελίνη

μετρήθηκε στο αίμα γυναικών κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου σε καθημερινά δείγματα αίματος και βρέθηκε ότι οι τιμές δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά, κάτι που δείχνει ότι η στάθμη της ορμόνης αυτής είναι ανεπηρέαστη από τις μεταβολές των ωθητικών ορμονών (Daforoulos et al., 2008). Στην ίδια μελέτη μετρήθηκε τόσο η ακυλιωμένη όσο και η μη ακυλιωμένη μορφή και τα επίπεδα της τελευταίας ήταν υψηλότερα της πρώτης (Daforoulos et al., 2008).

Μετρήσεις των συγκεντρώσεων της γκρελίνης στο πλάσμα έχουν επίσης πραγματοποιηθεί και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Στο σύνδρομο αυτό, τα δεδομένα είναι αντιφατικά. Συγκεκριμένα, έχουν αναφερθεί τιμές γκρελίνης χαμηλότερες της ομάδας μαρτύρων (Panidis et al., 2005; Guido et al., 2007; Barber et al., 2008), όπως και τιμές υψηλότερες (Wasko et al., 2004) ή τιμές παρόμοιες με την ομάδα μαρτύρων (Orio et al., 2003). Μία από τις πρώτες μελέτες έδειξε ότι οι τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα των γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστιών ωοθηκών είναι χαμηλότερες στις παχύσαρκες γυναίκες σε σύγκριση με παχύσαρκες χωρίς το σύνδρομο αυτό (Pagotto et al., 2002). Οι τιμές της γκρελίνης όμως βρέθηκαν αντιστρόφως ανάλογες του δείκτη μάζας σώματος (Orio et al., 2003), της υπερανδρογοναιμίας (Pagotto et al., 2002; Panidis et al., 2005) και της αντίστασης στην ινσουλίνη (Pagotto et al., 2002; Barber et al., 2008), αλλά σχετίζονταν θετικά με την ανωθυλακιορρηξία και την πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών (Panidis et al., 2005). Η θεραπεία με αντιανδρογόνα αύξησε τα επίπεδα της γκρελίνης σε παχύσαρκες γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (Gambineri et al., 2003).

Σχετικά με την επίδραση της γκρελίνης σε γυναίκες με το σύνδρομο αυτό, σε μία πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι η εφ' άπαξ ενδοφλέβια χορήγηση της ουσίας αυτής αύξησε τα επίπεδα της ελαττωμένης GH, όπως και στην ομάδα μαρτύρων (Guido et al., 2007). Πρόσφατα, έγινε έλεγχος δύο πολυμορφισμών του γονιδίου της γκρελίνης, Arg51Gln και Leu72Met, κατά πόσον αυτοί σχετίζονται με την παχυσαρκία ή άλλα χαρακτηριστικά του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών, αλλά δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση (Wang et al., 2009).

Επίδραση στον υποθάλαμο και την υπόφυση

Κατά πόσον η γκρελίνη ασκεί επίδραση στην έκκριση της GnRH και των γοναδοτροφινών αποτελεί αντικείμενο μελέτης. Μέχρι σήμερα έχουν γίνει μελέτες σε πειραματόζωα, ενώ η έρευνα στον άνθρωπο είναι πολύ περιορισμένη. Σχετικά με την έκκριση της GnRH δεδομένα σε άνηβα και ένηβα άρρενα ποντίκια δείχνουν ότι η γκρελίνη μείωσε *in vivo* και αύξησε *in vitro* την κατά ώσεις έκκριση της GnRH από τον υποθάλαμο, η δε *in vivo* δράση ήταν αντίθετη της δράσης της λεπτίνης (Lebrethon et al., 2007). Σε ό,τι αφορά στην έκκριση της LH (luteinizing hormone), μελέτες σε ωοθηκεκτομηθέντα ποντίκια και σε πιθήκους έδειξαν ελάττωση των ώσεων της LH μετά την απ' ευθείας χορήγηση γκρελίνης στο ΚΝΣ (Furuta et al., 2001). Επίσης, η χορήγηση της ορμόνης αυτής σε υγιή ποντίκια και σε πρόβατα ελάττωσε σημαντικά τα βασικά επίπεδα της LH (Fernandez-Fernandez et al., 2005; Iqbal et al., 2006). Ακόμη, η χορήγηση γκρελίνης σε έφηβα και ενήλικα άρρενα ποντίκια προκάλεσε σημαντική ελάττωση της LH (Martini et al., 2006). Τέλος, σε θήλεα ποντίκια, η γκρελίνη ελάττωσε την

υποφυσιακή έκκριση της LH μετά από τη χορήγηση GnRH (Fernandez-Fernandez et al., 2005). Το τελευταίο δείχνει την πιθανή επίδραση της ουσίας αυτής απ' ευθείας στην υπόφυση. Τα ευρήματα όμως αυτά δεν υποδηλώνουν μία σταθερή δράση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών, αφού η ελάττωση της LH τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* δεν συνοδεύτηκε από ελάττωση και της FSH. Αντιθέτως, η απάντηση της FSH (follicle stimulating hormone) στη GnRH αυξήθηκε και ελαττώθηκε μόνο στον οίστρο. Επίσης, σε αντίθεση με την κατασταλτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της LH σε φυσιολογικά θήλεα ποντίκια, η βασική έκκριση και των δύο γοναδοτροφινών από καλλιέργεια υποφύσεων αυξήθηκε υπό την επίδραση της γκρελίνης (Fernandez-Fernandez et al., 2004; 2007). Πιο πρόσφατα δεδομένα σε πρόβατα έδειξαν την κατασταλτική επίδραση της γκρελίνης, χορηγούμενης κεντρικά, στην έκκριση της LH (Harrison et al., 2008). Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι η όποια επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών είναι αρκετά πολύπλοκη.

Σχετικά με την επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών στον άνθρωπο, τα δεδομένα είναι πολύ περιορισμένα και αφορούν μόνο σε άνδρες. Συγκεκριμένα, υψηλή δόση γκρελίνης (5-10 $\mu\text{g/Kg}$, με τη μορφή οξείας χορήγησης, δεν επηρέασε την έκκριση της LH (Takaya et al., 2000; Nagaya et al., 2001). Αντιθέτως, ελάττωση της LH παρατηρήθηκε είτε μετά από τη χορήγηση πολλαπλών δόσεων είτε μετά από συνεχή ενδοφλέβια έγχυση σε δόση 2 $\mu\text{g/Kg/h}$ για 4 ώρες (Kluge et al., 2007; Lafranco et al., 2008). Πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι η εξωγενής χορήγηση γκρελίνης σε φυσιολογικούς άνδρες ήταν σε θέση να ελαττώσει την έκκριση της FSH (Kluge

et al., 2009). Σχετικά με την υποφυσιακή απάντηση στη GnRH, τα δεδομένα είναι επίσης πολύ περιορισμένα. Υπάρχει μία μόνο μελέτη σε άνδρες, στους οποίους η ενδοφλέβια έγχυση γκρελίνης για 210 min δεν επηρέασε την απάντηση των LH και FSH στη GnRH (Lafranco et al., 2008). Πιο πρόσφατα, δοκιμάσθηκε σε φυσιολογικούς ανθρώπους ένα μιμητικό της γκρελίνης (anamorelin) χορηγούμενο από του στόματος, το οποίο αύξησε σημαντικά τα επίπεδα της GH με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, χωρίς να επηρεάσει την έκκριση άλλων υποφυσιακών ορμονών, περιλαμβανομένων της LH και της FSH (Garcia and Polvino, 2009).

Κατά πόσον οι ωοθηκικές ορμόνες επηρεάζουν τη δράση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών ορμονών (LH και FSH) στον άνθρωπο δεν έχει μελετηθεί. Δεδομένα σε ποντίκια έχουν δείξει διαφορές στη δράση της γκρελίνης ανάλογα με το στάδιο του κύκλου (Fernandez-Fernandez et al., 2005). Εάν αυτό σημαίνει επίδραση των ωοθηκικών ορμονών, δεν είναι γνωστό. Μία πρόσφατη μελέτη σε φυσιολογικά θήλεα ποντίκια έδειξε ότι ο ανταγωνισμός της δράσης των οιστρογόνων ενίσχυσε τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της LH (Fernandez-Fernandez et al., 2007). Επίσης, δεν είναι γνωστό κατά πόσον οι ωοθηκικές ορμόνες ασκούν επίδραση στην έκκριση της γκρελίνης. Μία πρόσφατη μελέτη, όπως ήδη αναφέρθηκε, δεν έδειξε μεταβολές στις τιμές της ορμόνης αυτής κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου γυναικών (Dafopoulos et al., 2008). Σε ποντίκια, τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα αυξήθηκαν μετά από ωοθηκεκτομή και ελαττώθηκαν μετά από χορήγηση οιστρογόνων

(Matsubara et al., 2004). Αυτό μπορεί να σημαίνει πιθανό ρόλο των οιστρογόνων στην έκκριση της γκρελίνης.

Στον άνθρωπο, υπάρχει μικρός μόνο αριθμός μελετών. Σε γυναίκες με νευρογενή ανορεξία, η εξωγενής χορήγηση οιστρογόνων με τη μορφή αντισυλληπτικών δισκίων αύξησε τα επίπεδα της γκρελίνης στο αίμα (Grinspoon et al., 2004). Αντιθέτως, σε νεαρά θήλεα άτομα με χαμηλό ανάστημα, η εξωγενής χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα για δύο ημέρες, που οδήγησε σε υπερφυσιολογικά επίπεδα τους στο αίμα, δεν επηρέασε τα επίπεδα της γκρελίνης στο αίμα (Lebenthal et al., 2006). Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα για 6 μήνες αύξησε τις τιμές της γκρελίνης σημαντικά, κάτι που δεν παρατηρήθηκε μετά από διαδερμική χορήγηση (Kellokoski et al., 2005). Επίσης, η θεραπεία μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με το συνδυασμό οιστραδιόλης 50 µg ημερησίως διαδερμικά και νομεγεστρόλης σε δόση 5 mg ημερησίως επί 12 ημέρες το μήνα κατέληξε μετά 24 μήνες σε αύξηση των επιπέδων της γκρελίνης στο αίμα (Di Carlo et al., 2007). Μία άλλη πρόσφατη μελέτη έδειξε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της γκρελίνης μετά από τρίμηνη χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα ή διαδερμικά σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με το μεταβολικό σύνδρομο (Chu et al., 2006). Νεώτερες μελέτες σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν έδειξαν επίδραση στα επίπεδα της γκρελίνης του πλάσματος μετά θεραπεία με διάφορους συνδυασμούς οιστρογόνων και προγεστερινοειδών (Labrinoudaki et al., 2008; Villa et al., 2008). Αντίθετα, η χορήγηση χαμηλής δόσης αιθυνυλοιστραδιόλης με δροσπιρενόνη με τη μορφή αντισυλληπτικού δισκίου σε γυναίκες με σύνδρομο

πολυκυστικών ωοθηκών επί 3 μήνες, αύξησε σημαντικά τα επίπεδα της γκρελίνης (Sagsoz et al., 2009). Είναι φανερό από τα παραπάνω ότι τα μέχρι σήμερα δεδομένα, σχετικά με το ρόλο των οιστρογόνων στην έκκριση της γκρελίνης, είναι αντιφατικά. Παρ' όλα αυτά, μία πολύ πρόσφατη μελέτη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έδειξε ότι η διαδερμική χορήγηση οιστραδιόλης για τρεις εβδομάδες αύξησε τις μέγιστες νυκτερινές τιμές της ακυλιωμένης γκρελίνης, χωρίς να επηρεάζει τη μεταβολική κάθαρση της εξωγενώς χορηγηθείσας γκρελίνης (Paulo et al., 2008).

Κύηση

Τόσο η γκρελίνη όσο και ο υποδοχέας της εκφράζονται στον πλακούντα. Τα επίπεδα της γκρελίνης στο αίμα εγκύων γυναικών αυξάνουν με μέγιστες τιμές στο μέσον της κύησης και σταδιακή μείωση στο τρίτο τρίμηνο της κύησης (Fuglsang et al., 2005). Μετά τον τοκετό, τα επίπεδα της γκρελίνης επανέρχονται στα προ της κύησης επίπεδα. Στην κύηση, είναι γνωστό ότι αυξάνει σημαντικά η λιπώδης μάζα του σώματος, ενώ παρατηρείται αντίσταση στην ινσουλίνη, τα δε επίπεδα της GH αυξάνουν προερχόμενα από τον πλακούντα. Ένας πιθανός ρόλος της γκρελίνης στην κύηση είναι η ρύθμιση της προσλαμβανόμενης ενέργειας με την τροφή, χωρίς να παρατηρείται σχέση με την GH, τη μητρική ή την πλακουντιακή, ενώ πιθανώς υπάρχουν και τοπικές δράσεις (Fuglsang, 2008).

Στο έμβρυο, οι τιμές της γκρελίνης βρέθηκαν χαμηλότερες στον ομφάλιο λώρο σε σχέση με τις τιμές στη μητέρα σε πρόωρα νεογνά (Lanyi et al., 2008), ενώ

υψηλότερες έχουν βρεθεί στην ομφαλική αρτηρία παρά στην ομφαλική φλέβα, κάτι που σημαίνει πιθανή παραγωγή της ουσίας αυτής από το έμβρυο (Fuglsang et al., 2006). Παρ' όλα αυτά, σε μία προγενέστερη μελέτη οι τιμές της ακυλιωμένης μορφής ήταν μεγαλύτερες στην ομφαλική φλέβα παρά στην ομφαλική αρτηρία (Yokota et al., 2005). Σε τελειόμηνα νεογνά, οι τιμές της γκρελίνης στον ομφάλιο λώρο ήταν μεγαλύτερες από εκείνες στο αίμα της μητέρας (Bellone et al., 2004). Πρόωρα νεογνά με κανονικό βάρος για την ηλικία τους είχαν υψηλότερα επίπεδα γκρελίνης από πρόωρα με καθυστερημένη ενδομήτρια αύξηση (Chiesa et al., 2008). Επίσης, νεογνά με χαμηλό για την ηλικία της κύησης βάρος είχαν υψηλότερες τιμές γκρελίνης από νεογνά με κανονικό ή μεγαλύτερο βάρος (Farquhar et al., 2003). Ακόμη, οι τιμές της γκρελίνης σε τελειόμηνα νεογνά ήταν μεγαλύτερες από ό,τι σε πρόωρα νεογνά, με σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των τιμών της γκρελίνης και της ηλικίας κύησης (Bellone et al., 2004). Δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των τιμών της γκρελίνης στον ομφάλιο λώρο με το βάρος και το μήκος γέννησης ή το φύλο του εμβρύου (Bellone et al., 2006) ή με βιοχημικές παραμέτρους, όπως η GH, ο IGF-I, η ινσουλίνη, η γλυκόζη και η λεπτίνη (Bellone et al., 2004). Την 4^η ημέρα της ζωής, τα επίπεδα της γκρελίνης σε πρόωρα νεογνά αυξήθηκαν πάνω από τα επίπεδα του ομφαλίου λώρου, ανεξάρτητα από την πρόσληψη τροφής (Bellone et al., 2006). Το κάπνισμα της μητέρας φαίνεται να επηρεάζει την έκκριση της γκρελίνης στο έμβρυο, αφού νεογνά από καπνίστριες μητέρες είχαν υψηλότερες τιμές γκρελίνης στον ομφάλιο λώρο από νεογνά από μη καπνίστριες μητέρες (Bouhours-Nouet et al., 2006).

Σχετικά με πιθανές τοπικές δράσεις της γκρελίνης, μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η ορμόνη αυτή επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή προσταγλανδινών και την έκφραση mRNA της COX-2 και ισομορφών των συνθασών του NO σε καλλιέργεια ενδοθηλιακών κυττάρων προερχόμενων από την ομφαλική φλέβα (Minici et al., 2007). Αυτό δείχνει ένα πιθανό ρόλο της γκρελίνης στη ρύθμιση του τόνου των αγγείων του ομφαλίου λώρου.

Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH και της PRL

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η γκρελίνη είναι ο ενδογενής διεγέρτης των υποδοχέων έκκρισης της αυξητικής ορμόνης. Ως αποτέλεσμα αυτής της δράσης, η γκρελίνη χορηγούμενη εξωγενώς είναι σε θέση να διεγείρει την έκκριση της ορμόνης αυτής. Υπάρχουν πολλές μελέτες στη βιβλιογραφία τόσο στα ζώα όσο και στον άνθρωπο, οι οποίες δείχνουν μία τέτοια δράση της γκρελίνης. Η εξωγενής χορήγηση γκρελίνης σε φυσιολογικά άτομα αυξάνει την έκκριση της GH. Στις περισσότερες μελέτες, η γκρελίνη έχει χορηγηθεί σε εφ' άπαξ δόση ενδοφλεβίως. Όταν η γκρελίνη χορηγήθηκε σε συνεχή ενδοφλέβια έγχυση για 16 ώρες, παρατηρήθηκε αύξηση της συχνότητας των ώσεων της GH και παράλληλα ελάττωσε το ποσοστό αύξησης της ινσουλίνης, ενώ αύξησε το ποσοστό αύξησης της γλυκόζης ως απάντηση στη λήψη τροφής (Broglio et al., 2008). Επίσης, η έγχυση της γκρελίνης για 24 ώρες είχε παρόμοια αποτελέσματα, με αύξηση της συχνότητας και του εύρους των ώσεων της GH καθώς και της συνολικής νυχθήμερης έκκρισης της ορμόνης αυτής (Veldhuis et al., 2008).

Ενώ η δράση της γκρελίνης στην έκκριση της GH είναι πλήρως τεκμηριωμένη, υπάρχουν λίγα μόνο δεδομένα σχετικά με τον πιθανό ρόλο των οιστρογόνων ή άλλων ορμονών στην δράση αυτή της γκρελίνης. Πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει ότι η βραχυχρόνια χορήγηση οιστρογόνων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αύξησε τη διεγερτική επίδραση μίας σχετικά χαμηλής δόσης γκρελίνης στην κατά ώσεις έκκριση της GH (Veldhuis et al., 2006). Μία νεώτερη μελέτη έδειξε ότι η συνεχής ενδοφλέβια χορήγηση γκρελίνης σε σταδιακά αυξανόμενες δόσεις ενίσχυσε τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH στις χαμηλές δόσεις (0.15 µg/Kg) αλλά όχι στις μεγαλύτερες δόσεις (2.4 µg/kg) (Kok et al., 2008a). Το συμπέρασμα από τις δύο αυτές μελέτες είναι ότι η οιστραδιόλη επηρεάζει τη δράση μόνο χαμηλών δόσεων της γκρελίνης στην έκκριση της GH. Θα πρέπει όμως να αναφερθεί ότι στην πρώτη από τις παραπάνω μελέτες δεν γίνεται σύγκριση μεταξύ της χαμηλής και μιας μεγαλύτερης εφ' άπαξ χορηγούμενης δόσης γκρελίνης, στη δε δεύτερη μελέτη η σταδιακά αυξανόμενη δόση δεν αποτελεί φυσιολογικό μοντέλο μεταβολών της στάθμης της γκρελίνης στο αίμα, ενώ είναι πιθανόν να προκάλεσε απευαισθητοποίηση των υποδοχέων.

Επομένως, η ενδεχόμενη ενισχυτική δράση των οιστρογόνων στην επίδραση μεγαλύτερων δόσεων γκρελίνης στην έκκριση της GH δεν μπορεί να αποκλεισθεί. Πράγματι, μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η απάντηση της GH σε δόση της τάξεως του 1 µg/kg αυξήθηκε μετά από χορήγηση συνδυασμού οιστρογόνου και προγεστερινοειδούς επί 60 ημέρες (Villa et al., 2008). Επιπλέον, άλλες εργασίες, στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν εκκριτογόνοι ουσίες διαφορετικές από τη γκρελίνη, έδειξαν ενίσχυση από τα οιστρογόνα

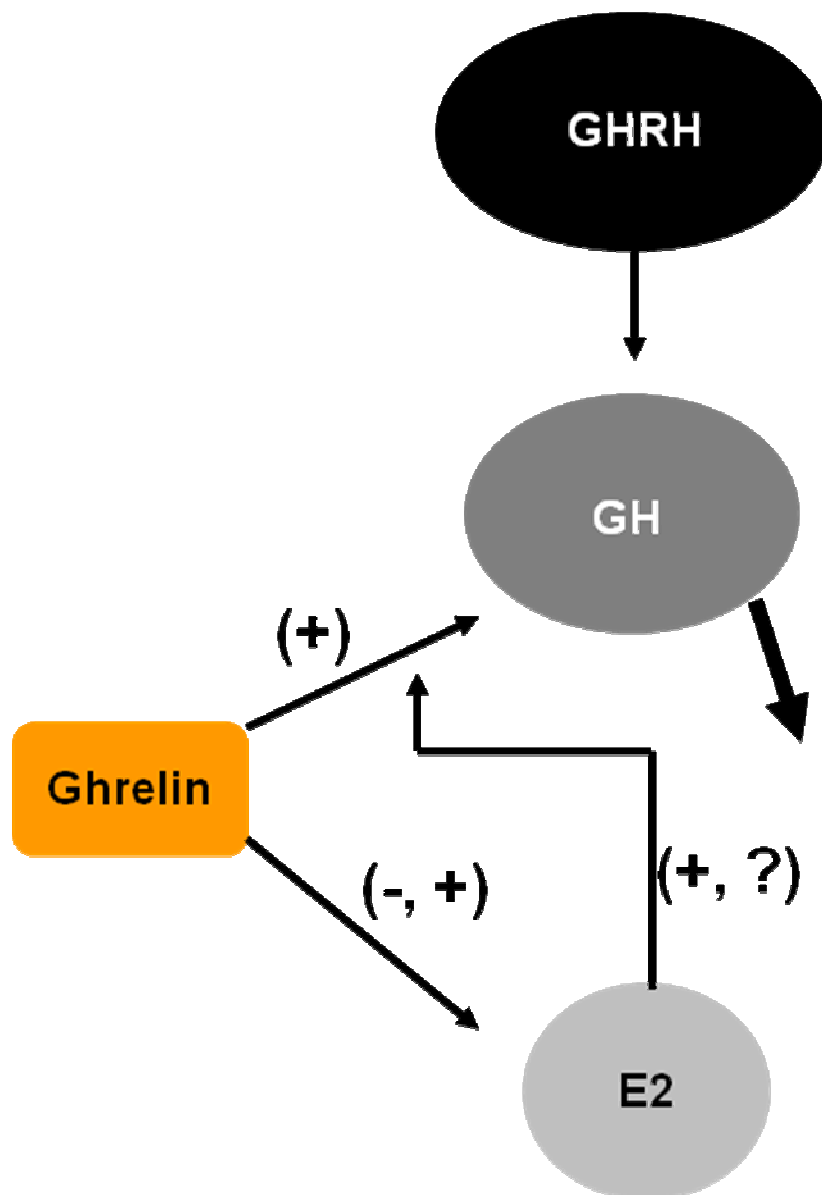
της επίδρασης ακόμη και μεγάλων δόσεων τους στην έκκριση της GH (Shah et al., 2000; Anderson et al., 2001).

Ολες οι παραπάνω μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί υπό συνθήκες μη αντιπροσωπευτικές της φυσιολογικής έκκρισης των ορμονών, αφού αφορούν σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και συνεπώς σε συνθήκες μακροχρόνιας έλλειψης οιστρογόνων. Είναι γνωστό ότι με τη γήρανση παρατηρείται σημαντική σταδιακή ελάττωση της έκκρισης της GH (Broglia et al., 2003; Chahal and Drake, 2007). Είναι συνεπώς πιθανόν η όποια επίδραση της εξωγενώς χορηγούμενης οιστραδιόλης στη διεγερτική δράση της γκρελίνης στην έκκριση της GH να αφορά στην αύξηση της έκκρισης αυτής ανεξαρτήτως της χορήγησης της γκρελίνης, ως διαδικασία αποκατάστασης της φυσιολογικής εικόνας. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν μελέτες, οι οποίες να εξετάζουν το ρόλο των ωοθηκικών ορμονών στην επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH υπό φυσιολογικές συνθήκες.

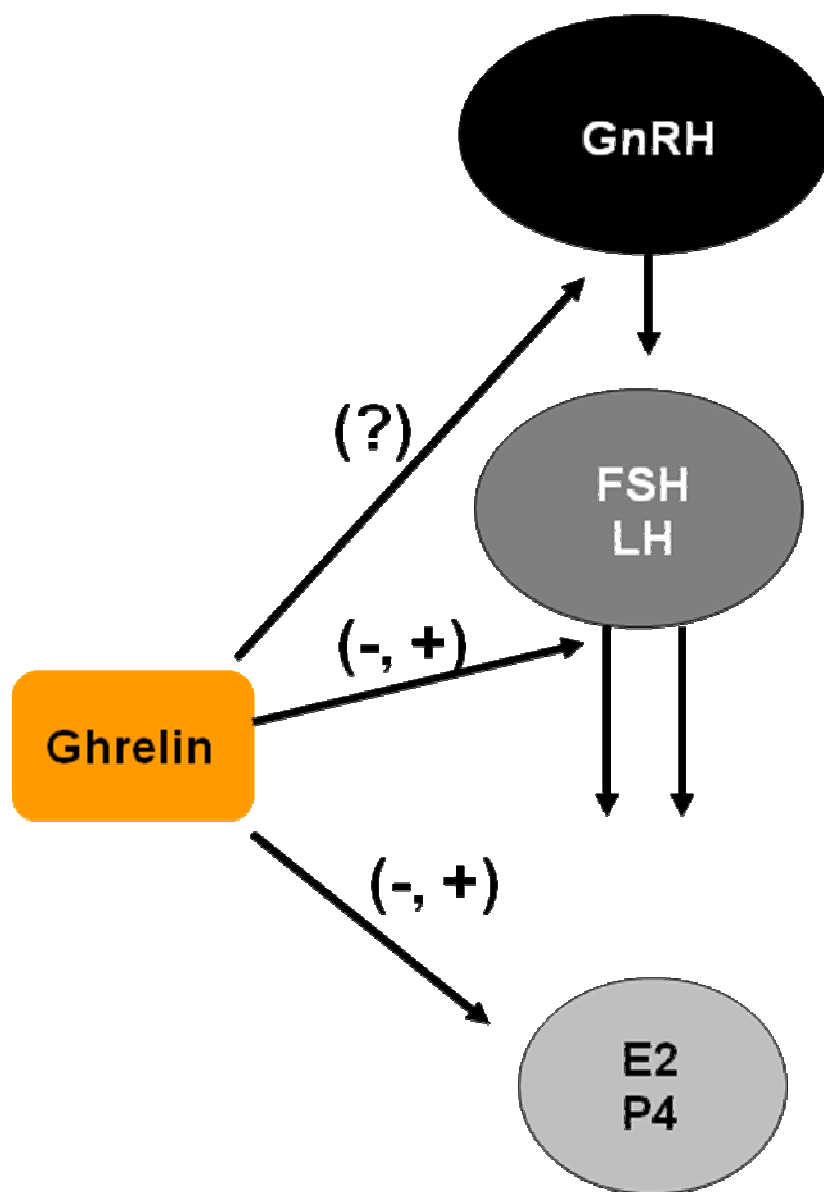
Εκτός από την GH, η γκρελίνη διεγείρει και την έκκριση της PRL (Arvat et al., 2001). Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν μελέτες, που να εξετάζουν το ρόλο των οιστρογόνων στην έκκριση της PRL υπό την επίδραση της γκρελίνης.

Αναπάντητα ερωτήματα

1. Δεν είναι γνωστό κατά πόσον η επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH επηρεάζεται από τα ωθητικά στεροειδή υπό φυσιολογικές συνθήκες (Σχήμα 3)
2. Δεν είναι επίσης γνωστό εάν η γκρελίνη ασκεί επίδραση στην έκκριση των γοναδοτροφινών ορμονών της υποφύσεως στις γυναίκες και πως αυτή επηρεάζεται από τις ωθητικές ορμόνες (Σχήμα 4).
3. Τέλος, δεν έχει μελετηθεί η σχέση των ορμονών της ωθήκης με την επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL καθώς και η σχέση της γκρελίνης με το σύστημα ρύθμισης της έκκρισης της PRL (ντοπαμίνη, TRH)



Σχήμα 3. Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH από τον πρόσθιο λοβό της υποφύσεως. Πιθανή δράση της γκρελίνης στην ωοθήκη, με αδιευκρίνιστη τη σχέση της με τα ωοθηκικά στεροειδή.



Σχήμα 4. Πιθανή επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών από τον πρόσθιο λοβό της υποφύσεως. Πιθανή δράση της στην ωοθήκη, με αδιευκρίνιστη τη σχέση της με τα ωοθηκικά στεροειδή.

Σκοπός της εργασίας

Μετά την παραπάνω αναφορά σε βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τη γκρελίνη και τις πιθανές σχέσεις της με τα οιστρογόνα, η παρούσα εργασία έγινε προκειμένου να δοθούν απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα, δηλαδή στο να μελετηθεί ο ρόλος της γκρελίνης στην έκκριση της PRL, της GH και των γοναδοτροφινών ορμονών σε φυσιολογικές γυναίκες.

Συγκεκριμένα, η εργασία αυτή είχε ως σκοπό να εξετάσει για πρώτη φορά τα εξής:

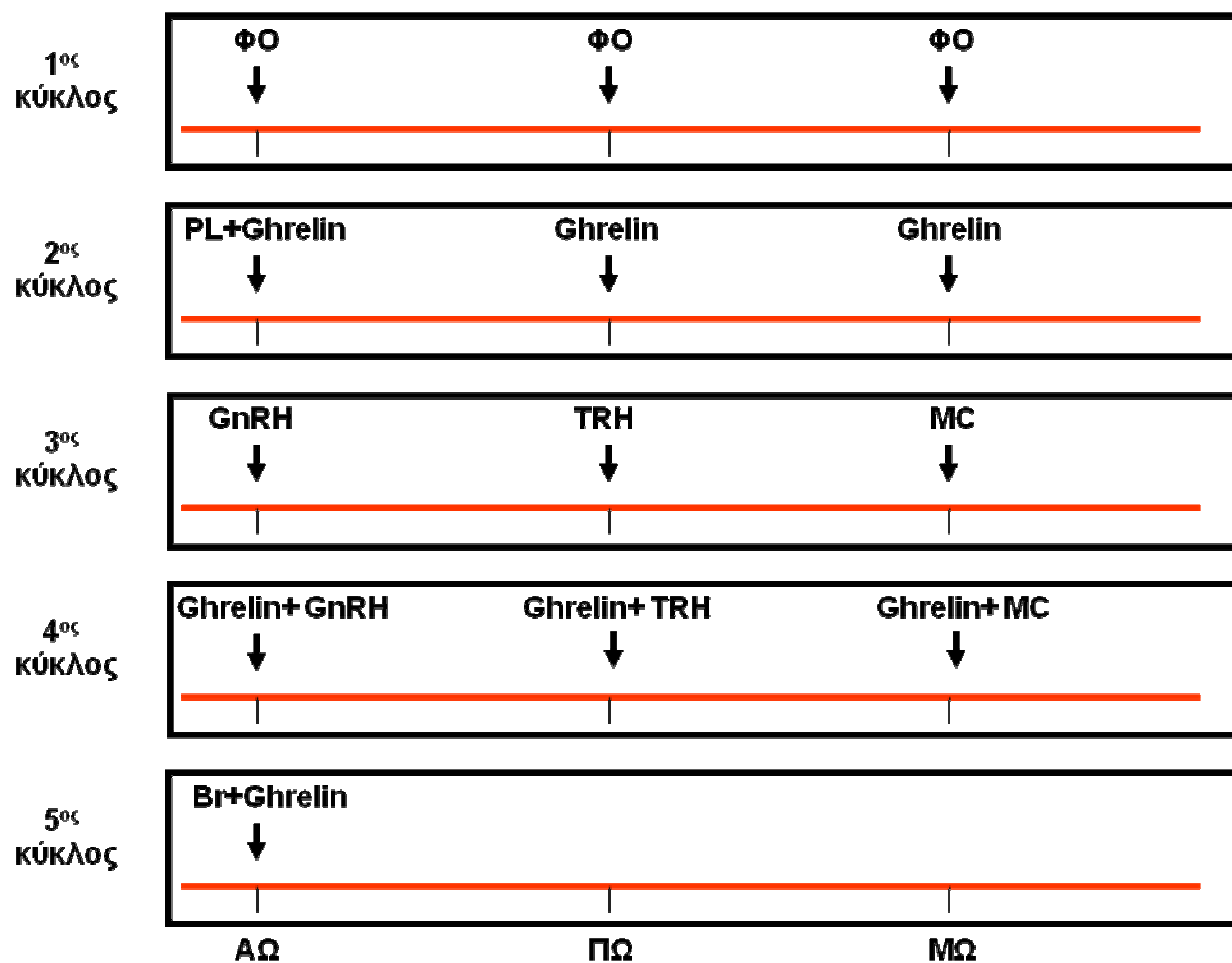
1. Τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των ορμονών GH και PRL από την υπόφυση σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου, δηλαδή με διαφορετική στάθμη οιστρογόνων.
2. Την επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των ορμονών FSH και LH από την υπόφυση σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου, δηλαδή με διαφορετική στάθμη οιστρογόνων και σε σχέση με τη χορήγηση GnRH.
3. Τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με την επίδραση της TRH.
4. Τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με την επίδραση της αντίντοπαμινεργικής ουσίας, μετοκλοπραμίδης.
5. Τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL μετά από προηγούμενη χορήγηση της ντοπαμινεργικής ουσίας, βρωμοκρυπτίνης.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η εργασία περιέλαβε 18 φυσιολογικές γυναίκες ηλικίας 20-32 ετών (μέση 24.9 έτη) με φυσιολογικό γεννητικό κύκλο. Οι γυναίκες επελέγησαν από τις προσερχόμενες στα Εξωτερικά Ιατρεία της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής μετά από κατάλληλη ενημέρωση και έγγραφη συγκατάθεση. Όλες οι γυναίκες ήταν υγιείς, δηλαδή δεν έπασχαν από συστηματικά ή άλλα νοσήματα ή διαταραχές της λειτουργίας των ενδοκρινών αδένων. Επίσης, οι γυναίκες δεν ελάμβαναν ορμονικά ή άλλα σκευάσματα κατά το τελευταίο εξάμηνο πριν την έναρξη της μελέτης. Η ωοθυλακιορρηξία επιβεβαιώθηκε σε όλες τις γυναίκες με τη μέτρηση της προγεστερόνης στο αίμα την 21^η ημέρα του κύκλου. Όλες οι γυναίκες είχαν φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος (BMI) με εύρος 16.5-23.5 kg/m² (μέση τιμή 19.8 kg/m²).

Οι 10 από τις 18 γυναίκες (Ομάδα Α) μελετήθηκαν σε πέντε διαφορετικούς κύκλους και υποβλήθηκαν η καθεμία σε 13 πειραματικές διαδικασίες, δηλαδή συνολικά διενεργήθηκαν 130 πειραματικές διαδικασίες, όπως θα περιγραφούν παρακάτω. Οι υπόλοιπες 8 γυναίκες (Ομάδα Β) μελετήθηκαν σε δύο διαφορετικούς κύκλους και υποβλήθηκαν η καθεμία σε 6 πειραματικές διαδικασίες, δηλαδή συνολικά σε 48 πειραματικές διαδικασίες. Έτσι, το σύνολο των πειραματικών διαδικασιών στις 18 γυναίκες ανήλθε σε 178. Ο χωρισμός των γυναικών στις δύο ομάδες έγινε με βάση τη χορηγηθείσα δόση της γκρελίνης (υψηλή και χαμηλή). Το πρωτόκολλο των πειραματικών διαδικασιών για την ομάδα Α αναγράφεται στον Πίνακα 1 και αναλύεται παρακάτω:



Πίνακας 1. Πρωτόκολλο πειραματικών διαδικασιών στην ομάδα Α. ΦΟ=φυσιολογικός ορός, PL=placebo (εικονικό φάρμακο), MC=μετοκλοπραμίδη, Br=βρωμοκρυπτίνη, ΑΩ=αρχόμενη ωοθυλακική φάση, ΠΩ=προχωρημένη ωοθυλακική φάση, ΜΩ=μέση ωχρινική φάση.

Ομάδα Α (Υψηλή δόση γκρελίνης)

1^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκε ενδοφλεβίως με τη μορφή οξείας έγχυσης φυσιολογικός ορός (2 ml) μέσω σύριγγας τρεις φορές στη διάρκεια του κύκλου, όπως περιγράφεται για τη γκρελίνη στο 2^ο κύκλο.

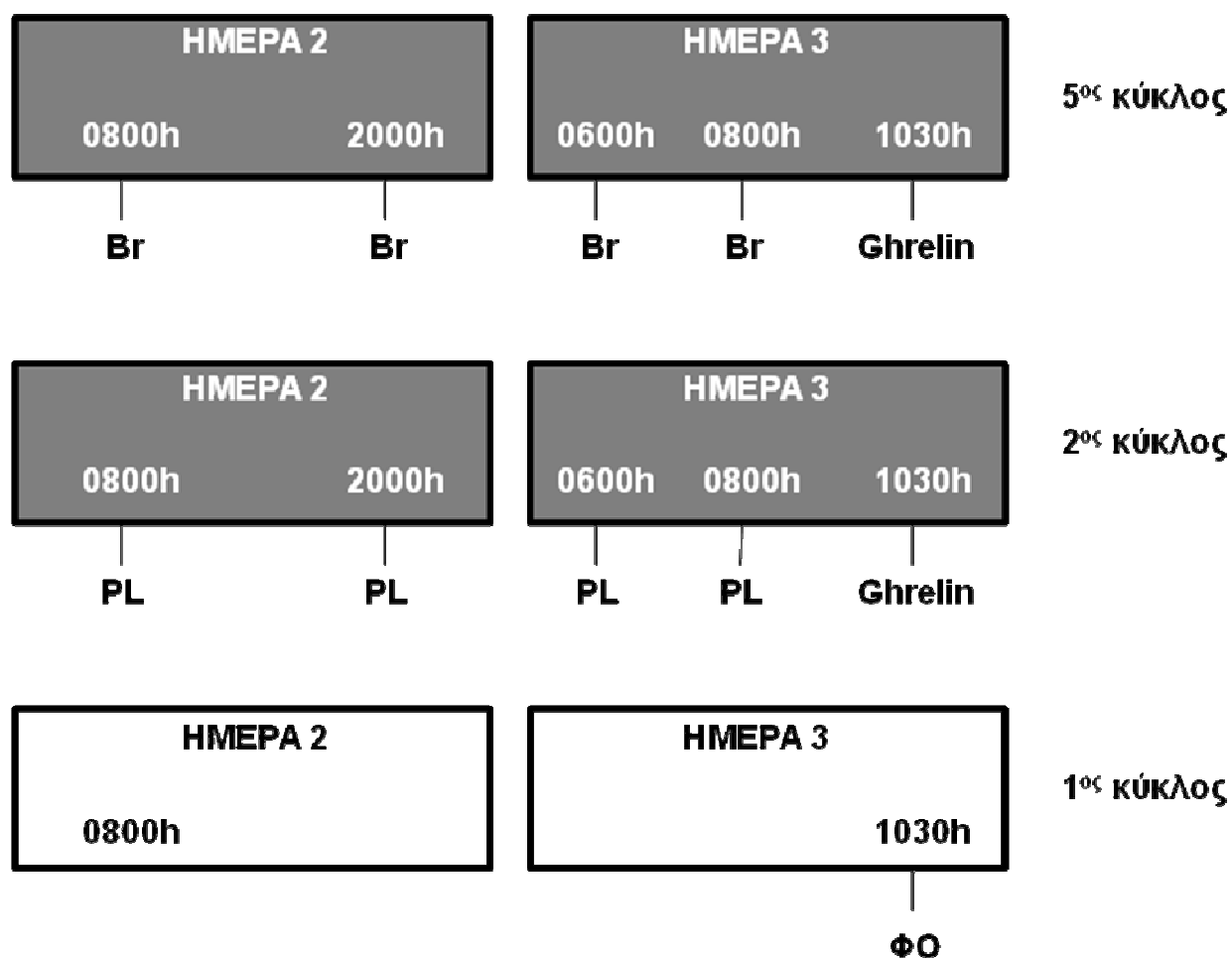
2^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκε γκρελίνη ενδοφλεβίως με τη μορφή οξείας έγχυσης μέσω σύριγγας (ένεση) σε δόση 1 µg/kg τρεις φορές στη διάρκεια του κύκλου. Συγκεκριμένα, η πρώτη ένεση έγινε την 3η ημέρα του κύκλου, η δεύτερη στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση και συγκεκριμένα όταν το ωοθυλάκιο είχε μέση διάμετρο με υπερηχογραφική μέτρηση 16-17 mm και η τρίτη στη μέση ωχρινική φάση, δηλαδή 7 ημέρες από την ωοθυλακιορρηξία. Η τελευταία διαπιστώθηκε με την υπερηχογραφική παρακολούθηση του ωοθυλακίου και τη μέτρηση της προγεστερόνης κατά την ημέρα της πειραματικής διαδικασίας. Η γκρελίνη αγοράσθηκε από την Εταιρεία Glinalfa (Ghrelin C-S-142, Glinalfa, Merck Biosciences AG, Laufelfingen, Switzerland) μετά από έγκριση, που δόθηκε από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ). Τη 2η ημέρα του 2^{ου} κύκλου (0800 h και 2000 h) καθώς και την 3η ημέρα (4.5 και 2.5 ώρες πριν από τη χορήγηση της γκρελίνης, δηλαδή στις 0600 h και 0800 h) στις γυναίκες χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο (placebo) (Πίνακας 2).

3^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκαν στις τρεις φάσεις του κύκλου κατά σειρά GnRH (Relefact LH-RH, 0.1 mg/ml, Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)

σε εφ' άπαξ δόση 100 µg ενδοφλεβίως την 3η ημέρα του κύκλου, TRH (TRH UCB, 0.2 mg/ml, UCB, Brussels, Belgium) σε εφ' άπαξ δόση 200 µg ενδοφλεβίως, όταν το ωοθυλάκιο είχε μέγεθος 16-17 mm με υπερηχογραφική μέτρηση και μετοκλοπραμίδη (Primperan amps, injectable solution 10 mg/2ml/amp, Snthelabo Lavipharm, Athens, Greece) σε εφ' άπαξ δόση 20 mg ενδοφλεβίως στη μέση ωχρινική φάση, δηλαδή 7 ημέρες από την ωοθυλακιορρηξία.

4^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκε, στις αντίστοιχες φάσεις των δύο προηγούμενων κύκλων, γκρελίνη και GnRH ενδοφλεβίως την 3η ημέρα, γκρελίνη και TRH ενδοφλεβίως την ημέρα, που το ωοθυλάκιο είχε μέγεθος 16-17 mm και γκρελίνη και μετοκλοπραμίδη στη μέση ωχρινική φάση. Οι δόσεις των ουσιών αυτών ήταν ίδιες με των δύο προηγούμενων κύκλων.

5^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκε μόνο γκρελίνη ενδοφλεβίως την 3η ημέρα του κύκλου, όπως και στους προηγούμενους τρεις κύκλους. Τη 2η ημέρα του κύκλου (0800 h και 2000 h) καθώς και την 3η ημέρα (4.5 και 2.5 ώρες πριν από τη χορήγηση της γκρελίνης, δηλαδή στις 0600 h και 0800 h) στις γυναίκες χορηγήθηκε βρωμοκρυπτίνη (Parlodel tablets 2.5 mg, Novartis, Athens, Greece) σε δόση 2.5 mg την κάθε φορά (συνολικά 10 mg) (Πίνακας 2).



Πίνακας 2. Πρωτόκολλο πειραματικών διαδικασιών στην ομάδα Α (πρωτόκολλο βρωμοκρυπτίνης). ΦΟ=φυσιολογικός ορός, PL=placebo (εικονικό φάρμακο), Br=βρωμοκρυπτίνη. Οι αριθμοί (π.χ. 0800h) υποδηλώνουν ώρα της ημέρας.

Δείγματα αίματος λήφθηκαν από όλες τις γυναίκες της ομάδας Α και σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες ως εξής: αμέσως πριν την ενδοφλέβια χορήγηση της υπό μελέτη ουσίας ή του φυσιολογικού ορού (χρόνος 0 min) καθώς και σε χρόνους -15, 15, 30, 45, 60, 75, 90 και 120 min. Στο 2^ο και στον 5^ο κύκλο, ένα επιπλέον δείγμα αίματος λήφθηκε πριν από τη χορήγηση της πρώτης δόσης του placebo ή της βρωμοκρυπτίνης (2η ημέρα του κύκλου). Επίσης,

αντίστοιχα ένα επιπλέον δείγμα αίματος λήφθηκε το πρωί της 2^{ης} ημέρας του 1^{ου} κύκλου. Σε όλα τα δείγματα αίματος των πειραματικών διαδικασιών, μετρήθηκαν οι ορμόνες PRL, LH, FSH, GH, οιστραδιόλη και προγεστερόνη.

Ομάδα Β (Χαμηλή δόση γκρελίνης)

Οι 8 γυναίκες μελετήθηκαν σε δύο κύκλους ως εξής (Πίνακας 3):

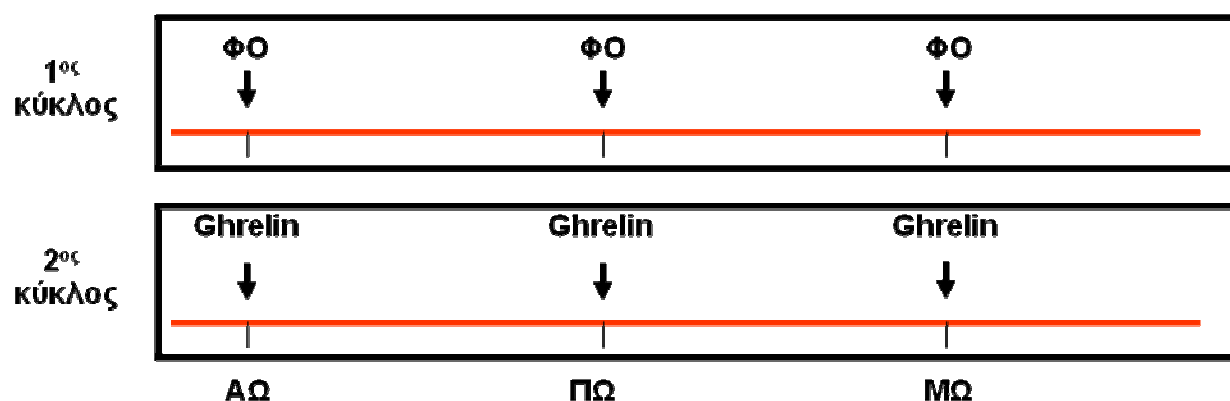
1^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός στις τρεις φάσεις του 1^{ου} κύκλου, όπως στην Ομάδα Α.

2^{ος} κύκλος: Στις γυναίκες χορηγήθηκε μία υπομέγιστη δόση γκρελίνης ίση με 0.3 µg/Kg στις τρεις φάσεις του κύκλου, δηλαδή αρχόμενη και προχωρημένη ωοθυλακική και μέση ωχρινική, όπως αυτές ορίσθηκαν στην Ομάδα Α.

Δείγματα αίματος λήφθηκαν από όλες τις γυναίκες της ομάδας Β σε σχέση με την ένεση της γκρελίνης ή του φυσιολογικού ορού, όπως περιγράφεται παραπάνω. Στα δείγματα αίματος μετρήθηκαν οι ορμόνες FSH, LH, PRL και GH. Οι βασικές τιμές της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης μετρήθηκαν επίσης στο χρόνο -15 min.

Όλα τα δείγματα αίματος και των δύο ομάδων φυγοκεντρήθηκαν στα 1000 g για 15 min και το πλάσμα και ο ορός διατηρήθηκαν στους -20° C μέχρι να γίνουν οι μετρήσεις των ορμονών. Όλες οι πειραματικές διαδικασίες έλαβαν χώρα το πρωί (μεταξύ 10.00 και 12.00 h) μετά από ολονύκτια νηστεία των

γυναικών. Πριν από την έναρξη κάθε πειραματικής διαδικασίας, οι γυναίκες κάθονταν σε σχεδόν ύπτια θέση, προκειμένου να ηρεμήσουν για 15 min. Στη συνέχεια, τοποθετούνταν ένας φλεβικός καθετήρας, συνήθως στη μεσοβασίλική φλέβα και το πρώτο δείγμα αίματος λαμβάνονταν μετά από 15 min (χρόνος -15 min). Μετά από κάθε λήψη αίματος, η διαβατότητα του καθετήρα διατηρούνταν με μικρή ποσότητα διαλύματος ηπαρίνης.



Πίνακας 3. Πρωτόκολλο πειραματικών διαδικασιών στην ομάδα Β. ΦΟ=φυσιολογικός ορός, ΑΩ=αρχόμενη ωοθυλακική φάση, ΠΩ=προχωρημένη ωοθυλακική φάση, ΜΩ=μέση ωχρινική φάση.

Η διάρκεια όλων των κύκλων και στις δύο ομάδες κυμαινόταν μεταξύ 27 και 30 ημερών, ενώ ωοθυλακιορρηξία διαπιστώθηκε σε όλους τους κύκλους, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

ΟΡΜΟΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Όλες οι μετρήσεις έγιναν εις διπλούν. Η ολική γκρελίνη μετρήθηκε στο πλάσμα με τη χρήση ραδιοανοσοβιολογικής μεθόδου (KIPMR90, BioSource Europe S.A., Nivelles, Belgium). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως pg/ml. Η μέτρηση της GH και της PRL στον ορό έγινε με ανοσοραδιομετρική μέθοδο (hGH-IRMA and PRL-IRMA αντίστοιχα, BioSource Europe S.A.). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ng/ml. Η μέτρηση των FSH και LH στον ορό του αίματος έγινε με τη χρήση ανοσοραδιομετρικών μεθόδων (FSH-IRMA και LH-IRMA αντίστοιχα, BioSource Europe S.A. Nivelles, Belgium). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mIU/ml. Η οιστραδιόλη και η προγεστερόνη μετρήθηκαν στον ορό με τη χρήση ραδιοανοσοβιολογικών μεθόδων (E2-RIA-CT και PROG-RIA-CT αντίστοιχα, BioSource Europe S.A.). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως pg/ml και ng/ml αντίστοιχα. Τα κατώτερα όρια μέτρησης (ευαισθησία της μεθόδου) για τις γκρελίνη, GH, PRL, FSH, LH, οιστραδιόλη και προγεστερόνη ήταν 40 pg/ml, 0.07 ng/ml, 0.35 ng/ml, 0.1 mIU/ml, 0.2 mIU/ml, 2 pg/ml και 0.05 ng/ml αντίστοιχα. Η διακύμανση μεταξύ διαφορετικών μετρήσεων και μέσα στην ίδια μέτρηση ήταν 7.3 και 5.0%, 6.7 και 0.7%, 4.5 και 3.3%, 2.4 και 1.1%, 3.4 και 1.4%, 6.2 και 4.9% και 6.5 και 3.3% αντίστοιχα.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι τιμές των ορμονών έδειξαν ομαλή κατανομή (one sample Kolmogorov-Smirnov test). Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με repeated measures one-way analysis of variance (ANOVA) και ANOVA κατά ένα παράγοντα, ακολουθούμενες από το Benferroni post hoc testing. Το α-επίπεδο 0.05 θεωρήθηκε ότι έδειχνε στατιστική σημαντικότητα. Όλες οι τιμές εκφράζονται ως mean \pm SEM. Το στατιστικό πακέτο, που χρησιμοποιήθηκε, ήταν το NCSS 2001 (Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, UT, USA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ομάδα Α

1. Μελέτη της διεγερτικής επίδρασης της γκρελίνης στην έκκριση των ορμονών GH και PRL από την υπόφυση σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου, δηλαδή με διαφορετική στάθμη οιστρογόνων.

Στη διερεύνηση του παραπάνω ερωτήματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τον 1^ο κύκλο (χορήγηση φυσιολογικού ορού) και το 2^ο κύκλο (χορήγηση γκρελίνης και στις τρεις φάσεις). Τα ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών στις τρεις φάσεις του 1^{ου} και του 2^{ου} κύκλου φαίνονται στον Πίνακα 4. Και στους δύο κύκλους, παρατηρήθηκαν διαφορές στις τιμές της οιστραδιόλης και συγκεκριμένα στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση οι τιμές ήταν σημαντικά μεγαλύτερες από ό,τι στην αρχή της ωοθυλακικής φάσης ($P < 0.05$). Το ίδιο παρατηρήθηκε στη μέση ωχρινική φάση σε σύγκριση με την αρχόμενη ωοθυλακική φάση ($P < 0.05$). Επίσης, οι τιμές της προγεστερόνης ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στη μέση ωχρινική από ό,τι στην ωοθυλακική φάση ($P < 0.001$). Οι τιμές της FSH ήταν σημαντικά μικρότερες στην ωχρινική παρά στην ωοθυλακική φάση, της δε LH σημαντικά μεγαλύτερες στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση παρά στις άλλες δύο φάσεις ($P < 0.05$). Οι διαφορές αυτές είναι συμβατές με τις αναμενόμενες ορμονικές μεταβολές στις διάφορες φάσεις του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, επιβεβαιώνοντας και την ωοθυλακιορρηξία.

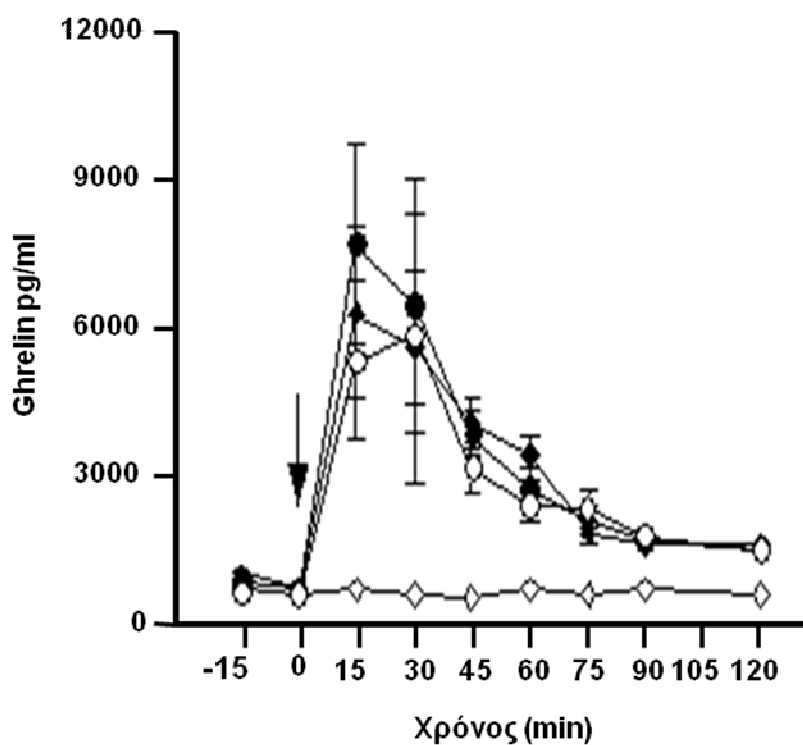
	1 ^{ος} κύκλος			2 ^{ος} κύκλος			3 ^{ος} κύκλος			4 ^{ος} κύκλος			5 ^{ος} κύκλος
	ΑΩ	ΠΩ	ΜΩ	ΑΩ	ΠΩ	ΜΩ	ΑΩ	ΠΩ	ΜΩ	ΑΩ	ΠΩ	ΜΩ	ΑΩ
FSH mIU/ ml	5.9 ± 0.3	4.6 ± 0.4	2.2 ± 0.2	5.6 ± 0.5	5.1 ± 0.6	2.9 ± 0.3	5.8 ± 0.5	5.1 ± 0.7	3.1 ± 0.4	5.5 ± 0.6	4.3 ± 0.4	2.6 ± 0.3	4.7 ± 0.3
LH mIU/ ml	3.0 ± 0.6	7.5 ± 1.1	3.1 ± 0.7	3.1 ± 0.3	7.9 ± 1.9	3.1 ± 0.6	3.9 ± 0.5	9.0 ± 2.2	3.6 ± 0.8	3.8 ± 0.4	6.7 ± 1.1	3.9 ± 0.2	3.5 ± 0.5
E2 pg/ml	42 ± 5.1	159 ± 22.1	115 ± 21.2	37 ± 4.3	173 ± 26.3	105 ± 28.1	41 ± 6.0	150 ± 25.1	132 ± 12.2	36 ± 4.6	153 ± 22.7	135 ± 19.4	50 ± 8.6
P4 ng/ml	1.9 ± 0.2	1.8 ± 0.4	12.2 ± 3.2	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.3	15.0 ± 2.5	1.8 ± 0.3	1.9 ± 0.3	18.8 ± 2.8	2.3 ± 0.4	2.1 ± 0.4	16.1 ± 1.9	2.2 ± 0.5
PRL ng/ml	8.4 ± 1.1	9.0 ± 1.0	11.2 ± 2.1	7.8 ± 1.5	7.9 ± 0.8	9.0 ± 1.3	5.3 ± 3.0	11.4 ± 2.0	14.6 ± 2.4	7.2 ± 0.1	9.9 ± 2.0	12.7 ± 1.5	1.7 ± 0.8
GH ng/ml	1.4 ± 0.6	1.8 ± 0.7	2.0 ± 0.8	1.2 ± 0.7	1.0 ± 0.5	1.7 ± 0.5	2.6 ± 1.2	4.1 ± 1.7	2.7 ± 1.1	2.0 ± 0.7	2.7 ± 1.1	5.9 ± 1.8	3.0 ± 1.4

Πίνακας 4. Ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών της ομάδας Α στους πέντε κύκλους μελέτης. ΑΩ=αρχόμενη ωοθυλακική φάση, ΠΩ=προχωρημένη ωοθυλακική φάση, ΜΩ=μέση ωχρινική φάση, E2=οιστραδιόλη, P4=προγεστερόνη.

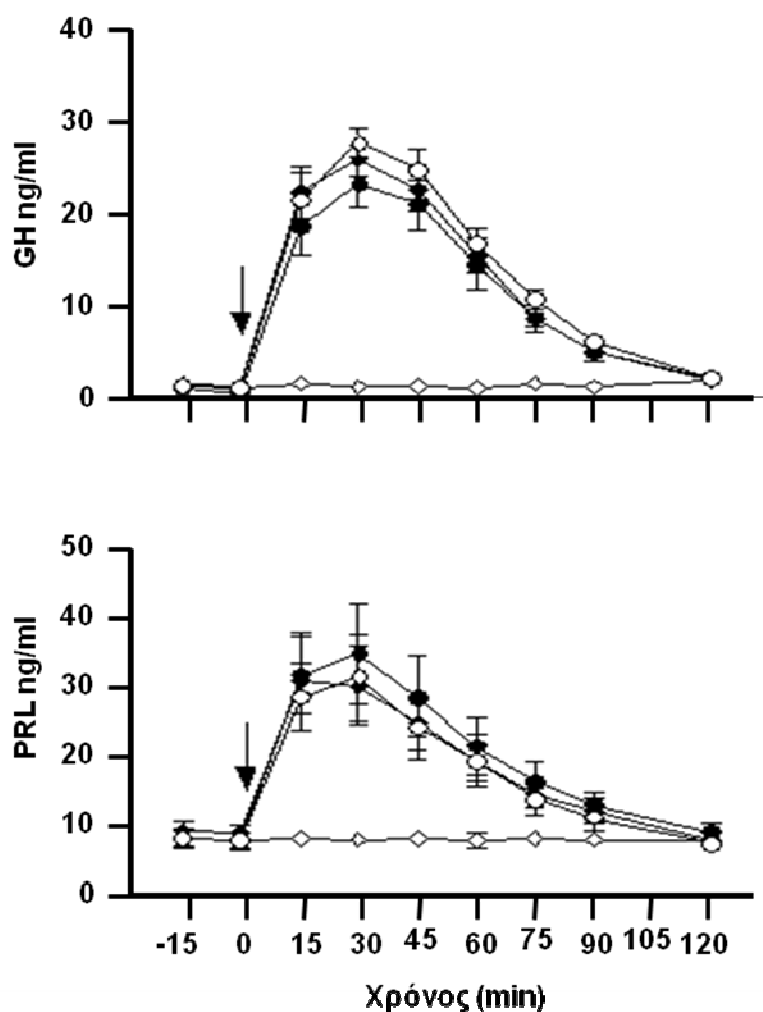
Στο Σχήμα 5, φαίνονται οι μεταβολές των τιμών της γκρελίνης στο πλάσμα πριν και μετά την ενδοφλέβια χορήγηση της ουσίας αυτής ή του φυσιολογικού ορού στις τρεις φάσεις του κύκλου. Μετά τη χορήγηση του φυσιολογικού ορού δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στις διάφορες ορμόνες και στις τρεις φάσεις του κύκλου. Για λόγους όμως απλοποίησης, στα σχήματα παρουσιάζονται μόνο οι τιμές στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση. Ετσι, οι τιμές της γκρελίνης

δεν μεταβλήθηκαν μετά την ένεση του φυσιολογικού ορού. Πριν τη χορήγηση του φυσιολογικού ορού ή της γκρελίνης, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις τιμές της γκρελίνης μεταξύ των τριών φάσεων του κύκλου (Σχήμα 5). Η χορήγηση γκρελίνης στις γυναίκες οδήγησε στη σημαντική και ταχεία αύξηση των τιμών της ορμόνης αυτής στο πλάσμα και στις τρεις φάσεις του κύκλου, με μέγιστες τιμές στα 15 και 30 min ($P < 0.001$). Οι τιμές στη συνέχεια εμφάνισαν σταδιακή μείωση μέχρι τα 120 min ($P < 0.001$), οπότε πλησίασαν τις βασικές τιμές πριν την ένεση της ουσίας. Σε όλα τα χρονικά σημεία μέτρησης της γκρελίνης μετά τη χορήγηση της, οι τιμές της ήταν σημαντικά υψηλότερες από τις τιμές μετά τη χορήγηση του φυσιολογικού ορού ($P < 0.001$, Σχήμα 5).

Στο Σχήμα 6, φαίνονται οι μεταβολές της GH και της PRL πριν και μετά τη χορήγηση φυσιολογικού ορού ή γκρελίνης. Οι βασικές τιμές της GH και της PRL δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των τριών φάσεων του κύκλου. Η χορήγηση φυσιολογικού ορού δεν είχε καμμία επίδραση στην έκκριση των δύο αυτών ορμονών. Αντιθέτως, η χορήγηση της γκρελίνης, προκάλεσε μία ταχεία και σημαντική αύξηση των επιπέδων της GH, με μέγιστη τιμή στα 30 min, μετά την οποία οι τιμές μειώθηκαν σταδιακά και επανήλθαν στη βασικό επίπεδο στα 120 min ($P < 0.001$). Οι μεταβολές ήταν παρόμοιες και στις τρεις φάσεις του κύκλου, χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ αυτών σε όλα τα χρονικά σημεία (Σχήμα 6). Οι τιμές της PRL αυξήθηκαν επίσης σημαντικά μετά τη χορήγηση της γκρελίνης και στις τρεις φάσεις του κύκλου ($P < 0.001$). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις τιμές της PRL μεταξύ των τριών φάσεων του κύκλου.



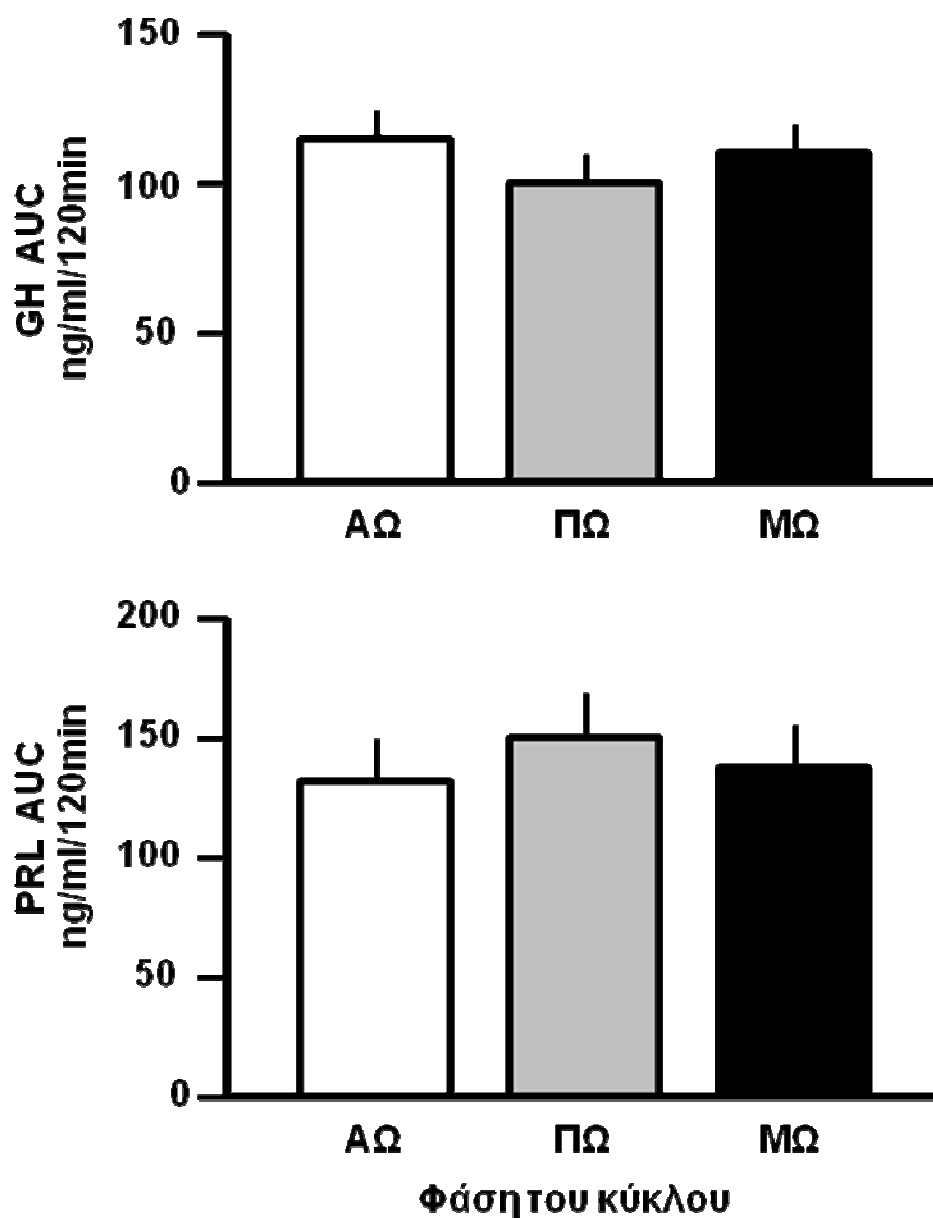
Σχήμα 5. Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα των γυναικών της ομάδα Α πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (1 μg/kg) (2^{ος} κύκλος) κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση.



Σχήμα 6. Τιμές της GH και της PRL στον ορό των γυναικών της ομάδας A πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) ($1^{\text{ος}}$ κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (1 $\mu\text{g/kg}$) ($2^{\text{ος}}$ κύκλος) κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση.

Στο Σχήμα 7, φαίνεται η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) των μεταβολών της GH και της PRL στις τρεις φάσεις του κύκλου. Σε ό,τι αφορά στη GH, δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών φάσεων (114.1 ± 9.2 , 96.2 ± 12.3 και 106.3 ± 9.7 ng/ml/120min αντίστοιχα). Το ίδιο

βρέθηκε και για την PRL (140.0 ± 24.7 , 157.5 ± 26.7 και 144.6 ± 22.8 ng/ml/120min αντίστοιχα).

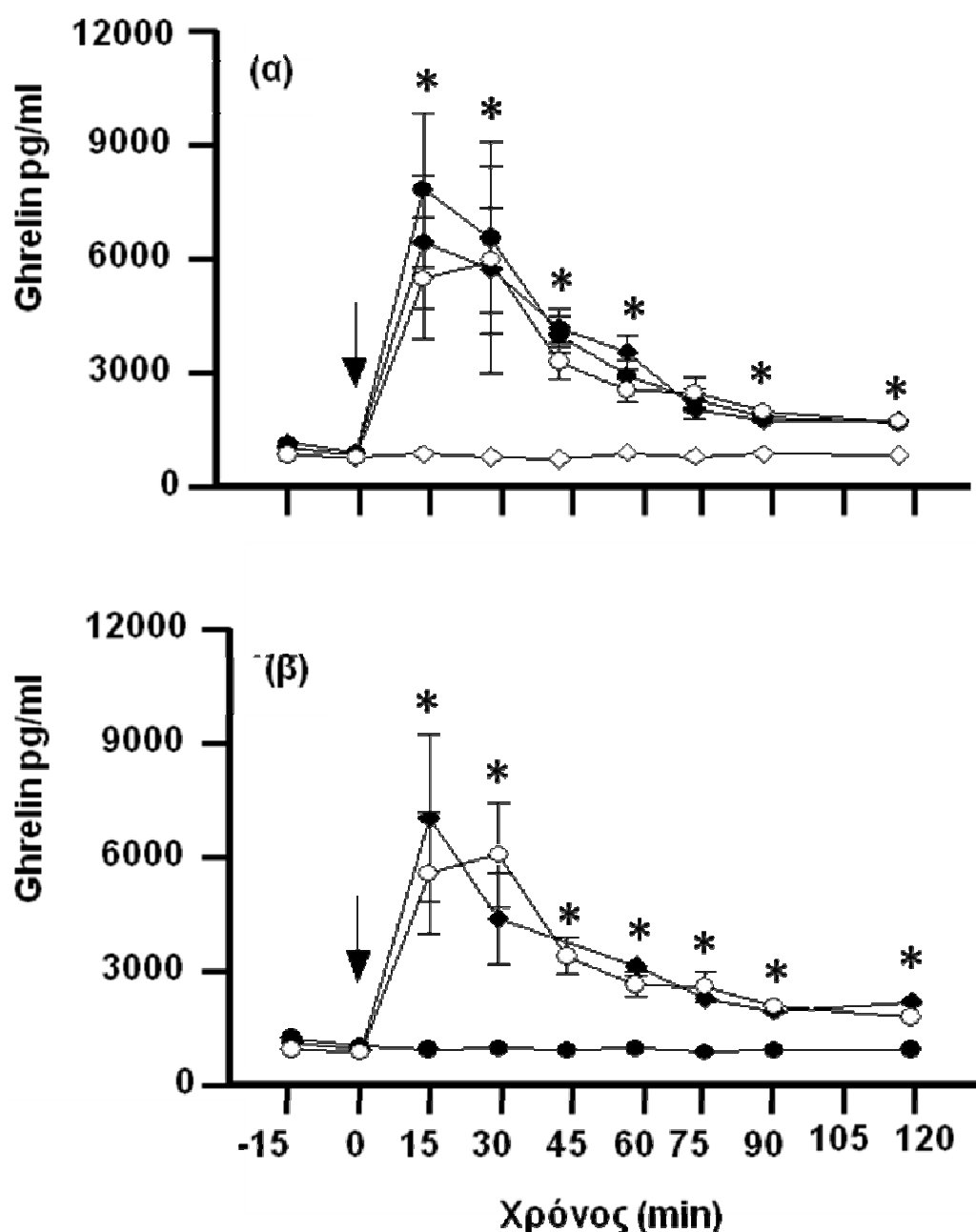


Σχήμα 7. Η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) των μεταβολών της GH και της PRL μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (1 μ g/kg) στις γυναίκες της ομάδας A κατά την αρχόμενη ωοθυλακική (AΩ), προχωρημένη ωοθυλακική (ΠΩ) και μέση ωχρινική φάση (ΜΩ, 2^{ος} κύκλος).

2. Μελέτη της επίδρασης της γκρελίνης στην έκκριση των ορμονών FSH και LH από την υπόφυση σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου, δηλαδή με διαφορετική στάθμη οιστρογόνων και σε σχέση με τη χορήγηση GnRH.

Στη διερεύνηση του παραπάνω ερωτήματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τον 1^ο κύκλο (χορήγηση φυσιολογικού ορού), 2^ο κύκλο (τρεις φάσεις – χορήγηση γκρελίνης), 3^ο κύκλο (αρχόμενη ωοθυλακική φάση – χορήγηση GnRH) και 4^ο κύκλο (αρχόμενη ωοθυλακική φάση – χορήγηση γκρελίνης και GnRH). Τα ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών στους παραπάνω κύκλους φαίνονται στον Πίνακα 4.

Το Σχήμα 8α δείχνει τις μεταβολές των τιμών της γκρελίνης στο πλάσμα μετά τη χορήγηση της ουσίας αυτής ή του φυσιολογικού ορού στις τρεις φάσεις του κύκλου, όπως περιγράφηκαν στο Σχήμα 5. Στο Σχήμα 8β, φαίνονται οι μεταβολές των τιμών της γκρελίνης στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση μετά τη χορήγηση γκρελίνης (2^{ος} κύκλος), GnRH (3^{ος} κύκλος) ή γκρελίνης και GnRH (4^{ος} κύκλος). Είναι φανερό ότι η στάθμη της γκρελίνης στο πλάσμα αυξήθηκε σημαντικά στο 2^ο κύκλο και στον 4^ο κύκλο, δηλαδή μετά την ενδοφλέβια χορήγηση της γκρελίνης, με μέγιστες τιμές στα 15 και 30 min. Αντιθέτως, η στάθμη της γκρελίνης δεν μεταβλήθηκε σημαντικά μετά από τη χορήγηση της GnRH.



Σχήμα 8. (α) Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα των γυναικών της ομάδας Α πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (1 μg/kg) (2^{ος} κύκλος) κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση

(β) Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα κατά την αρχόμενη ωοθυλακική φάση του (○) 2^{ου} κύκλου (γκρελίνη), (●) 3^{ου} κύκλου (GnRH) και (◆) 4^{ου} κύκλου (γκρελίνη+GnRH) στις γυναίκες της ομάδας Α.

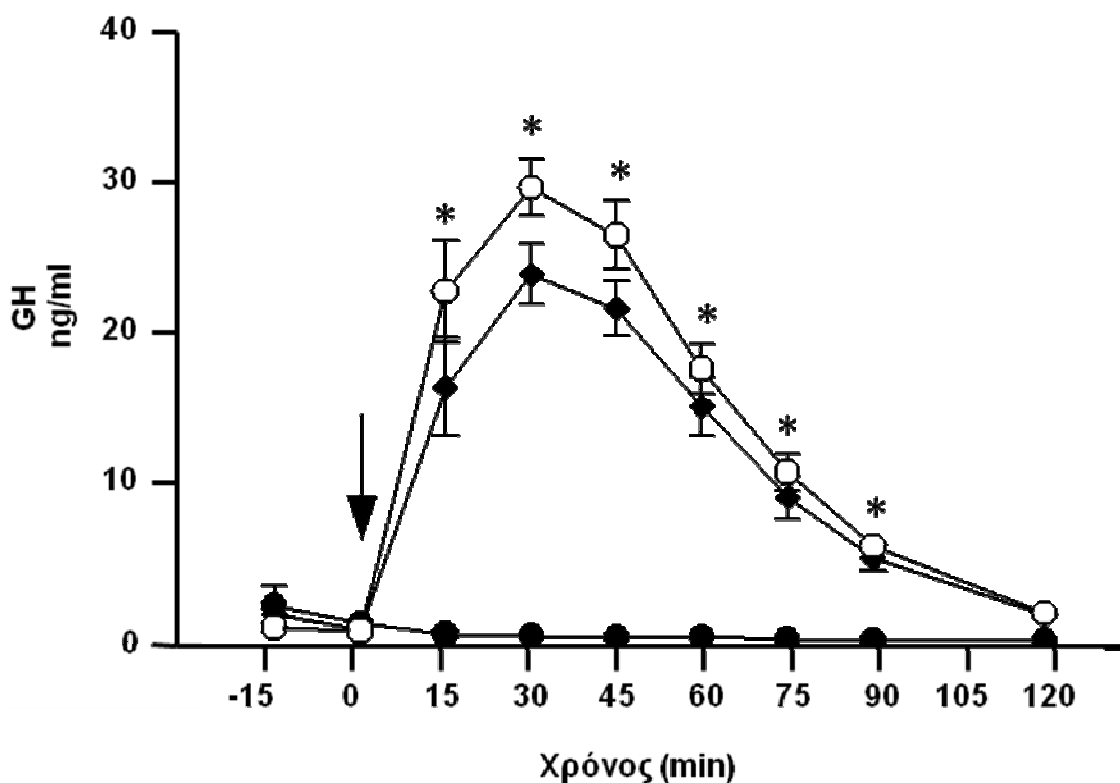
(α) * P<0.001, διαφορά από τον 1^ο κύκλο

(β) * P<0.001, διαφορά από τον 3^ο κύκλο.

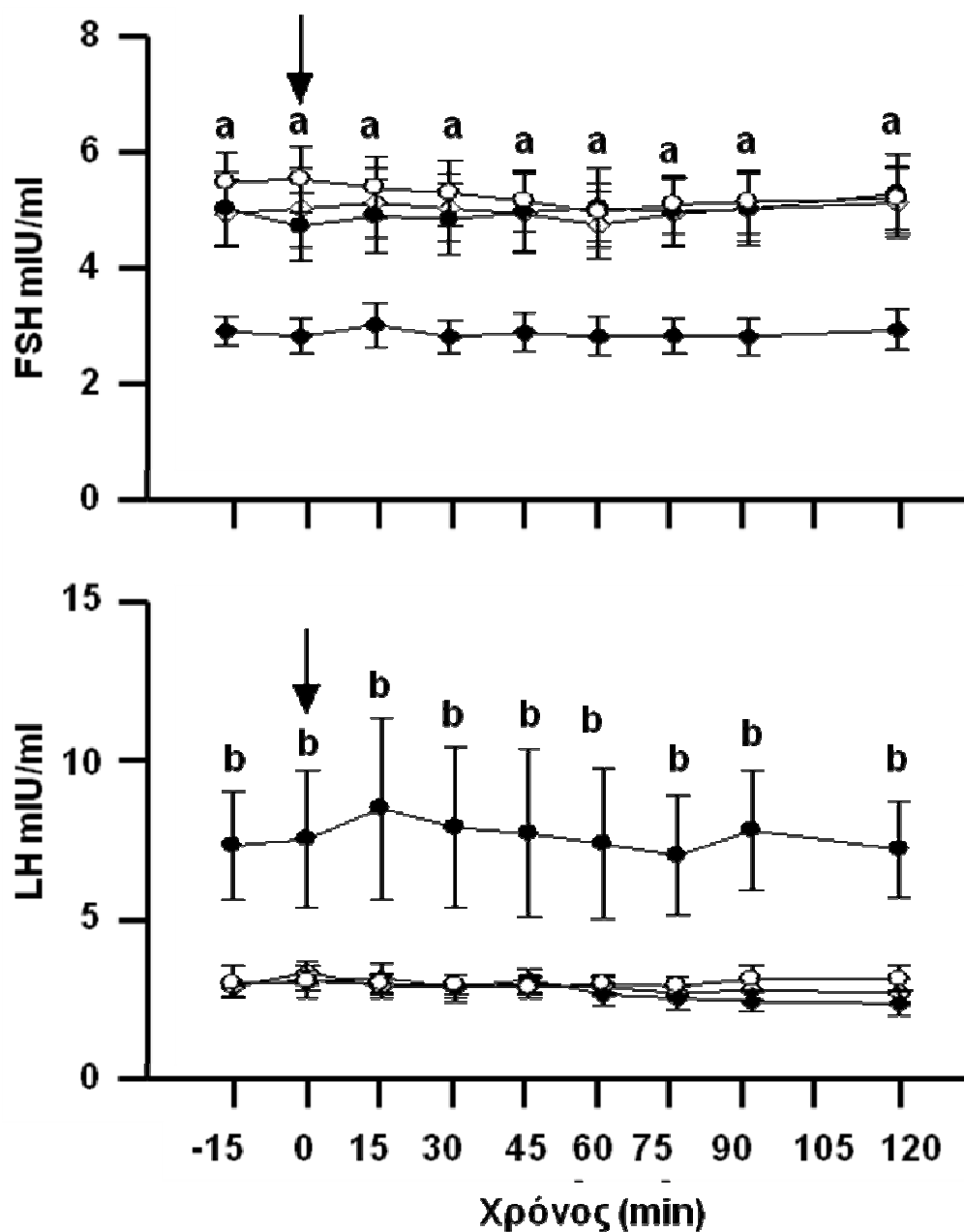
Η ενδοφλέβια χορήγηση της γκρελίνης στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση του 2^{ου} και του 4^{ου} κύκλου προκάλεσε σημαντική αύξηση των επιπέδων της GH ($P<0.001$), με μέγιστη τιμή στα 30 min και σταδιακή μείωση στη συνέχεια (Σχήμα 9). Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της GH μεταξύ των δύο αυτών κύκλων. Στον 3^ο κύκλο, η χορήγηση GnRH δεν επηρέασε τη στάθμη της GH, η οποία παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Από το χρονικό σημείο των 15 min μέχρι το σημείο των 90 min, οι τιμές της GH στο 2^ο και 4^ο κύκλο ήταν σημαντικά υψηλότερες από ό,τι στον 3^ο κύκλο ($P<0.001$). Η χορήγηση φυσιολογικού ορού δεν είχε καμία επίδραση στην έκκριση της GH (τα δεδομένα δεν φαίνονται).

Τα Σχήματα 10 και 11 δείχνουν τις τιμές των FSH, LH (Σχήμα 10) και οιστραδιόλης και προγεστερόνης (Σχήμα 11) πριν και μετά τη χορήγηση φυσιολογικού ορού (αρχόμενη ωοθυλακική φάση 1^{ου} κύκλου) ή γκρελίνης (αρχόμενη και προχωρημένη ωοθυλακική φάση και μέση ωχρινική φάση 2^{ου} κύκλου). Όπως προκύπτει, σε καμία από τις τρεις φάσεις η χορήγηση της γκρελίνης δεν επηρέασε τα επίπεδα των ορμονών αυτών, οι οποίες παρέμειναν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Όπως ήταν αναμενόμενο, τα επίπεδα της FSH στον ορό ήταν σημαντικά χαμηλότερα στη μέση ωχρινική φάση παρά στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση ($P<0.05$), τα δε επίπεδα της LH ήταν σημαντικά υψηλότερα στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση παρά στην αρχόμενη ωοθυλακική και στη μέση ωχρινική φάση σε όλα τα χρονικά σημεία ($P<0.05$, Σχήμα 10). Επίσης, σημαντικές διαφορές υπήρχαν ως προς την οιστραδιόλη μεταξύ των τριών φάσεων του κύκλου ($P<0.05$). Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της οιστραδιόλης

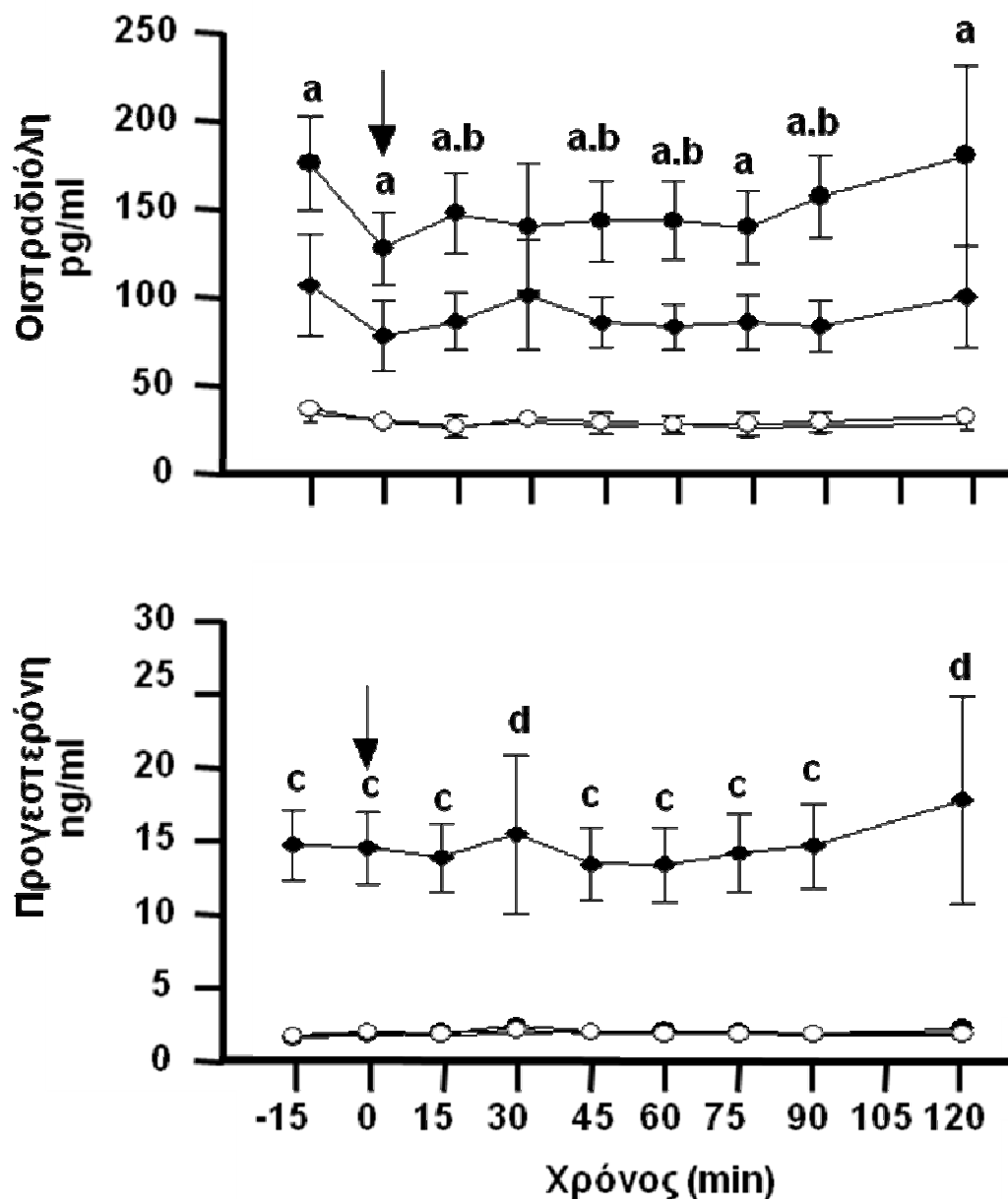
ήταν σημαντικά υψηλότερα στην προχωρημένη παρά στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση σε όλα τα χρονικά σημεία ($P<0.05$) και στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση σε σύγκριση με τη μέση ωχρινική φάση στα σημεία 15, 45, 60 και 90 min ($P<0.05$, Σχήμα 11). Οι τιμές της προγεστερόνης ήταν σημαντικά υψηλότερες στη μέση ωχρινική παρά στην ωοθυλακική φάση ($P<0.001$, Σχήμα 11).



Σχήμα 9. Τιμές της GH στον ορό κατά την αρχόμενη ωοθυλακική φάση του (○) 2^{ου} κύκλου (γκρελίνη), (●) 3^{ου} κύκλου (GnRH) και (◆) 4^{ου} κύκλου (γκρελίνη+GnRH) στις γυναίκες της ομάδας Α. * $P<0.001$, διαφορά από τον 3^ο κύκλο.

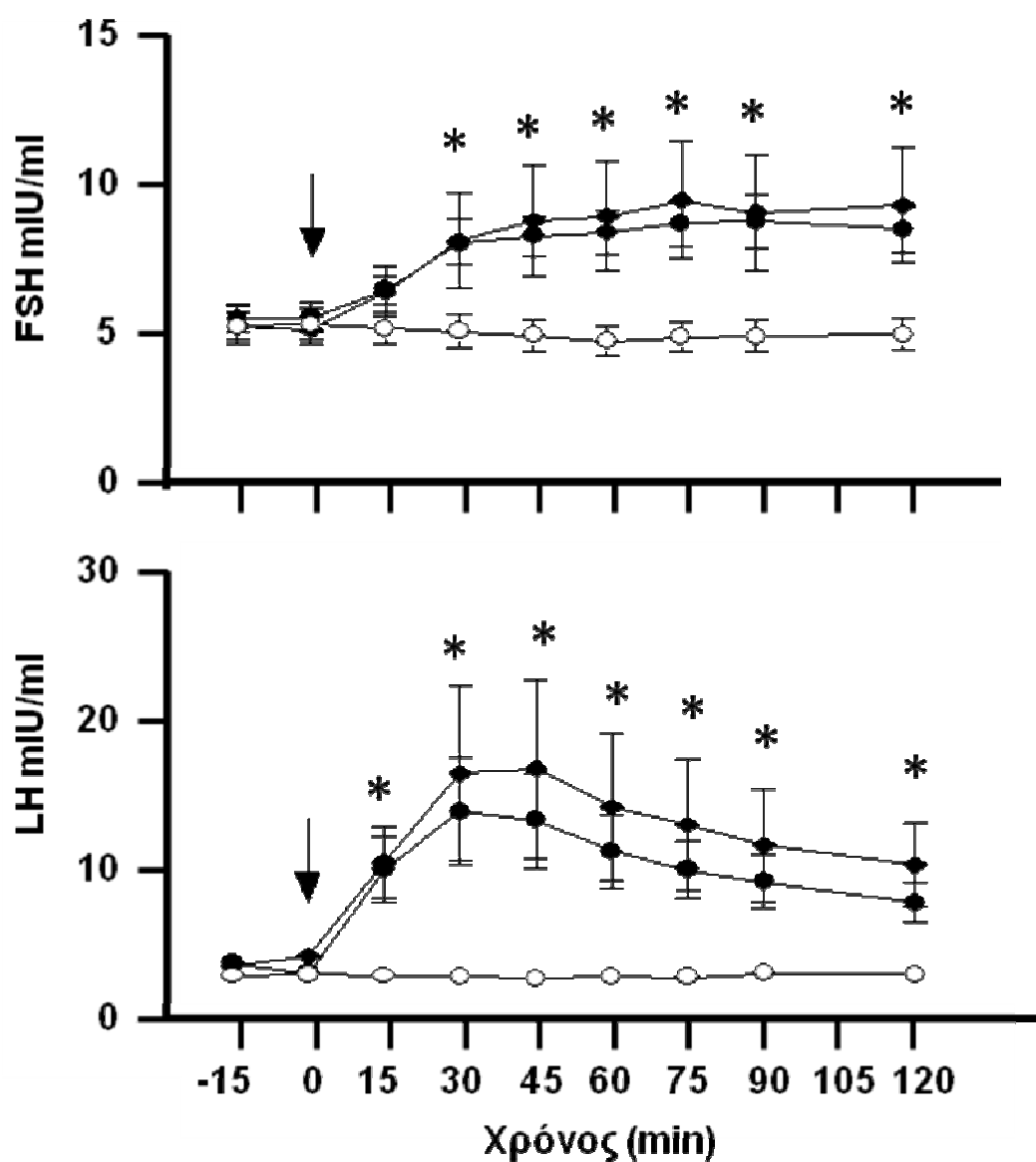


Σχήμα 10. Τιμές της FSH και της LH στον ορό των γυναικών της ομάδας Α πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (1 μg/kg) (2^{ος} κύκλος) κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση. (a) $P < 0.05$, διαφορά από μέση ωχρινική φάση. (b) $P < 0.05$, διαφορά μεταξύ προχωρημένης ωοθυλακικής και των υπολοίπων δύο φάσεων.

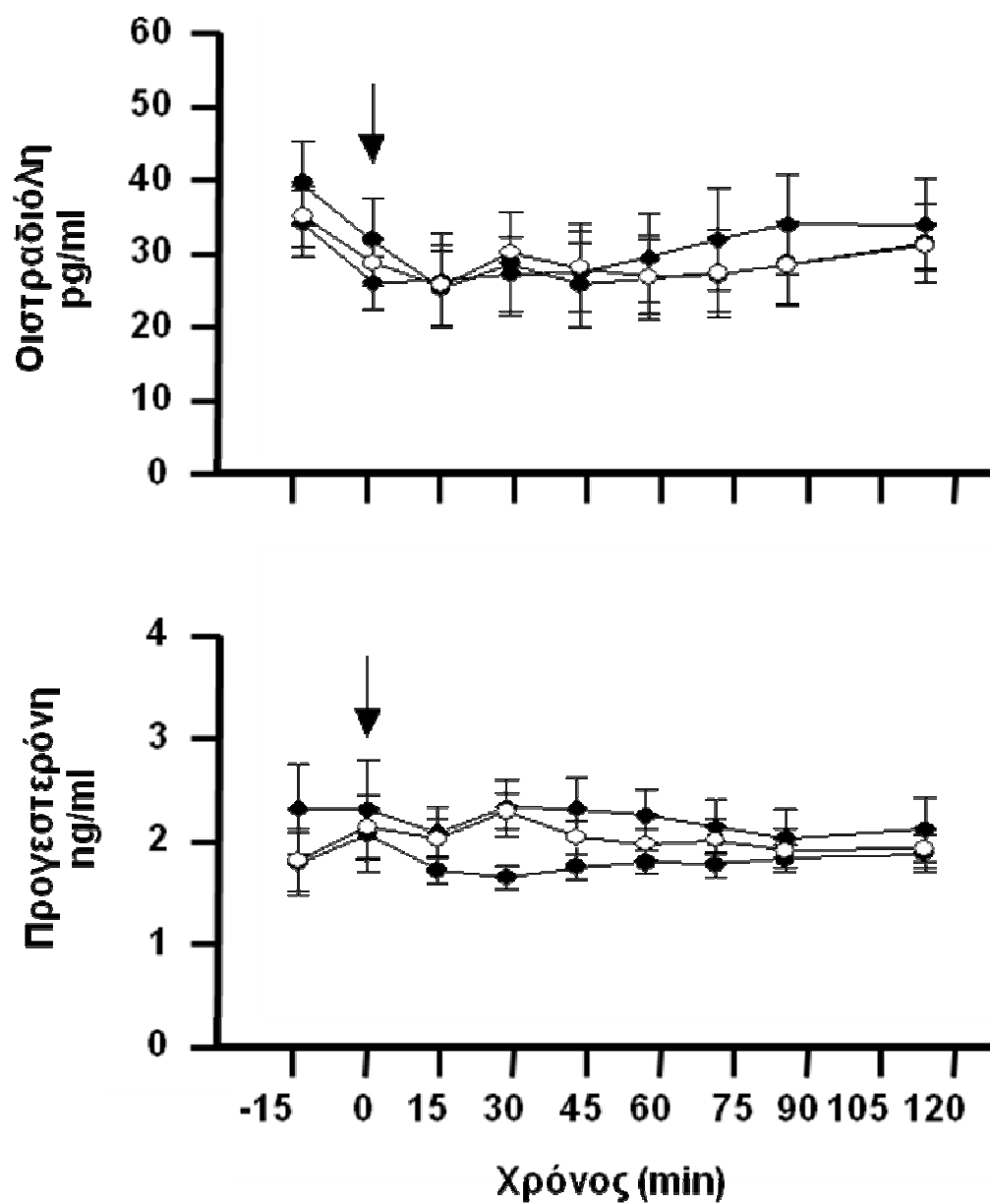


Σχήμα 11. Τιμές της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στον ορό των γυναικών της ομάδας Α πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (1 μg/kg) (2^{ος} κύκλος) κατά την (ο) αρχόμενη ωοθυλακική, (•) προχωρημένη ωοθυλακική και (♦) μέση ωχρινική φάση. (a) $P < 0.05$, διαφορά μεταξύ αρχόμενης και προχωρημένης ωοθυλακικής φάσης. (b) $P < 0.05$, διαφορά μεταξύ προχωρημένης ωοθυλακικής και μέσης ωχρινικής φάσης. (c) $P < 0.001$, (d) $P < 0.05$, διαφορά μεταξύ μέσης ωχρινικής και των υπολοίπων δύο φάσεων.

Οι τιμές των FSH και LH αυξήθηκαν σημαντικά μετά την ενδοφλέβια χορήγηση της GnRH (αρχόμενη ωοθυλακική φάση – 3^{ος} και 4^{ος} κύκλος) με μέγιστη τιμή στα 30 min ($P < 0.001$, Σχήμα 12). Στη συνέχεια, τα επίπεδα της FSH παρέμειναν σταθερά, τα δε της LH μειώθηκαν σταδιακά ($P < 0.001$). Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις τιμές των δύο αυτών γοναδοτροφινών μεταξύ του 3^{ου} και του 4^{ου} κύκλου σε όλα τα χρονικά σημεία. Μετά την ένεση της GnRH, τα επίπεδα των FSH και LH στον 3^ο και 4^ο κύκλο ήταν σημαντικά υψηλότερα από ό,τι στο 2^ο κύκλο από τα χρονικά σημεία των 30 min και 15 min αντίστοιχα μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας ($P < 0.05$, Σχήμα 12). Ούτε η χορήγηση GnRH ούτε ο συνδυασμός γκρελίνης με GnRH είχαν κάποια επίδραση στα επίπεδα της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης (Σχήμα 13).



Σχήμα 12. Τιμές της FSH και της LH στον ορό των γυναικών της ομάδας Α κατά την αρχόμενη ωοθυλακική φάση του (ο) 2^{ου} κύκλου (γκρελίνη), (•) 3^{ου} κύκλου (GnRH) και (♦) 4^{ου} κύκλου (γκρελίνη+GnRH). * P<0.05, διαφορά από 2^ο κύκλο

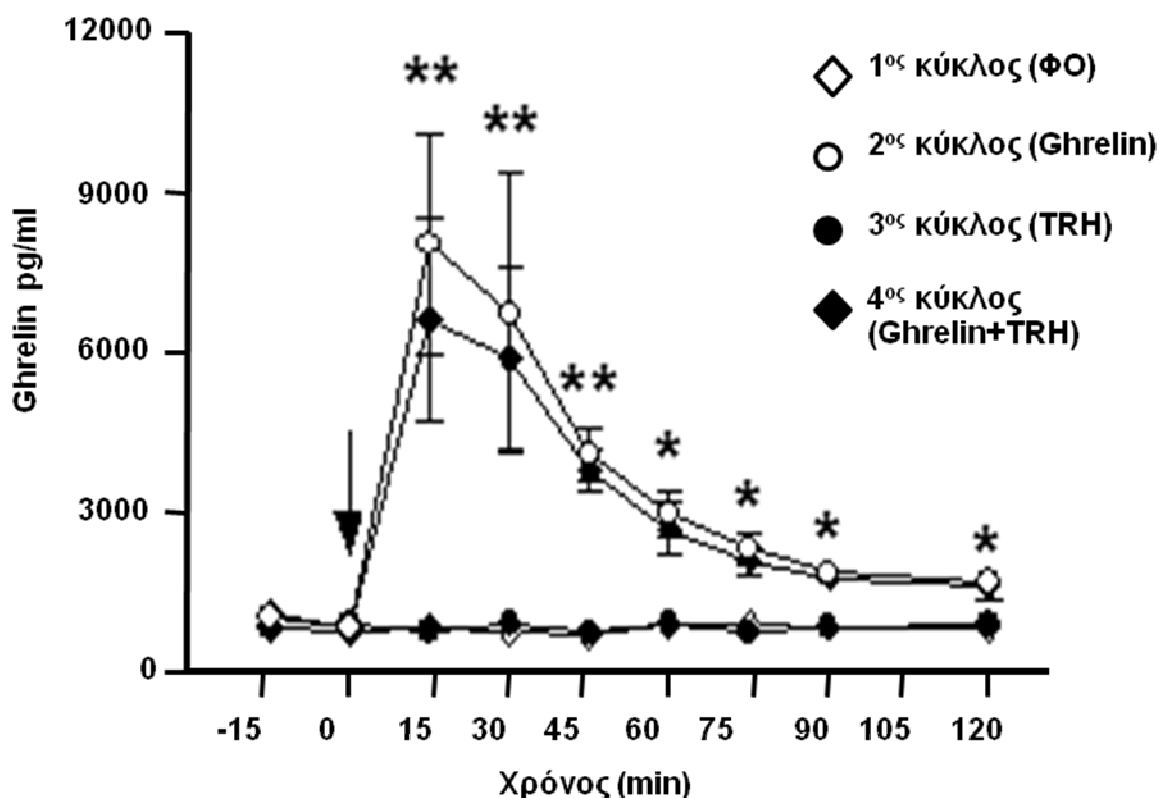


Σχήμα 13. Τιμές της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στον ορό κατά την αρχόμενη ωοθυλακική φάση του (ο) 2^{ου} κύκλου (γκρελίνη), (•) 3^{ου} κύκλου (GnRH) και (♦) 4^{ου} κύκλου (γκρελίνη+GnRH) στις γυναίκες της ομάδας Α.

3. Μελέτη της διεγερτικής επίδρασης της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με την επίδραση της TRH.

Στη διερεύνηση του παραπάνω ερωτήματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τον 1^ο, 2^ο, 3^ο και 4^ο κύκλο κατά την προχωρημένη ωοθυλακική φάση. Τα ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών στη φάση αυτή του κύκλου φαίνονται στον Πίνακα 4. Το μέγεθος του επικρατούντος ωοθυλακίου την ημέρα της πειραματικής διαδικασίας, όπως αυτό υπολογίσθηκε υπερηχογραφικά, ήταν παρόμοιο στους τέσσερις κύκλους (16.6 ± 0.05 , 16.6 ± 0.06 , 16.5 ± 0.04 και 16.5 ± 0.06 mm αντίστοιχα).

Στο Σχήμα 14, φαίνονται οι μεταβολές των τιμών της γκρελίνης στο πλάσμα μετά την εξωγενή χορήγηση της. Στο 2^ο και 4^ο κύκλο, η χορήγηση γκρελίνης οδήγησε σε σημαντική αύξηση της ορμόνης αυτής με μέγιστες τιμές στα 15 και 30 min ($P < 0.001$). Κατόπιν, τα επίπεδα της γκρελίνης ελαττώθηκαν σταδιακά ($P < 0.001$), πλησιάζοντας τα πριν την ένεση επίπεδα στα 120 min. Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της γκρελίνης μεταξύ του 2^{ου} και του 4^{ου} κύκλου σε όλα τα χρονικά σημεία. Μετά τη χορήγηση φυσιολογικού ορού (1^{ος} κύκλος) ή TRH (3^{ος} κύκλος), οι τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα δεν μεταβλήθηκαν, αλλά παρέμειναν σταθερές σε όλη την πειραματική διαδικασία. Οι τιμές της γκρελίνης από το χρονικό σημείο 15 min μέχρι το χρονικό σημείο 120 min ήταν σημαντικά υψηλότερες στο 2^ο και 4^ο κύκλο παρά στον 1^ο και 3^ο κύκλο (Σχήμα 14).

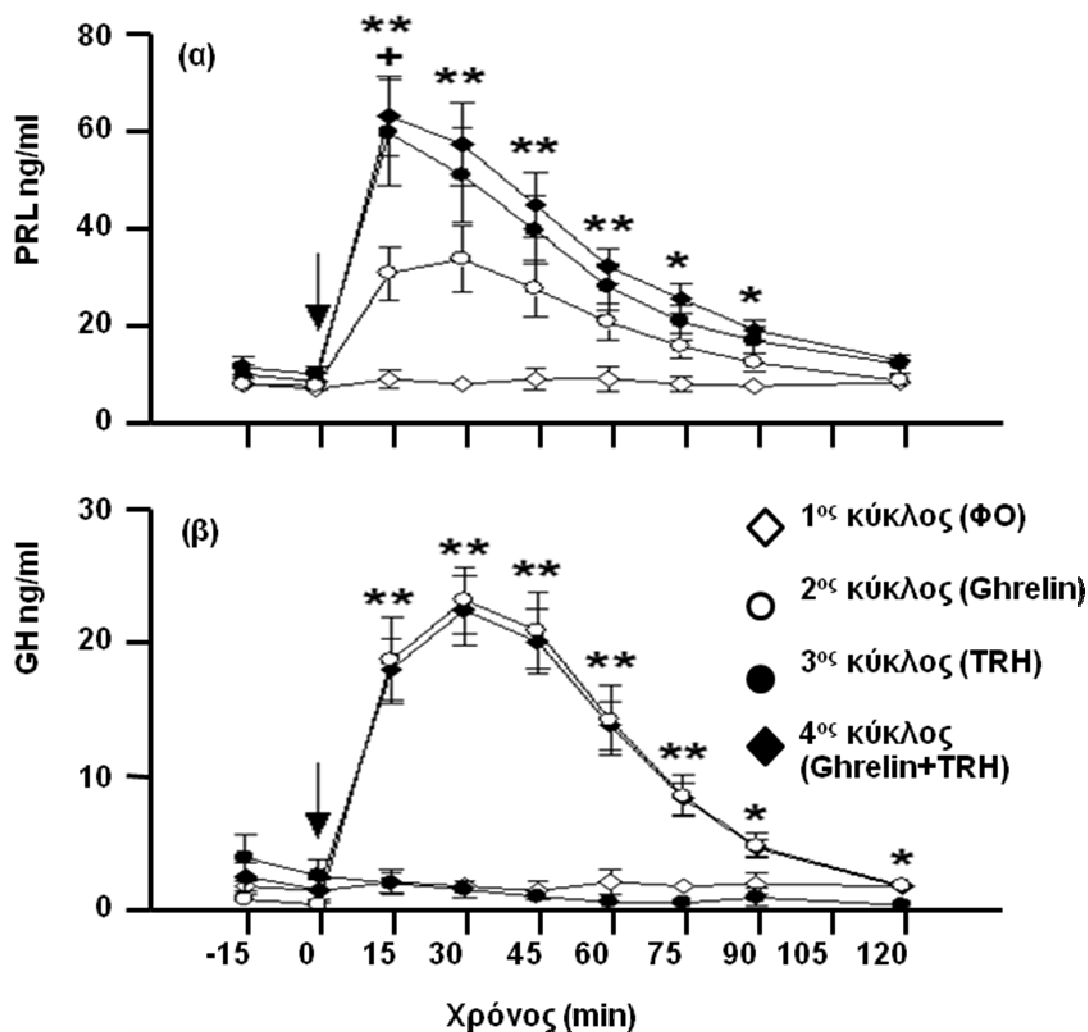


Σχήμα 14. Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα των γυναικών της ομάδας Α κατά την προχωρημένη ωοθυλακική φάση του 1^{ου}, 2^{ου}, 3^{ου} και 4^{ου} κύκλου πριν και μετά την ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) των αναφερομένων ουσιών. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά του 2^{ου} και 4^{ου} κύκλου από τον 1^ο και 3^ο κύκλο. ΦΟ=φυσιολογικός ορός.

Τα επίπεδα της PRL στον ορό αυξήθηκαν σημαντικά μετά την ένεση της γκρελίνης (2^{ος} κύκλος). Οι τιμές της PRL ήταν μέγιστες στα 30 min και ελαττώθηκαν σταδιακά στη συνέχεια ($P < 0.001$, Σχήμα 15α). Αύξηση των τιμών της PRL παρατηρήθηκε επίσης μετά την ένεση TRH ($P < 0.001$, 3^{ος} κύκλος). Η αύξηση όμως της PRL μετά τη χορήγηση TRH ήταν ταχύτερη και έφθασε στη μέγιστη τιμή γρηγορότερα, δηλαδή στα 15 min έναντι των 30 min με τη γκρελίνη (Σχήμα 15α). Επίσης, η αύξηση με τη γκρελίνη ήταν

σημαντικά μικρότερη από ό,τι με την TRH στα 15 min ($P<0.05$). Στον 4^ο κύκλο, η ταυτόχρονη χορήγηση γκρελίνης και TRH δεν αύξησε τα επίπεδα της PRL περισσότερο από την TRH μόνη της, αφού τα επίπεδα της ήταν παρόμοια με εκείνα στον 3^ο κύκλο (Σχήμα 15α). Η ένεση φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε τα επίπεδα της PRL. Στο 2^ο, 3^ο και 4^ο κύκλο, οι τιμές της PRL από τα 15 μέχρι τα 90 min ήταν σημαντικά υψηλότερα παρά στον 1^ο κύκλο (Σχήμα 15α).

Η χορήγηση γκρελίνης στο 2^ο και 4^ο κύκλο διέγειρε σημαντικά την έκκριση της GH. Οι τιμές της GH στον ορό αυξήθηκαν ταχέως, φθάνοντας στη μέγιστη τιμή στα 30 min, με σταδιακή ελάττωση στη συνέχεια ($P<0.001$, Σχήμα 15β). Ο τύπος των μεταβολών της GH ήταν παρόμοιος στους δύο κύκλους, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους σε όλες τις χρονικές στιγμές. Η χορήγηση TRH μόνης της (3^{ος} κύκλος) προκάλεσε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της GH από το χρονικό σημείο 0 μέχρι το σημείο 120 min ($P<0.05$). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή των τιμών της GH από το χρόνο -15 min στο χρόνο 0 min. Η ένεση φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε τα επίπεδα της GH. Τα επίπεδα της GH στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα στο 2^ο και 4^ο κύκλο από ό,τι στον 1^ο και 3^ο κύκλο από το χρονικό σημείο 15 min μέχρι το χρονικό σημείο 90 min (Σχήμα 15β). Στο σημείο 120 min, οι τιμές της GH ήταν σημαντικά υψηλότερες στον 1^ο, 2^ο και 4^ο κύκλο παρά στον 3^ο κύκλο ($P<0.05$, Σχήμα 15β).



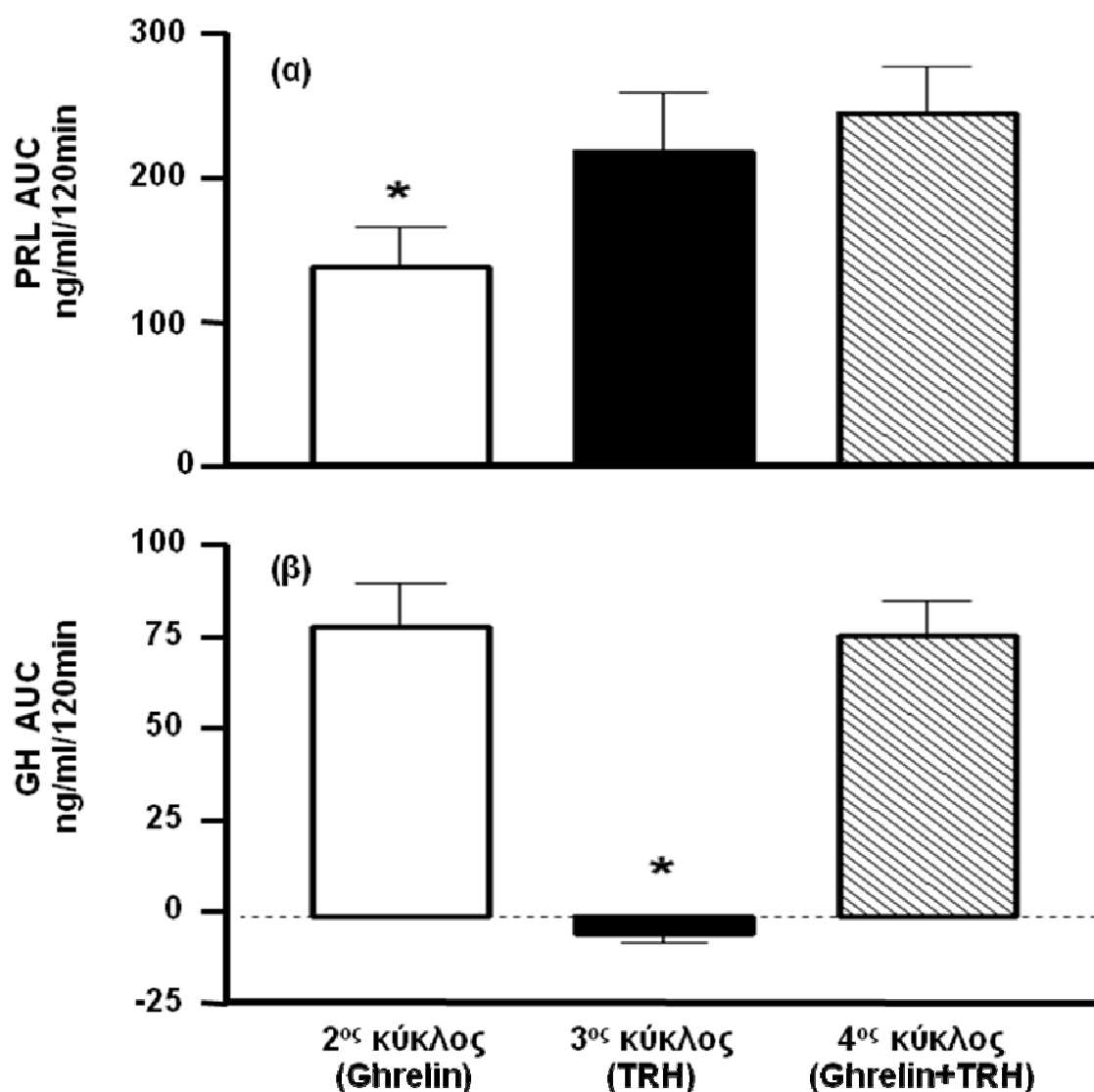
Σχήμα 15. Τιμές (α) της PRL και (β) της GH στον ορό των γυναικών της ομάδας A κατά την προχωρημένη ωοθυλακική φάση του 1^{ου}, 2^{ου}, 3^{ου} και 4^{ου} κύκλου πριν και μετά την ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) των αναφερομένων ουσιών. ΦΟ=φυσιολογικός ορός.

(α) + $P < 0.05$, διαφορά του 3^{ου} και του 4^{ου} κύκλου από το 2^ο κύκλο, * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά του 2^{ου}, 3^{ου} και 4^{ου} κύκλου από τον 1^ο κύκλο.

(β) * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά του 2^{ου} και 4^{ου} κύκλου από τον 1^ο και 3^ο κύκλο.

Η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) των μεταβολών της PRL και της GH στους παραπάνω κύκλους φαίνεται στο Σχήμα 16. Η AUC της PRL ως απάντηση στη γκρελίνη (2^{ος} κύκλος) ήταν σημαντικά μικρότερη από ό,τι ως απάντηση στην TRH (3^{ος} κύκλος) ή ως απάντηση στο συνδυασμό γκρελίνης

και TRH (4^{ος} κύκλος) ($P < 0.05$, Σχήμα 16α). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην AUC της PRL μεταξύ του 3^{ου} και του 4^{ου} κύκλου. Επίσης, η AUC της GH στο 2^ο κύκλο δεν διέφερε σημαντικά από την AUC στον 4^ο κύκλο αλλά και στους δύο κύκλους ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από ό,τι στον 3^ο κύκλο ($P < 0.05$, Σχήμα 16β).



Σχήμα 16. Η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) των μεταβολών (α) της PRL και (β) της GH μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση των αναφερομένων ουσιών στο 2^ο, 3^ο και 4^ο κύκλο των γυναικών της ομάδας Α.

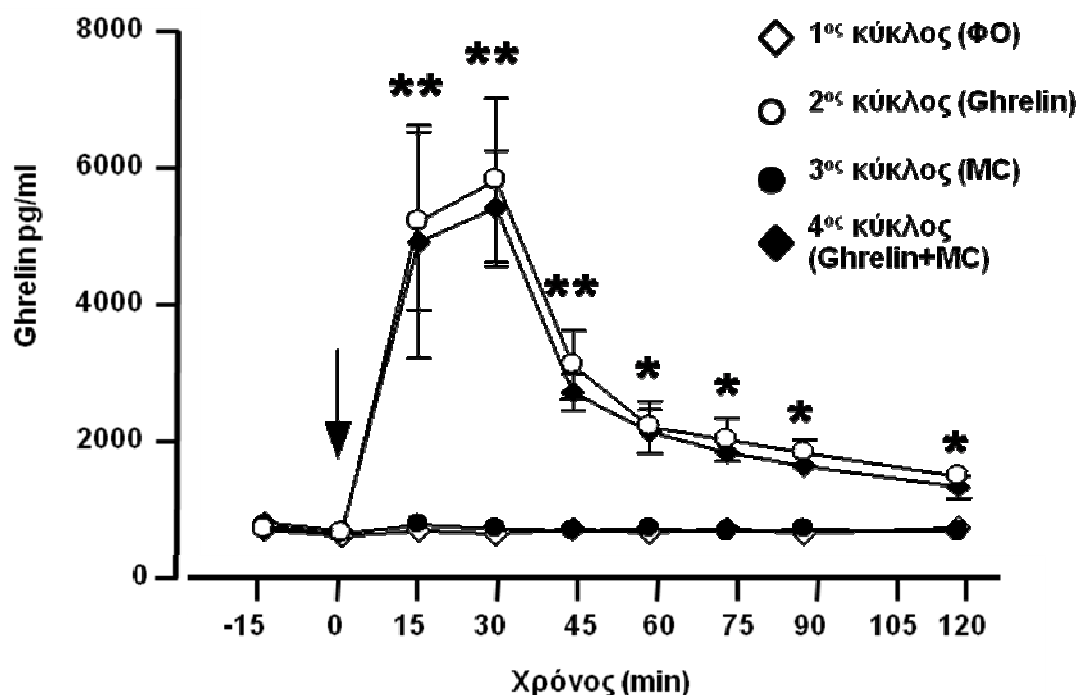
(α) * $P < 0.05$, διαφορά 2^{ου} κύκλου από 3^ο και 4^ο κύκλο.

(β) * $P < 0.05$, διαφορά 3^{ου} κύκλου από 2^ο και 4^ο κύκλο

4 Μελέτη της διεγερτικής επίδρασης της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με την επίδραση της αντντοπαμινεργικής ουσίας, μετοκλοπραμίδης.

Στη διερεύνηση του παραπάνω ερωτήματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τη μέση ωχρινική φάση του 1^{ου} κύκλου (χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός), του 2^{ου} κύκλου (χορηγήθηκε γκρελίνη), του 3^{ου} κύκλου (χορηγήθηκε μετοκλοπραμίδα) και του 4^{ου} κύκλου (χορηγήθηκε γκρελίνη και μετοκλοπραμίδα). Τα ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών στη φάση αυτή του κύκλου φαίνονται στον Πίνακα 4.

Στο Σχήμα 17, φαίνονται οι μεταβολές των τιμών της γκρελίνης στο πλάσμα μετά την εξωγενή χορήγηση της. Η χορήγηση της γκρελίνης στο 2^ο και 4^ο κύκλο οδήγησε στη σημαντική αύξηση των επιπέδων της στο πλάσμα με μέγιστες τιμές στα 15 και 30 min ($P < 0.001$, Σχήμα 17). Κατόπιν, τα επίπεδα της γκρελίνης ελαττώθηκαν σταδιακά ($P < 0.001$), πλησιάζοντας τα πριν την ένεση επίπεδα στα 120 min. Μεταξύ του 2^{ου} και 4^{ου} κύκλου, δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στις τιμές της γκρελίνης σε όλα τα χρονικά σημεία. Μετά τη χορήγηση φυσιολογικού ορού (1^{ος} κύκλος) ή μετοκλοπραμίδης (3^{ος} κύκλος), οι τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα δεν μεταβλήθηκαν, αλλά παρέμειναν σταθερές καθ' όλη την πειραματική διαδικασία. Από το χρονικό σημείο 15 min μέχρι το χρονικό σημείο 120 min, οι τιμές της γκρελίνης ήταν σημαντικά υψηλότερες στο 2^ο και 4^ο κύκλο παρά στον 1^ο και 3^ο κύκλο (Σχήμα 17).

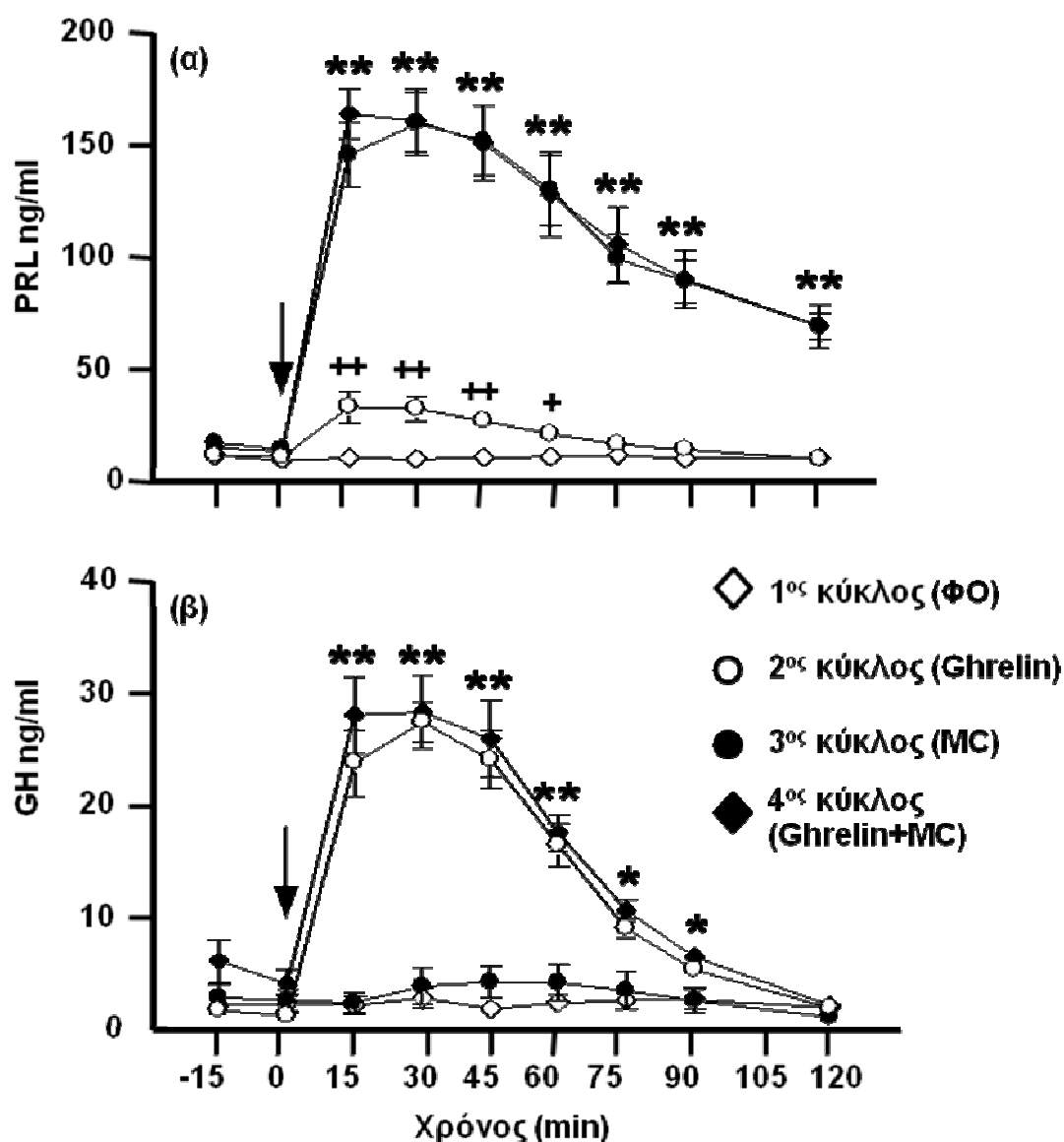


Σχήμα 17. Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα κατά τη μέση ωχρινική φάση του 1^{ου}, 2^{ου}, 3^{ου} και 4^{ου} κύκλου πριν και μετά την ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) των αναφερομένων ουσιών στις γυναίκες της ομάδας Α. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά του 2^{ου} και 4^{ου} κύκλου από τον 1^ο και 3^ο κύκλο. ΦΟ=φυσιολογικός ορός, MC=Μετοκλοπραμίδη.

Τα επίπεδα της PRL στον ορό αυξήθηκαν σημαντικά μετά την ένεση της γκρελίνης (2^{ος} κύκλος) με μέγιστη τιμή στα 30 min, ενώ ελαττώθηκαν σταδιακά στη συνέχεια ($P < 0.001$, Σχήμα 18α). Αύξηση των τιμών της PRL παρατηρήθηκε επίσης μετά την ένεση της μετοκλοπραμίδης (3^{ος} κύκλος). Η αύξηση όμως της PRL μετά τη χορήγηση της μετοκλοπραμίδης ήταν ταχύτερη και έφθασε στη μέγιστη τιμή γρηγορότερα, δηλαδή στα 15 min έναντι των 30 min με τη γκρελίνη (Σχήμα 18α). Επίσης, η αύξηση με τη γκρελίνη ήταν σημαντικά μικρότερη από ό,τι η αύξηση με τη μετοκλοπραμίδη, τα δε επίπεδα της παρέμειναν σημαντικά χαμηλότερα μέχρι το τέλος της πειραματικής διαδικασίας ($P < 0.001$). Η ταυτόχρονη χορήγηση γκρελίνης και

μετοκλοπραμίδης στον 4^ο κύκλο, δεν αύξησε τα επίπεδα της PRL περισσότερο από τη μετοκλοπραμίδα μόνη της, αφού τα επίπεδα της δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνα στον 3^ο κύκλο σε όλα τα χρονικά σημεία (Σχήμα 18α). Η ένεση φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε τα επίπεδα της PRL. Οι τιμές της PRL ήταν σημαντικά υψηλότερες στον 3^ο και 4^ο κύκλο παρά στον 1^ο και 2^ο κύκλο από το χρονικό σημείο των 15 min μέχρι το χρονικό σημείο των 120 min ($p < 0.05$). Επίσης, στο 2^ο κύκλο, τα επίπεδα της PRL στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα παρά στον 1^ο κύκλο από το χρονικό σημείο των 15 min στο χρονικό σημείο των 60 min (Figure 2α).

Η χορήγηση γκρελίνης στο 2^ο και 4^ο κύκλο διεγείρει σημαντικά την έκκριση της GH. Οι τιμές της GH στον ορό μετά τη χορήγηση της γκρελίνης στους κύκλους αυτούς αυξήθηκαν ταχέως και σημαντικά, φθάνοντας στη μέγιστη τιμή στα 30 min, με σταδιακή ελάττωση στη συνέχεια ($P < 0.001$, Σχήμα 18β). Ο τύπος των μεταβολών της GH ήταν παρόμοιος στους δύο κύκλους, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους σε όλες τις χρονικές στιγμές. Η χορήγηση μετοκλοπραμίδης μόνης της (3^{ος} κύκλος) δεν επηρέασε τα επίπεδα της GH και το ίδιο συνέβη μετά την ένεση φυσιολογικού ορού (Σχήμα 18β). Τα επίπεδα της GH στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα στο 2^ο και 4^ο κύκλο παρά στον 1^ο και 3^ο κύκλο από το χρονικό σημείο 15 min μέχρι το χρονικό σημείο 90 min (Σχήμα 18β).



Σχήμα 18. Τιμές (α) της PRL και (β) της GH στον ορό κατά τη μέση ωχρινική φάση του 1^{ου}, 2^{ου}, 3^{ου} και 4^{ου} κύκλου πριν και μετά την ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) των αναφερομένων ουσιών στις γυναίκες της ομάδας Α. ΦΟ=φυσιολογικός ορός, MC=μετοκλοπραμίδη.

(α) ** $P < 0.001$, διαφορά του 3^{ου} και του 4^{ου} κύκλου από τον 1^ο και 2^ο κύκλο, + $P < 0.05$, ++ $P < 0.001$, διαφορά του 2^{ου} κύκλου από τον 1^ο κύκλο.

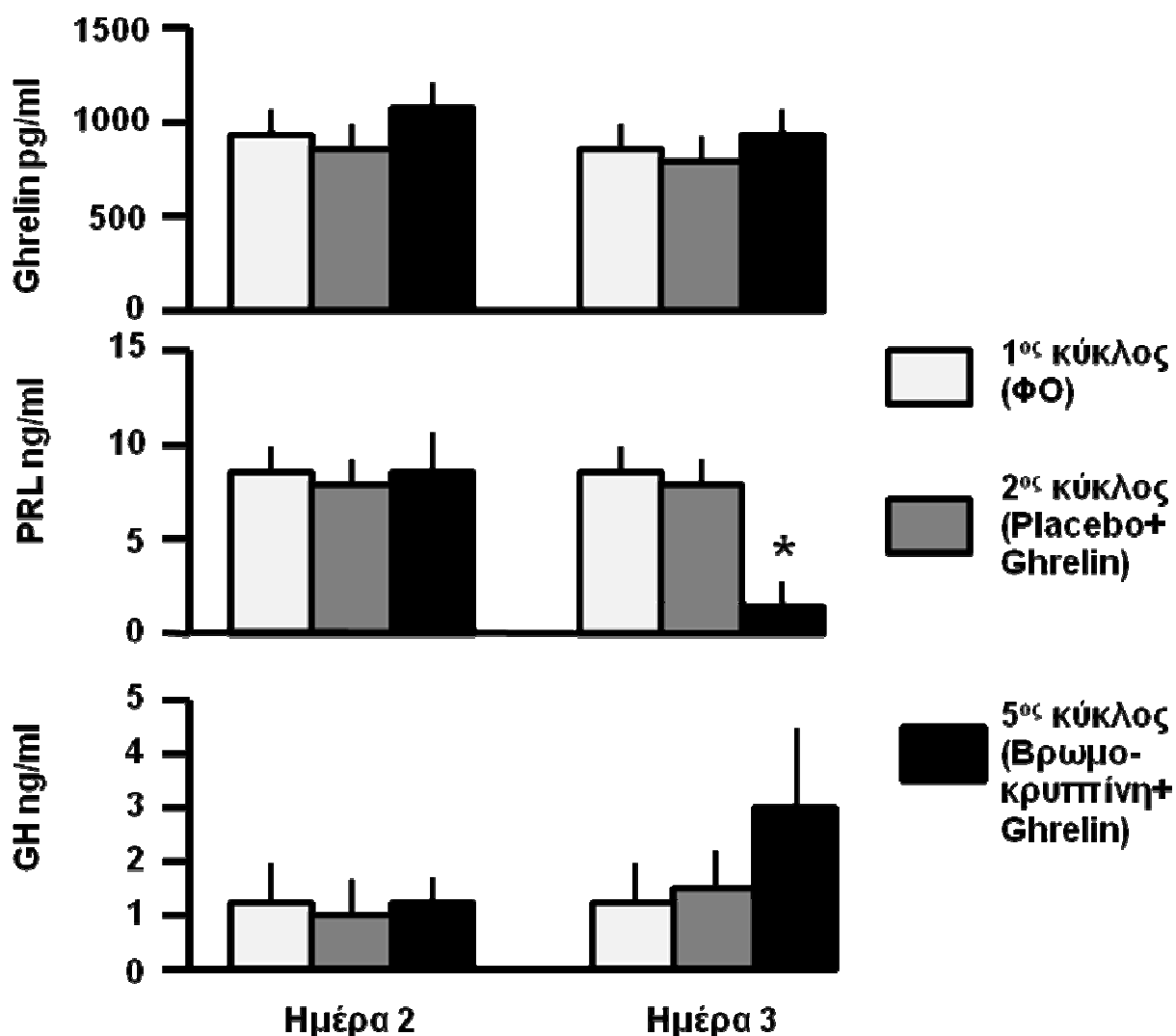
(β) * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά του 2^{ου} και 4^{ου} κύκλου από τον 1^ο και 3^ο κύκλο.

5 Μελέτη της διεγερτικής επίδρασης της γκρελίνης στην έκκριση της PRL μετά από προηγούμενη χορήγηση της ντοπαμινεργικής ουσίας, βρωμοκρυπτίνης.

Στη διερεύνηση του παραπάνω ερωτήματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από την αρχόμενη ωοθυλακική φάση του 1^ο κύκλου (χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός), του 2^{ου} κύκλου (χορηγήθηκε γκρελίνη μετά προηγούμενη χορήγηση placebo – εικονικού φαρμάκου) και του 5^{ου} κύκλου (χορηγήθηκε γκρελίνη μετά προηγούμενη χορήγηση βρωμοκρυπτίνης). Τα ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών στη φάση αυτή φαίνονται στον Πίνακα 4. Η χορήγηση βρωμοκρυπτίνης στις γυναίκες προκάλεσε μία σημαντική ελάττωση των τιμών της PRL από την ημέρα 2 στην ημέρα 3 του 5^{ου} κύκλου ($P < 0.05$, Σχήμα 19). Αντιθέτως, οι βασικές τιμές της γκρελίνης δεν επηρεάστηκαν, ενώ παρατηρήθηκε μία τάση για αύξηση των τιμών της GH, η οποία όμως δεν ήταν στατιστικώς σημαντική (Σχήμα 19). Η χορήγηση placebo δεν είχε καμμία επίδραση στις τιμές των τριών ορμονών, δηλαδή της γκρελίνης, της PRL και της GH (Σχήμα 19). Επίσης, δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στις τιμές των παραπάνω ορμονών στον 1^ο κύκλο από την ημέρα 2 στην ημέρα 3 (Σχήμα 19).

Στο 2^ο και 5^ο κύκλο, η στάθμη της γκρελίνης στο πλάσμα αυξήθηκε σημαντικά μετά την εξωγενή χορήγηση της με μέγιστη τιμή στα 30 min και σταδιακή ελάττωση στη συνέχεια ($P < 0.001$, Σχήμα 20α). Αντιθέτως, μετά τη χορήγηση φυσιολογικού ορού, οι τιμές της γκρελίνης δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά. Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις τιμές της γκρελίνης μεταξύ του 2^{ου} και του 5^{ου}

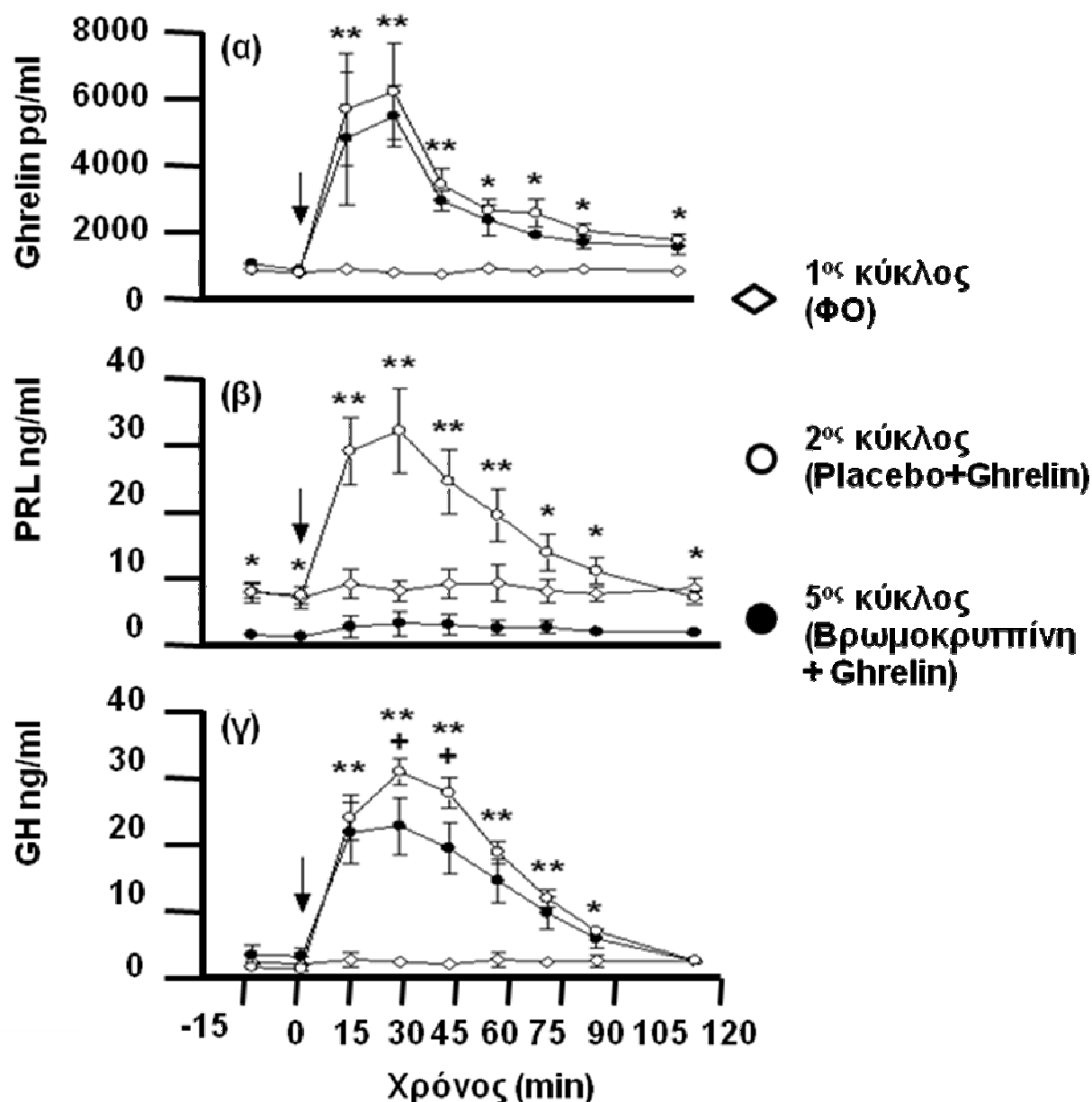
κύκλου, ενώ και στους δύο αυτούς κύκλους οι τιμές ήταν σημαντικά μεγαλύτερες από τον 1^ο κύκλο στα χρονικά σημεία από 15 min έως 120 min (Σχήμα 20α).



Σχήμα 19. Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα και της PRL και της GH στον ορό τη 2^η και 3^η ημέρα του 1^{ου}, 2^{ου} και 5^{ου} κύκλου στις γυναίκες της ομάδας Α. Ημέρα 2: 0800 h και Ημέρα 3: 1030 h. * $P < 0.05$. ΦΟ=φυσιολογικός ορός, Placebo=εικονικό φάρμακο. * $P < 0.05$, διαφορά από ημέρα 2 στον 5^ο κύκλο.

Μετά τη χορήγηση της γκρελίνης στο 2^ο κύκλο, τα επίπεδα της PRL αυξήθηκαν ταχέως και σημαντικά, με μέγιστη τιμή στα 30 min και σταδιακή ελάττωση στη συνέχεια ($P < 0.001$, Σχήμα 20β). Στον 5^ο κύκλο, στον οποίο στις γυναίκες χορηγήθηκε βρωμοκρυπτίνη, οι τιμές της PRL ήταν πριν της ένεση της γκρελίνης σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με τον 1^ο και το 2^ο κύκλο και συγκεκριμένα στα χρονικά σημεία -15 και 0 min ($P < 0.05$). Μετά τη χορήγηση της γκρελίνης στον 5^ο κύκλο, οι τιμές της PRL δεν αυξήθηκαν, αλλά παρέμειναν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, ενώ ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες στον 1^ο και το 2^ο κύκλο σε όλα τα χρονικά σημεία (Σχήμα 20β). Η ένεση φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε τα επίπεδα της PRL.

Μετά τη χορήγηση της γκρελίνης, τα επίπεδα της GH αυξήθηκαν σημαντικά και ταχέως τόσο στο 2^ο όσο και στον 5^ο κύκλο, με μέγιστη τιμή στα 30 min, ενώ ελαττώθηκαν σταδιακά στη συνέχεια ($P < 0.001$, Σχήμα 20γ). Εν τούτοις, στον 5^ο κύκλο, οι τιμές της γκρελίνης στα 30 και 45 min ήταν σημαντικά χαμηλότερες παρά στο 2^ο κύκλο ($P < 0.05$, Σχήμα 20γ). Η ένεση φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε τα επίπεδα της GH.



Σχήμα 20. Τιμές (α) της γκρελίνης στο πλάσμα καθώς και (β) της PRL και (γ) της GH στον ορό κατά την αρχόμενη ωοθυλακική φάση (3^η ημέρα) πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) των αναφερομένων ουσιών στον 1^ο, 2^ο και 5^ο κύκλο των γυναικών της ομάδας Α.

(α) * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά 2^{ου} και 5^{ου} κύκλου από τον 1^ο κύκλο,
 (β) * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά 2^{ου} και 1^{ου} κύκλου από τον 5^ο κύκλο.
 Επίσης, διαφορά του 2^{ου} από τον 1^ο κύκλο από το 15 min έως το 90 min.
 (γ) * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, διαφορά 2^{ου} και 5^{ου} κύκλου από τον 1^ο κύκλο,
 + $P < 0.05$, διαφορά μεταξύ 2^{ου} και 5^{ου} κύκλου.

Ομάδα Β

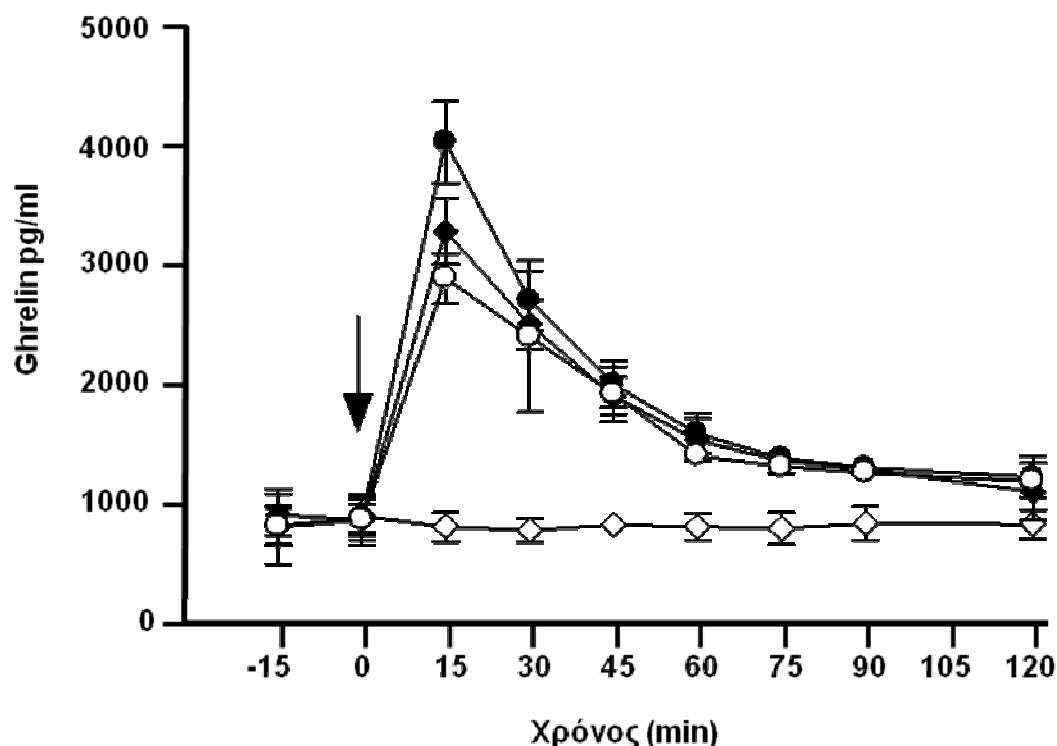
6. Μελέτη της διεγερτικής επίδρασης μιας υπομέγιστης δόσης της γκρελίνης στην έκκριση των ορμονών PRL και GH σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου.

Στη διερεύνηση του παραπάνω ερωτήματος χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τον 1^ο και 2^ο κύκλο της ομάδας αυτής. Τα ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών της ομάδας Β φαίνονται στον Πίνακα 5. Η χορήγηση της γκρελίνης οδήγησε σε σημαντική αύξηση των επιπέδων της ορμόνης αυτής στο πλάσμα των γυναικών και στις τρεις φάσεις του κύκλου ($P < 0.001$), χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ αυτών (Σχήμα 21). Η μέγιστη τιμή παρατηρήθηκε στα 15 min. Η αύξηση αυτή όμως ήταν μικρότερη από εκείνη με τη χορήγηση της μεγαλύτερης δόσης, όπως φαίνεται στα προηγούμενα σχήματα της ομάδας Α ($P < 0.05$). Οι μεταβολές όμως της γκρελίνης με το χρόνο έδειξαν ένα παρόμοιο τύπο και στις δύο ομάδες.

Η χορήγηση υπομέγιστης δόσης γκρελίνης προκάλεσε σημαντική αύξηση των επιπέδων της GH στον ορό του αίματος, η οποία ήταν στατιστικώς σημαντική και παρόμοια και στις τρεις φάσεις του κύκλου, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών ($P < 0.001$, Σχήμα 22). Οι μέγιστες τιμές παρατηρήθηκαν στα 30 min και ήταν παρόμοιες με εκείνες που παρατηρήθηκαν με τη μεγαλύτερη δόση της γκρελίνης (βλέπε ομάδα Α). Η χορήγηση του φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε τα επίπεδα της GH.

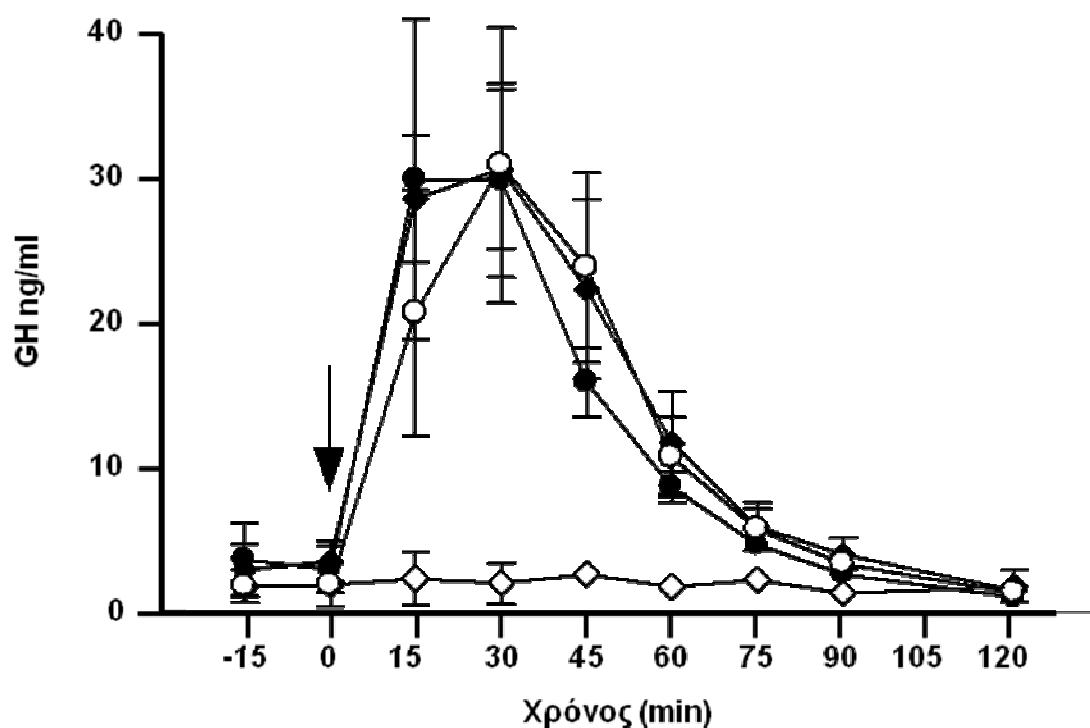
	1 ^{ος} κύκλος			2 ^{ος} κύκλος		
	ΑΩ	ΠΩ	ΜΩ	ΑΩ	ΠΩ	ΜΩ
FSH mIU/ml	4.8 ± 0.5	4.0 ± 0.7	3.1 ± 0.4	4.5 ± 0.5	4.3 ± 0.8	3.3 ± 0.6
LH mIU/ml	3.7 ± 0.4	16.3 ± 8.5	2.8 ± 0.9	4.1 ± 1.0	20.9 ± 10.1	2.9 ± 0.2
E2 pg/ml	43 ± 10.3	268 ± 32.7	124 ± 24.6	54 ± 13.2	363 ± 43.2	169 ± 41.4
P4 ng/ml	1.9 ± 0.7	2.6 ± 0.8	18.3 ± 2.1	2.4 ± 0.8	3.1 ± 0.7	20.1 ± 2.9
PRL ng/ml	8.1 ± 2.9	7.5 ± 1.1	10.1 ± 2.3	10.4 ± 2.9	10.5 ± 1.1	8.3 ± 3.6
GH ng/ml	1.6 ± 0.8	2.5 ± 0.8	2.1 ± 0.9	1.8 ± 1.0	3.5 ± 2.3	2.9 ± 1.7

Πίνακας 5. Ορμονικά χαρακτηριστικά των γυναικών της ομάδας Β.
ΑΩ=αρχόμενη ωοθυλακική φάση, ΠΩ=προχωρημένη ωοθυλακική φάση,
ΜΩ=μέση ωχρινική φάση, Ε2=οιστραδιόλη, Ρ4=προγεστερόνη

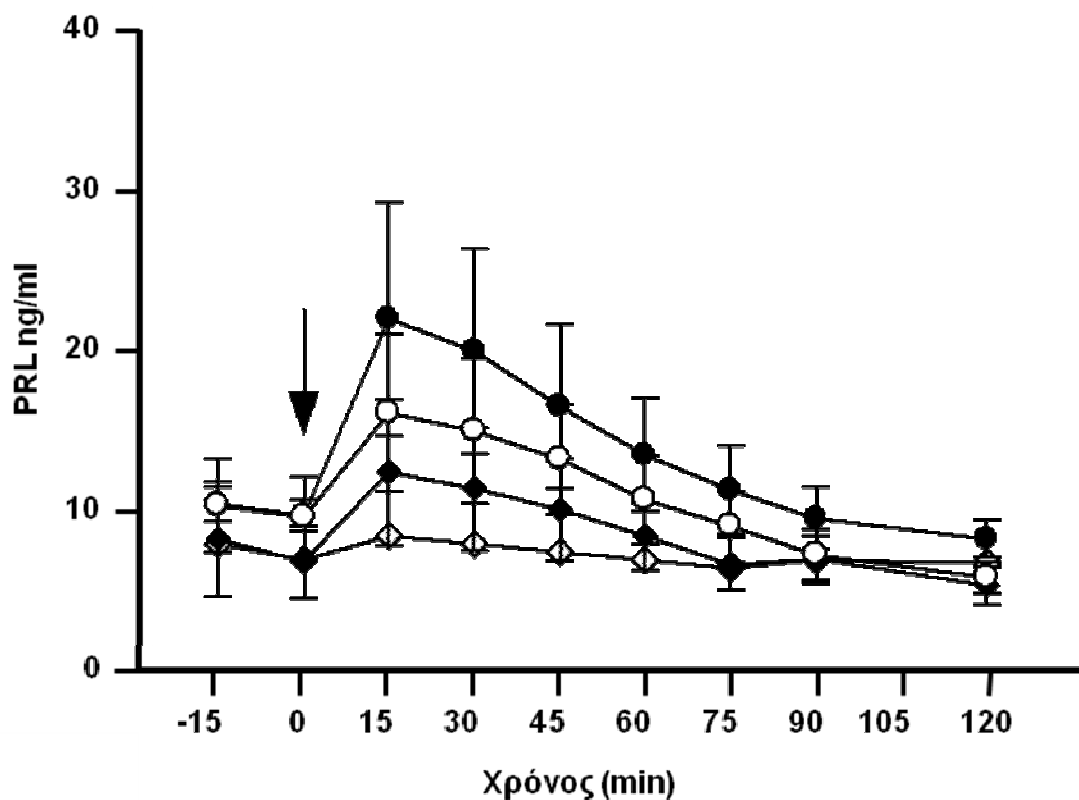


Σχήμα 21. Τιμές της γκρελίνης στο πλάσμα πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) στις γυναίκες της ομάδας Β (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (0.3 μg/kg) στις ίδιες γυναίκες κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση (2^{ος} κύκλος).

Η γκρελίνη χορηγούμενη ενδοφλεβίως διεγείρει την έκκριση της PRL με μέγιστη τιμή στα 15 min (Σχήμα 23), αλλά σε μικρότερο βαθμό από εκείνη που προκλήθηκε από τη μεγαλύτερη δόση της ουσίας αυτής. Δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών φάσεων του κύκλου. Η χορήγηση του φυσιολογικού ορού δεν επηρέασε την έκκριση της PRL (Σχήμα 23).



Σχήμα 22. Τιμές της GH στον ορό πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) στις γυναίκες της ομάδας Β (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (0.3 μg/kg) στις ίδιες γυναίκες κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση (2^{ος} κύκλος).



Σχήμα 23. Τιμές της PRL στον ορό πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) φυσιολογικού ορού (2 ml) στις γυναίκες της ομάδας Β (1^{ος} κύκλος) κατά την (◇) αρχόμενη ωοθυλακική φάση καθώς και πριν και μετά την οξεία ενδοφλέβια χορήγηση (βέλος) γκρελίνης (0.3 μg/kg) στις ίδιες γυναίκες κατά την (○) αρχόμενη ωοθυλακική, (●) προχωρημένη ωοθυλακική και (◆) μέση ωχρινική φάση (2^{ος} κύκλος).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε για πρώτη φορά η έκκριση ορμονών του πρόσθιου λοβού της υποφύσεως ως απάντηση στην εξωγενή χορήγηση γκρελίνης σε διαφορετικές φάσεις του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου γυναικών. Σκοπός της μελέτης ήταν να δώσει απάντηση σε πέντε ερωτήματα, τα οποία περιγράφηκαν διεξοδικά παραπάνω. Λόγω της αυτοτέλειας των ερωτημάτων, η συζήτηση των επιμέρους ευρημάτων γίνεται χωριστά και σύμφωνα με την παραπάνω ανάλυση τους. Θα πρέπει να τονισθεί, ότι ο σχεδιασμός της μελέτης έγινε ώστε με την ελάχιστη δυνατή παρέμβαση να προκύψουν όσο το δυνατόν περισσότερες νέες πληροφορίες, οι οποίες θα βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση του ρόλου της γκρελίνης στη λειτουργία της υπόφυσης. Ετσι, ενώ ο αριθμός των γυναικών, που περιλήφθηκαν στη μελέτη φαίνεται σχετικά μικρός, ο αριθμός των πειραματικών διαδικασιών, που πραγματοποιήθηκαν είναι σημαντικά μεγάλος. Η επιλογή περισσότερων γυναικών θα είχε το πλεονέκτημα της μικρότερης παρέμβασης στις γυναίκες σε ατομικό επίπεδο, όμως τα αποτελέσματα θα έπρεπε να συγκριθούν μεταξύ ομάδων διαφορετικών γυναικών. Αντιθέτως, με το πρωτόκολλο, που ακολουθήθηκε, οι γυναίκες που συμπεριλήφθηκαν χρησίμευσαν ως μάρτυρες του εαυτού τους, πράγμα που μείωσε σε μεγάλο βαθμό τις ατομικές διακυμάνσεις.

1. Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH και της PRL σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων δείχνει ότι το μέγεθος της απάντησης της GH στην οξεία ενδοφλέβια χορήγηση γκρελίνης δεν επηρεάστηκε από το στάδιο του κύκλου, αφού παρέμεινε σταθερή στην ωοθυλακική και την ωχρινική φάση. Επειδή τα επίπεδα της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης μεταβλήθηκαν ανάλογα με τη φάση του κύκλου, τα παρόντα δεδομένα θα μπορούσαν να ερμηνευθούν ότι δείχνουν πως τα ενδογενή ωοθηκικά στεροειδή δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στην από τη γκρελίνη ρύθμιση της έκκρισης της GH. Προηγούμενες μελέτες είχαν συμπεράνει ότι η οιστραδιόλη μπορεί να συμμετέχει στην παραπάνω ρύθμιση μέσω ενίσχυσης της εκκριτικής απάντησης της GH στη γκρελίνη (Veldhuis et al., 2006; Kok et al., 2008a). Υπάρχουν όμως διαφορές μεταξύ της παρούσης και των προηγούμενων μελετών, κατά το ότι στις μελέτες αυτές χορηγήθηκαν σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εξωγενή οιστρογόνα, ενώ ο ρόλος των ενδογενών οιστρογόνων δεν εξετάστηκε.

Το μοντέλο των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, που υιοθετήθηκε από τους ερευνητές των προηγούμενων μελετών, δεν αντανάκλα τις φυσιολογικές συνθήκες, που επικρατούν στο φυσιολογικό γεννητικό κύκλο, σχετικά με την ακεραιότητα του υποθαλαμο-υποφυσιακού συστήματος, λόγω της μακροχρόνιας έλλειψης οιστρογόνων. Η στέρηση του συστήματος αυτού οιστρογόνων πιθανώς διαφοροποιεί τη φυσιολογική έκκριση των διαφόρων ορμονών. Πράγματι, έχει διαπιστωθεί ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα της GH ελαττώνονται με τη γήρανση του ατόμου (Chahal and Drake, 2007), η δε απόκριση της GH στη γκρελίνη αμβλύνεται σημαντικά σε ηλικιωμένους άνδρες ή γυναίκες σε σύγκριση με νεώτερης ηλικίας άτομα (Shah et al., 2000). Δεν

μπορεί λοιπόν να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο η αυξημένη απάντηση της GH στη γκρελίνη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά τη χορήγηση οιστρογόνων να προκύπτει από την ικανότητα των στεροειδών αυτών να αποκαθιστούν σε κάποιο βαθμό τη διαταραγμένη υποφυσιακή λειτουργία και συνεπώς να ευαισθητοποιούν τα κύτταρα σε διάφορους εκκριτογόνους παράγοντες. Το ότι παρόμοια ευαισθητοποίηση δεν παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη δείχνει πιθανώς ότι η λειτουργική ικανότητα των σωματοτρόφων κυττάρων της υποφύσεως δεν μπορούσε να αυξηθεί περαιτέρω με τις μεταβολές των στεροειδών ορμονών στο φυσιολογικό κύκλο. Η πιθανότητα η απουσία ευοδωτικής επίδρασης των ενδογενών οιστρογόνων στην από τη γκρελίνη προκαλούμενη έκκριση της GH να οφείλεται σε πρόσκαιρη καταστολή της παραγωγής των οιστρογόνων από τις ωοθήκες κατά τη διάρκεια της κάθε πειραματικής διαδικασίας (Viani et al., 2008), δεν τεκμηριώνεται από την παρούσα μελέτη, στην οποία μία τέτοια ελάττωση δεν παρατηρήθηκε, όπως θα αναλυθεί σε επόμενο τμήμα της παρούσης συζήτησης.

Ένα επιχείρημα εναντίον των ευρημάτων της παρούσης μελέτης θα μπορούσε να είναι η δόση της γκρελίνης, δηλαδή ότι το 1 $\mu\text{g/Kg}$, που χορηγήθηκε στις γυναίκες, είναι αρκετά υψηλή δόση. Η δόση όμως αυτή έχει χρησιμοποιηθεί στις περισσότερες μέχρι σήμερα μελέτες στον άνθρωπο και συνεπώς θεωρείται αντιπροσωπευτική. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν δύο μόνο μελέτες, στις οποίες χρησιμοποιήθηκε μικρότερη δόση γκρελίνης. Στη μία από αυτές (Veldhuis et al., 2006), σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χορηγήθηκαν placebo ή κλιμακωτά αυξανόμενες δόσεις οιστραδιόλης επί τρεις εβδομάδες,

με σκοπό την επίτευξη στάθμης της ορμόνης αυτής στο αίμα, όπως στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση. Υπό τις συνθήκες αυτές, εξετάσθηκε η κατά ώσεις έκκριση της GH και η απόκριση της στην οξεία χορήγηση γκρελίνης σε δόση 0.3 $\mu\text{g/Kg}$. Τα αποτελέσματα έδειξαν ενίσχυση των ώσεων της GH σε σύγκριση με τη χορήγηση placebo. Στη δεύτερη μελέτη από την ίδια ομάδα ερευνητών και πάλι σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Kok et al., 2008a), εκτιμήθηκε η επίδραση διαφορετικών δόσεων γκρελίνης. Η εξωγενώς χορηγηθείσα οιστραδιόλη αύξησε την απόκριση της GH στη γκρελίνη μόνο στη χαμηλή δόση των 0.15 $\mu\text{g/Kg}$, αλλά όχι στη μεγάλη δόση των 2.4 $\mu\text{g/Kg}$. Το συμπέρασμα από τα δεδομένα αυτά ήταν ότι η οιστραδιόλη ευνοεί την επίδραση υπομέγιστων παρά μέγιστων δόσεων γκρελίνης στην έκκριση της GH. Συνεπώς, η χρήση στην παρούσα μελέτη του 1 $\mu\text{g/Kg}$ θα μπορούσε να είχε ασκήσει μέγιστη επίδραση στην έκκριση της GH, πράγμα που θα περιόριζε την αξία της. Θα πρέπει όμως να τονισθεί ότι στη μελέτη των Kok et al. (2008a), η γκρελίνη χορηγήθηκε με τη μορφή ενδοφλέβιας έγχυσης επί 6 συνεχείς ώρες και η δόση διπλασιάζονταν ανά 90 min, συνολικά τέσσερις φορές, ενώ η επίδραση ενδιάμεσων δόσεων ή μιας οξείας χορήγησης δεν εξετάσθηκε.

Θεωρητικά, η αδυναμία των οιστρογόνων να ενισχύσουν την απόκριση της GH στη μεγαλύτερη δόση της γκρελίνης στη μελέτη των Kok et al. (2008a) θα μπορούσε να σχετίζεται με τον τρόπο χορήγησης της γκρελίνης, η οποία πιθανώς προκάλεσε απευαισθητοποίηση των υποδοχέων GHS-R. Πράγματι, σε μία τρίτη πρόσφατη μελέτη, στην οποία η γκρελίνη χορηγήθηκε ως οξεία ένεση στην ίδια δόση με την παρούσα μελέτη, δηλαδή 1 $\mu\text{g/Kg}$, η απόκριση

της GH στη δόση αυτή ενισχύθηκε με την ταυτόχρονη χορήγηση 2 mg οιστραδιόλης και 10 mg διυδρογεστερόνης επί 60 ημέρες σε φυσιολογικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Villa et al., 2008). Από την άλλη μεριά, στην παρούσα μελέτη η χορήγηση μιας υπομέγιστης δόσης γκρελίνης (0.3 $\mu\text{g/Kg}$) δεν έδωσε διαφορετικά αποτελέσματα από τη μεγαλύτερη δόση σε ό,τι αφορά στην ευαισθητοποιό δράση των οιστρογόνων στην από τη γκρελίνη διεγερόμενη έκκριση της GH (ομάδα B). Είναι φανερό επομένως ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες προκειμένου να διευκρινισθούν οι σχέσεις αυτές.

Όταν σε προηγούμενες μελέτες χρησιμοποιήθηκαν εκκριτογόνες ουσίες διαφορετικές από τη γκρελίνη, η απόκριση της GH στις περισσότερες από αυτές ενισχύθηκε από την οιστραδιόλη, παρά τη χορήγηση μεγάλων σχετικά δόσεων των ουσιών αυτών. Επί παραδείγματι, η χορήγηση οιστραδιόλης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για 7-15 ημέρες αύξησε την εκκρινόμενη ποσότητα της GH ως απάντηση στη μεγάλη δόση των 3 $\mu\text{g/Kg}$ της ουσίας GHRP-2 (Anderson et al., 2001). Επιπλέον, η βραχυχρόνια χορήγηση οιστραδιόλης από το στόμα ενίσχυσε τη διεγερτική επίδραση της GHRP-2 στην έκκριση της GH, όταν η GHRP-2 χορηγήθηκε ενδοφλεβίως σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες επί 24 συνεχείς ώρες (Shah et al., 2000). Εν τούτοις, η διαδερμική χορήγηση οιστραδιόλης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες επί τρεις μήνες δεν επηρέασε την απάντηση της GH σε μία άλλη εκκριτογόνο ουσία, την εξαρελίνη, στη μεγάλη δόση των 2 $\mu\text{g/Kg}$ (Arvat et al., 1997). Αν και δεν είναι γνωστό εάν οι διάφοροι εκκριτογόνοι παράγοντες έχουν την ίδια δυναμική (Broglia et al., 2003), είναι πιθανόν η απουσία

ευαισθητοποιού δράσης των ενδογενών στεροειδών στη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH στην παρούσα μελέτη να μην οφείλεται στη δόση που χρησιμοποιήθηκε, αλλά να σχετίζεται με τις διαφορετικές συνθήκες των πειραμάτων, δηλαδή πλησιέστερα στο φυσιολογικό (φυσιολογικός κύκλος) στην παρούσα μελέτη και λιγότερο φυσιολογική - περισσότερο φαρμακολογική προσέγγιση στις προηγούμενες μελέτες.

Στην παρούσα μελέτη, με την ενδοφλέβια χορήγηση της γκρελίνης επιτεύχθηκε μία μεγάλη αύξηση των επιπέδων της στο πλάσμα, η οποία ήταν παρόμοια στις τρεις φάσεις του κύκλου και διήρκεσε για όλη την περίοδο της κάθε πειραματικής διαδικασίας. Αν και δεν είναι γνωστό εάν η πιθανή σχέση στη δράση οιστρογόνων και γκρελίνης αποτελεί φυσιολογική διαδικασία, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η απόκριση της GH σε μία συγκεκριμένη δόση γκρελίνης ρυθμίζεται διαφορετικά από τα ενδογενή και τα εξωγενή ωοθηκικά στεροειδή.

Ένα άλλο ενδιαφέρον εύρημα στην παρούσα μελέτη είναι ότι η διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL δεν μεταβλήθηκε κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου. Στη βιβλιογραφία, δεν υπάρχουν παρόμοια δεδομένα για σύγκριση. Προηγούμενα δεδομένα σε θήλεις νάνους ποντικούς, από έλλειψη GH, έδειξαν ότι η ουσία GHRP-6 αύξησε σημαντικά την έκκριση της PRL, επίδραση η οποία δεν εμφανίσθηκε μετά από ωοθηκεκτομή, αλλά εμφανίσθηκε σε άρρενες ποντικούς μετά από θεραπεία με οιστραδιόλη (Carmignac et al., 1998). Κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, οι τιμές της PRL παραμένουν σταθερές

(Fujimoto et al., 1990), αν και σημαντική αύξηση έχει παρατηρηθεί κατά το μεσοκύκλιο γοναδοτροφικό κύμα (Messinis and Templeton, 1988). Είναι γνωστό ότι η υποθαλαμική ρύθμιση της έκκρισης της PRL γίνεται μέσω ανασταλτικού μηχανισμού (Ben-Jonathan and Hnasko, 2001). Παρ' όλα αυτά, ένας διεγερτικός μηχανισμός, μέσω πιθανώς TRH, έχει γίνει αποδεκτός (Bowers et al., 1973; Kauppila and Ylikorkala, 1982). Αν και τα οιστρογόνα υπό ορισμένες συνθήκες διεγείρουν την έκκριση της PRL (Ehara et al, 1976; Messinis and Templeton, 1988), η αλληλεπίδραση μεταξύ υποθαλαμικών ρυθμιστών, οιστραδιόλης και γκρελίνης δεν έχει μελετηθεί.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η οξεία χορήγηση γκρελίνης σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν διαφοροποιεί την έκκριση της GH και της PRL στις διάφορες φάσεις του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, πράγμα που πιθανώς σημαίνει μία διαφορετική συμπεριφορά των ενδογενών και των εξωγενών οιστρογόνων στη δράση της γκρελίνης στα σωματοτρόφα κύτταρα της υποφύσεως.

2. Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των ορμονών FSH και LH σε διαφορετικές φάσεις του γεννητικού κύκλου

Τα ευρήματα της παρούσης μελέτης δείχνουν ότι οι βασικές τιμές της FSH και της LH δεν επηρεάστηκαν από την οξεία χορήγηση της γκρελίνης στις γυναίκες. Τα αποτελέσματα αυτά θα μπορούσαν να ερμηνευθούν ότι δείχνουν πως υπό τις παρούσες πειραματικές συνθήκες, η γκρελίνη δεν συμμετέχει στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών ορμονών σε φυσιολογικές

γυναίκες. Αν και στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες σε γυναίκες για σύγκριση, μελέτες σε άνδρες έχουν δείξει ότι η ίδια με της παρούσης μελέτης δόση ή μεγαλύτερες δόσεις γκρελίνης (5-10 $\mu\text{g/kg}$), με τη μορφή οξείας χορήγησης, δεν επηρέασαν τα επίπεδα της LH (Takaya et al., 2000; Nagaya et al., 2001). Παρ' όλα αυτά, ελάττωση της LH έχει παρατηρηθεί σε φυσιολογικούς άνδρες, όταν η γκρελίνη χορηγήθηκε είτε σε πολλαπλές οξείες δόσεις ή με τη μορφή συνεχούς έγχυσης σε ρυθμό 2 $\mu\text{g/kg/h}$ για περίοδο 4 ωρών (Kluge et al., 2007; Lanfranco et al., 2008).

Αν και η διάρκεια της χορήγησης της γκρελίνης είναι πιθανόν να είναι σημαντική, οι δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν από τους Kluge et al., (2007) και Lanfranco et al., (2008) ήταν πολύ υψηλές και συνεπώς δεν μπορούν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα σχετικά με τον πιθανό φυσιολογικό ρόλο της γκρελίνης στην έκκριση της LH. Δεδομένα σε πειραματόζωα έχουν δείξει διαφορές στα αποτελέσματα, ανάλογα με το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε. Επί παραδείγματι, η οξεία χορήγηση γκρελίνης σε άρρενες ποντικούς κατά την ήβη προκάλεσε μία πρόσκαιρη ελάττωση των επιπέδων της LH (Fernandez-Fernandez et al., 2005; Martini et al., 2006), ενώ η χρόνια έγχυση σε ενήλικες άρρενες ποντικούς για 7 ημέρες προκάλεσε παρατεταμένη ελάττωση τόσο της LH όσο και της FSH (Martini et al., 2006). Το γεγονός ότι στην παρούσα μελέτη μόνο η επίδραση της οξείας χορήγησης της γκρελίνης εξετάσθηκε, δεν είναι γνωστό εάν η χρόνια χορήγηση της ουσίας αυτής θα είχε διαφορετικές επιδράσεις.

Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης διαφοροποιούν τις επιδράσεις της γκρελίνης στην έκκριση της GH και των γοναδοτροφινών σε γυναίκες. Η γκρελίνη προκάλεσε μία σημαντική αύξηση της GH, τη στιγμή που η έκκριση των γοναδοτροφινών δεν επηρεάσθηκε. Είναι πιθανόν ότι ο ουδός της γκρελίνης, που απαιτείται για την ελαττώσει της LH, είναι μεγαλύτερος από αυτόν, που απαιτείται για τη διέγερση της έκκρισης της GH. Αυτή η διαφορετικότητα μεταξύ διαφόρων ορμονών υποδηλώνει ότι η γκρελίνη, σε αντίθεση με το ρόλο της στην έκκριση της GH, δεν παίζει πρωταρχικό ρόλο στην έκκριση της LH στον άνθρωπο. Σχετικά με την FSH ούτε στην παρούσα μελέτη ούτε στις προηγούμενες μελέτες σε άνδρες διαπιστώθηκε κάποια επίδραση της γκρελίνης (Kluge et al., 2007; Lanfranco et al., 2008), αν και σε ποντικούς η χρόνια χορήγηση γκρελίνης ελάττωσε τα επίπεδα της FSH (Martini et al., 2006).

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε επίσης η επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών ως απάντηση στη χορήγηση GnRH. Η γνωστή διεγερτική επίδραση της GnRH στην έκκριση των γοναδοτροφινών ήταν έκδηλη και στην παρούσα μελέτη, χωρίς όμως να επηρεασθεί από την ταυτόχρονη χορήγηση της γκρελίνης. Η απάντηση της LH και της FSH στη GnRH και ο ρόλος της γκρελίνης έχει εξετασθεί μέχρι σήμερα μόνο σε μία μελέτη σε άνδρες, στην οποία όμως δεν επηρεάσθηκε από την έγχυση γκρελίνης για 210 min (Lanfranco et al., 2008). Αν και στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αντίστοιχα δεδομένα σε γυναίκες, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης, η γκρελίνη δεν πρέπει να παίζει σημαντικό ρόλο στην από τη GnRH διεγερόμενη έκκριση των

γοναδοτροφινών στον άνθρωπο. Ακόμη και στα πειραματόζωα, τα δεδομένα δεν είναι ομόφωνα. Μελέτες σε ποντικούς έχουν δείξει ότι η εξωγενής χορήγηση γκρελίνης ελάττωσε τα επίπεδα της LH in vivo και την ως απάντηση στη GnRH έκκριση της LH από υποφυσιακό ιστό in vitro, ενώ η απάντηση της FSH αυξήθηκε και ανεστάλη μόνο στον οίστρο (Fernandez- Fearnandez et al., 2004; 2005). Επιπροσθέτως, σε αντίθεση με την κατασταλτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της LH σε θήλεις ποντικούς με κυκλική ωοθηκική λειτουργία, η βασική έκκριση και των δύο γοναδοτροφινών από υποφυσιακό ιστό in vitro αυξήθηκε από τη γκρελίνη με ένα δόσοεξαρτώμενο τρόπο, υποδεικνύοντας έτσι ότι ο τρόπος, που ενδεχομένως η γκρελίνη επηρεάζει την έκκριση των γοναδοτροφινών, είναι αρκετά πολύπλοκος (Fernandez- Fearnandez et al., 2005; 2007).

Η χορήγηση της γκρελίνης στις γυναίκες της παρούσης μελέτης δεν επηρέασε τα επίπεδα της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στο αίμα. Κατά πόσον αυτό σημαίνει ότι η γκρελίνη δεν ασκεί ενδοκρινικές επιδράσεις στην ωοθήκη χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Μία πρόσφατη εργασία έχει δείξει ότι η γκρελίνη μπορεί να δρα ως αυτοκρινικός/παρακρινικός παράγοντας στην ωοθήκη (Viani et al., 2008).

Εάν και κατά πόσον τα γοναδικά στεροειδή επηρεάζουν τη δράση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών δεν έχει διερευνηθεί. Δεδομένα σε ποντικούς έχουν δείξει ότι η δράση της γκρελίνης διαφοροποιείται ανάλογα με το στάδιο του κύκλου (Fernandez- Fearnandez et al., 2005), αλλά εάν αυτό σημαίνει διαμεσολάβηση των ωοθηκικών ορμονών δεν είναι γνωστό. Οι

πειραματικές διαδικασίες, στην παρούσα εργασία, πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια τριών διαφορετικών σταδίων του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου και δεν έδειξαν διαφορές στην απάντηση των γοναδοτροφινών στη γκρελίνη. Αν και προηγούμενα δεδομένα έχουν δείξει ότι η εξωγενής χορήγηση οιστραδιόλης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μπορεί να αυξήσει τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στη έκκριση της GH (Kok et al., 2008a), λαμβάνοντας υπόψη τα παρόντα αποτελέσματα, μπορεί κανείς να υποθέσει ότι τα ενδογενή ωοθηκικά στεροειδή δεν επηρεάζουν την επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών ορμονών της υποφύσεως.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η οξεία χορήγηση γκρελίνης σε φυσιολογικές γυναίκες δεν διαφοροποιεί την έκκριση της LH και της FSH είτε της βασικής είτε ως απάντηση στη GnRH στις διάφορες φάσεις του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου. Αυτό σημαίνει ότι η γκρελίνη δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση των γοναδοτροφινών ορμονών στις γυναίκες.

3 Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με την TRH.

Στην παρούσα μελέτη, έγινε για πρώτη φορά διερεύνηση της επίδρασης της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με τη δράση της TRH. Αν και η TRH είναι γνωστός διεγέρτης της έκκρισης της PRL στον άνθρωπο (Hirvonen et al., 1976; Andreassen et al., 1979; Kauppila and Ylikorkala, 1982), ένα πεπτίδιο που διεγείρει την έκκριση της PRL απομονώθηκε πρόσφατα από τον υποθάλαμο βοοειδών (Hinuma et al., 1998). Παρ' όλα αυτά, η συμμετοχή του

πεπτιδίου αυτού στο φυσιολογικό μηχανισμό έκκρισης της PRL δεν έχει διευκρινισθεί (Lin, 2008). Από φυσιολογικής πλευράς, η δράση της υποθαλαμικής TRH ασκείται στα θυρεοτρόφα κύτταρα του πρόσθιου λοβού της υποφύσεως, όπου διεγείρει την έκκριση της TSH. Εν τούτοις, σύμφωνα με δεδομένα σε ποντικούς, είναι πιθανόν η δράση της TRH να ασκείται επίσης και στα γαλακτοτρόφα κύτταρα, όπου διεγείρει την έκκριση της PRL (Ashworth and Hinkle, 1996; Christian et al., 2007). Εάν αυτό σηματοδοτεί τη φυσιολογική συμμετοχή της TRH στην έκκριση της PRL δεν είναι γνωστό. Δεδομένα σε ποντικούς έχουν δείξει ότι τα ζώα με κατευθυνόμενη καταστροφή του γονιδίου της TRH γίνονται υποθυρεοειδικά, αλλά έχουν φυσιολογικά επίπεδα PRL (Yamada et al., 1997). Μέχρι σήμερα, η μόνη γνωστή υποθαλαμική ουσία, η οποία πιστεύεται ότι ρυθμίζει την έκκριση της PRL από την υπόφυση είναι η ντοπαμίνη (Reymond and Porter, 1985), η οποία σε κύτταρα βοοειδών, τα οποία εκκρίνουν PRL, δρα μέσω διαφορετικών ενδοκυττάρων μηχανισμών από την TRH (Akerman et al., 1991). Εντούτοις, σε άλλα είδη ζώων, η ντοπαμίνη και η TRH χρησιμοποιούν τις ίδιες ενδοκυττάριας οδούς (Martinez de la Escalera and Weiner, 1992).

Η παρούσα μελέτη δείχνει ότι τόσο η γκρελίνη όσο και η TRH χορηγούμενες ενδοφλεβίως με τη μορφή οξείας ενέσεως αυξάνουν την έκκριση της PRL σε φυσιολογικές γυναίκες. Η TRH προκάλεσε μεγαλύτερη αύξηση από ό,τι η γκρελίνη, αλλά η σύγκριση μεταξύ των δύο αυτών ουσιών σε ό,τι αφορά στη διεγερτική τους ικανότητα, είναι δύσκολη, αφού η παρούσα δεν αποτελεί μελέτη ελέγχου ισοδυναμίας δόσεων. Μία τέτοια μελέτη θα απαιτούσε ένα μεγάλο αριθμό γυναικών σε διαφορετικές ομάδες, στις οποίες θα έπρεπε να

χορηγηθεί ένα εύρος δόσεων μεταξύ των οποίων και φυσιολογικές δόσεις, οι οποίες όμως είναι δύσκολο να ορισθούν. Η δόση της γκρελίνης, που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, έχει βρεθεί ότι αναπτύσσει φαρμακολογικές παρά φυσιολογικές συγκεντρώσεις γκρελίνης στην κυκλοφορία (Veldhuis et al., 2006; Kok et al., 2008a), ενώ η δόση της TRH είναι η συνήθης δόση στις περισσότερες προηγούμενες μελέτες, δηλαδή ούτε η υψηλότερη ούτε όμως η χαμηλότερη (Sawin et al., 1978; Hanew et al., 1991; Garbutt et al., 1996). Με τις παραπάνω επιφυλάξεις, είναι πιθανόν να υποθέσει κανείς ότι υπό τις παρούσες πειραματικές συνθήκες η διεγερτική ικανότητα της TRH είναι μεγαλύτερη εκείνης της γκρελίνης. Αν και συμπεράσματα σχετικά με τη φυσιολογική σημασία της γκρελίνης και της TRH στην έκκριση της PRL δεν μπορούν να εξαχθούν από την παρούσα εργασία, η TRH είναι πιθανόν περισσότερο κατάλληλη ως δυναμική μέθοδος ελέγχου της έκκρισης της PRL από τη γκρελίνη.

Ενδιαφέρον είναι το εύρημα στην παρούσα μελέτη ότι όταν η TRH χορηγήθηκε μόνη της, η επίδραση της στην έκκριση της PRL ήταν παρόμοια με εκείνη της συγχορήγησης της με τη γκρελίνη. Αυτό δείχνει πρώτον ότι η TRH επικράτησε της γκρελίνης και δεύτερον ότι δεν υπήρχε συνεργιστική δράση των δύο ουσιών στην έκκριση της PRL. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η διεγερτική επίδραση της TRH στην έκκριση της PRL ενισχύεται από την προηγούμενη χορήγηση ανταγωνιστών της ντοπαμίνης (Kauppara and Ylikorkala, 1982; Hanew et al., 1991), πράγμα που σημαίνει ότι οι δύο αυτές ουσίες, TRH και ντοπαμίνη, πιθανώς χρησιμοποιούν διαφορετικές ενδοκυττάρειες θέσεις για να ρυθμίσουν την έκκριση της PRL. Η έλλειψη

συνεργιστικής δράσης της γκρελίνης και της TRH στην έκκριση της PRL υποδηλώνει ότι η δράση τους πιθανώς ασκείται μέσω των ίδιων ενδοκυττάρων μηχανισμών. Η πιθανότητα αυτή υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι η TRH προκαλεί *in vitro* την έκκριση της PRL από τα γαλακτοτρόφα κύτταρα ποντικών μέσω διέγερσης της εισόδου ιόντων ασβεστίου (Guerineau et al., 1994; Carew and Mason, 1995), μία διαδικασία που επίσης ενεργοποιείται από τη γκρελίνη για την έκκριση της GH (Yamazaki et al., 2004). Είναι πιθανόν λοιπόν ότι υπό τις παρούσες πειραματικές συνθήκες, οι ενδοκυτταριοί μηχανισμοί είχαν πλήρως διεγερθεί από την TRH, ώστε η προσθήκη της γκρελίνης δεν ήταν ικανή να αυξήσει την έκκριση της PRL περαιτέρω, αλλά αυτό απαιτεί νέες μελέτες.

Η επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH στην παρούσα εργασία δεν επηρεάσθηκε από τη χορήγηση της TRH. Εάν η TRH επηρεάζει την έκκριση της GH σε γυναίκες υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν είναι γνωστό, αφού τα μέχρι σήμερα δεδομένα είναι αντιφατικά. Η ορμόνη αυτή διεγείρει την έκκριση της GH στα πουλερικά (Kuhn et al., 2005), ενώ στον άνθρωπο μία ευαισθησία των σωματοτρόφων κυττάρων της υποφύσεως στην εξωγενή TRH έχει διαπιστωθεί σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις (Faglia et al., 1973; Panerai et al., 1977; Sack et al., 1985). Σχετικά με τα φυσιολογικά άτομα είτε δεν έχει διαπιστωθεί κάποια μεταβολή (Panerai et al., 1977) είτε έχει βρεθεί μία μικρή αύξηση στην απάντηση της GH στην TRH (Kaltsas et al., 1999), ενώ αυξημένη απάντηση στο πεπτίδιο αυτό έχει παρατηρηθεί σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Kaltsas et al., 1999). Στην παρούσα μελέτη, τα βασικά επίπεδα της GH ελαττώθηκαν βαθμιαία αλλά σημαντικά

μετά την ενδοφλέβια χορήγηση της TRH. Η δράση όμως αυτή της TRH ήταν αρκετά ασθενής, αφού το πεπτίδιο αυτό δεν ήταν σε θέση να ανταγωνισθεί τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης, όταν οι δύο ουσίες χορηγήθηκαν ταυτόχρονα. Ανασταλτική δράση της TRH στην έκκριση της GH έχει βρεθεί και σε μία προηγούμενη μελέτη σε άνδρες εθελοντές (Zanoboni et al., 1988). Οι αιτίες αυτών των διαφοροποιήσεων δεν είναι γνωστές.

Η αδυναμία της TRH να επηρεάσει τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στη GH στην παρούσα μελέτη υποδηλώνει ότι το πεπτίδιο αυτό δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση υποφυσιακής αυτής ορμόνης. Είναι φανερό ότι οι δύο διεγέρτες, που χρησιμοποιήθηκαν, δηλαδή η γκρελίνη και η TRH έχουν διαφορετικούς στόχους στην υπόφυση ως πρωτογενείς δράσεις, ενώ άλλες επιδράσεις τους είναι δευτερογενείς και λιγότερο σημαντικές. Από την άποψη αυτή, η διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL δεν αντιπροσωπεύει πιθανώς ένα φυσιολογικό μηχανισμό, αν και αυτό χρειάζεται περαιτέρω μελέτη. Η γκρελίνη είναι γνωστό ότι έχει ποικίλες όσες άλλες δράσεις, όπως ενδοκρινικές και μεταβολικές. Από την άλλη μεριά, η TRH, ο κύριος διεγέρτης της έκκρισης της TSH, υπό πειραματικές συνθήκες τουλάχιστον προκαλεί στις γυναίκες και αύξηση της έκκρισης της PRL, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι παίζει και φυσιολογικό ρόλο ως προς την ορμόνη αυτή, ενώ για τη GH δεν αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή.

Το γεγονός ότι οι πειραματικές διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης δεν σημαίνει ότι τα αποτελέσματα θα ήταν διαφορετικά εάν αυτές είχαν γίνει στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση και αυτό γιατί ούτε η

επίδραση της γκρελίνης ούτε η επίδραση της TRH στην έκκριση της GH και της PRL μεταβάλλονται στη διάρκεια του κύκλου. Πράγματι, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας, η απάντηση της GH και της PRL στη γκρελίνη δεν διέφεραν μεταξύ της αρχόμενης και προχωρημένης ωοθυλακικής φάσης καθώς και της μέσης ωχρινικής φάσης, όπως συζητήθηκε παραπάνω. Επίσης, όπως έχουν δείξει προηγούμενες μελέτες, η απάντηση της PRL στην TRH είναι παρόμοια σε διάφορες φάσεις του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου σε γυναίκες (Sawin et al., 1978; Colon et al., 1988).

Γίνεται φανερό από τα παραπάνω ότι υπό φαρμακολογικές συνθήκες παρέμβασης, η TRH εκδηλώνει σημαντική επικρατούσα επίδραση στη διεγερτική δράση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL. Εν τούτοις, η δράση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL δεν είναι προσθετική με εκείνη της TRH.

4 Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με τη μετοκλοπραμίδη.

Στην παρούσα μελέτη, διερευνήθηκε για πρώτη φορά κατά πόσον η επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL επηρεάζεται από τη δράση της μετοκλοπραμίδης. Η μετοκλοπραμίδη είναι γνωστός διεγέρτης της έκκρισης της PRL στον άνθρωπο ανταγωνιζόμενη τη δράση της ντοπαμίνης (Judd et al., 1976; Cunha-Filho et al., 2001). Μέχρι σήμερα, η ντοπαμίνη είναι η μόνη γνωστή υποθαλαμική ουσία, η οποία πιστεύεται ότι ρυθμίζει την έκκριση της PRL από την υπόφυση (del pozo and Brownell, 1979; Raymond and Porter, 1985; Ben-Jonathan and Hnasko, 2001), αν και η TRH είναι επίσης πιθανόν

να συμμετέχει (Hirvonen et al., 1976; Andreassen et al., 1979; Kaupilla and Ylikorkala, 1982), όπως περιγράφηκε παραπάνω.

Η παρούσα μελέτη δείχνει ότι τόσο η γκρελίνη όσο και η μετοκλοπραμίδη όταν χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως με τη μορφή οξείας ενέσεως διέγειραν την έκκριση της PRL σε φυσιολογικές γυναίκες. Η μετοκλοπραμίδη προκάλεσε μεγαλύτερη αύξηση από ό,τι η γκρελίνη, αλλά η σύγκριση μεταξύ των δύο αυτών ουσιών σε ό,τι αφορά στη διεγερτική τους ικανότητα, είναι δύσκολη, αφού στην παρούσα μελέτη δεν έγινε έλεγχος της ισοδυναμίας δόσεων. Μία τέτοια μελέτη θα απαιτούσε μεγάλο αριθμό γυναικών και μεγάλο εύρος δόσεων μεταξύ των οποίων και φυσιολογική δόση γκρελίνης, η οποία όμως είναι δύσκολο να προσδιορισθεί. Η δόση της γκρελίνης, που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, φαίνεται ότι προκαλεί φαρμακολογικές συγκεντρώσεις της ουσίας αυτής στην κυκλοφορία του αίματος (Veldhuis et al., 2006; Kok et al., 2008a), ενώ και η δόση της μετοκλοπραμίδης έχει μεν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν (Messinis et al., 1982) είναι όμως επίσης υψηλή. Είναι φανερό ότι συμπεράσματα σχετικά με τη φυσιολογική σημασία της γκρελίνης στην έκκριση της PRL δεν μπορούν να εξαχθούν από την παρούσα μελέτη. Παρ' όλα αυτά, είναι πιθανόν ότι υπό τις παρούσες πειραματικές συνθήκες, η διεγερτική ικανότητα της μετοκλοπραμίδης είναι μεγαλύτερη εκείνης της γκρελίνης και συνεπώς προτιμότερη ως δυναμική δοκιμασία ελέγχου της έκκρισης της PRL.

Ένα ενδιαφέρον εύρημα στην παρούσα μελέτη είναι ότι όταν η μετοκλοπραμίδη χορηγήθηκε μόνη της, η διεγερτική της επίδραση στην

έκκριση της PRL ήταν παρόμοια με εκείνη της ταυτόχρονης χορήγησης της με τη γκρελίνη. Αυτό υποδηλώνει ότι η μετοκλοπραμίδη υπερσχύει της γκρελίνης. Στην παρούσα εργασία διαπιστώθηκε ότι η ντοπαμινεργική ουσία, βρωμοκρυπτίνη, ανέστειλε τη δράση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL. Όμως το αντίθετο, δηλαδή η ελάττωση της ντοπαμινεργικής δράσης με τη χορήγηση της μετοκλοπραμίδης δεν ενίσχυσε τη δράση της γκρελίνης σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με την TRH. Πράγματι, αν και η διεγερτική δράση της TRH στην έκκριση της PRL αναστέλλεται από τη ντοπαμίνη ή τη βρωμοκρυπτίνη (Hirvonen et al., 1976; Login et al., 1991; Cui et al., 1994), η επίδραση αυτή της TRH ενισχύεται *in vitro* από την ελάττωση της ντοπαμίνης (Martinez de la Escalera et al., 1988) και *in vivo* μετά από χορήγηση ενός αναστολέα της ντοπαμίνης (Kauppila and Ylikorkala, 1982; Ho et al., 1985; Hanew et al., 1992). Είναι πιθανόν ότι στην περίπτωση των ανταγωνιστών της ντοπαμίνης και της TRH, η κάθε μία ουσία διεγείρει ένα διαφορετικό κλάσμα της έκκρισης της ενδοκυττάριας PRL μέσω διαφορετικής οδού (Ho et al., 1985). Εν τούτοις, στην περίπτωση της γκρελίνης, η απουσία συνεργιστικής δράσης υποστηρίζει μία υπόθεση ότι, υπό τις παρούσες πειραματικές διαδικασίες, η πρωτεΐνη αυτή ήταν υπεύθυνη της έκκρισης ενός μικρού μόνο κλάσματος της ενδοκυττάριας PRL, κάτι όμως που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Η διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH στην παρούσα εργασία δεν επηρεάστηκε από την ταυτόχρονη χορήγηση της μετοκλοπραμίδης. Εάν η μετοκλοπραμίδη επηρεάζει την έκκριση της GH σε γυναίκες υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν είναι γνωστό. Προηγούμενες

μελέτες έχουν δείξει αντιφατικά δεδομένα. Υπό ορισμένες συνθήκες έχει διαπιστωθεί ότι η μετοκλοπραμίδη είτε διεγείρει τη βασική έκκριση της GH είτε αυξάνει τη διεγερτική επίδραση της GHRH στην έκκριση της GH σε άνδρες (Cohen et al., 1979; Arce et al., 1991). Άλλες μελέτες όμως δεν έχουν δείξει επίδραση της μετοκλοπραμίδης στη διεγερτική επίδραση διαφόρων ουσιών στην έκκριση της GH (Masala et al., 1978; Jordan et al., 1986). Τα διαφορετικά αποτελέσματα πιθανώς οφείλονται στα διαφορετικά πρωτόκολλα και ερευνητικές συνθήκες ή πιθανώς δείχνουν ότι η ντοπαμίνη δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα έκκρισης της GH στον άνθρωπο. Στην παρούσα εργασία, η μετοκλοπραμίδη δεν επηρέασε την έκκριση της GH είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με τη γκρελίνη. Σε προηγούμενες μελέτες σε γυναίκες γόνιμες ή υπογόνιμες με ή χωρίς ενδομητρίωση, δεν διαπιστώθηκε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της GH μετά από την οξεία χορήγηση μετοκλοπραμίδης (Cunha-Filho et al., 2002). Είναι φανερό ότι ο κεντρικός ρόλος της ντοπαμίνης στην έκκριση της GH δεν είναι σημαντικός (Devesa et al., 1992), όπως εξηγείται και παρακάτω με τη χορήγηση της βρωμοκρυπτίνης.

Το γεγονός ότι οι πειραματικές διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν στην ωχρινική φάση του κύκλου δεν σημαίνει ότι τα αποτελέσματα θα ήταν διαφορετικά, εάν αυτές είχαν πραγματοποιηθεί στην ωοθυλακική φάση. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι τόσο η έκκριση της PRL όσο και η έκκριση της GH δεν επηρεάστηκαν από το στάδιο του κύκλου, όπως έδειξαν τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης και έχουν ήδη συζητηθεί παραπάνω. Επίσης, σχετικά με τη μετοκλοπραμίδη, προηγούμενα δεδομένα δείχνουν ότι

η διεγερτική επίδραση της μετοκλοπραμίδης στην έκκριση της PRL δεν διέφερε μεταξύ των διαφόρων σταδίων του γεννητικού κύκλου γυναικών (Seki and Nagata, 1990).

Γίνεται φανερό από τα παραπάνω ότι η οξεία χορήγηση γκρελίνης στην έκκριση της PRL δεν είναι προσθετική με εκείνη της μετοκλοπραμίδης. Αυτό ενισχύει τον πρωταρχικό ρόλο της ντοπαμίνης στη ρύθμιση της έκκρισης της PRL και υποδηλώνει ότι η αντντοπαμινεργική αυτή ουσία υπερισχύει της γκρελίνης, η δε τελευταία είναι πιθανώς υπεύθυνη για την έκκριση ενός μικρού μόνο κλάσματος της ενδοκυττάριας PRL από την υπόφυση γυναικών. Τα παραπάνω βεβαίως χρήζουν περαιτέρω έρευνας.

5 Επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL μετά από προηγούμενη χορήγηση βρωμοκρυπτίνης.

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε εάν η αυξημένη ντοπαμινεργική δραστηριότητα μπορεί να επηρεάσει τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL. Για το σκοπό αυτό, σε φυσιολογικές προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χορηγήθηκε η κλασσική ντοπαμινεργική ουσία, βρωμοκρυπτίνη. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η βρωμοκρυπτίνη ανταγωνίστηκε πλήρως τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα σχετικά με πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της γκρελίνης και του ντοπαμινικού συστήματος. Επί

παραδείγματι, σε αντίθεση με τον άνθρωπο, σε άρρενες και θήλεις προηβικούς ποντικούς, η συστηματική και κεντρική χορήγηση γκρελίνης ανέστειλε την έκκριση της PRL μέσω ενός εξω-υποφυσιακού μηχανισμού, ο οποίος δεν περιλάμβανε τους υποδοχείς της ντοπαμίνης (Tena-Sempere et al., 2004). Πιο πρόσφατα δεδομένα σε τρωκτικά έχουν δείξει ότι διάφορα μέρη του εγκεφάλου, περιλαμβανομένου του υποθαλάμου, περιέχουν νευρώνες, οι οποίοι συνεκφράζουν τον ντοπαμινικό υποδοχέα τύπου 1 και τον υποδοχέα GHS-R (Jiang et al., 2006). Σε τέτοιους νευρώνες, η γκρελίνη είχε την ικανότητα να ενισχύει την από την ντοπαμίνη προκαλούμενη άθροιση κυκλικού AMP, επηρεάζοντας έτσι σημαντικά το εύρος του ντοπαμινικού σήματος (Jiang et al., 2006). Πρόσθετα δεδομένα έχουν δείξει ότι η γκρελίνη μπορεί να ενεργοποιεί το ντοπαμινικό σύστημα στην κοιλιακή καλυπττήρια περιοχή του εγκεφάλου σε τρωκτικά (Abizaid et al., 2006; Jerlhag et al., 2006; Quarta et al., 2009) και να προστατεύει τους ντοπαμινικούς νευρώνες της μέλαινας ουσίας, ελαττώνοντας την απόπτωση (Jiang et al., 2008). Εάν η ενεργοποιός αυτή δράση της γκρελίνης στους ντοπαμινικούς νευρώνες ισχύει και για τον υποθάλαμο, τότε θα έπρεπε ο χαρακτήρας της να είναι κατασταλτικός και όχι διεγερτικός στην έκκριση της PRL. Είναι φανερό ότι ο ακριβής μηχανισμός, με τον οποίο η γκρελίνη επηρεάζει την έκκριση της PRL, χρήζει περαιτέρω μελέτης.

Στην παρούσα εργασία, η χορήγηση βρωμοκρυπτίνης δεν επηρέασε τα βασικά επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα. Αν και η βρωμοκρυπτίνη χορηγήθηκε για μικρό χρονικό διάστημα, δεν υπάρχουν δεδομένα στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση ντοπαμινεργικών ουσιών στην έκκριση

της γκρελίνης. Υπάρχει μόνο μία μελέτη, στην οποία η χορήγηση βρωμοκρυπτίνης σε θηλάζοντες θήλεις ποντικούς δεν επηρέασε τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα, αν και ελάττωσε την έκκριση της PRL (Shibata et al., 2004).

Ένα ενδιαφέρον εύρημα στην παρούσα εργασία είναι η κατασταλτική επίδραση της βρωμοκρυπτίνης στην από τη γκρελίνη προκαλούμενη έκκριση της GH. Το εύρημα αυτό παρουσιάζεται επίσης για πρώτη φορά και υποδηλώνει πιθανές διασυνδέσεις μεταξύ ντοπαμινικών μηχανισμών και έκκρισης της GH. Ο στόχος της παρούσης μελέτης δεν ήταν η διερεύνηση τέτοιων πιθανών σχέσεων, η δε μέτρηση της GH έγινε προκειμένου να εξακριβωθεί ότι η εξωγενώς χορηγούμενη γκρελίνη ήταν βιολογικά δραστική. Παλαιότερα δεδομένα έδειξαν ότι η βρωμοκρυπτίνη άσκησε μία δοσο-εξαρτώμενη κατασταλτική δράση στην έκκριση της GH από κύτταρα πρόσθιας υποφύσεως ποντικών (Wood et al., 1987), ενώ στον άνθρωπο, ασκώντας αντίθετη δράση, η βρωμοκρυπτίνη ενίσχυσε τη διεγερτική επίδραση ενός αναλόγου της εγκεφαλίνης στην έκκριση της GH (Foldes et al., 1986). Πολύ πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει τη διεγερτική επίδραση της βρωμοκρυπτίνης στην έκκριση της GH στον άνθρωπο, αφού η χορήγηση της ουσίας αυτής σε υγιείς παχύσαρκες γυναίκες επί 8 ημέρες κατά την αρχόμενη ωοθυλακική φάση του κύκλου ενίσχυσε τη νυχθήμερη έκκριση της GH, υποδηλώνοντας ένα ρόλο για την ντοπαμίνη, μέσω των D2 υποδοχέων, στη ρύθμιση της έκκρισης της GH (Kok et al., 2008b). Η απουσία σημαντικής αύξησης της GH μετά από τη χορήγηση βρωμοκρυπτίνης στην παρούσα μελέτη θα μπορούσε να αποδοθεί στη βραχεία χορήγηση και/ή στο μικρό αριθμό περιπτώσεων.

Σχετικά με παθολογικές καταστάσεις, όπως υποφυσιακών αδενωμάτων που εκκρίνουν GH, η επίδραση των αγωνιστών της ντοπαμίνης δεν είναι διεγερτική αλλά ανασταλτική τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Nishina et al., 2005; Colao et al., 2007). Η διαφορετική αυτή δράση της βρωμοκρυπτίνης σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις είναι δύσκολο να εξηγηθεί, τα δε δεδομένα της παρούσης μελέτης προσθέτουν στην υπάρχουσα αβεβαιότητα σχετικά με τον πιθανό φυσιολογικό ρόλο της ντοπαμίνης στην έκκριση της GH.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η βρωμοκρυπτίνη ανέστειλε τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL και ελάττωσε την απάντηση της GH στην ίδια ουσία. Είναι φανερό ότι απαιτούνται περαιτέρω μελέτες, προκειμένου να διευκρινισθεί ο μηχανισμός αυτών των αλληλεπιδράσεων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η εξωγενής ενδοφλέβια χορήγηση γκρελίνης σε γυναίκες προκάλεσε ταχεία και σημαντική αύξηση των επιπέδων της ουσίας αυτής στο πλάσμα, ανεξαρτήτως της φάσης του κύκλου και της χορηγούμενης δόσης.
2. Η γκρελίνη χορηγούμενη εξωγενώς διέγειρε την έκκριση της GH και της PRL, αυξάνοντας σημαντικά τα επίπεδα τους στον ορό του αίματος στην αρχόμενη και προχωρημένη ωοθυλακική φάση καθώς και στη μέση ωχρινική φάση του φυσιολογικού κύκλου.
3. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην απάντηση της GH και της PRL στη γκρελίνη στις τρεις φάσεις του κύκλου, υποδηλώνοντας ότι τα ωοθηκικά στεροειδή δεν επηρεάζουν την από τη γκρελίνη ρύθμιση της έκκρισης των παραπάνω ορμονών.
4. Η χορήγηση γκρελίνης δεν επηρέασε τις βασικές τιμές των γοναδοτροφινών στο αίμα κατά τις τρεις φάσεις του κύκλου. Επίσης, η γκρελίνη δεν επηρέασε τη μετά από τη χορήγηση GnRH έκκριση της FSH και της LH στην αρχόμενη ωοθυλακική φάση, υποδηλώνοντας ότι η ουσία αυτή δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση των υποφυσιακών αυτών ορμονών.
5. Η ενδοφλέβια χορήγηση TRH προκάλεσε σημαντική αύξηση της έκκρισης της PRL. Η αύξηση ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη, που προκλήθηκε από τη χορήγηση γκρελίνης, υποδηλώνοντας ότι η TRH πιθανώς αποτελεί ισχυρότερο διεγέρτη της έκκρισης της PRL από τη γκρελίνη στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση του κύκλου.

6. Η ταυτόχρονη χορήγηση γκρελίνης και TRH δεν αύξησε την PRL περισσότερο από την TRH μόνη της, υποδηλώνοντας ότι οι δύο αυτές ουσίες δεν έχουν αθροιστική δράση στην έκκριση της PRL.
7. Είναι πιθανόν η γκρελίνη και η TRH να ασκούν τη δράση τους στην έκκριση της PRL μέσω κοινών ενδοκυττάρων μηχανισμών. Οι μηχανισμοί αυτοί πιθανώς διεγέρθηκαν σε μέγιστο βαθμό από την TRH.
8. Η ενδοφλέβια ένεση μετοκλοπραμίδης διεγείρει την έκκριση της PRL, αυξάνοντας την σε επίπεδα, τα οποία ήταν υψηλότερα από εκείνα μετά από τη χορήγηση γκρελίνης. Αυτό πιθανώς δείχνει ότι η μετοκλοπραμίδα είναι ισχυρότερος διεγέρτης της PRL από τη γκρελίνη.
9. Η ταυτόχρονη χορήγηση γκρελίνης και μετοκλοπραμίδης διεγείρει την έκκριση της PRL σε επίπεδα παρόμοια με τη χορήγηση της μετοκλοπραμίδης μόνης της. Αυτό δείχνει ότι η δράση των δύο αυτών ουσιών δεν είναι αθροιστική.
10. Η βρωμοκρυπτίνη, χορηγούμενη πριν από τη γκρελίνη, ανέστειλε πλήρως τη δράση της ουσίας αυτής στην έκκριση της PRL. Αυτό υποδηλώνει ότι η ντοπαμίνη υπερισχύει της γκρελίνης στη δράση της αυτή και αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της έκκρισης της PRL στις γυναίκες.
11. Η βρωμοκρυπτίνη ελάττωσε τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH. Ο βαθμός, στον οποίο η ντοπαμίνη μπορεί να συμμετέχει στην έκκριση της ορμόνης αυτής, δεν έχει διερευνηθεί.
12. Από όλα τα παραπάνω προκύπτει ότι η γκρελίνη επηρεάζει ορισμένες μόνο παραμέτρους της λειτουργίας του υποθαλαμο-υποφυσιακού

συστήματος. Οι βασικές όμως υποφυσιακές ορμόνες, FSH και LH, εκκρίνονται ανεξάρτητα της δράσης της ουσίας αυτής, ενώ οι γνωστές ορμονικές επιδράσεις της γκρελίνης στην υπόφυση δεν επηρεάζονται από τα ωοθηκικά στεροειδή. Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας παρέχουν το έναυσμα για συνέχιση της έρευνας, η οποία θα μελετήσει περαιτέρω τον πιθανό ρόλο της γκρελίνης στην αναπαραγωγική λειτουργία του ανθρώπου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γκρελίνη είναι μία πεπτιδική ορμόνη με 28 αμινοξέα, η οποία απομονώθηκε προσφάτως από το στόμαχο, ως ο ενδογενής διεγέρτης των υποδοχέων έκκρισης της αυξητικής ορμόνης (GH). Ο μηχανισμός, με τον οποίο η γκρελίνη διεγείρει την έκκριση της GH και της προλακτίνης (PRL), δεν είναι γνωστός. Επίσης, δεν είναι γνωστό εάν η γκρελίνη επηρεάζει την υποφυσιακή έκκριση των γοναδοτροφινών ορμονών στις γυναίκες. Η παρούσα εργασία έγινε προκειμένου να εξετάσει 1) τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH και της PRL στη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, δηλαδή με διαφορετική στάθμη ωοθηκικών ορμονών 2) την επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών στην διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου και 3) τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL σε σχέση με την επίδραση της TRH, της μετοκλοπραμίδης (MC) και της βρωμοκρυπτίνης

Υλικό και Μέθοδοι: Στην εργασία συμπεριλήφθηκαν 18 γυναίκες με φυσιολογικό γεννητικό κύκλο, οι οποίες συμμετείχαν συνολικά σε 178 πειραματικές διαδικασίες. Οι γυναίκες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, ανάλογα με τη δόση της γκρελίνης, δηλαδή στην ομάδα Α (υψηλή δόση, 1 $\mu\text{g/kg}$, $n=10$) και στην ομάδα Β (υπομέγιστη δόση 0.3 $\mu\text{g/kg}$, $n=8$). Η γκρελίνη χορηγήθηκε με τη μορφή οξείας ενδοφλέβιας ένεσης. Οι γυναίκες της ομάδας Α μελετήθηκαν σε πέντε κύκλους ως εξής: στον 1^ο κύκλο, χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός εφ' άπαξ ενδοφλεβίως (2 ml), όπως περιγράφεται στο 2^ο κύκλο, στον οποίο χορηγήθηκε γκρελίνη τρεις φορές, δηλαδή την 3^η ημέρα, στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση (ωοθυλάκιο 16-17 mm) και στη μέση

ωχρινική φάση (7 ημέρες μετά την ωοθυλακιορρηξία), μετά από προηγούμενη χορήγηση εικονικού φαρμάκου (2^η-3^η ημέρα), στον 3^ο κύκλο, χορηγήθηκαν με τη μορφή οξείας ενδοφλέβιας ένεσης την 3^η ημέρα GnRH (100 µg), στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση TRH (200 µg) και στη μέση ωχρινική φάση μετοκλοπραμίδη (MC, 20 mg), στον 4^ο κύκλο, χορηγήθηκε την 3^η ημέρα γκρελίνη και GnRH, στην προχωρημένη ωοθυλακική φάση γκρελίνη και TRH και στη μέση ωχρινική φάση γκρελίνη και MC και στον 5^ο κύκλο, χορηγήθηκε την 3^η ημέρα γκρελίνη, μετά από προηγούμενη χορήγηση βρωμοκρυπτίνης (2^η-3^η ημέρα). Οι γυναίκες της ομάδας Β μελετήθηκαν σε δύο κύκλους ως εξής: στον 1^ο κύκλο, χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός και στον 2^ο κύκλο, γκρελίνη στις τρεις φάσεις του κύκλου, όπως στην ομάδα Α. Δείγματα αίματος λήφθηκαν από τις γυναίκες και των δύο ομάδων σε κάθε πειραματική διαδικασία στους χρόνους -15, 0 (ενδοφλέβια ένεση), 15, 30, 45, 60, 75, 90 και 120 min. Επιπλέον δείγματα αίματος λήφθηκαν το πρωί της 2^{ης} ημέρας στον 1^ο, 2^ο και 4^ο κύκλο της ομάδας Α. Στο πλάσμα μετρήθηκε η ολική γκρελίνη και στον ορό του αίματος οι FSH, LH, GH, PRL, οιστραδιόλη και προγεστερόνη. Οι μετρήσεις έγιναν με ραδιοανοσοβιολογικές ή ανοσοραδιομετρικές μεθόδους. Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο NCSS 2001.

Αποτελέσματα: Στις πειραματικές διαδικασίες και των δύο ομάδων, τα επίπεδα της γκρελίνης στο πλάσμα αυξήθηκαν σημαντικά μετά τη χορήγηση της. Επίσης, σημαντικά αυξήθηκαν οι τιμές της GH και της PRL. Η απάντηση της GH και της PRL στη γκρελίνη δεν άλλαξε σημαντικά στις τρεις φάσεις του κύκλου και στις δύο ομάδες. Σε αντίθεση με τη GnRH, η χορήγηση της γκρελίνης δεν επηρέασε την έκκριση της FSH και της LH και στις τρεις φάσεις

του κύκλου. Η διεγερτική επίδραση της GnRH στην έκκριση των γοναδοτροφινών δεν επηρεάσθηκε από τη χορήγηση της γκρελίνης. Η TRH και η MC προκάλεσαν σημαντική αύξηση των τιμών της PRL, η οποία ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη, που προκάλεσε η γκρελίνη μόνη της και παρόμοια με εκείνη, που προκάλεσε η ταυτόχρονη χορήγηση της γκρελίνης και της TRH ή της γκρελίνης και της MC. Η προηγηθείσα θεραπεία με βρωμοκρυπτίνη ανέστειλε πλήρως τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL και ελάττωσε σημαντικά την επίδραση της στην έκκριση της GH.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης δείχνουν για πρώτη φορά ότι 1) η διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της GH και της PRL δεν επηρεάσθηκε από το στάδιο του κύκλου 2) η γκρελίνη δεν επηρέασε τη βασική ή τη μετά διέγερση με GnRH έκκριση των γοναδοτροφινών στη διάρκεια του κύκλου 3) η TRH και η MC εκδήλωσαν μία εντονότερη διεγερτική επίδραση στην έκκριση της PRL από ό,τι η γκρελίνη 4) η δράση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL δεν ήταν προσθετική της δράσης της TRH ή της MC 5) η βρωμοκρυπτίνη ανέστειλε τη διεγερτική επίδραση της γκρελίνης στην έκκριση της PRL. Πιθανολογείται ότι τα ωθηκικά στεροειδή δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της έκκρισης της PRL και της GH από τη γκρελίνη, ενώ η γκρελίνη δεν φαίνεται να συμμετέχει στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών στις γυναίκες. Περισσότερες μελέτες απαιτούνται, προκειμένου να διερευνηθεί περαιτέρω ο ρόλος της γκρελίνης στη λειτουργία του υποθαλαμο-υποφυσιακού άξονα καθώς και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της γκρελίνης και του ντοπαμινικού συστήματος στην έκκριση της PRL και της GH στις γυναίκες.

SUMMARY

THE ROLE OF GHRELIN IN THE SECRETION OF PROLACTIN AND GONADOTROPHINS IN WOMEN

Christina I. Messini

Ghrelin is a 28 amino-acids peptide hormone that has been recently isolated from the stomach as the endogenous ligand of the growth hormone (GH) secretagogue receptor. The mechanism via which ghrelin stimulates the secretion of GH and prolactin (PRL) is not clear. Also, it is not known whether ghrelin can affect the secretion of gonadotrophins from the pituitary in women. The present study was undertaken to investigate 1) the stimulating effect of ghrelin on GH and PRL secretion during the normal menstrual cycle, i.e. in the presence of different levels of ovarian hormones 2) the effect of ghrelin on FSH and LH secretion from the pituitary during the normal menstrual cycle and 3) the stimulating effect of ghrelin on PRL secretion in relation to the administration of TRH, metoclopramide or bromocriptine.

Materials and Methods: Eighteen normally cycling women volunteered for the study. A total of 178 experimental procedures were performed. Based on the dose of ghrelin, which was given as an acute i.v. injection, the women were divided into group A (high dose, 1 µg/kg, n=10) and group B (submaximal dose, 0.3 µg/kg, n=8). The women of group A were investigated in five cycles as follows: *in cycle 1*, they were given an acute i.v. injection of normal saline (2 ml), as it is described in the next cycle, *in cycle 2*, they were given ghrelin in the early (day 3) and late follicular phase (follicle size 16-17 mm by ultrasound) as well as in the midluteal phase (7 days after ovulation) preceded by the administration of placebo from cycle days 2 to 3, *in cycle 3*,

they were given on day 3 an acute i.v. injection of GnRH (100 µg), in the late follicular phase an acute i.v. injection of TRH (200 µg) and in the midluteal phase an acute i.v. injection of metoclopramide (MC, 20 mg), *in cycle 4*, they were given on day 3 ghrelin plus GnRH, in the late follicular phase ghrelin plus TRH and in the midluteal phase ghrelin plus MC and *in cycle 5*, they were given on day 3 ghrelin preceded by bromocriptine treatment from days 2 to 3. The women of group B were investigated in two cycles as follows: *in cycle 1*, the women were given normal saline and *in cycle 2*, ghrelin in the three phases of the cycle as described for group A. Blood samples were taken from the women of both groups during each experimental procedure at -15, 0 (i.v. injection), 15, 30, 45, 60, 75, 90 and 120 min. Further blood samples were also taken in the morning of day 2 in cycles 1, 2 and 4 of group A. Plasma total ghrelin and serum GH, PRL, FSH, LH, estradiol and progesterone were measured in all blood samples. Hormones were measured by a radioimmunoassay or an immunoradiometric assay. The statistical analysis was performed using the statistical package NCSS 2001.

Results: In all experiments of the two groups, plasma ghrelin concentrations increased markedly following its injection. Also, GH and PRL levels increased significantly. The response of GH and PRL to ghrelin did not change throughout the menstrual cycle in both groups. In contrast to GnRH, the injection of ghrelin did not affect the secretion of FSH and LH in all three phases of the cycle. The stimulating effect of GnRH on gonadotrophin secretion was not influenced by the injection of ghrelin. TRH and MC induced a marked increase in serum PRL levels that was significantly greater than that induced by ghrelin alone and similar to that seen during the simultaneous

administration of ghrelin and TRH or ghrelin and MC. Pretreatment with bromocriptine completely abolished the stimulating effect of ghrelin on PRL secretion and attenuated the effect of the same substance on GH secretion.

Conclusions: The results of the present study demonstrate for the first time that 1) the stimulating effect of ghrelin on GH and PRL secretion was not affected by the stage of the cycle 2) ghrelin did not affect basal or GnRH-induced FSH and LH secretion during the cycle 3) TRH or MC exerted a stronger stimulating effect than ghrelin on PRL secretion 4) the action of ghrelin on the secretion of PRL was not additive with that of TRH or MC 5) bromocriptine blocked the stimulating effect of ghrelin on PRL secretion. It is suggested that ovarian steroids do not play an important role in the control of PRL and GH secretion by ghrelin, while ghrelin does not seem to participate in the control of gonadotrophin secretion in women. More studies are needed to clarify further these issues as well as the interaction between ghrelin and the dopaminergic system in terms of PRL and GH secretion in women.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abizaid A, Liu ZW, Andrews ZB, Shanabrough M, Borok E, Elsworth JD, Roth RH, Sleeman MW, Picciotto MR, Tschöp MH, Gao XB, Horvath TL (2006) Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite. *J Clin Invest.* 116, 3229-39.

Akerman SN, Zorec R, Cheek TR, Moreton RB, Berridge MJ, Mason WT (1991) Fura-2 imaging of thyrotropin-releasing hormone and dopamine effects on calcium homeostasis of bovine lactotrophs. *Endocrinology.* 129, 475-88.

Anderson SM, Shah N, Evans, WS, Patrie JT, Bowers CY, Veldhuis JD (2001) Short-term estradiol supplementation augments growth hormone (GH) secretory responsiveness to dose-varying GH-releasing peptide infusions in healthy postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 86, 551-60.

Ando T, Komaki G, Naruo T, Okabe K, Takii M, Kawai K, Konjiki F, Takei M, Oka T, Takeuchi K, Masuda A, Ozaki N, Suematsu H, Denda K, Kurokawa N, Itakura K, Yamaguchi C, Kono M, Suzuki T, Nakai Y, Nishizono-Maher A, Koide M, Murakami K, Nagamine K, Tomita Y, Ookuma K, Tomita K, Tonai E, Ooshima A, Ishikawa T, Ichimaru Y. (2006) Possible role of preproghrelin gene polymorphisms in susceptibility to bulimia nervosa. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 141B, 929-34.

Andreassen B, Huth J, Tyson JE (1979) Plasma thyrotropin-releasing hormone, prolactin, thyrotropin, and thyroxine concentrations following the intravenous or oral administration of thyrotropin-releasing hormone. *Am J Obstet Gynecol.* 135, 737-42.

Arafat MA, Otto B, Rochlitz H, Tschop M, Bahr V, Mohlig M, Diederich S, Spranger J, Pfeiffer AF (2005) Glucagon inhibits ghrelin secretion in humans. *Eur J Endocrinol.* 153, 397-402.

Arce V, Lima L, Lois N, Rodríguez A, Díaz MJ, Tresguerres JA, Devesa J (1991) Role of central dopaminergic pathways in the neural control of growth hormone secretion in normal men: studies with metoclopramide. *Neuroendocrinology.* 53, 143-9.

Arvat E, Gianotti L, Broglio F, Maccagno B, Bertagna A, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E (1997) Oestrogen replacement does not restore the reduced GH-releasing activity of Hexarelin, a synthetic hexapeptide, in post-menopausal women. *Eur J Endocrinol.* 136, 483-7

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 peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 86, 1169-74.

Ashworth R, Hinkle PM (1996) Thyrotropin-releasing hormone-induced intracellular calcium responses in individual rat lactotrophs and thyrotrophs. *Endocrinology*. 137, 5205-12.

Barazzoni R, Bosutti A, Stebel M, Cattin MR, Roder E, Visintin L, Cattin L, Biolo G, Zanetti M, Guarnieri G (2005) Ghrelin regulates mitochondrial-lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution in liver and skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 288, E228-35.

Barber TM, Casanueva FF, Karpe F, Lage M, Franks S, McCarthy MI, Wass JA (2008) Ghrelin levels are suppressed and show a blunted response to oral glucose in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 158, 511-6

Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA (2003) Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 88, 2180-4

Bellone S, Rapa A, Vivenza D, Vercellotti A, Petri A, Radetti G, Bellone J, Broglio F, Ghigo E, Bona G (2004) Circulating ghrelin levels in the newborn are positively associated with gestational age. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 60, 613-7.

Bellone S, Baldelli R, Radetti G, Rapa A, Vivenza D, Petri A, Savastio S, Zaffaroni M, Broglio F, Ghigo E, Bona G (2006) Ghrelin secretion in preterm neonates progressively increases and is refractory to the inhibitory effect of food intake. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 1929-33.

Ben-Jonathan N, Hnasko R (2001) Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocr Rev.* 22, 724-63

Bodart V, Febbraio M, Demers A, McNicoll N, Pohankova P, Perreault A, Sejlitz T, Escher E, Silverstein RL, Lamontagne D, Ong H (2002) CD36 mediates the cardiovascular action of growth hormone-releasing peptides in the heart. *Circ Res.* 90, 844-9.

Bouhours-Nouet N, Boux de Casson F, Rouleau S, Douay O, Mathieu E, Boudierlique C, Gillard P, Limal JM, Descamps P, Coutant R (2006) Maternal and cord blood ghrelin in the pregnancies of smoking mothers: possible markers of nutrient availability for the fetus. *Horm Res.* 66, 6-12.

Bowers CY, Friesen HG, Folkers K (1973) Further evidence that TRH is also a physiological regulator of PRL secretion in man. *Biochem Biophys Res Commun.* 51, 512-21.

Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodam F, Destefanis S, Gauna C, van der Lely AJ, Deghenghi R, Bo M, Arvat E, Ghigo E (2003) The

endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 88, 1537-42.

Broglia F, Gianotti L, Destefanis S, Fassino S, Abbate Daga G, Mondelli V, Lanfranco F, Gottero C, Gauna C, Hofland L, Van der Lely AJ, Ghigo E (2004) The endocrine response to acute ghrelin administration is blunted in patients with anorexia nervosa, a ghrelin hypersecretory state. *Clin Endocrinol (Oxf).* 60, 592-9

Broglia F, Prodham F, Riganti F, Gottero C, Destefanis S, Granata R, Muccioli G, Abribat T, van der Lely AJ, Ghigo E (2008) The continuous infusion of acylated ghrelin enhances growth hormone secretion and worsens glucose metabolism in humans. *J Endocrinol Invest.* 31, 788-94.

Caminos JE, Tena-Sempere M, Gaytan F, Sanchez-Criado JE, Barreiro ML, Nogueiras R, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C (2003) Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary *Endocrinology.* 144, 1594-602

Carew MA, Mason WT (1995) Control of Ca^{2+} entry into rat lactotrophs by thyrotrophin-releasing hormone. *J Physiol.* 486, 349-60.

Carmignac DF, Bennett PA, Robinson IC (1998) Effects of growth hormone secretagogues on prolactin release in anesthetized dwarf (dw/dw) rats. *Endocrinology.* 139, 3590-6.

Chahal HS, Drake WM (2007) The endocrine system and ageing. *J Pathol.* 211, 173-80.

Chiesa C, Osborn JF, Haass C, Natale F, Spinelli M, Scapillati E, Spinelli A, Pacifico L (2008) Ghrelin, leptin, IGF-1, IGFBP-3, and insulin concentrations at birth: is there a relationship with fetal growth and neonatal anthropometry? *Clin Chem.* 54, 550-8.

Christian HC, Chapman LP, Morris JF (2007) Thyrotrophin-releasing hormone, vasoactive intestinal peptide, prolactin-releasing peptide and dopamine regulation of prolactin secretion by different lactotroph morphological subtypes in the rat. *J Neuroendocrinol.* 19, 605-13.

Chu MC, Cosper P, Nakhuda GS, Lobo RA (2006) A comparison of oral and transdermal short-term estrogen therapy in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Fertil Steril.* 86, 1669-75.

Cohen HN, Hay ID, Beastall GH, Thomson JA (1979) Metoclopramide induced growth hormone release in hypogonadal males. *Clin Endocrinol (Oxf).* 11, 95-7.

Colao A, Filippella M, Pivonello R, Di Somma C, Faggiano A, Lombardi G (2007) Combined therapy of somatostatin analogues and dopamine agonists in the treatment of pituitary tumours. *Eur J Endocrinol.* 156 Suppl 1:S57-63.

Colon JM, Lessing JB, Yavetz C, Peyser MR, Ganguly M, Weiss G (1988) The effect of thyrotropin-releasing hormone stimulation on serum levels of gonadotropins in women during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *Fertil Steril.* 49, 809-12.

Cui ZJ, Gorelick FS, Dannies PS. (1994) Calcium/calmodulin-dependent protein kinase-II activation in rat pituitary cells in the presence of thyrotropin-releasing hormone and dopamine. *Endocrinology.* 134, 2245-50

Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS (2001) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes.* 50, 1714-9.

Cummings DE, Frayo RS, Marmonier C, Aubert R, Chapelot D (2004) Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 287, E297-304.

Cunha-Filho JS, Gross JL, Vettori D, Dias EC, Passos EP. (2001) Growth hormone and prolactin secretion after metoclopramide administration (DA2 receptor blockade) in fertile women. *Horm Metab Res* 33, 536-9.

Cunha-Filho JS, Gross JL, Lemos NA, Dias EC, Vettori D, Souza CA, Passos EP (2002) Prolactin and growth hormone secretion after thyrotrophin-releasing hormone infusion and dopaminergic (DA2) blockade in infertile patients with minimal/mild endometriosis. *Hum Reprod.* 17, 960-5.

Dafopoulos K, Sourlas D, Kallitsaris A, Pournaras S, Messinis IE (2008) Blood ghrelin, resistin, and adiponectin concentrations during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril*. 2008 Sep 29. [Epub ahead of print].

Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M (2000) Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*. 141, 4255-61.

DelParigi A, Tschop M, Heiman ML, Salbe AD, Vozarova B, Sell SM, Bunt JC, Tataranni PA (2002) High circulating ghrelin: a potential cause for hyperphagia and obesity in prader-willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 87, 5461-4.

del Pozo E, Brownell J. (1979) Prolactin. I. Mechanisms of control, peripheral actions and modification by drugs. *Horm Res*. 10, 143-74.

Devesa J, Lima L, Tresguerres JA (1992) Neuroendocrine control of growth hormone secretion in humans. *Trends Endocrinol Metab*. 3, 175-83.

Di Carlo C, Tommaselli GA, Gargano V, Sammartino A, Bifulco G, Tauchmanova L, Colao A, Nappi C (2007) Effects of estrogen-progestin therapy on serum levels of RANKL, osteoprotegein, osteocalcin, leptin and ghrelin in postmenopausal women. *Menopause* 14, 1-7.

Du C, Xilingaowa, Cao G, Wang C, Li H, Zhao Y, Siqingaowa, Cao J (2009) Expression of the orexigenic peptide ghrelin in the sheep ovary. *Domest Anim Endocrinol.* 36, 89-98.

Ehara Y, Siler TM, Yen SS (1976) Effects of large doses of estrogen on prolactin and growth hormone release. *Am J Obstet Gynecol.* 125, 455-8.

Faglia G, Beck-Peccoz P, Ferrari C, Travaglini P, Ambrosi B, Spada A (1973) Plasma growth hormone response to thyrotropin-releasing hormone in patients with active acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 36, 1259-62.

Farquhar J, Heiman M, Wong AC, Wach R, Chessex P, Chanoine JP (2003) Elevated umbilical cord ghrelin concentrations in small for gestational age neonates. *J Clin Endocrinol Metab.* 88, 4324-7.

Fassino S, Daga GA, Mondelli V, Pierò A, Broglio F, Picu A, Giordano R, Baldi M, Arvat E, Ghigo E, Gianotti L (2005) Hormonal and metabolic responses to acute ghrelin administration in patients with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology.* 30, 534-40.

Fernández-Fernández R, Tena-Sempere M, Aguilar E, Pinilla L (2004) Ghrelin effects on gonadotropin secretion in male and female rats. *Neurosci Lett.* 362, 103-7.

Fernandez-Fernandez R, Tena-Sempere M, Navarro VM, Barreiro ML, Castellano JM, Aguilar E and Pinilla L (2005) Effects of ghrelin upon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin secretion in adult female rats: in vivo and in vitro studies. *Neuroendocrinology* 82, 245-55.

Fernández-Fernández R, Tena-Sempere M, Roa J, Castellano JM, Navarro VM, Aguilar E, Pinilla L (2007) Direct stimulatory effect of ghrelin on pituitary release of LH through a nitric oxide-dependent mechanism that is modulated by estrogen. *Reproduction*. 133, 1223-32.

Földes J, Váradi A, Gara A, Bános C, Vargha P, Török K, Székely JI (1986) Effects of methysergide, bromocriptine and naloxone on prolactin, growth hormone and TSH release induced by D-Met²,Pro⁵-enkephalinamide in man. *Psychopharmacology (Berl)*. 88, 331-5.

Fujimoto VY, Clifton DK, Cohen NL, Soules MR (1990) Variability of serum prolactin and progesterone levels in normal women: the relevance of single hormone measurements in the clinical setting. *Obstet Gynecol*. 76, 71-8.

Fuglsang J (2008) Ghrelin in pregnancy and lactation. *Vitam Horm*. 77, 259-84.

Fuglsang J, Skjaerbaek C, Espelund U, Frystyk J, Fisker S, Flyvbjerg A, Ovesen P (2005) Ghrelin and its relationship to growth hormones during normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 62, 554-9.

Fuglsang J, Sandager P, Møller N, Fisker S, Frystyk J, Ovesen P (2006) Peripartum maternal and foetal ghrelin, growth hormones, IGFs and insulin interrelations. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 64, 502-9.

Furuta M, Funabashi T, Kimura F (2001) Intracerebroventricular administration of ghrelin rapidly suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 288, 780-85.

Gambineri A, Pagotto U, Tschöp M, Vicennati V, Manicardi E, Carcello A, Cacciari M, De lasio R, Pasquali R (2003) Anti-androgen treatment increases circulating ghrelin levels in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest*. 26, 629-34.

Garbutt JC, Mayo JP, Little KY, Gillette GM, Mason GA, Dew B, Prange AJ Jr (1996) Dose-response studies with thyrotropin-releasing hormone: evidence for differential pituitary responses in men with major depression, alcoholism, or no psychopathology. *Alcohol Clin Exp Res*. 20, 717-22.

Garcia MC, Lopez M, Alvarez CV, Casanueva F, Tena-Sempere M, Dieguez C (2007) Role of ghrelin in reproduction. *Reproduction*. 133, 531-40.

Garcia JM, Polvino WJ (2009) Pharmacodynamic hormonal effects of anamorelin, a novel oral ghrelin mimetic and growth hormone secretagogue in healthy volunteers. *Growth Horm IGF Res*. 19, 267-73.

Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Tena-Sempere M (2003) Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 88, 879-87.

Gaytan F, Morales C, Barreiro ML, Jeffery P, Chopin LK, Herington AC, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Tena-Sempere M (2005) Expression of growth hormone secretagogue receptor type 1a, the functional ghrelin receptor, in human ovarian surface epithelium, mullerian duct derivatives, and ovarian tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 90, 1798-804.

Greenman Y, Golani N, Gilad S, Yaron M, Limor R, Stern N (2004) Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner. *Clin Endocrinol (Oxf).* 60, 382-8.

Greenman Y, Rouach V, Limor R, Gilad S, Stern N (2009) Testosterone is a strong correlate of ghrelin levels in men and postmenopausal women. *Neuroendocrinology.* 89, 79-85.

Grinspoon S, Miller KK, Herzog DB, Grieco KA, Klibanski (2004) Effects of estrogen and recombinant human insulin-like growth factor-I on ghrelin secretion in severe undernutrition. *J Clin Endocrinol Metab.* 89, 3988-93.

Guérineau NC, Lledo PM, Verrier D, Israel JM (1994) Evidence that TRH controls prolactin release from rat lactotrophs by stimulating a calcium influx. *Cell Biol Toxicol.* 10, 311-6.

Guido M, Romualdi D, De Marinis L, Porcelli T, Giuliani M, Costantini B, Lanzone A (2007) Administration of exogenous ghrelin in obese patients with polycystic ovary syndrome: effects on plasma levels of growth hormone, glucose, and insulin. *Fertil Steril.* 88, 125-30.

Hanew K, Utsumi A, Sugawara A, Shimizu Y, Yoshinaga K (1991) Evidence for dopamine-related and TRH-related pituitary TSH and PRL pools in patients with prolactinoma. *Acta Endocrinol (Copenh).* 124, 545-52.

Hanew K, Utsumi A, Sugawara A, Shimizu Y, Yoshinaga K (1992) Simultaneous administration of TRH and sulpiride caused additive but not synergistic PRL responses in normal subjects. *Endocrinol Jpn.* 39, 465-8.

Harada T, Nakahara T, Yasuhara D, Kojima S, Sagiya K, Amitani H, Laviano A, Naruo T, Inui A (2008) Obestatin, acyl ghrelin, and des-acyl ghrelin responses to an oral glucose tolerance test in the restricting type of anorexia nervosa. *Biol Psychiatry.* 63, 245-7.

Harrison JL, Miller DW, Findlay PA, Adam CL (2008) Photoperiod influences the central effects of ghrelin on food intake, GH and LH secretion in sheep. *Neuroendocrinology.* 87, 182-92.

Hinuma S, Habata Y, Fujii R, Kawamata Y, Hosoya M, Fukusumi S, Kitada C, Masuo Y, Asano T, Matsumoto H, Sekiguchi M, Kurokawa T, Nishimura O, Onda H, Fujino M (1998) A prolactin-releasing peptide in the brain. *Nature*. 393, 272-6.

Hirvonen E, Ranta T, Seppälä M (1976) Prolactin and thyrotropin responses to thyrotropin-releasing hormone in patients with secondary amenorrhea: the effect of bromocriptine. *J Clin Endocrinol Metab*. 42, 1024-30.

Ho KY, Smythe GA, Lazarus L. (1985) The interaction of trh and dopaminergic mechanisms in the regulation of stimulated prolactin release in man. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 23, 7-16.

Hotta M, Ohwada R, Katakami H, Shibasaki T, Hizuka N, Takano K (2004) Plasma levels of intact and degraded ghrelin and their responses to glucose infusion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 89, 5707-12.

Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberator PA, Rosenblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, Paress PS, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chaung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Melillo DG, Patchett AA, Nargund R, Griffin PR, DeMartino JA, Gupta SK, Schaeffer JM, Smith RG, Van der Ploeg LH (1996) A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*. 273, 974-7.

Iqbal J, Kurose Y, Canny B, Clarke IJ (2006) Effects of central infusion of ghrelin on food intake and plasma levels of growth hormone, luteinizing hormone, prolactin, and cortisol secretion in sheep. *Endocrinology*. 147, 510-9.

Jerlhag E, Egecioglu E, Dickson SL, Andersson M, Svensson L, Engel JA (2006) Ghrelin stimulates locomotor activity and accumbal dopamine-overflow via central cholinergic systems in mice: implications for its involvement in brain reward. *Addict Biol*. 11, 45-54.

Jiang H, Betancourt L, Smith RG (2006) Ghrelin amplifies dopamine signaling by cross talk involving formation of growth hormone secretagogue receptor/dopamine receptor subtype 1 heterodimers. *Mol Endocrinol*. 20, 1772-85.

Jiang H, Li LJ, Wang J, Xie JX (2008) Ghrelin antagonizes MPTP-induced neurotoxicity to the dopaminergic neurons in mouse substantia nigra. *Exp Neurol*. 212, 532-7.

Jordan V, Dieguez C, Lafaffian I, Rodriguez-Arno MD, Gomez-Pan A, Hall R, Scanlon MF (1986) Influence of dopaminergic, adrenergic and cholinergic blockade and TRH administration on GH responses to GRF 1-29. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 24, 291-8.

Judd SJ, Lazarus L, Smythe G (1976) Prolactin secretion by metoclopramide in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 43, 313-7.

Kaltsas T, Pontikides N, Krassas GE, Seferiadis K, Lolis D, Messinis IE (1999) Growth hormone response to thyrotrophin releasing hormone in women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 14, 2704-8.

Kaupila A, Ylikorkala O (1982) Effects of oral and intravenous TRH and metoclopramide on PRL and TSH secretion in women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 17, 617-23.

Kellokoski E, Poykko SM, Karjalainen AH, Ukkola O, Heikkinen J, Kesaniemi YA, Horkko S (2005) Estrogen replacement therapy increases plasma ghrelin levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 90, 2954-63.

Kishimoto M, Okimura Y, Nakata H, Kudo T, Iguchi G, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K (2003) Cloning and characterization of the 5'(-)-flanking region of the human ghrelin gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 305, 186-92.

Kluge M, Schussler P, Uhr M, Yassouridis A, Steiger A (2007) Ghrelin suppresses secretion of luteinizing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 92, 3202-5.

Kluge M, Uhr M, Bleninger P, Yassouridis A, Steiger A (2009) Ghrelin suppresses secretion of FSH in males. *Clin Endocrinol (Oxf).* 70, 920-3.

Kojima M (2008) The discovery of ghrelin--a personal memory. *Regul Pept.* 145, 2-6.

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, 656-60.

Kojima S, Nakahara T, Nagai N, Muranaga T, Tanaka M, Yasuhara D, Masuda A, Date Y, Ueno H, Nakazato M, Naruo T (2005) Altered ghrelin and peptide YY responses to meals in bulimia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf).* 62, 74-8.

Kok P, Paulo RC, Cosma M, Mielke KL, Miles JM, Bowers CY, Veldhuis JD (2008a) Estrogen Supplementation Selectively Enhances Hypothalamo-Pituitary Sensitivity to Ghrelin in Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 93, 4020-6.

Kok P, Roelfsema F, Frölich M, van Pelt J, Meinders AE, Pijl H. (2008b) Short-term treatment with bromocriptine improves impaired circadian growth hormone secretion in obese premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 93, 3455-61.

Kühn ER, Geelissen SM, Van der Geyten S, Darras VM (2005) The release of growth hormone (GH): relation to the thyrotropic- and corticotropic axis in the chicken. *Domest Anim Endocrinol.* 29, 43-51.

Kukol A (2008) The structure of ghrelin. *Vitam Horm.* 77, 1-12.

Labrinoudaki IV, Christodoulakos GE, Economou EV, Vlachou SA, Panoulis CP, Alexandrou AP, Kouskouni EE, Creatsas GC (2008) Circulating leptin and ghrelin are differentially influenced by estrogen/progestin therapy and raloxifene. *Maturitas* 50, 707-9.

Lanfranco F, Bonelli L, Baldi M, Me E, Broglio F, Ghigo E (2008) Acylated ghrelin inhibits spontaneous luteinizing hormone pulsatility and responsiveness to naloxone but not that to gonadotropin-releasing hormone in young men: evidence for a central inhibitory action of ghrelin on the gonadal axis. *J Clin Endocrinol Metab.* 93, 3633-9.

Lanyi E, Varnagy A, Kovacs KA, Csermely T, Szasz M, Szabo I (2008) Ghrelin and acyl ghrelin in preterm infants and maternal blood: relationship with endocrine and anthropometric measures. *Eur J Endocrinol.* 158, 27-33.

Lebenthal Y, Gat-Yablonski G, Shtai B, Padoa A, Phillip M, Lazar L (2006) Effect of sex hormone administration on circulating ghrelin levels in peripubertal children. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 328-31.

Lebrethon MC, Aganina A, Fournier M, Gerard A, Parent AS, Bourguignon JP (2007) Effects of in vivo and in vitro administration of ghrelin, leptin and neuropeptide mediators on pulsatile gonadotrophin-releasing hormone

secretion from male rat hypothalamus before and after puberty. *J Neuroendocrinol.* 19, 181-8.

Lin SH (2008) Prolactin-releasing peptide. *Results Probl Cell Differ.* 46, 57-88.

Login IS, Judd AM, Kuan SI, MacLeod RM. (1991) Role of calcium in dopaminergic regulation of TRH- and angiotensin II-stimulated prolactin release. *Am J Physiol.* 260(4 Pt 1), E553-60.

Maffeis C, Franceschi R, Moghetti P, Camilot M, Lauriola S, Tato L (2007) Circulating ghrelin levels in girls with central precocious puberty are reduced during treatment with LHRH analog. *Eur J Endocrinol.* 156, 99-103.

Martinez de la Escalera G, Guthrie J, Weiner RI. (1988) Transient removal of dopamine potentiates the stimulation of prolactin release by TRH but not VIP: stimulation via Ca^{2+} /protein kinase C pathway. *Neuroendocrinology.* 47, 38-45.

Martinez de la Escalera G, Weiner RI (1992) Dissociation of dopamine from its receptor as a signal in the pleiotropic hypothalamic regulation of prolactin secretion. *Endocr Rev.* 13, 241-55.

Martini AC, Fernandez-Fernandez R, Tovar S, Navarro VM, Vigo E, Vazquez MJ, Davies JS, Thompson NM, Aguilar E, Pinilla L, Wells T, Dieguez C, Tena-Sempere M (2006) Comparative analysis of the effects of ghrelin and

unacylated ghrelin on luteinizing hormone secretion in male rats. *Endocrinology*. 147, 2374-82.

Marzullo P, Caumo A, Savia G, Verti B, Walker GE, Maestrini S, Tagliaferri A, Di Blasio AM, Liuzzi A (2006) Predictors of postabsorptive ghrelin secretion after intake of different macronutrients. *J Clin Endocrinol Metab*. 91, 4124-30.

Masala A, Delitala G, Alagna S, Devilla L, Rovasio PP, Lotti G (1978) Effect of dopaminergic blockade on the secretion of growth hormone and prolactin in man. *Metabolism*. 27, 921-6.

Matsubara M, Sakata I, Wada R, Yamazaki M, Inoue K, Sakai T (2004) Estrogen modulates ghrelin expression in the female rat stomach. *Peptides*. 25, 289-97.

McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, Smith RG, Howard AD, Van der Ploeg LH (1997) Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics*. 46, 426-34.

Messinis IE, Templeton A (1988) Changes in serum prolactin levels during the follicular phase and the endogenous luteinizing hormone surge of cycles hyperstimulated with follicle stimulating hormone. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 28, 243-51.

Messinis IE, Lolis DE, Dalkalitsis N, Kanaris C, Souvatzoglou A. (1982) Effect of metoclopramide on maternal and fetal prolactin secretion during labor. *Obstet Gynecol.* 60, 686-8.

Miljic D, Pekic S, Djurovic M, Doknic M, Milic N, Casanueva FF, Ghatei M, Popovic V (2006) Ghrelin has partial or no effect on appetite, growth hormone, prolactin, and cortisol release in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 1491-5.

Miller DW, Harrison JL, Brown YA, Doyle U, Lindsay A, Adam CL, Lea RG (2005) Immunohistochemical evidence for an endocrine/paracrine role for ghrelin in the reproductive tissues of sheep. *Reprod Biol Endocrinol.* 3, 60.

Minici F, Miceli F, Tiberi F, Tropea A, Orlando M, Gangale MF, Romani F, Catino S, Lanzone A, Apa R (2007) Ghrelin in vitro modulates vasoactive factors in human umbilical vein endothelial cells. *Fertil Steril.* 88(4 Suppl), 1158-66.

Misra M, Miller KK, Kuo K, Griffin K, Stewart V, Hunter E, Herzog DB, Klibanski A (2005) Secretory dynamics of ghrelin in adolescent girls with anorexia nervosa and healthy adolescents. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 289, E347-56.

Miyasaka K, Hosoya H, Sekime A, Ohta M, Amono H, Matsushita S, Suzuki K, Higuchi S, Funakoshi A (2006) Association of ghrelin receptor gene

polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population. *J Neural Transm.* 113, 1279-85.

Monteleone P, Martiadis V, Fabrazzo M, Serritella C, Maj M (2003) Ghrelin and leptin responses to food ingestion in bulimia nervosa: implications for binge-eating and compensatory behaviours. *Psychol Med.* 33, 1387-94.

Monteleone P, Fabrazzo M, Tortorella A, Martiadis V, Serritella C, Maj M (2005) Circulating ghrelin is decreased in non-obese and obese women with binge eating disorder as well as in obese non-binge eating women, but not in patients with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology.* 30, 243-50.

Monteleone P, Tortorella A, Castaldo E, Di Filippo C, Maj M (2006) No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene with anorexia nervosa or bulimia nervosa. *Neurosci Lett.* 398, 325-7.

Monteleone P, Serritella C, Scognamiglio P, Maj M (2009) Enhanced ghrelin secretion in the cephalic phase of food ingestion in women with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology.* 2009 Jul 22. [Epub ahead of print].

Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y and Kangawa K (2001) Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280, R1483-7.

Nakahara T, Kojima S, Tanaka M, Yasuhara D, Harada T, Sagiya K, Muranaga T, Nagai N, Nakazato M, Nozoe S, Naruo T, Inui A (2007) Incomplete restoration of the secretion of ghrelin and PYY compared to insulin after food ingestion following weight gain in anorexia nervosa. *J Psychiatr Res.* 41, 814-20.

Nakai Y, Hosoda H, Nin K, Ooya C, Hayashi H, Akamizu T, Kangawa K (2003) Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol.* 2003 Jul;149(1):R1-3. *Eur J Endocrinol.* 149, R1-3.

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S (2001) A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature.* 409, 194-8.

Nakazato M, Hashimoto K, Shiina A, Koizumi H, Mitsumoti M, Imai M, Shimizu E, Iyo M (2004) No changes in serum ghrelin levels in female patients with bulimia nervosa. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 28, 1181-4.

Nishina Y, Takano K, Yasufuku-Takano J, Teramoto A, Fujita T (2005) Mechanism of D(2) agonist-induced inhibition of GH secretion from human GH-secreting adenoma cells. *Endocr J.* 52, 775-9.

Nonogaki K (2008) Ghrelin and feedback systems. *Vitam Horm.* 77, 149-70.

Orio F Jr, Lucidi P, Palomba S, Tauchmanova L, Cascella T, Russo T, Zullo F, Colao A, Lombardi G, De Feo P (2003) Circulating ghrelin concentrations in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 88, 942-5.

Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C, Riepl RL, Heiman ML, Lehnert P, Fichter M, Tschöp M (2001) Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol.* 145, 669-73.

Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschöp M, Pasquali R (2002) Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 87, 5625-9.

Panerai AE, Salerno F, Manneschi M, Cocchi D, Müller EE (1977) Growth hormone and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone in patients with severe liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 45, 134-40.

Panidis D, Farmakiotis D, Koliakos G, Rousso D, Kourtis A, Katsikis I, Asteriadis C, Karayannis V, Diamanti-Kandarakis E (2005) Comparative study of plasma ghrelin levels in women with polycystic ovary syndrome, in hyperandrogenic women and in normal controls. *Hum Reprod.* 20, 2127-32.

Patterson M, Murphy KG, le Roux CW, Ghatei MA, Bloom SR (2005) Characterization of ghrelin-like immunoreactivity in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 90, 2205-11.

Paulo RC, Brundage R, Cosma M, Mielke KL, Bowers CY, Veldhuis JD (2008) Estrogen elevates the peak overnight production rate of acylated ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab.* 93, 4440-7.

Pazos Y, Casanueva FF, Camina JP (2008) Basic aspects of ghrelin action. *Vitam Horm.* 77:89-119.

Purnell JQ, Weigle DS, Breen P, Cummings DE (2003) Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 88, 5747-52.

Quarta D, Di Francesco C, Melotto S, Mangiarini L, Heidbreder C, Hedou G (2009) Systemic administration of ghrelin increases extracellular dopamine in the shell but not the core subdivision of the nucleus accumbens. *Neurochem Int.* 54, 89-94.

Qi X, Reed J, Englander EW, Chandrashekar V, Bartke A, Greeley GH Jr (2003) Evidence that growth hormone exerts a feedback effect on stomach ghrelin production and secretion. *Exp Biol Med (Maywood).* 228, 1028-32.

Rak A, Gregoraszczuk EL (2008) Local feedback loop of ghrelin-GH in the pig ovary: action on estradiol secretion, aromatase activity and cell apoptosis. *Growth Horm IGF Res.* 18, 221-7.

Reymond MJ, Porter JC (1985) Involvement of hypothalamic dopamine in the regulation of prolactin secretion. *Horm Res.* 22, 142-52.

Rindi G, Necchi V, Savio A, Torsello A, Zoli M, Locatelli V, Raimondo F, Cocchi D, Solcia E (2002) Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol.* 117, 511-9.

Romon M, Gomila S, Hincker P, Soudan B, Dallongeville J (2006) Influence of weight loss on plasma ghrelin responses to high-fat and high-carbohydrate test meals in obese women. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 1034-41.

Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, Boyadjian R (2002) Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab.* 87, 3997-4000.

Sack J, Shafrir Y, Urbach D, Amado O (1985) Thyroid-stimulating hormone, prolactin, and growth hormone response to thyrotropin-releasing hormone in treated children with congenital hypothyroidism. *Pediatr Res.* 19, 1037-9.

Sagsoz N, Orbak Z, Noyan V, Yucel A, Ucar B, Yildiz L (2009) The effects of oral contraceptives including low-dose estrogen and drospirenone on the concentration of leptin and ghrelin in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 92, 660-6.

Sawin CT, Hershman JM, Boyd AE 3rd, Longcope C, Bacharach P (1978) The relationship of changes in serum estradiol and progesterone during the menstrual cycle to the thyrotropin and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 47, 1296-302.

Seki K, Nagata I (1990) Effects of a dopamine antagonist (metoclopramide) on the release of LH, FSH, TSH and PRL in normal women throughout the menstrual cycle. *Acta Endocrinol (Copenh).* 122, 211-6.

Shah, N., Evans, W.S., Bowers, C.Y. & Veldhuis, J.D. (2000) Oral estradiol administration modulates continuous intravenous growth hormone (GH)-releasing peptide-2-driven GH secretion in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 85, 2649-59.

Shibata K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Makino Y, Makino I, Kawarabayashi T, Futagami K, Gomita Y (2004) Regulation of ghrelin secretion during pregnancy and lactation in the rat: possible involvement of hypothalamus. *Peptides.* 25, 279-87.

Sirotkin AV, Grossmann R (2008) Effects of ghrelin and its analogues on chicken ovarian granulosa cells. *Domest Anim Endocrinol.* 34, 125-34.

Sirotkin AV, Grossmann R, MarΓa-Peon MT, Roa J, Tena-Sempere M, Klein S (2006) Novel expression and functional role of ghrelin in chicken ovary. *Mol Cell Endocrinol.* 257-258, 15-25.

Sirotkin AV, Chrenek P, Darlak K, Valenzuela F, Kuklová Z (2008a) Some endocrine traits of transgenic rabbits. II. Changes in hormone secretion and response of isolated ovarian tissue to FSH and ghrelin. *Physiol Res.* 57, 745-51.

Sirotkin AV, Benco A, Tandlmajerova A, Vasícek D, Kotwica J, Darlak K, Valenzuela F (2008b) Transcription factor p53 can regulate proliferation, apoptosis and secretory activity of luteinizing porcine ovarian granulosa cell cultured with and without ghrelin and FSH. *Reproduction.* 136, 611-8.

Soares JB, Leite-Moreira AF (2008) Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides.* 29, 1255-70.

Soriano-Guillen L, Barrios V, Chowen JA, Sánchez I, Vila S, Quero J, Argente J (2004) Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr.* 144, 30-5.

St-Pierre DH, Karelis AD, Coderre L, Malita F, Fontaine J, Mignault D, Brochu M, Bastard JP, Cianflone K, Doucet E, Imbeault P, Rabasa-Lhoret R (2007) Association of acylated and nonacylated ghrelin with insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 92, 264-9.

Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K (2000) Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 85, 4908-11.

Tanaka M, Naruo T, Muranaga T, Yasuhara D, Shiiya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S (2002) Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. *Eur J Endocrinol.* 146, R1-3.

Tanaka M, Naruo T, Yasuhara D, Tatebe Y, Nagai N, Shiiya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S (2003) Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa *Psychoneuroendocrinology.* 28, 829-35.

Tanaka M, Nakahara T, Muranaga T, Kojima S, Yasuhara D, Ueno H, Nakazato M, Inui A (2006) Ghrelin concentrations and cardiac vagal tone are decreased after pharmacologic and cognitive-behavioral treatment in patients with bulimia nervosa. *Horm Behav.* 50, 261-5.

Tang S, Jiang Q, Zhang Y, Zhu X, Shu G, Gao P, Feng D, Wang X, Dong X (2008) Obestatin: Its physicochemical characteristics and physiological functions. *Peptides* 29, 639-45.

Tena-Sempere M (2008) Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropic axis. *Vitam Horm.* 77, 285-300.

Tena-Sempere M, Aguilar E, Fernandez-Fernandez R, Pinilla L (2004) Ghrelin inhibits prolactin secretion in prepubertal rats. *Neuroendocrinology.* 79, 133-41.

Tropea A, Tiberi F, Minici F, Orlando M, Gangale MF, Romani F, Miceli F, Catino S, Mancuso S, Sanguinetti M, Lanzone A, Apa R (2007) Ghrelin affects the release of luteolytic and luteotropic factors in human luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 92, 3239-45.

Veldhuis JD, Keenan DM, Iranmanesh A, Mielke K, Miles JM, Bowers CY (2006) Estradiol potentiates ghrelin-stimulated pulsatile growth hormone secretion in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 3559-65.

Veldhuis JD, Reynolds GA, Iranmanesh A, Bowers CY (2008) Twenty-four hour continuous ghrelin infusion augments physiologically pulsatile, nycthemeral, and entropic (feedback-regulated) modes of growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 93, 3597-603.

Viani I, Vottero A, Tassi F, Cremonini G, Sartori C, Bernasconi S, Ferrari B, Ghizzoni L (2008) Ghrelin inhibits steroid biosynthesis by cultured granulosa-lutein cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 93, 1476-81.

Villa P, Costantini B, Perri C, Suriano R, Ricciardi L, Lanzone A (2008) Estro-progestin supplementation enhances the growth hormone secretory responsiveness to ghrelin infusion in postmenopausal women. *Fertil Steril.* 89, 398-403.

Wang K, Wang L, Zhao Y, Shi Y, Wang L, Chen ZJ (2009) No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene and polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 24, 485-90.

Wasko R, Komarowska H, Warenik-Szymankiewicz A, Sowinski J (2004) Elevated ghrelin plasma levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res.* 36, 170-3.

Whatmore AJ, Hall CM, Jones J, Westwood M, Clayton PE (2003) Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin Endocrinol (Oxf)* 59, 649-54.

Williams DL, Cummings DE, Grill HJ, Kaplan JM (2003) Meal-related ghrelin suppression requires postgastric feedback. *Endocrinology.* 144, 2765-67.

Wood DF, Docherty K, Ramsden DB, Sheppard MC (1987) A comparison of the effects of bromocriptine and somatostatin on growth hormone gene expression in the rat anterior pituitary gland in vitro. *Mol Cell Endocrinol.* 52, 257-61.

Yamada M, Saga Y, Shibusawa N, Hirato J, Murakami M, Iwasaki T, Hashimoto K, Satoh T, Wakabayashi K, Taketo MM, Mori M (1997) Tertiary hypothyroidism and hyperglycemia in mice with targeted disruption of the thyrotropin-releasing hormone gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94, 10862-7.

Yamazaki M, Kobayashi H, Tanaka T, Kangawa K, Inoue K, Sakai T (2004) Ghrelin-induced growth hormone release from isolated rat anterior pituitary cells depends on intracellular and extracellular Ca^{2+} sources. *J Neuroendocrinol.* 16, 825-31.

Yokota I, Kitamura S, Hosoda H, Kotani Y, Kangawa K (2005) Concentration of the n-octanoylated active form of ghrelin in fetal and neonatal circulation. *Endocr J.* 52, 271-6.

Zanoboni A, Gibillini M, Cucchi MR, Zanoboni Muciaccia W, Zanussi C (1988) Inhibitory influence of thyrotropin releasing hormone administration on growth hormone response to low doses of growth hormone-releasing hormone in normal man. *J Endocrinol Invest.* 11, 413-7.

Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ (2005) Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*. 310, 996-9.

Zhang W, Lei Z, Su J, Chen S (2008) Expression of ghrelin in the porcine hypothalamo-pituitary-ovary axis during the estrous cycle. *Anim Reprod Sci*. 109, 356-67.

