



## Decrease in serum ghrelin levels in patients with acromegaly normalize after successful surgical treatment

Jarosław Kozakowski, Michał Rabijewski, Wojciech Zgliczyński

Medical Center of Postgraduate Education, Department of Endocrinology, Bielański Hospital, Ceglowska 80, 01-809 Warsaw, Poland

### Abstract

Ghrelin has been found as a natural ligand of growth hormone secretagogue receptors (GHSR-1a) that exerts a marked stimulatory effect on growth hormone (GH) secretion. It is also thought to be involved of eating behavior and control of energy homeostasis. However, still little is known about the physiology of ghrelin secretion in acromegaly.

**Objective.** The objective of the study was to examine effects of surgical and pharmacological treatment in patients with acromegaly on serum ghrelin levels.

**Material.** 28 patients (17 women and 11 men) aged 47,7 ±11,4 years (mean ±SD) with body mass index (BMI) = 31,6 ±4,9 kg/m<sup>2</sup>. Diagnosis was based on: 1/ peak GH in oral glucose tolerance test ≥1ng/mL, 2/ serum IGF-1 levels above normal for gender and age, 3/ pituitary adenoma in magnetic resonance imagining. Patients were divided into two groups: Group I – surgically treated (transsphenoidal surgery): 10 women and 7 men aged 45 ±10,9 years with BMI = 31,3 ±4,9 kg/m<sup>2</sup>. Criteria of cure in acromegaly were: 1/ peak GH <1 ng/ml in OGTT, 2/ serum IGF-1 levels according to gender and age. Group II - pharmacologically treated (Sandostatin LAR, Novartis Pharm. Ltd, 20 mg im, monthly): 7 women and 4 men aged 52 ±11 years, BMI = 29,4 kg/m<sup>2</sup>. Criteria of good control of acromegaly were: 1/ peak GH <1 ng/ml in OGTT, 2/ serum IGF-1 levels according to gender and age. Control group - healthy subjects: 10 women and 19 men aged 47,7 ±11,4 years, BMI = 25,6 kg/m<sup>2</sup>.

**Methods.** In patients before and after treatment and in healthy subjects fasting serum levels of total ghrelin, leptin, growth hormone (GH), insulin-like growth factor I (IGF-1), glucose, insulin, total cholesterol and triglyceride levels were measured. HOMA index of insulin resistance was calculated. The patients and control subjects underwent assessment of body height, weight and BMI.

**Results.** Body weight and BMI in patients before treatment were higher compared to healthy controls (87,3 ±18 to 74,4 ±16 kg, p<0,02 (body weight) and 31,6 ± 4,9 to 25,5 ±4,1 kg/m<sup>2</sup>, p<0,0002 (BMI). Body weight and BMI after successful surgical treatment were still higher compared to healthy subjects (92,7 ±19 to 74,4 ± 16 kg, p=0,02 (body weight) and 31,5 ±5 to 25,5 ±4,1 kg/m<sup>2</sup>, p<0,0003 (BMI). Body weight decreased during pharmacological treatment although BMI was still higher than in control subjects (30,1 ±6,3 to 25,2 ±4,1 kg/m<sup>2</sup>; p<0,003). Serum fasting GH and IGF-1 levels decreased after successful surgical treatment, from 26,3 ±29 to 1,6 ±2,5 µg/l (p<0,007) and from 926,1 ±325 to 337 ±213 µg/l (p<0,00003), respectively. Also during pharmacological treatment decrease in serum GH and IGF-1 levels were

observed, from 29,4 ±40 to 5,8 ±7,6 µg/l and from 976,3 ±328 to 358,3 ±203 µg/l (p<0,002), respectively. Serum insulin levels decreased after successful surgical treatment, from 29,1 ±9,8 to 15,8 ±7,3 µU/ml (p<0,02). Also during pharmacological treatment serum insulin levels and HOMA index decreased, from 29,8 ±12,9 to 14,6 ±2,1 µU/ml (p<0,03) and from 9,1 ±3,6 to 3,5 ±0,4 (p<0,007), respectively. Serum fasting insulin and glucose levels and HOMA index were higher in patients before treatment compared to healthy subjects and didn't differ significantly after successful surgery and during pharmacotherapy. Serum ghrelin levels in patients with acromegaly were decreased compared to healthy subjects (1055,2 ±325 to 1266,8 ±374 pg/ml, p<0,04) and increased after successful surgical treatment, from 1164,2 ±321 to 1553,6 ±542 pg/ml (p=0,01). During pharmacotherapy decrease in serum ghrelin levels was observed, from 1038,7 ±344 to 568,5 ±252 pg/ml (p<0,03). There were no significant differences in serum ghrelin level between healthy controls and patients after treatment. Significant negative correlation between serum ghrelin levels and body weight (r= -0,40, p=0,04) in healthy subjects was found. In patients with acromegaly significant negative correlation between serum ghrelin levels and insulin levels and HOMA index were found (r= -0,48; p<0,02 and r= -0,57; p<0,03, respectively).

**Conclusions.** In patients with acromegaly:

1/ serum ghrelin levels are decreased compared to healthy subjects. It can be speculated, that its at least partially caused by negative feedback control of ghrelin production and by GH-induced hyperinsulinaemia. 2/ serum ghrelin levels increase after successful transsphenoidal surgery. 3/ treatment with somatostatin analogues causes decrease in serum ghrelin levels, despite of serum GH and IGF-1 normalization.

(Pol J Endocrinol 2005; 6(56): 862-870)

**Key words:** ghrelin, growth hormone, acromegaly



## Obniżone stężenie ghreliny w akromegalii – po wyleczeniu ulega normalizacji

Jarosław Kozakowski, Michał Rabijewski, Wojciech Zgliczyński

Klinika Endokrynologii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Szpital Bielański, 01-809 Warszawa, ul. Ceglowska 80

### Streszczenie

Ghrelina jest naturalnym ligandem receptorów GHSR-1a, których aktywacja powoduje zwiększenie wydzielania hormonu wzrostu (GH). Bierze także udział w regulacji bilansu energetycznego ustroju a jej stężenie wykazuje ujemną korelację ze stężeniem insuliny i leptyny. Niewiele jak dotąd wiadomo na temat zachowania się ghreliny w akromegalii.

**Cel pracy.** Ocena wpływu operacyjnego oraz farmakologicznego leczenia analogami somatostatyny chorych z akromegalią na stężenie ghreliny w surowicy.

**Materiał.** 28 chorych (17 kobiet i 11 mężczyzn) w wieku  $47,7 \pm 11,4$  l (śr  $\pm$ SD), wskaźnik masy ciała (BMI) =  $31,6 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Rozpoznanie ustalono w oparciu o: 1/ brak hamowania wydzielania GH <1 ng/ml po doustnym obciążeniu 75 g glukozy, 2/ podwyższone stężenie insulinopodobnego czynnika wzrostowego I (IGF-1) - powyżej normy dla płci i wieku i 3/ obecność gruczolaka przysadki w obrazowaniu za pomocą rezonansu magnetycznego. Chorych podzielono na dwie grupy: Grupa I: osoby poddane przezklinowej operacji gruczolaka przysadki, 10 kobiet i 7 mężczyzn w wieku  $45 \pm 10,9$  l, BMI =  $31,3 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Kryteria operacyjnego wyleczenia stanowiły: 1/ hamowanie wydzielania GH poniżej 1 ng/ml w OGTT, 2/ stężenie IGF-1 w granicach normy dla płci i wieku. Grupa II: osoby leczone zachowawczo analogami somatostatyny (Sandostatin LAR, Novartis Pharm. Ltd, 20 mg im. co 4 tyg), 7 kobiet i 4 mężczyzn w wieku  $52 \pm 11,3$  l, BMI =  $29,4 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Kryteria dobrej kontroli biochemicznej obejmowały: 1/ hamowanie wydzielania GH poniżej 1 ng/ml w OGTT, 2/ stężenie IGF-1 w granicach normy dla płci i wieku. Grupa kontrolna - osoby zdrowe: 10 kobiet i 19 mężczyzn w wieku  $47,7 \pm 11,4$  l, BMI =  $25,6 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>.

**Metody.** U wszystkich oceniano wzrost, ciężar i wskaźnik masy ciała (BMI). Rano na czczo pobierano krew w celu oznaczenia stężenia ghreliny całkowitej, leptyny, GH, IGF-1, glukozy i insuliny oraz cholesterolu całkowitego i triglicerydów. Obliczano wskaźnik insulinooporności HOMA.

**Wyniki.** Ciężar i wskaźnik masy ciała chorych przed leczeniem był większy niż osób zdrowych z grupy kontrolnej, i wynosił odpowiednio:  $87,3 \pm 18$  i  $74,4 \pm 16$  kg,  $p < 0,02$  (ciężar ciała) oraz  $31,6 \pm 4,9$  i  $25,5 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,0002$  (BMI). Po wyleczeniu operacyjnym ciężar i wskaźnik masy ciała nie uległy istotnym zmianom i nadal były wyższe niż u osób zdrowych, odpowiednio:  $92,7 \pm 19$  i  $74,4 \pm 16$  kg,  $p = 0,02$  (ciężar ciała) oraz  $31,5 \pm 5$  i  $25,5 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,0003$  (BMI). W czasie leczenia zachowawczego ciężar ciała uległ obniżeniu, a BMI pozostawał nadal wyższy (odpowiednio:  $30,1 \pm 6,3$  i  $25,2$

$\pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>;  $p < 0,003$ ). Po wyleczeniu operacyjnym średnie stężenie GH na czczo obniżyło się z  $26,3 \pm 29$  do  $1,6 \pm 2,5$  µg/l ( $p < 0,007$ ) a stężenie IGF-1 z  $926,1 \pm 325$  do  $337 \pm 213$  µg/l ( $p < 0,00003$ ). Również leczenie zachowawcze spowodowało obniżenie stężenia GH z  $29,4 \pm 40$  do  $5,8 \pm 7,6$  µg/l i stężenia IGF-1 z  $976,3 \pm 328$  do  $358,3 \pm 203$  µg/l ( $p < 0,002$ ). Wszyscy spełniali kryteria wyleczenia z akromegalii. Po leczeniu stężenia GH i IGF-1 na czczo u osób wyleczonych i zdrowych nie różniły się. Stężenie insuliny na czczo po wyleczeniu operacyjnym obniżyło się z  $29,1 \pm 9,8$  do  $15,8 \pm 7,3$  µU/ml ( $p < 0,02$ ). Stężenie insuliny na czczo w czasie leczenia zachowawczego obniżyło się z  $29,8 \pm 12,9$  do  $14,6 \pm 2,1$  µU/ml ( $p < 0,03$ ) a wskaźnik HOMA z  $9,1 \pm 3,6$  do  $3,5 \pm 0,4$  ( $p < 0,007$ ). Stężenie glukozy i insuliny na czczo oraz wskaźnik HOMA u osób zdrowych były znamienne niższe niż u chorych z akromegalią, i wynosiły odpowiednio:  $88,4 \pm 7$  i  $142,7 \pm 101$  mg/dl,  $p < 0,04$  (glukoza),  $18,3 \pm 7,5$  i  $29,4 \pm 11$  µU/ml,  $p < 0,003$  (insulina) oraz  $3,8 \pm 1,7$  i  $7,9 \pm 3,6$ ,  $p < 0,0004$  (HOMA). Po leczeniu nie stwierdzono znamienych różnic między grupami zdrowych i wyleczonych w zakresie stężenia glukozy i insuliny na czczo oraz wskaźnika HOMA. Stężenie ghreliny całkowitej na czczo w grupie wyleczonych operacyjnie wzrosło z  $1164,2 \pm 321$  do  $1553,6 \pm 542$  pg/ml ( $p = 0,01$ ), a w grupie leczonych analogami somatostatyny obniżyło się z  $1038,7 \pm 344$  do  $568,5 \pm 252$  pg/ml ( $p < 0,03$ ). Stężenie ghreliny u osób zdrowych było wyższe niż u chorych z akromegalią (odpowiednio:  $1266,8 \pm 374$  i  $1055,2 \pm 325$ ;  $p < 0,04$ ). Po leczeniu stężenie ghreliny u osób zdrowych i wyleczonych nie różniło się znamienne. U osób zdrowych stwierdzono ujemną korelację między stężeniem ghreliny a ciężarem ciała ( $r = -0,40$ ;  $p = 0,04$ ). U chorych z akromegalią stwierdzono ujemną korelację między stężeniem ghreliny a stężeniem insuliny ( $r = -0,48$ ;  $p < 0,02$ ) i wskaźnikiem HOMA ( $r = -0,57$ ;  $p < 0,03$ ).

**Wnioski.** U chorych z akromegalią: 1/ stężenie ghreliny całkowitej jest obniżone w porównaniu do osób zdrowych, co można wiązać ze zwrotnym hamowaniem jej produkcji i opornością insulinową spowodowaną nadmiarem hormonu wzrostu. 2/ skuteczne leczenie operacyjne prowadzi do normalizacji stężenia ghreliny. 3/ stosowanie analogów somatostatyny prowadzi do dalszego obniżania się stężenia ghreliny mimo normalizacji wydzielania GH i IGF-1.

(Endokrynol Pol 2005; 6(56): 862-870)

**Słowa kluczowe:** ghrelina, hormon wzrostu, akromegalia

Praca wykonana w oparciu o grant CMKP: 501-2-2-07-33/02

## Wstęp

Ghrelina jest hormonem wydzielanym głównie w żołądku a także w innych odcinkach przewodu pokarmowego, oraz w podwzgórzu i przysadce [1]. Jest naturalnym ligandem tzw. receptorów GHS (*growth hormone secretagogues*), których aktywacja silnie pobudza wydzielanie hormonu wzrostu u zwierząt doświadczalnych i ludzi [2,3]. Ghrelina działa synergistycznie z GHRH, którego obecność jest niezbędna do ujawnienia się jej pełnej aktywności [4]. Prawdopodobnie jest także funkcjonalnym antagonistą somatostatyny, zarówno na poziomie podwzgórza jak i przysadki. Dokładny udział ghreliny w mechanizmie regulującym fizjologiczne wydzielanie GH nie jest jeszcze do końca poznany.

Drugim istotnym działaniem ghreliny jest jej udział w regulacji bilansu energetycznego organizmu. Wykazano, że u zwierząt i ludzi zwiększa ona ilość tkanki tłuszczowej (adipogeneza), w następstwie zwiększenia łaknienia i ilości przyswajanych kalorii oraz w wyniku zmniejszenia utylizacji tłuszczów [5,6]. Jej działanie związane jest z pobudzaniem aktywności neuronów okolicy jąder łukowatego i brzuszno-medialnego w podwzgórzu zawierających mRNA do produkcji neuropeptydów: NPY (*neuropeptide Y*) i AGRP (*agouti-related protein*), oraz hamowaniem syntezy POMC (*proopiomelanocortin*) [7]. Ghrelina jest jedynym znanym jak dotąd czynnikiem bezpośrednio zwiększającym łaknienie i - obok insuliny i leptyny - jednym z hormonów odpowiedzialnych za regulację rytmu spożywania posiłków, a więc dostosowujących zasoby energetyczne do bieżących potrzeb ustrojowych. Stężenie ghreliny wykazuje charakterystyczny rytm dobowy: wzrasta w okresach głodu i ulega szybkiemu obniżaniu się po posiłkach [8]. Wysokie stężenie występuje także w godzinach nocnych. Zależy także od składu ciała: jest wyraźnie obniżone u osób otyłych i podwyższone w przypadkach wychudzenia [6,9]. Ghrelina występuje w krążeniu w dwu postaciach: tzw. aktywnej (posiadającą grupę oktanoilową przy trzecim aminokwasie – serynie), wykazującej działanie endokrynne, metaboliczne i tkankowe, oraz obecnej w znacznie większym stężeniu nieaktywnej endokrynnie, wykazującej jednak wyraźne działanie metaboliczne [10].

Niewiele jak dotąd wiadomo na temat zachowania się ghreliny w akromegalii. Biorąc pod uwagę długo utrzymującą się nadprodukcję hormonu wzrostu i zaburzenia metabolizmu węglowodanów prowadzące do zwiększonego wydzielania insuliny, hormonu wykazującego w warunkach fizjologicznych silną ujemną korelację z ghreliną można się spodziewać obniżonego stężenia ghreliny w tej chorobie, jednak opublikowane dotychczas prace nie przyniosły jednoznacznych wyników [11,12,13].

## Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu operacyjnego oraz farmakologicznego leczenia analogami somatostatyny chorych z akromegalią na stężenie ghreliny w surowicy.

## Materiał

Materiał stanowiło 28 chorych, w tym 17 kobiet i 11 mężczyzn w wieku od 27 do 71 lat, śr 47,7 ±11,4, których BMI wynosiło od 23,4 do 40,8 kg/m<sup>2</sup>, śr. 31,6 ±4,9. Rozpoznanie akromegalii ustalono w oparciu o kryteria zgodne ze Standardami Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (PTE): 1/ brak hamowania wydzielania GH poniżej 1 ng/ml po doustnym obciążeniu 75 g glukozy (OGTT), 2/ podwyższone stężenie IGF-1 - powyżej normy dla płci i wieku i 3/ obecność gruczolaka przysadki w obrazowaniu za pomocą rezonansu magnetycznego.

Chorych podzielono na dwie grupy:

Grupa I. Pacjenci poddani przezklinowej operacji usunięcia guza. Grupa obejmowała 10 kobiet i 7 mężczyzn, w wieku od 27 do 65 lat, śr. 45 ±10,9, BMI od 23,3 do 40,8 kg/m<sup>2</sup>, śr 31,3 ±4,9. Ośmioro chorych miało cukrzycę, w tym troje wymagało leczenia insuliną. Dziewięcioro miało nadciśnienie tętnicze. U czworga rozpoznano wole guzowate w okresie eutyreozy (jedna z pacjentek była wcześniej leczona radiojodem) a u jednej chorobę Hashimoto w okresie niedoczynności (leczona substytucyjnie).

Kryteria operacyjnego wyleczenia stanowiły: 1/ hamowanie wydzielania GH poniżej 1 ng/ml w OGTT, 2/ stężenie IGF-1 w granicach normy dla płci i wieku.

Grupa II. Pacjenci leczeni farmakologicznie analogami somatostatyny (Sandostatin LAR, Novartis Pharm, amp 20 mg i.m. co 4 tyg.) Grupa obejmowała 7 kobiet i 4 mężczyzn, w wieku od 34 do 71 lat, śr. 52 ±11,3, BMI od 23,6 do 40,2 kg/m<sup>2</sup>, śr 29,4 ±4,9. Sześcioro przebyło wcześniej nieskuteczną przezklinową operację usunięcia guza, w tym u dwójga operację przeprowadzano dwukrotnie. Jednego z leczonych dodatkowo poddano następowej radioterapii. Sześcioro chorych miało cukrzycę, w tym dwoje wymagało leczenia insuliną. Pięcioro miało nadciśnienie tętnicze. U czworga chorych rozpoznano wole guzowate w okresie eutyreozy. Dwie pacjentki były wcześniej leczone radiojodem z powodu nadczynności tarczycy.

Kryteria dobrej kontroli biochemicznej obejmowały: / hamowanie wydzielania GH poniżej 1 ng/ml w OGTT, 2/ stężenie IGF-1 w granicach normy dla płci i wieku.

Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy: 10 kobiet i 19 mężczyzn w wieku od 27 do 71 lat, śr. 47,7 ±11,4, których BMI wynosiło od 19,7 do 37,4 kg/m<sup>2</sup>, śr. 25,6 ±4,1. Kryteria włączenia stanowiły:

wiek od 18 do 80 lat i dobry stan zdrowia. Kryteria wykluczenia obejmowały: cukrzycę, nadciśnienie tętnicze, choroby wątroby i nerek, nowotwory oraz zaburzenia hormonalne.

Każdy z uczestniczących został poinformowany o sposobie i celu badania oraz wyraził zgodę na udział.

## Metody

Chorzy z akromegalią oraz osoby zdrowe z grupy kontrolnej po zgłoszeniu się do kliniki byli poddawani szczegółowemu badaniu podmiotowemu i przedmiotowemu z oceną wzrostu i ciężaru ciała. Wyliczano wskaźnik masy ciała (BMI) jako iloraz ciężaru ciała (kg) i kwadratu wzrostu (m). Wartości od 20 do 25 kg/m<sup>2</sup> przyjmowano za prawidłowe, od 25 do 30 za wskazujące na nadwagę, od 30 do 35 na umiarkowaną otyłość, od 35 do 40 na znaczą otyłość i powyżej 40 na olbrzymią otyłość.

Wszystkim badanym – chorym z akromegalią przed i po leczeniu oraz osobom zdrowym z grupy kontrolnej na czczo o godz. 8<sup>00</sup> pobierano krew w celu oznaczenia morfologii oraz rutynowych wskaźników biochemicznych i enzymatycznych oraz w celu oceny stężenia ghreliny całkowitej, leptyny, GH, IGF-1, glukozy i insuliny oraz cholesterolu całkowitego i triglicerydów. Wyliczano wskaźnik insulinooporności HOMA wg wzoru: stężenie glukozy na czczo (mmol/l) x stężenie insuliny na czczo (mIU/l) /22,5.

Ghrelinę całkowitą oznaczano metodą radioimmunologiczną (RIA; Linco Res. Inc, USA), czułość metody: 100 pg/ml. Metoda wykorzystuje poliklonalne przeciwciała królicze skierowane przeciwko C-końcowej części cząsteczki, co warunkuje rozpoznaje zarówno oktanoilowej (aktywnej) jak i nieoktanoilowej (nieaktywnej) formy ghreliny. Czułość metody: 10 pg/ml. Leptynę oznaczano metodą RIA (Linco Res. Inc, USA), wykorzystującą przeciwciała królicze przeciw cząsteczce leptyny. Czułość metody: 0,5 ng/ml. Hormon wzrostu oznaczano metodą IRMA (POLATOM, Świerk), czułość:

0,1 µg/l. Insulinopodobny czynnik wzrostowy pierwszy (IGF-1) oznaczano metodą RIA (Biosource Europe S.A, Belgia); czułość: 10 µg/l, zmienność wewnątrzseryjna: 4,7 - 6,1 %, międzyseryjna: 9,3 - 9,9 %. Insulinę oznaczano metodą RIA (INSULIN-CT, CIS bio international, Francja); czułość: 2,0 mIU/l. Glukozę oznaczano metodą enzymatyczną (Cormay). Cholesterol i triglicerydy oznaczano metodą enzymatyczną (Technikon RA-390, Boeringer).

## Analiza statystyczna

Wyniki przedstawione są jako wartości średnie (x) ± odchylenie standardowe (SD). Do oceny rozkładu badanych zmiennych stosowano testy Kołmogorowa-Smirnowa i Lilleforsa. Korelacji dla zmiennych o rozkładach normalnych dokonywano z zastosowaniem testu istotności wsp. korelacji Pearsona, w pozostałych przypadkach testów Spearmana. Porównań dokonywano z zastosowaniem testu t-Studenta dla grup niepowiązanych w przypadkach, gdy zmienne wykazywały rozkład normalny lub testu dla dwóch prób Kołmogorowa-Smirnowa.

Za poziom istotności przyjmowano każdorazowo wartość p<0,05.

## Wyniki

1/ Wskaźniki antropometryczne.

Wiek, ciężar i wskaźnik masy ciała chorych z akromegalią przed i po leczeniu oraz osób zdrowych z grupy kontrolnej.

U 9 chorych stwierdzono nadwagę, u 9 łagodną otyłość, u 1 otyłość umiarkowaną a u 3 olbrzymią. W grupie kontrolnej u 8 osób stwierdzono nadwagę, a u 3 łagodną otyłość. Ogólną charakterystykę badanych przedstawia tab. I

Ciężar i wskaźnik masy ciała chorych przed leczeniem był większy niż osób zdrowych z grupy kontrolnej, i wynosił odpowiednio: 87,3 ±18 i 74,4 ±16 kg, p<0,02 (ciężar ciała) oraz 31,6 ± 4,9 i 25,5 ±4,1 kg/m<sup>2</sup>, p<0,0002 (BMI).

**Tabela I.** Wiek, ciężar i wskaźnik masy ciała u osób zdrowych oraz u chorych z akromegalią przed leczeniem i po leczeniu.  
**Tab 1.** Age, weight and body mass index in healthy subjects and patients with acromegaly before and after treatment.

		Grupa kontrolna	Akromegalia przed leczeniem	p	Akromegalia po wyleczeniu operacyjnym	p	Akromegalia w czasie leczenia farmakologicznego	p
n=		29	28		17		11	
K/M		10/19	17/11		10/7		7/4	
Wiek (l)	X±SD	46,9 ± 16	47,8 ± 11	NS	46,0 ± 11	NS	52,3 ± 11	NS
	(zakres)	16-73	27-71		29-65		35-71	
Ciężar (kg)	X±SD	74,4 ± 16	87,3 ± 18	<0,02	92,7 ± 19	=0,02	78,0 ± 15	NS
	(zakres)	50-116	54-130		67-135		61-93	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	X±SD	25,5 ± 4,1	31,6 ± 4,9	<0,0002	31,5 ± 5,0	<0,0003	30,1 ± 6,3	<0,003
		19,7-37,4	23,4-40,8		26,0-44,1		23,1-40,3	

K/M– liczba kobiet i mężczyzn; p– znamienność statystyczna w porównaniu z grupą kontrolną; NS– niezamienne statystycznie

Grupa I. Po operacyjnym wyleczeniu ciężar i wskaźnik masy ciała nie uległy istotnym zmianom i nadal były wyższe niż u osób zdrowych, odpowiednio:  $92,7 \pm 19$  i  $74,4 \pm 16$  kg,  $p=0,02$  (ciężar ciała) oraz  $31,5 \pm 5$  i  $25,5 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p<0,0003$  (BMI).

Grupa II. W czasie stosowania analogów somatostatyny ciężar ciała uległ obniżeniu i nie różnił się od osób zdrowych, a BMI nadal pozostawał wyższy (odpowiednio:  $30,1 \pm 6,3$  i  $25,2 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>;  $p<0,003$ )

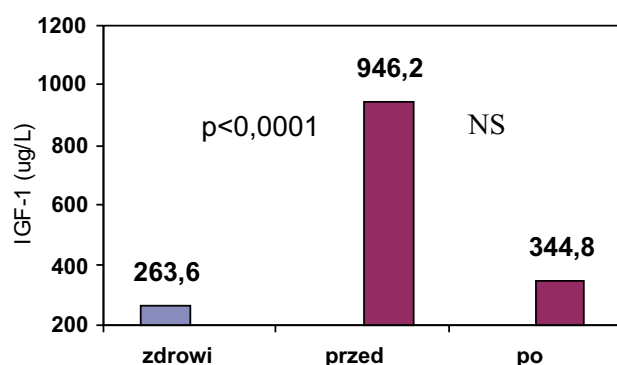
## 2/ Stężenie hormonu wzrostu i IGF-1.

Grupa I. Stężenie GH na czczo u chorych przed operacją wynosiło  $26,3 \pm 29$  µg/l i po wyleczeniu operacyjnym obniżyło się do  $1,6 \pm 2,5$  µg/l ( $p<0,007$ ). Również stężenie IGF-1 na czczo obniżyło się po wyleczeniu operacyjnym z  $926,1 \pm 325$  µg/l do  $337,4 \pm 213$  µg/l ( $p<0,00003$ ).

Grupa II. Stężenie GH u chorych przed leczeniem z użyciem oktreotydu wynosiło  $29,4 \pm 40$  µg/l i w czasie leczenia obniżyło się do  $5,8 \pm 7,6$  µg/l. Również stężenie IGF-1 obniżyło się w czasie leczenia z  $976,3 \pm 328$  µg/l do  $358,3 \pm 203$  µg/l ( $p<0,002$ ).

Grupa kontrolna. Stężenie GH u osób zdrowych wynosiło  $0,7 \pm 0,7$  µg/l i było niższe niż u chorych z akromegalią, u których wynosiło  $27,5 \pm 33$  µg/l ( $p<0,003$ ). Również stężenie IGF-1 u osób zdrowych było niższe i wynosiło odpowiednio:  $263,6 \pm 78$  µg/l i  $946,2 \pm 320$  µg/l ( $p<0,00001$ ).

Po wyleczeniu operacyjnym i w czasie stosowania analogów somatostatyny stężenia GH i IGF-1 na czczo nie różniły się znamienne między grupami osób zdrowych i wyleczonych (odpowiednio:  $0,7 \pm 0,7$  i  $3,4 \pm 5,6$  µg/l oraz  $263,6 \pm 78$  i  $344,8 \pm 203$  µg/l. Stężenie IGF-1 u osób zdrowych i chorych z akromegalią przed i po operacji oraz w czasie stosowania analogów somatostatyny przedstawia rys.1.



Rys. 1 Stężenie IGF-1 na czczo u osób zdrowych i łącznie u wszystkich chorych z akromegalią przed i po leczeniu.

Fig. 1 Fasting serum IGF-1 levels in healthy subjects and in all patients with acromegaly before and after treatment.

## 3/ Wskaźniki metabolizmu węglowodanów.

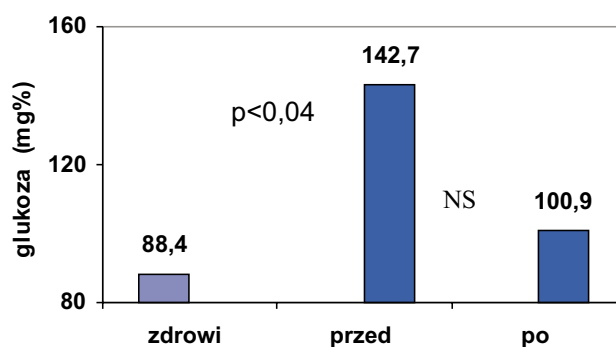
Grupa I. Stężenie insuliny na czczo u chorych przed operacją wynosiło  $29,1 \pm 9,8$  µU/ml i po wyleczeniu operacyjnym obniżyło się do  $15,8 \pm 7,3$

µU/ml ( $p<0,02$ ). Również stężenie glukozy na czczo i wskaźnik insulinooporności HOMA obniżyły się po wyleczeniu operacyjnym wyraźnie, choć nieznamienne i wynosiły odpowiednio przed i po wyleczeniu:  $137,4 \pm 101$  i  $92,5 \pm 17$  mg/dl (glukoza) oraz  $6,9 \pm 3,4$  i  $4,3 \pm 2,3$  (wskaźnik HOMA).

Grupa II. Stężenie insuliny na czczo w czasie stosowania analogów somatostatyny obniżyło się z  $29,8 \pm 12,9$  do  $14,6 \pm 2,6$  µU/ml ( $p<0,03$ ) a wskaźnik insulinooporności HOMA z  $9,1 \pm 3,6$  do  $3,5 \pm 0,4$  ( $p<0,007$ ). Stężenie glukozy na czczo obniżyło się wyraźnie choć nieznamienne w czasie leczenia: ze  $149,4 \pm 105,5$  do  $115,0 \pm 42,6$  mg%.

Grupa kontrolna. Stężenia glukozy i insuliny na czczo oraz wskaźnik HOMA u osób zdrowych było znamienne niższe niż u chorych z akromegalią i wynosiły odpowiednio:  $88,4 \pm 7$  i  $142,7 \pm 101$  mg/dl ( $p<0,04$ , glukoza)  $18,3 \pm 7,5$  i  $29,4 \pm 11$  µU/ml ( $p<0,003$ , insulina) oraz  $3,8 \pm 1,7$  i  $7,9 \pm 3,6$  ( $p<0,0004$ , HOMA).

Po wyleczeniu operacyjnym i w czasie stosowania analogów somatostatyny nie stwierdzono znamiennych różnic między grupami zdrowych i wyleczonych w zakresie stężenia glukozy (odpowiednio:  $88,4 \pm 7$  i  $100,9 \pm 30,1$  mg/dl), insuliny (odpowiednio:  $18,3 \pm 7,5$  i  $15,2 \pm 6$  µU/ml) i wskaźnika HOMA (odpowiednio:  $3,8 \pm 1,7$  i  $3,9 \pm 1,6$ ). Stężenie glukozy i insuliny na czczo oraz wartości wskaźnika insulinooporności HOMA u osób zdrowych, oraz u chorych z akromegalią przed i po leczeniu przedstawiają odpowiednio rys. 2, 3 i 4.

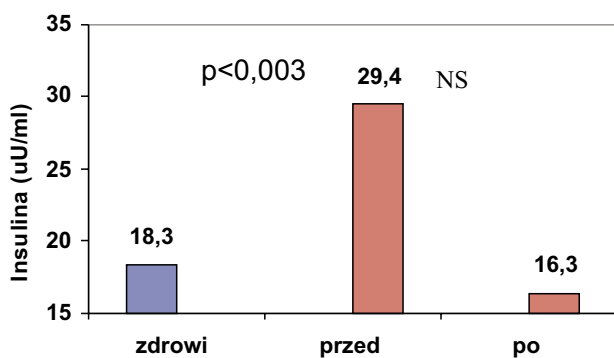


Rys. 2 Stężenie glukozy na czczo u osób zdrowych, oraz łącznie u wszystkich chorych z akromegalią przed i po leczeniu.

Fig. 2 Fasting serum glucose levels in healthy subjects and in all patients with acromegaly before and after treatment.

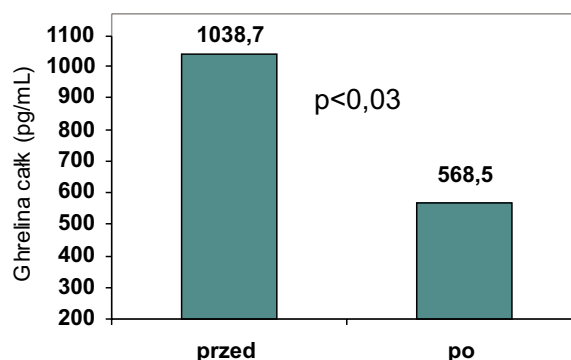
## 4/ Stężenie ghreliny.

Grupa I. Stężenie ghreliny całkowitej na czczo u chorych przed operacją wynosiło  $1164,2 \pm 321$  pg/ml i po wyleczeniu operacyjnym wzrosło do  $1553,6 \pm 542$  pg/ml ( $p=0,01$ ). Wzrost stwierdzono u wszystkich z wyjątkiem dwóch leczonych. Stężenie ghreliny przed i po wyleczeniu operacyjnym przedstawia rys. 5.



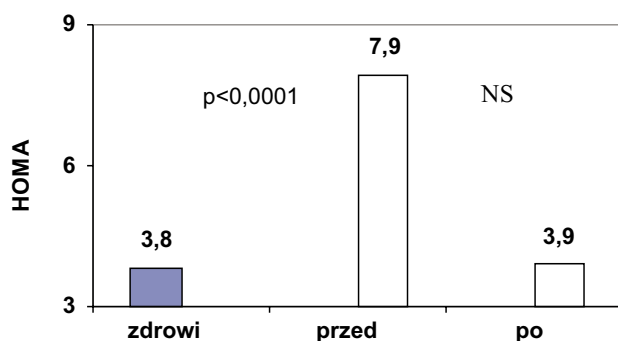
**Rys. 3** Stężenie insuliny na czczo u osób zdrowych, oraz łącznie u wszystkich chorych z akromegalią przed i po leczeniu.

**Fig. 3** Fasting serum insulin levels in healthy subjects and in all patients with acromegaly before and after treatment.



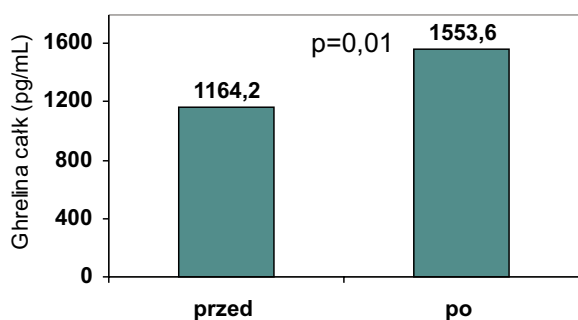
**Rys. 6** Stężenie ghreliny na czczo przed i w czasie leczenia farmakologicznego z zastosowaniem analogów somatostatyny.

**Fig. 6** Fasting serum ghrelin levels in patients with acromegaly before and during pharmacological treatment with somatostatin analogs.



**Rys. 4** Wskaźnik HOMA u osób zdrowych, oraz łącznie u wszystkich chorych z akromegalią przed i po leczeniu.

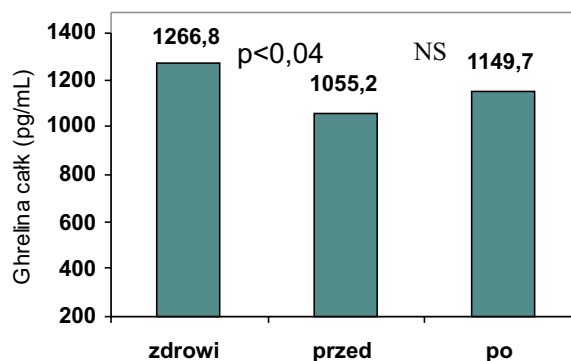
**Fig. 4** HOMA index in healthy subjects and in all patients with acromegaly before and after treatment.



**Rys. 5** Stężenie ghreliny na czczo przed i po wyleczeniu operacyjnym.

**Fig. 5** Fasting serum ghrelin levels in patients with acromegaly before and after successful surgery.

Grupa kontrolna. Stężenie ghreliny u osób zdrowych wynosiło  $1266,8 \pm 374$  pg/ml i było wyższe niż u chorych z akromegalią, u których wynosiło  $1055,2 \pm 325$  pg/ml ( $p < 0,04$ ). Po operacji stężenie ghreliny całkowitej nie różniło się znacząco między grupami zdrowych i wyleczonych (odpowiednio:  $1266,8 \pm 374$  i  $1149,7 \pm 543$  pg/ml). Stężenie ghreliny u osób zdrowych z grupy kontrolnej oraz u chorych z akromegalią przed i po wyleczeniu operacyjnym przedstawia rys 7.



**Rys. 7** Stężenie ghreliny u osób zdrowych oraz u chorych z akromegalią przed i po wyleczeniu operacyjnym.

**Fig. 7** Fasting serum ghrelin levels in healthy subjects and patients with acromegaly before and after successful surgical treatment.

Grupa II. Stężenie ghreliny całkowitej na czczo przed stosowania analogów somatostatyny wynosiło  $1038,7 \pm 344$  pg/ml i w czasie leczenia obniżyło się do  $568,5 \pm 252$  pg/ml ( $p < 0,03$ ). Spadek stwierdzono u wszystkich z wyjątkiem jednego z leczonych. Stężenie ghreliny całkowitej przed i w czasie leczenia przedstawia rys. 6.

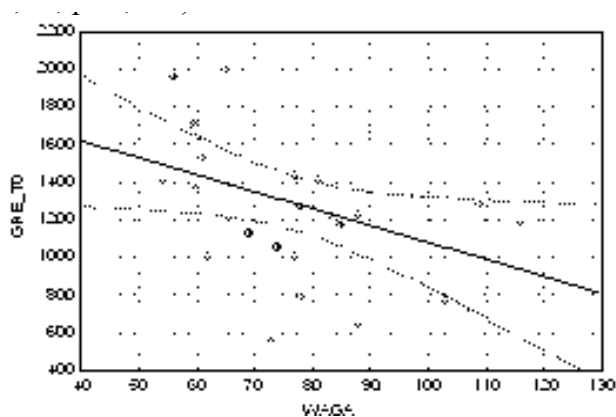
5/ Korelacja między stężeniem ghreliny a ciężarem i składem ciała.

U osób zdrowych z grupy kontrolnej stwierdzono ujemną korelację między stężeniem ghreliny a ciężarem ( $r = -0,40$ ;  $p = 0,04$ ; rys. 8) i tendencję w kierunku ujemnej korelacji między stężeniem ghreliny a wskaźnikiem masy ciała ( $r = -0,22$ ;  $p = 0,2$ ).

U chorych po wyleczeniu operacyjnym i w czasie stosowania analogów somatostatyny stwierdzono



tendencję w kierunku ujemnej korelacji między stężeniem ghreliny i BMI ( $r = -0,59$ ;  $p = 0,056$ ).



**Rys. 8** Korelacja między stężeniem ghreliny w surowicy a ciężarem ciała u zdrowych osób z grupy kontrolnej.

**Fig. 8** Correlation between serum ghrelin levels and body weight in healthy subjects.

6/ Korelacja między stężeniem ghreliny oraz GH i IGF-1.

Nie stwierdzono korelacji między stężeniem ghreliny a stężeniem GH i IGF-1 u osób zdrowych ani chorych z akromegalią przed leczeniem i po wyleczeniu operacyjnym oraz w czasie stosowania analogów somatostatyny.

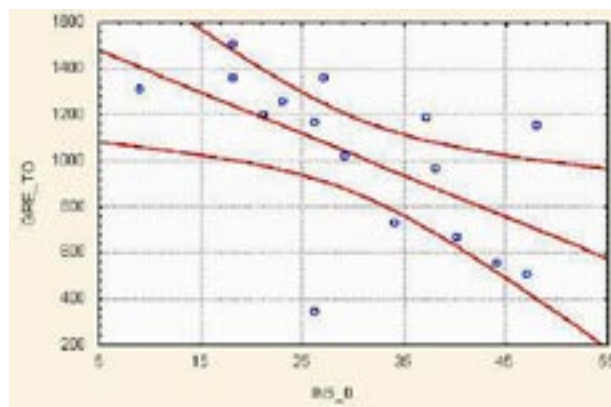
7/ Korelacja między stężeniem ghreliny a wskaźnikami metabolizmu węglowodanów.

U chorych z akromegalią stwierdzono ujemną korelację między stężeniem ghreliny całkowitej a stężeniem insuliny na czczo ( $r = -0,48$ ;  $p < 0,02$ ; rys. 9) i wskaźnikiem HOMA ( $r = -0,57$ ;  $p < 0,03$ ; rys. 10)

## Dyskusja

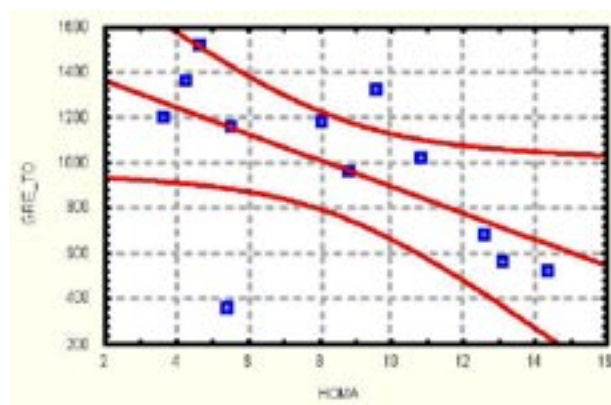
Ghrelin jest hormonem produkowanym głównie w żołądku, pobudzającym wydzielanie hormonu wzrostu *in vitro* i *in vivo* u zwierząt i ludzi. Choć wykazano, że działanie to jest niezależne od GHRH i jest wynikiem aktywacji receptorów GHSR-1a, to rola ghreliny w procesie wydzielania GH nie jest do końca poznana. Badania fizjologiczne i histochemiczne wskazują, że ghrelin wytworzona w żołądku przenika barierę krew – mózg i dociera do podwzgórza, w okolice neuronów posiadających receptory GHSR-1a a także mRNA dla GHRH. Czynniki ten może być uwalniany do krążenia wrotnego przysadki pod wpływem ghreliny. W grę wchodzi także działanie autokrynne i parakrynne w podwzgórzu i przysadce.

Drugą ważną rolę, którą pełni ghrelin w ustroju jest jej udział w regulacji bilansu energetycznego. Stwierdzono, że pod jej wpływem dochodzi do przyrostu ciężaru ciała wskutek zwiększenia łaknienia i zmniejszenia utylizacji



**Rys. 9** Korelacja między stężeniem ghreliny i insuliny na czczo u chorych z akromegalią.

**Fig. 9** Correlation between fasting serum ghrelin and insulin levels in patients with acromegaly.



**Rys. 10** Zależność między stężeniem ghreliny a wskaźnikiem HOMA u chorych z akromegalią.

**Fig. 10** Correlation between serum ghrelin levels and HOMA index in patients with acromegaly.

tłuszczu. Wykazano, że pod wpływem ghreliny w neuronach jądra łukowatego podwzgórza, a więc regionu odpowiedzialnego za kształtowanie się poczucia głodu, wzrasta stężenie białka c-fos – markera aktywności neuronalnej [14]. Zwiększeniu ulega aktywność neuronów produkujących neuropeptyd Y (NPY) i *agouti-related protein* (AGRP), co wskazuje, że ghrelin jest fizjologicznym mediatorem poczucia głodu [15,16]. Jej działanie ulega zahamowaniu pod wpływem antagonistów NPY i AGRP. U szczurów pozbawionych jądra łukowatego ghrelin powoduje wzrost wydzielania GH, ale nie zwiększa łaknienia [17]. W chwilach głodu ilość mRNA ghreliny w żołądku a następnie jej stężenie we krwi wzrasta niemal dwukrotnie. Spada ono szybko w ciągu 1 godziny po spożyciu posiłku. Zgodnie z hipotezą zaproponowaną przez *Tschopa i wsp.* ghrelin jest hormonem odpowiadającym za pozytywną regulację bilansu energetycznego w następstwie bezpośredniego wpływu na neurony

jądra łukowego podwzgórza, zwiększającym anaboliczne działanie hormonu wzrostu [1].

O znaczeniu ghreliny w rozwoju guza przysadki i w produkcji GH może świadczyć obecność receptorów GHSR-1a zarówno w zdrowej przysadce jak i w komórkach guzów o typie gruczolaków [18,19].

Przedstawione przez nas wyniki badań wskazują, że stężenie ghreliny całkowitej u chorych z akromegalią jest obniżone, a skuteczne leczenie operacyjne powoduje wzrost stężenia ghreliny do wartości podobnych jak u ludzi zdrowych. Leczenie zachowawcze z zastosowaniem oktreotydu obok zmniejszenia wydzielania GH i produkcji IGF-1 do wartości spełniających współczesne kryteria dobrej kontroli biochemicznej przebiegu akromegalii prowadzi do dalszego spadku stężenia ghreliny.

Poszukując przyczyny obniżonego stężenia ghreliny w akromegalii należy brać pod uwagę kilka mechanizmów. Po pierwsze, stale utrzymujące się zwiększone wydzielanie GH i podwyższone stężenie IGF-1 może wywierać, na drodze ujemnego sprzężenia zwrotnego, działanie hamujące produkcję ghreliny. Badania na szczurach wykazały bezpośrednio, hamujące produkcję ghreliny w żołądku działanie GH. Również w badaniach na zwierzętach a także wśród zdrowych dzieci i młodzieży stwierdzono podobną zależność dotyczącą IGF-1 [20,21,22]. W zespole niedoboru GH leczenie uzupełniające prowadzi do obniżenia stężenia ghreliny, choć autorom nie udało się wykazać korelacji między jej stężeniem a wydzielaniem GH i IGF-1 [23]. Można więc przypuszczać, że istnieje ujemne sprzężenie zwrotne między wydzielaniem GH w przysadce a produkcją ghreliny w żołądku, choć u badanych przez nas chorych nie udało się wykazać takiej bezpośredniej korelacji.

Inny potencjalny mechanizm, który należy brać pod uwagę wiąże się z zaburzeniami metabolizmu węglowodanów w akromegalii, prowadzącymi zwykle do podwyższonego stężenia glukozy i insuliny i wreszcie jawnej cukrzycy. Ich przyczyną nie jest otyłość, ale przeciwne do insuliny działanie hormonu wzrostu produkowanego stale w nadmiernych ilościach. Wiadomo, że u ludzi zdrowych podanie glukozy drogą dożylną lub doustną powoduje zahamowanie wydzielania ghreliny [8, 24]. Jej produkcja ulega również zmniejszeniu po podaniu insuliny, a nawet w warunkach hipoglikemii poinsulinowej. Stężenie ghreliny wykazuje wybitną ujemną korelację ze stężeniem insuliny a także opornością insulinową [25,26,27]. Mechanizm ten może odgrywać rolę także w akromegalii. Możliwość taką potwierdza wykazanie ujemnej korelacji między stężeniem ghreliny i insuliny na czczo oraz wskaźnikiem insulinooporności HOMA wśród badanych przez nas chorych. Obniżanie się stężenia glukozy i insuliny oraz wskaźnika insulinooporności w wyniku wyleczenia, którym towarzyszyło norma-

lizowanie się stężenia ghreliny stanowi dodatkowe potwierdzenie takiej zależności.

U chorych z akromegalią ciężar oraz wskaźnik masy ciała były znamienne wyższe niż u osób zdrowych z grupy kontrolnej. Wprawdzie u chorych nie badano składu ciała, jednak na podstawie szeregu wcześniejszych obserwacji przedstawianych przez innych autorów wiadomo, że w akromegalii dochodzi do wzrostu beztłuszczowej masy ciała zaś masa tłuszczu ulega raczej obniżeniu [28]. Pośrednim potwierdzeniem tej zasady u badanych przez nas chorych jest brak różnic w stężeniu leptyny, a więc hormonu wykazującego korelację z masą tłuszczu, w porównaniu do osób zdrowych (dane nieopublikowane). Także brak zależności między stężeniem ghreliny i leptyny (dane nieopublikowane) pozwala sądzić, że obniżone stężenie ghreliny u obserwowanych przez nas chorych nie jest wynikiem otyłości. Wnioski te pozostają w zgodności z obserwacjami innych autorów [13].

O ile wyleczenie operacyjne prowadziło do wzrostu stężenia ghreliny to stosowanie analogów somatostatyny powodowało jego obniżenie, mimo normalizacji stężenia GH i IGF-1, jak również obniżenia się stężenia insuliny. Należy przypuszczać, że jest to wynikiem bezpośredniego hamowania wydzielania ghreliny przez somatostatynę i wobec tego uniemożliwia ujawnienie się efektu normalizacji stężenia GH i IGF-1 i następowego spadku stężenia insuliny [29]. Podobne efekty działania somatostatyny a także jej analogu cortistatyny wykazali inni autorzy u zdrowych ludzi młodych i w akromegalii [13,30].

Przedstawione przez nas badanie chorych z akromegalią ograniczało się do oceny stężenia na czczo ghreliny całkowitej. Jak wiadomo z opublikowanych niedawno prac także cząsteczka hormonu nie posiadająca grupy oktanoilowej, występująca w krążeniu w znacznie większym stężeniu, choć pozbawiona aktywności endokrynej odznacza się istotnym działaniem metabolicznym, zwłaszcza w zakresie przemiany węglowodanów. Wykazano, że ghrelina acylowana niezależnie od insuliny, pobudza bezpośrednio produkcję glukozy przez hepatocyty, zaś cząsteczka nieacylowana wywiera działanie przeciwne [31]. Wydaje się więc w przyszłości celowa ocena zachowania się zarówno ghreliny całkowitej jak i jej postaci acylowanej.

Podsumowując, badanie wykazało, że w akromegalii stężenie ghreliny jest obniżone, a skuteczne leczenie operacyjne prowadzi do jego normalizacji, prawdopodobnie wskutek obniżenia produkcji GH, stężenia IGF-1 i insuliny. Stosowanie analogów somatostatyny mimo zmniejszenia wydzielania GH i obniżenia stężenia IGF-1 oraz insuliny prowadzi do dalszego spadku stężenia ghreliny, co jest prawdopodobnie wynikiem bezpośredniego hamowania produkcji ghreliny przez analogi somatostatyny.



## Wnioski:

U chorych z akromegalią:

- 1/ stężenie ghreliny całkowitej jest obniżone w porównaniu do osób zdrowych, co można wiązać ze zwrotnym hamowaniem jej produkcji i opornością insulinową spowodowaną nadmiarem hormonu wzrostu.
- 2/ skuteczne leczenie operacyjne prowadzi do normalizacji stężenia ghreliny.
- 3/ stosowanie analogów somatostatyny prowadzi do dalszego obniżania się stężenia ghreliny mimo normalizacji wydzielania GH i IGF-1.

## Piśmiennictwo

1. Van Der Lely A, Tschop M, Heiman M L et al Biological, Physiological and Pharmacological Aspects of Ghrelin. *Endocrine Rev*, 2004; 25: 426-457
2. Seoane L M, Tovar S, Baldelli R. et al Ghrelin elicits a marked stimulatory effect on GH secretion in freely-moved rats. *Europ J Endocrinol* 2000; 143: R7-R9
3. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N. et al Ghrelin Strongly Stimulates Growth Hormone (GH) Release In Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-4911
4. Tannenbaum G S, Bowers C Y. Interactions of growth hormone secretagogues and growth hormone-releasing hormone/somatostatin. *Endocrine* 2001; 14: 21-27
5. Lawrence C B, Snape A C, Baudoin F M, et al Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers. *Endocrinology* 2002; 143: 155-162
6. Tschop M, Weyer C, Tataranni P. A, et al Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707-709
7. Cowley M A, Smith R G, Diano S. et al The distribution and mechanism of action of ghrelin on the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; 37: 649-661
8. Shiya T, Nakazato M, Mizuta M et al Plasma Ghrelin Levels in Lean and Obese Humans and the Effect of Glucose on Ghrelin Secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-244
9. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, et al Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Europ J Endocrinol* 2001; 145: R5-R9
10. Broglio F, Benso A, Gottero C, et al Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans.
11. Cappiello V, Ronchi C, Morpurgo P S, et al Circulating ghrelin levels in basal conditions and during glucose tolerance test in acromegalic patients. *Europ J Endocrinol* 2002; 147: 189-194
12. Van Der Toorn F M, Janssen J A, de Herder W W, et al Central ghrelin production does not substantially contribute to systemic ghrelin concentrations: a study in two subjects with active acromegaly. *Europ J Endocrinol* 2002; 147: 195-199
13. Freda P. U, Reyes C. M, Conwell I. M, et al Serum Ghrelin Levels in Acromegaly: Effects of Surgical and Long-Acting Octreotide Therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2037-2044
14. Nakazato M, Murakami N, Date Y, et al A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409: 194-198
15. Asakawa A, Inui A, Kaga T, et al Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001; 120: 337-345
16. Cummings D E, Purnell J. Q, Frayo R. S, et al A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; 50: 1714-1719
17. Tamura H, Kamegai J, Shimizu T, et al Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology* 2002; 143: 3268-75
18. Korbonitis M, Bustin S. A, Kojima M, et al The Expression of the Growth Hormone Secretagogue Receptor Ligand Ghrelin in Normal and Abnormal Human Pituitary and Other Neuroendocrine Tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-887
19. Kim K, Arai K, Sanno N et al Ghrelin and growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHSR) mRNA expression in human pituitary adenomas. *Clin Endocrinol* 2001; 54: 759-768
20. Reed Q X, Englander E W, Chandrashekar V et al Evidence that growth hormone exerts a feedback effect on stomach ghrelin production and secretion. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228: 1028-32
21. Liu Y L, Yakar S, Otero-Corchon V et al Ghrelin gene expression is age-dependent and influenced by gender and the level of circulating IGF-1. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 189: 97-103
22. Bellone S, Rapa A, Vivenza D, et al Circulating ghrelin as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: RC13-5
23. Malik I. A, English P. J, Ghati M. A. et al The relationship of ghrelin to biochemical and anthropometric markers of adult growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 2004; 60: 137-141
24. Tanaka M, Tatebe Y, Nakahara T, et al Eating Pattern and the Effects of Oral Glucose on Ghrelin and Insulin Secretion in Patients With Anorexia Nervosa. *Clin Endocrinol* 2003; 59: 574-579
25. Egido E. M, Rodrigues-Gallardo J, Silvestre R A, et al Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 241-244
26. Saad M F, Bernaba B, Chii-Min H, et al Insulin Regulates
27. Katsuki A, Urakawa H, Gabazza EC, et al Circulating levels of active ghrelin is associated with abdominal adiposity, hyperinsulinemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2004; 151: 573-577
28. Bengtsson BA, Brummer RJ, Eden S, et al Body composition in acromegaly. *Clin Endocrinol* 1989; 30:121-130
29. Norrelund H, Hansen T. K, Orskov H, et al Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin. *Clin Endocrinol* 2002; 57: 539-546
30. Broglio F, Koetsveld P v P, Gottero C, et al Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4829-32
31. Broglio F, Gottero C, Prodman F, et al Non-acylated Ghrelin Counteracts the Metabolic But not the Endocrine Response to Acylated Ghrelin in Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3062-3065