

Роль грелина при нарушениях регуляции массы тела: применение в клинической практике

Расширенный реферат статьи Solomou S., Korbonits M. The role of ghrelin in weight-regulation disorders: Implications in clinical practice // *Hormones*, 2014, 4, 458–475.

Реферат подготовлен И.В. Полубояриновой

Грелин, орексигенный белок с уникальной посттрансляционной модификацией, является важным регулятором контроля аппетита и энергетического баланса. Грелиновый рецептор, или рецептор стимулятора секреции гормона роста типа 1а, способен связывать ацилированный грелин. Первым открытым эффектом грелина была индукция высвобождения гормона роста из соматотрофных клеток передней доли гипофиза. Кроме того, действуя на афферентные волокна блуждающего нерва или центрально, грелин может активировать гипоталамические аркуатные нейроны, секретирующие орексигенные белки нейропептид Y и агути-подобный пептид, а также ингибировать анорексигенные нейроны, секретирующие проопиомеланокортин и α -меланоцитстимулирующий гормон. Орексигенные сигнальные пути грелина включают в себя активируемую аденозинмонофосфатом протеинкиназу. Предполагается, что грелин также может повышать дофаминергическую трансмиссию от вентральной области покрышки среднего мозга к прилежащему ядру, что приводит к увеличению афферентных сигналов «вознаграждения». Имеющиеся данные показывают, что грелин играет важную роль при ожирении, расстройствах пищевого поведения и кахексии, а также в регуляции аппетита и энергетического баланса у здоровых людей. При патологических состояниях уровень грелина может быть ниже нормы, как это отмечено у людей с ожирением, или выше нормы, как при синдроме Прадера-Вилли, нервной анорексии, нервной булимии и некоторых видах кахексии. В дальнейшем применение соединений, нацеленных на пути действия грелина, может включать использование фармакотерапии агонистами грелина, антагонистами или обратными агонистами, нейтрализацию грелина вакцинами и шпигельмерами («зеркальными» аналогами аптамеров), аналогов неацилированного грелина, а также ингибиторов фермента грелин-О-ацилтрансферазы (GOAT), который связывает октаноиловую группу с неацилированным грелином в процессе синтеза гормона.

Введение

Грелин является единственным известным орексигенным гормоном с периферической продукцией и центральным действием, который рассматривается как важный сигнал в системе «кишечник-мозг» при контроле аппетита и энергетического баланса. Его первым признанным действием было стимулирование высвобождения гормона роста (ГР) из гипофиза, но он также стимулирует пролактин и АКГГ и может ингибировать ЛГ/ФСГ. В дополнение к своей орексигенной и гипофизарной активности грелин влияет на различные системы организма, такие как желудочно-кишечный тракт, сердечно-сосудистая, легочная, репродуктивная и центральная нервная системы. Мышечные эффекты грелина включают стимулирующее действие на сердечную мышцу, гладкие мыш-

цы сосудов, глаза, желудочно-кишечного тракта и скелетные мышцы, а через эффект ГР грелин также влияет на кости [1, 2]. Гормон и его рецепторы были обнаружены в репродуктивных органах и в плаценте, во время беременности и лактации грелин регулирует потребление энергии матерью [3]. Кроме того, грелин может также выступать в качестве регулятора гонадотропной оси [4]. Недавно было показано, что этот гормон играет роль в регуляции реабсорбции натрия в кортикальных канальцах почек [5]. Как было установлено, уровни грелина меняются при ряде состояний, примеры которых приведены в **таблице**. В данной работе рассматривается роль грелина при ожирении, синдроме Прадера-Вилли, анорексии и других расстройствах пищевого поведения, при кахексии, а также привлечение грелина в качестве

Таблица. Нарушения, сопровождающиеся изменением уровня грелина. Стрелкой вверх обозначено повышение уровня грелина, стрелкой вниз — снижение уровня грелина [6–18]

Нарушения	Уровни грелина
Язвенный колит [Ates et al., 2008]	↑
Болезнь Крона [Ates et al., 2008]	↑
Нарушения роста у детей [Pinsker et al., 2011]	↑
Инфицирование <i>Helicobacter pylori</i> [Nweneka & Prentice, 2011]	↓
Артериит Такаэсу [Yilmaz et al., 2012]	↓
Целиакия [Selmiloglu et al., 2006]	↑
Муковисцидоз [Monajemzadeh et al., 2013]	↑
Ишемическая болезнь сердца [Kadoglou et al., 2010]	↓
Гипертензия [Poykko et al., 2003]	↓
Сахарный диабет 2 типа [Poykko et al., 2003]	↓
Синдром поликистозных яичников [Scholf et al., 2002]	↓
Синдром Кушинга [Libe et al., 2005]	↓
Гипертиреоз [Altinova et al., 2006]	↓
Акромегалия [Freda et al., 2003]	↓
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь [Nahata et al., 2012]	↓

фармакологической мишени при этих нарушениях.

Грелин

*Структура,
рецептор и сигнальные пути*

Грелин представляет собой 28-аминокислотный пептид, который преимущественно продуцируется нейроэндокринными клетками (названными «X/A подобными» у крыс и «P/D1» у людей) в слизистой оболочке дна желудка [19]. Также грелин синтезируется в других областях желудочно-кишечного тракта и периферических органах, но в меньших количествах. 117-аминокислотный белок препрогрелин кодируется геном грелина человека на хромосоме 3p25-26. Сначала грелин отщепляется от N-конца полипептида препрогрелина с помощью конвертазы прогормонов 1/3. Затем октановая кислота этерифицирует гидроксильную группу серина в третьем положении N-конца прогрелина с образованием ацилированного грелина. Yang и соавт. (2008) показали, что ферментом, присоединяющим октанат к третьему сериновому остатку грелина, является GOAT (грелин O-ацилтрансфераза); это приводит к ацилированию грелина, что необходимо для связи его с рецептором [20]. Тем не менее не весь грелин активно ацилируется; фактически лишь малая часть циркулирующего гормона ацилирована. Первоначально считалось, что только ацилированный грелин активирует клетки, экспрессирующие классический рецептор стимулятора секреции гормона роста (рецептор GHSR), в то время как немодифицированная дез-N-октановая форма грелина (неацилированный грелин) — нет [21]. Между тем, хотя неацилированный грелин исходно считался неактивным побочным продуктом секреции или деградации грелина, последние данные свидетельствуют о том, что неацилированная форма гормона в периферических тканях и в головном мозге участвует в регуляции биологических эффектов. Исследование Неррнер и соавт. (2013) показало, что и аци-

лированная, и неацилированная формы значительно повышают образование IP3 в HEK-293 клетках, трансфицированных человеческим GHSR [22]. Интрацеребровентрикулярная инфузия неацилированного грелина у мышей увеличивает жировую массу при самой высокой тестируемой дозе, так же как стимулированную глюкозой секрецию инсулина. В отличие от этого, интрацереброваскулярное введение неацилированного грелина не оказывает влияния на регуляцию жировой массы и вызывает гиперинсулинемию у мышей с дефицитом GHSR (*Ghsr*^{-/-}). Неацилированный грелин также не оказывал влияния на эти параметры у контрольной группы мышей при подкожном введении. Основываясь на этих результатах, авторы предположили, что неацилированный грелин является агонистом GHSR и регулирует жировую массу тела и периферический метаболизм глюкозы через ЦНС GHSR-зависимый механизм [22].

Рецептор стимулятора секреции гормона роста (GHSR) имеет две изоформы: GHSR1a и GHSR1b. GHSR1a способен связывать ацилированный грелин, в то время как GHSR1b является физиологически неактивным, хотя по результатам одного исследования предположена его доминантная антагонистическая роль [23]. Результаты этого исследования показали, что когда экспрессия GHSR1b превышала таковую GHSR1a, наблюдались уменьшенные экспрессии GHSR1a на клеточной поверхности с последующим снижением активации фосфатидилинозитол-специфичной фосфолипазы C. GHSR1a является высокостабилизированным рецептором, сопряженным с G-белком. Обе изоформы рецептора, GHSR1a и 1b, широко экспрессируются в различных тканях и играют роль в сердечно-сосудистой, иммунной, пищеварительной, репродуктивной и эндокринной системах. GHSR1a преимущественно экспрессируется в гипофизе и на более низком уровне в щитовидной железе, поджелудочной

железе, селезенке, миокарде и надпочечниках [24]. Примечательно, что локус гена GHSR участвует в определении роста [25].

*Системы обратной связи
и регуляция аппетита*

Первым открытым эффектом грелина была индукция высвобождения гормона роста из соматотрофных клеток передней доли гипофиза. Кроме того, действуя центрально или через вагусные афферентные волокна, грелин может активировать аркуатные нейроны гипоталамуса, секретирующие орексигенные пептиды нейропептида Y (NPY) и агути-подобный пептид (AgRP), и ингибировать анорексигенные нейроны, секретирующие α -меланоцит-стимулирующий гормон (α -МСГ). Дугообразные нейроны проецируются на паравентрикулярные ядра, латеральную область гипоталамуса и другие ядра, а также орексин в латеральном гипоталамусе, который может содействовать орексигенным эффектам грелина [26]. Грелин является первым известным периферическим гормоном, который может вызвать орексигенные эффекты, действуя на гипоталамические пути передачи; кроме того, он активен даже при периферическом введении в отличие от большинства орексигенных пептидов, которые оказывают действие только при центральном введении. Грелин рассматривается как периферический контрагент инсулина и лептина, поскольку оказывает противоположный эффект по сравнению с этими гормонами (рис. 1). Исследование на здоровых добровольцах показало, что грелин уменьшает стимулированную глюкозой секрецию инсулина, что приводит к ухудшению толерантности к глюкозе [28]. Более того, результаты исследования CODING показали, что высокий уровень циркулирующего грелина связан с более низкой инсулинорезистентностью в общей популяции [27]. Также Tong и соавт. показали, что физиологические концентрации экзогенно вводимого грелина уменьшают секрецию

инсулина, не затрагивая чувствительности к инсулину у здоровых людей, указывая на то, что противодействие грелину может улучшить функцию β -клеток [28].

Tschöp и соавт. показали, что ежедневное периферическое введение грелина вызывало увеличение веса за счет уменьшения расщепления жира у мышей и крыс, это подразумевает, что грелин может вызывать увеличение жировой ткани и массы тела [29]. Этим результатам соответствуют полученные сведения о том, что грелин повышает экспрессию мРНК ферментов жировых депо, в то же время уменьшая экспрессию карнитин- ω -пальмитол трансферазы 1-альфа на стадии, лимитирующей скорость окисления жиров [30]. Эти данные позволяют предположить, что грелин стимулирует метаболический переход от использования жиров к углеводам, в то время как расход энергии оказывается не затронутым.

Было предположено, что грелин действует как инициатор сигнала потребления пищи у человека: повторные образцы плазмы в течение 24-часового периода показали четкий препрандиальный подъем и постпрандиальное падение уровней грелина в плазме, что свидетельствует о том, что грелин может играть физиологическую роль в инициации приема пищи [31].

Совсем недавно было продемонстрировано важное взаимодействие между глюкагоном и грелином. Механизмы, с помощью которых глюкагон индуцирует насыщение, понятны не полностью, и было высказано предположение, что стимулированное глюкагоном снижение общего уровня грелина на гипоталамо-гипофизарном уровне может быть ответственным за этот эффект [32].

Роль грелина в пищевом поведении

GHSR1a экспрессируется в различных узлах мезолимбической системы, включающей вентральную область покрышки среднего мозга (VTA) и прилежащее ядро

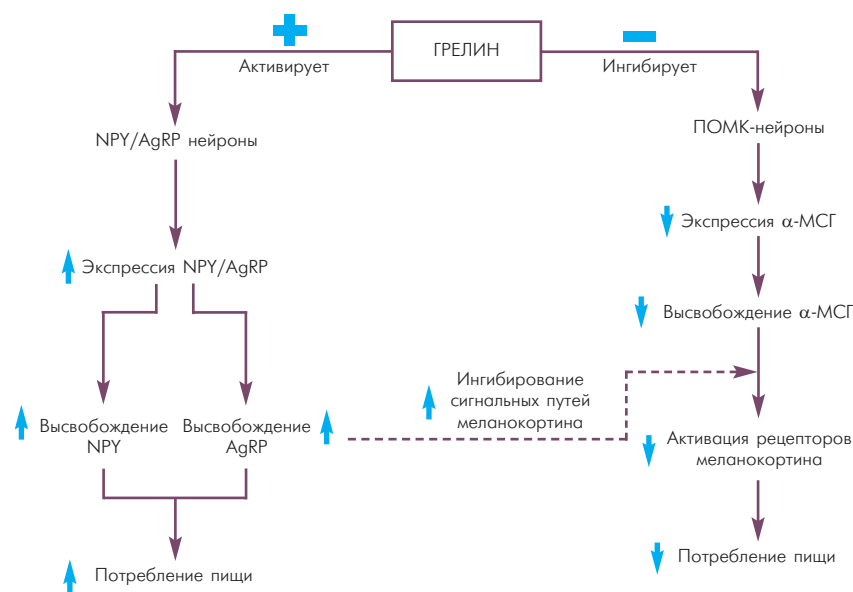


Рис. 1. Упрощенная схема влияния грелина на орексигенный и анорексигенный пути контроля потребления пищи

(NAc). Более 50 % дофаминергических VTA нейронов совместно экспрессируют этот подтип рецептора грелина, он также присутствует в ГАМК-эргической субпопуляции нейронов VTA, которые регулируют деятельность дофаминергических нейронов [33]. Было предложено, что грелин может повышать дофаминергическую передачу от вентральной области покрышки к прилежащему ядру, что приводит к увеличению афферентных сигналов «вознаграждения». Недавнее исследование, проведенное на крысах, показало, что инъекции грелина в VTA вызывали значительный рост пищевой мотивации/поведения, основанного на ожидании удовольствия («система внутреннего подкрепления»), если судить по индуцированному сахарозой прогрессирующему отношению выработки оперантного рефлекса и потребления корма. Кроме того, предварительная обработка антагонистом D_1 - и D_2 -подобных рецепторов прилежащего ядра полностью блокировала эффект «вознаграждения» грелина, не меняя при этом потребление корма [34]. Эти результаты означают, что дофаминергическая проекция от VTA к NAc, наряду с D_1 -подобными и D_2 -рецепторами в при-

лежащем ядре, являются важнейшими элементами чувствительных к грелину цепей контроля пищевого поведения в «системе награды».

Гомеостатическое потребление пищи, как полагают, находится под контролем циркулирующих гормонов, действующих главным образом на гипоталамус. Механизмы, посредством которых грелин стимулирует прием пищи, не являются только гомеостатическими, но также включают усиление награждающих свойств некоторых пищевых продуктов, так что предпринимаются дополнительные усилия для получения вкушной пищи, «гедоническая еда» [35]. Гедонический прием пищи происходит при отсутствии дефицита энергии и питательных веществ и может быть описан как «негомеостатический». С использованием функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) был продемонстрирован повышенный нейрональный ответ на изображения пищи после введения грелина в различных структурах мозга, в том числе миндале, орбитофронтальной коре, передней островковой доле коры (инсуле) и полосатом теле, вовлеченных в кодирование стимулирующих значений пищевых сигналов [36]. Эффекты грелина

на ответ миндалины и орбитофронтальной коры коррелировали с выраженностью голода при самооценке [36]. Результаты этого исследования свидетельствуют о том, что метаболические сигналы, такие как грелин, могут способствовать потреблению пищи за счет усиления гедонистических и стимулирующих ответов на связанные с пищей сигналы.

Несколько исследований изучали роль грелина в определении пищевых предпочтений. Грелин смещает пищевые пристрастия в сторону питания, богатого жирами [29], или сладкой пищи, вне зависимости от ее калорийности. Грелин усиливал предпочтение 0,3 % раствора сахараина у мышей дикого типа, в то время как у мышей с дефицитом GHSR1 такого влияния отмечено не было, что указывает на то, что сигнальные пути грелинового рецептора являются необходимым посредником этих явлений [37]. В дополнение к смещению выбора в сторону жирной и сладкой пищи, грелин также является посредником более сложного пищевого поведения на основе «системы награды». Некоторые исследования использовали тест условно-рефлекторного предпочтения места, который включал в себя сравнение длительности пребывания животного в окружении, с которым был связан условный рефлекс поиска вкусной пищи, ко времени, проведенному в месте, ассоциированном с обычным кормом или отсутствием пищи. Другим применяемым методом была выработка оперантного рефлекса, например оперантного нажатия на рычаг для получения пищи с высокими «награждающими» свойствами. Исследования, проведенные с использованием обоих вышеописанных методов, показали, что грелин усиливает ценность вознаграждения богатой жирами пищи при введении у мышей без ограничения питания; напротив, у мышей дикого типа, получавших антагонист рецептора грелина, и у мышей с отсутствием рецепторов грелина не было показано условно-рефлекторного предпочте-

ния помещения с пищей, богатой жирами, обычно наблюдаемого при ограничении калорийности [38, 39]. Кроме того, использование антагонистов GHSR1 уменьшало оперантный ответ на раствор сахарозы, так же как было обнаружено снижение потребления и самовведения сахарозы у крыс и потребления сахараина у мышей [40].

Ожирение

Многие исследования показали, что уровни грелина в плазме у людей с ожирением более низкие и обратно пропорциональны индексу массы тела [41]. Пациенты с инсулинорезистентностью и гиперинсулинемией также имеют хронически низкие уровни грелина. Например, исследование, проанализировавшее плазменные концентрации грелина натощак у 1040 участников, показало, что концентрации грелина имеют обратную зависимость с уровнем инсулина натощак и инсулинорезистентностью [15]. Концентрации грелина также отличаются у детей препубертатного возраста с ожирением и нормальной массой тела: в ответ на стандартный завтрак дети, страдающие ожирением, показали быстрое восстановление уровня грелина после приема пищи до исходного в течение 3 часов, тогда как у детей с нормальной массой тела уровни грелина оставались подавленными более 3 часов [42]. Помимо низких уровней грелина у тучных людей, также предполагается, что алиментарное ожирение вызывает резистентность к грелину в NPY/AgRP нейронах. Алиментарное ожирение подавляет нейроэндокринную систему грелина путем уменьшения ацилированного и общего грелина плазмы, снижения мРНК грелина и грелин-О-ацилтрансферазы в желудке, уменьшения экспрессии гипоталамического GHSR, а также снижения экспрессии мРНК нейропептида Y и агуты-подобного пептида [43].

Предполагается, что генетический полиморфизм гена грелина

может играть определенную роль во взаимосвязи грелина и ожирения. Замена Leu72Met в регионе белка препрогрелина и вариант Arg51Gln в конце продукта зрелого грелина (поэтому, возможно, нарушается расщепление белка) были изучены у нескольких когорт [44–46], однако воспроизводимых устойчивых корреляций найдено не было. Ген грелинового рецептора (GHSR) также был изучен в популяции пациентов с ожирением и сахарным диабетом [47, 48], тем не менее последовательных результатов получено не было. Примечательно, что ген GHSR был идентифицирован как фактор, определяющий рост [25]. Редкие мутации потери функции были обнаружены в низкорослых детях. Кроме того, Pugliese-Pires и соавт. описали инактивирующую мутацию в гене GHSR1 у пациентов с конституциональной задержкой роста и полового созревания [49].

Представляет интерес роль грелина при генетическом ожирении. Абляция грелина у дефицитных по лептину ob/ob мышей увеличивает секрецию инсулина и снижает гипергликемию. Тем не менее абляция GHSR ухудшает гипергликемию, снижает уровень инсулина и нарушает толерантность к глюкозе [50]. Пять пациентов с гомозиготной мутацией лептина и восемь гетерозиготных носителей были изучены в отношении постпрандиальных гормональных изменений. Уровни грелина в плазме крови гомозигот оставались неизменными после приема пищи, в отличие от значительного снижения у гетерозиготных и здоровых участников [51]. Эффект MC4R однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) был изучен в большом исследовании семей: для участия в нем семьи должны были иметь по крайней мере одного ребенка с избыточной массой тела в возрасте от 4 до 19 лет. Результаты показали, что генетическая изменчивость в MC4R играет функциональную роль в регуляции физической активности, расхода энергии и уровне грелина сыворотки натощак у латиноамериканцев.

риканских детей. Кроме того, один из ОНП (rs34114122) был выбран в качестве имеющего вероятный функциональный эффект на грелин, так как байесовский анализ нуклеотидов количественных признаков поддерживает функциональный эффект rs34114122 на уровень грелина сыворотки натощак с сильной апостериорной вероятностью (0,81) [52]. Недавно была идентифицирована связь между связанным с ожирением геном FTO и грелином [53]. Результаты показали, что участники, гомозиготные по predisposing к ожирению варианту гена FTO, имели нарушения регуляции циркулирующих уровней ацилированного грелина и слабое уменьшение аппетита после еды. Кроме того, постпрандиальная фМРТ показала, что у этих же участников после тестового приема пищи отмечалась повышенная нейрональная активность в областях мозга, контролирующей аппетит, «награды» и мотивацию. Авторы предполагают, что генотип FTO может изменять образ действий, которыми мозг реагирует на циркулирующий грелин. Кроме того, они предложили прямую связь между аллелями риска гена FTO и действием грелина, так как было установлено, что при клеточном анализе избыточная экспрессия гена FTO повышала экспрессию мРНК грелина и общие уровни активного грелина по сравнению с контролем, в то время как метилирование мРНК грелина было снижено. Проспективное исследование с использованием перекрестных данных 985 пожилых пациентов продемонстрировало положительную взаимосвязь между числом аллелей риска С гена FTO (rs17817449) и плазменными уровнями грелина; с другой стороны, сывороточные уровни гормона насыщения лептина были обратно пропорциональны количеству аллелей риска С гена FTO [54]. Выявленные связи подразумевают, что ген FTO может способствовать увеличению массы тела у людей за счет сдвига эндокринного баланса от лептина к грелину.

Синдром Прадера-Вилли

Синдром Прадера-Вилли (СП-В) является наиболее распространенной причиной синдромального ожирения; причиной его служит наследование по отцовской линии генов области q11-13 хромосомы 15 [55]. Считается, что утрата унаследованного от отца генного кластера SNORD116 играет определяющую роль в патогенезе СП-В [56]. Синдром характеризуется исходно плохим аппетитом с последующим развитием гиперфагии в возрасте 12 месяцев, которая в дальнейшем приводит к морбидному ожирению при отсутствии контроля. Несмотря на высокий ИМТ, несколько исследований обнаружили высокий уровень грелина у взрослых с СП-В и даже у детей по сравнению со здоровыми участниками и пациентами с алиментарным ожирением, имеющих соответствующие значения ИМТ [57–59]. Эти исследования могут указывать на то, что наблюдаемая при СП-В гиперфагия может быть вторичной по отношению к повышенным уровням грелина. Тем не менее необходимо помнить, что пациенты с СП-В не являются инсулинорезистентными, скорее, они обладают повышенной чувствительностью к инсулину. Более поздние перекрестные исследования, изучавшие уровни грелина плазмы натощак у детей младшего возраста с СП-В (n = 42) и группы контроля (n = 9) в возрасте от 7 месяцев до 5 лет, не обнаружили гипергрелинемии у детей с СП-В, у детей раннего возраста с МОН, кроме того, изменения грелина не были ассоциированы со сроками перехода к характерной гиперфагической фазе. Авторы предположили, что аномальное развитие и/или его задержка или чувствительность эффекторных путей грелина (например, парасимпатической и центральной нервной системы) могут взаимодействовать с более поздней гипергрелинемией, внося вклад в гиперфагию при СП-В [60].

В отношении исследований, демонстрирующих повышенный уровень грелина при СП-В, были

выдвинуты несколько гипотез для учета этих наблюдений [61]. Увеличенное число клеток, продуцирующих грелин в теле и дне желудка у пациентов с СП-В, может привести к повышенным уровням грелина [62]. Импринтинг отцовских генов в области q11-13 на 15-й хромосоме может вызвать продукцию избыточных количеств транскрипционных факторов, которые увеличивают экспрессию грелина. Также там может происходить утрата ингибирующего фактора транскрипции, который в норме подавляет экспрессию грелина [63]. Сниженные количества висцеральной жировой ткани и относительная гипоинсулинемия могут частично объяснить гипергрелинемию при СП-В [64]. Аномальная парасимпатическая вагусная иннервация желудка и аномальный симпатический тонус у пациентов с СП-В может также объяснить высокие уровни грелина [65]. Кроме того, исследование показало, что нарушение регуляции грелина при СП-В происходит очень рано и предшествует дебюту ожирения, указывая на то, что в первые годы жизни гипергрелинемия при СП-В может быть ответом на нарушение роста или пищевые ограничения [66]. Отсутствие подавления грелина после еды у взрослых с СП-В [59], но не у детей с СП-В [67], может означать, что прогрессирование СП-В может привести к многоступенчатому развивающемуся процессу нарушения регуляции грелина. Кроме того, у взрослых с СП-В повышенный уровень грелина более соответствует гиперфагии, чем высокие уровни пептида YY (PYY) и ГПП-1. Исследование Purcell и соавт. указывает на то, что по сравнению с подходящими по степени ожирения пациентами группы контроля, гиперфагия у участников с СП-В не связана с более низким постпрандиальным ответом ГПП-1 и пептида YY, а также что повышенные уровни грелина у пациентов с СП-В согласуются с усилением чувства голода и не имеют отношения к уровню инсулина [68].

Расстройства пищевого поведения

Нервная анорексия

Нервная анорексия (НА) является наиболее распространенной причиной потери веса у молодых женщин и причиной госпитализации детей и подростков [69]. Кроме того, нервная анорексия имеет самый высокий показатель смертности среди других психических расстройств [70]. Она характеризуется отказом поддерживать массу тела на уровне или выше минимально нормального веса, интенсивным страхом набрать вес и ожирения, а также искаженным восприятием своего веса и фигуры. Этиология нервной анорексии в настоящее время не вполне понятна. В последнее время ряд исследований был сосредоточен на взаимосвязи регуляции голода с пептидами мозга и ЖКТ; в частности, многочисленные данные показывают, что изменения центральной и/или периферической пептидергической сигнализации, включающей анорексигенный кортикотропин-рилизинг гормон, меланокортин, нейропептид Y и грелин, связаны с нарушенной регуляцией приема пищи и массы тела.

В отношении уровня грелина несколько исследований показали, что пациенты с нервной анорексией имеют более высокие уровни грелина плазмы натощак, чем здоровые люди с нормальной массой тела. Например, Monteleone и соавт. сравнили 20 пациентов с нервной анорексией с 20 здоровыми женщинами и обнаружили, что при нервной анорексии отмечались значительно повышенные уровни циркулирующего грелина по сравнению со здоровыми пациентами [71]. В другом исследовании Nedvikova и соавт. изучали реакцию грелина плазмы на прием пищи, ее объем и питательную ценность у здоровых добровольцев и женщин с нервной анорексией; было обнаружено, что грелин натощак был значительно выше в больных НА, чем в контрольной группе, и имел обратную корреляцию с процентом жировой массы тела в обеих груп-

пах. Уровни грелина значительно снижались после приема как стандартизированной пищи, так и пищевых волокон в контрольной группе, но не у женщин с анорексией [72]. Эти результаты показывают, что быстрый ответ грелина плазмы на прием пищи нарушается у больных НА. Авторы предположили, что этот ответ может быть частью хронической адаптации организма к условиям длительного ограничения пищи, который пытается восстановить нормальное пищевое поведение за счет поддержания стимула приема пищи. Еще одно исследование Tolle и соавт. проводило оценку уровня грелина в плазме крови у пациентов с нервной анорексией до и после питания и у конституционально худых участников с ИМТ, эквивалентным таковому у женщин с НА, но не имеющих нарушения пищевого поведения [73]. Было обнаружено, что в основной группе уровни грелина в плазме крови утром натощак были в два раза выше по сравнению с уровнем в группах контроля и конституционно худых участников и что 4- и 24-часовые уровни грелина были повышены по сравнению с контрольной группой. Эти результаты показывают, что уровни грелина зависят не только от жировой массы тела, но также и от пищевого статуса.

Снижение потребления пищи, которое характеризует нервную анорексию, несмотря на хронически повышенные уровни грелина, предполагает, что это состояние представляет собой форму нечувствительности или резистентности к грелину. Эта теория подтверждается результатами, показавшими, что пациенты с анорексией не реагировали на введение грелина увеличением аппетита и приемом пищи так, как это происходит у здоровых людей [74]. Ogiso и соавт. заметили, что, хотя многие исследования изучали связь между нервной анорексией и грелином, большинство исследователей измеряли уровни общего грелина и не различали ацилированный и неацилированный грелин [26]. Это может играть

роль при интерпретации результатов, так как некоторые исследования показали, что неацилированный грелин оказывает воздействие, противоположное ацилированному грелину. Например, Asakawa и соавт. продемонстрировали, что неацилированный грелин вызывает отрицательный энергетический баланс за счет уменьшения потребления пищи и задержки опорожнения желудка у мышей [75]. Результаты этих исследований противоречат ранее упомянутым данным Herpner и соавт., в соответствии с которыми неацилированный грелин является агонистом GHSR, приводя к увеличению жировой массы и повышению стимулируемой глюкозой секреции инсулина [22]. В исследовании, проведенном Kooyama и соавт., были измерены изменения уровней грелина (как ацилированного, так и неацилированного) во время начального этапа лечения нервной анорексии [76]. Было установлено, что неацилированный грелин у пациентов с нервной анорексией был выше, чем в группе контроля до лечения, однако он снижался на фоне терапии и был значительно ниже, чем в контрольной группе после восьми недель лечения; кроме того, отношение ацилированного грелина к общему увеличивалось с восьмой недели лечения. Эти результаты позволяют предположить, что успешный исход восстановления питания может включать увеличение ацилированного и снижение неацилированного грелина. В заключение следует отметить, что будущие исследования по изучению уровней грелина при нервной анорексии могли бы измерить как ацилированный, так и неацилированный грелин, чтобы получить более четкое представление о роли грелина при этом заболевании.

В настоящее время остается неизвестным, почему уровни грелина выше у пациентов с нервной анорексией, чем у здоровых людей, и почему они не реагируют соответственно на грелин. Terashi и соавт. предположили, чтобы изменения реактивных аутоантител

к грелину могли бы объяснить повышенный уровень грелина плазмы при нервной анорексии [77]. Аутоантитела к грелину встречаются в естественном виде, и считается, что физиологические аутоантитела к грелину помогают регулировать его уровни в плазме крови [41]. Аутоантитела могут нарушать регуляторную схему питания и пищевое поведение путем изменения сигнальных молекул начиная от транспорта до нейтрализации [26]. В своем исследовании Terashi и соавт. обнаружили, что пациенты с нервной анорексией имели значительно более низкие плазменные уровни аутоантител IgG, IgM, IgA к ацилированному грелину; уровни оставались низкими даже после одного месяца восстановительного питания [77]. Авторы предположили, что уменьшение биодоступных аутоантител к грелину может лежать в основе долгосрочного повышения уровней грелина в плазме и возникающего в результате феномена резистентности к грелину у истощенных пациентов с НА.

Уровни грелина также отличались в зависимости от типа нервной анорексии. В то время как одни исследования зафиксировали повышенные уровни грелина при ограничительной нервной анорексии, другие сообщали о его неизменных уровнях при типе нервной анорексии «переедание-очищение» [78, 79].

Необходимо проведение дальнейших исследований для полного освещения эффектов грелина и колебаний его уровня при нервной анорексии. Кроме того, требуются также дополнительные исследования для определения, могут ли какие-либо гены грелина predisполагать человека к нервной анорексии. Dardennes и соавт. (2007) было предположено, что полиморфизмы грелина и агутти-подобного белка дают predisположенность к нервной анорексии; результаты их исследования продемонстрировали неустойчивость передачи варианта Leu72Met гена препогрелина и избыточную передачу гаплотипа

Gln90Leu72 препогрелин/обес- татин у пациентов с нервной анорексией (подтип «переедание-очищение») [80]. Кроме того, Muller и соавт. наблюдали ассоциацию варианта гена GOAT с нервной анорексией в исследовании с участием 543 пациентов с НА и 612 здоровых лиц с нормальной и сниженной массой тела [81]. Генетическая вариация активатора гена грелина MBOAT4 выступала как причинный фактор при нервной анорексии [81], а однонуклеотидный полиморфизм 3056T>C гена грелина в другом исследовании был предложен в качестве имеющего отношение к выздоровлению при ограничительном типе нервной анорексии [82]. Тем не менее Kindler и соавт. не обнаружили повышенной частоты возникновения трех вариантов полиморфизма гена грелина у пациентов с расстройствами пищевого поведения по сравнению с здоровыми людьми группы контроля [83].

Булимия

Булимия характеризуется поеданием в определенный период времени количества пищи, значительно превышающего то, что большинство людей могли бы съесть за аналогичный период времени и при аналогичных обстоятельствах. Кроме того, этот синдром характеризует чувство потери контроля над едой в течение эпизода и рецидивирующее неадекватное компенсаторное поведение для предотвращения увеличения веса [84].

В соответствии с результатами клинических исследований уровни грелина при булимии являются переменными. Подобранные по ИМТ пациенты с булимией имели значительно более высокие уровни грелина в плазме натощак по сравнению со здоровыми добровольцами [85, 86]. Тем не менее другие исследования не обнаружили существенных различий [71, 87]. Было высказано предположение, что различия в результатах этих исследований можно было бы отнести к разнице использованных методов, например радио-

иммунного анализа и ELISA, или измерению уровней грелина натощак и нет [88]. В некоторых исследованиях было обнаружено снижение подавления грелина после еды, и было предположено, что это притупленное постпрандиальное снижение уровня грелина может указывать на пониженную реакцию сытости, которая в свою очередь может объяснить переедание [86, 89].

При сравнении пациентов с булимией и нервной анорексией было обнаружено, что уровни грелина плазмы натощак были значительно ниже у женщин с типом поведения «переедание-очищение» по сравнению с ограничительным типом пациенток с нервной анорексией [90].

Вполне возможно, что полиморфизмы гена грелина могут быть связаны с predisположенностью к нервной булимии. Например, было обнаружено, что аллель С при однонуклеотидном полиморфизме (ОНП) в 3056T>C (СС и ТС генотипы) в интроне 3 и аллель Met в Leu72Met ОНП гена грелина значительно более часто встречались при очистительном типе булимии [82]. Кроме того, вариант гена GHSR был связан с булимией у японских пациентов [91].

Кахексия

В соответствии с определением, кахексия — это комплексный метаболический синдром, связанный с основным заболеванием и характеризующийся потерей мышечной ткани с или без уменьшения жировой массы [92]. Кахексия отличается от голода, связанной с возрастом потерей мышечной массы, первичной депрессии, нарушения всасывания и гипертиреоза и связана с увеличением заболеваемости. Она может возникать у пациентов с поздними стадиями рака и/или хроническими прогрессирующими заболеваниями [93]. Недостаточное питание наблюдается у ряда пациентов с хроническими заболеваниями, в том числе застойной сердечной недостаточностью (ХСН), хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), по-

чечной недостаточностью и раком [94]. Обратная зависимость между грелином плазмы и ИМТ, отмеченная у здоровых людей, также применима и к пациентам с кахексией, например у пациентов с дефицитом массы тела и хронической обструктивной болезнью легких [95], однако не выявлено существенных различий в уровнях грелина между здоровыми участниками исследования и пациентами с кахексией (при ХСН, ХОБЛ, раке) после сопоставления ИМТ [95, 96]. Несколько исследований, тем не менее, продемонстрировали повышенные уровни при кахексии у пациентов с некоторыми видами рака [97]. Эти повышенные уровни грелина могут служить компенсацией за потери энергии для поддержания гомеостаза и в качестве защитного механизма против голода. Различные факторы могут способствовать повышению уровня грелина при ряде вариантов рака, и были получены сведения, что некоторые виды рака могут экспрессировать грелин [98]. Повышенные уровни грелина были также обнаружены у пациентов с кахексией и хронической почечной недостаточностью [99], однако это могло быть связано с повышением уровня неацилированного грелина, в то время как уровни ацилированного грелина не увеличивались [100]. Предполагается, что повышение общего грелина вторично по отношению к тому, что неацилированный грелин выводится через почки, что приводит к его накоплению при почечной недостаточности [41].

Применение в клинической практике

Грелин как фармакотерапия

Введение грелина

В дополнение к худым и тучным здоровым добровольцам, в исследования по изучению введения грелина были вовлечены несколько популяций пациентов с различными заболеваниями, включая застойную сердечную недостаточность, некоторые виды рака, сахарный диабет, заболевания

легких, нервную анорексию, терминальную стадию болезни почек, синдром Кушинга, гастропарез, синдром поликистозных яичников, тиреотоксикоз, гиперпаратиреоз, депрессию, акромегалию и недостаточность гормона роста [101]. При обзоре этих исследований Garin и соавт. пришли к выводу, что имеются убедительные доказательства того, что грелин является эффективным стимулятором аппетита, приводя к увеличению потребления энергии, но существует мало доказательств того, что грелин может вызывать положительные изменения в составе тела, а также почти нет подтверждений повышения мышечной силы и работоспособности [101].

Лишь небольшое количество исследований до сих пор изучали влияние введения грелина на пациентов с нервной анорексией. В одном из таких исследований Broglio и соавт. изучали введение грелина девяти женщинам с нервной анорексией (ограничительный тип) и семи здоровым женщинам; результаты показали нарушенный ответ гормона роста (ГР) на грелин при нервной анорексии. Хотя прием пищи не был измерен, голод упоминался в качестве нежелательного явления [102]. В недавнем пилотном исследовании Notta и соавт. изучали влияние грелина на аппетит, потребление энергии и параметры питания у пяти пациентов с ограничительным типом нервной анорексии, которые были полностью мотивированы к восстановлению массы тела, однако не могли увеличить свое потребление пищи из-за индуцированной недоеданием желудочно-кишечной дисфункции. Суточное потребление энергии у пяти пациентов в период подготовки к лечению находилось в диапазоне от 825 до 1426 ккал. Во время введения грелина четыре пациента продемонстрировали статистически значимое увеличение суточного потребления энергии в среднем на 20 % по сравнению с этапом подготовки. Анализ питательных веществ показал значительное увеличение ежедневного потребле-

ния углеводов у троих пациентов, жира у одного пациента и белка у всех участников. Введение грелина уменьшило дискомфорт в эпигастрии и запоры и увеличило оценку голода [103]. Результаты этих исследований показывают, что грелин потенциально может стать новым методом лечения нервной анорексии. Тем не менее исследование, проведенное Miljic и соавт., обнаружило, что введение грелина существенно не влияет на аппетит у 25 молодых женщин с нервной анорексией [74]. Было высказано предположение, что эти результаты могут отражать различия в популяции пациентов, продолжительности лечения и дозах [89].

Другие исследования изучали влияние введения грелина при различных состояниях кахексии. Nagaya и соавт. вводили человеческий синтетический грелин внутривенно 10 пациентам с застойной сердечной недостаточностью в течение трех недель. Было выявлено повышение потребления пищи и массы тела, кроме того, улучшилась переносимость физических нагрузок, функция левого желудочка, уменьшилась потеря мышечной массы [104]. В открытом пилотном исследовании, проведенном Nagaya и соавт., изучался вопрос, может ли грелин улучшить состояние и функциональные возможности у семи пациентов с ХОБЛ и кахексией. Было обнаружено, что три недели лечения грелином привели к значительному увеличению средней массы тела, потребления пищи, нежировой массы тела, а также периферической и дыхательной мышечной силы; кроме того, грелин ослабил повышенную активность симпатических нервов [105]. В исследовании Wunne и соавт. девяти пациентам на перитонеальном диализе с мягкой и умеренной недостаточностью питания вводили грелин подкожно. Результаты показали значительное повышение в группе абсолютной величины среднего потребления энергии по сравнению с плацебо; кроме того, введение грелина сразу же повлекло за собой удвоение

потребления энергии при выражении в пропорциональном увеличении энергии для каждого отдельного [106]. Другие исследования изучали влияние введения грелина в условиях раковой кахексии. Хотя обычно требовалось использование супрафизиологических доз грелина, воздействие на аппетит было положительным; это говорит о том, что эффекты грелина на стимулирующие аппетит центры не интенсивны при раковой кахексии. Рандомизированное плацебо-контролируемое перекрестное клиническое исследование продемонстрировало стимуляцию аппетита грелином у семи онкологических пациентов с кахексией; результаты показывают, что введение грелина значительно повышало потребление пищи и удовлетворение едой по сравнению с инфузией солевого раствора [107]. Тем не менее существуют опасения, связанные с использованием грелина при раковой кахексии; например, важной проблемой является то, что грелин может повышать уровень факторов роста, таких как ГР и ИФР-1, приводя к стимуляции роста опухоли [108]. Кроме того, короткий период полураспада грелина и способ введения с помощью инъекций дополнительно ограничивают использование грелина в качестве терапевтического средства.

Кроме препятствующего истощению эффекта за счет воздействия на GHSR1a-рецептор, Ror γ 1 и соавт. предположили, что ацилированный и неацилированный грелин могут действовать на общий неизвестный рецептор, блокируя атрофию скелетных мышц независимым от ГР путем [109]. Их результаты продемонстрировали, что оба вида грелина, ацилированный и неацилированный, подавляли индуцированную дексаметазоном атрофию скелетных мышц и экспрессию гена, связанного с атрофией (atrogene), через PI3K β -, mTORC2- и p38-опосредованные пути в мышечных волокнах. Кроме того, было показано, что ацилированный и неацилированный грелин индуцировали фосфорилирование

Акт в скелетных мышцах и препятствовали индуцированной голоданием атрофии у Ghslr-дефицитных мышечей.

Недавнее двойное слепое плацебо-контролируемое перекрестное исследование показало, что неацилированный грелин может улучшить гликемический контроль у пациентов с ожирением и диабетом за счет снижения уровня ацилированного грелина [110]. Исследование включало изучение влияния непрерывной ночной инфузии неацилированного грелина на уровни ацилированного грелина, а также реакцию глюкозы и инсулина в ответ на стандартный завтрак у восьми пациентов с избыточным весом и сахарным диабетом 2 типа. Было обнаружено, что по сравнению с плацебо введение в течение ночи неацилированного грелина значительно снижало уровень постпрандиальной глюкозы как во время непрерывного мониторинга глюкозы, так и пиковых уровней глюкозы в сыворотке крови; кроме того, степень улучшения гликемии коррелировала с исходными уровнями ацилированного грелина в плазме, которые были снижены. Авторы исследования предположили, что неацилированный грелин является хорошим кандидатом для разработки препаратов для лечения метаболических нарушений и заболеваний, таких как сахарный диабет 2 типа и синдром Прадера-Вилли.

Введение неацилированного грелина может также иметь клиническое применение. Ранее было показано, что неацилированный грелин может противодействовать эффектам ацилированного грелина на секрецию инсулина и метаболизм глюкозы: введение ацилированного грелина сопровождается снижением уровня инсулина и повышением уровней глюкозы в плазме; тогда как введение только неацилированного грелина не дало никаких результатов, неацилированный грелин вместе с ацилированным снижали ответ инсулина и глюкозы на ацилированный грелин [111]. Более того, было отмечено,

что внутривенное введение неацилированного грелина улучшает метаболизм глюкозы и тормозит липолиз у здоровых добровольцев [112]. Результаты этих исследований предполагают, что неацилированный грелин или аналоги неацилированного грелина могут иметь фармакологическое применение в будущем лечении метаболических нарушений, диабета, ожирения и синдрома Прадера-Вилли, так как они могут ингибировать или подавлять грелин.

Агонисты рецептора грелина

Несколько агонистов грелина в настоящее время находятся в стадии разработки по различным показаниям. Например, недавнее 28-дневное рандомизированное двойное слепое фазы II исследование грелиновых рецепторов TZP-102 продемонстрировало уменьшение симптомов диабетического гастропареза [113]. Другие цели агонистов рецепторов грелина включают раковую кахексию, послеоперационную кишечную непроходимость и индуцированную опиоидами дисфункцию кишечника [114]. Palus и соавт. использовали модель застойной сердечной недостаточности у крыс для изучения эффектов введения аналогов грелина BIM-28125 и BIM-28131; в то время как пролеченные плацебо крысы не прибавили жировой массы (а только мышечную массу), активные соединения индуцировали прибавку и жировой, и мышечной массы [115]. В недавнем исследовании Lenk и соавт. также использовали крысиную модель застойной сердечной недостаточности и показали, что эти же аналоги значительно повышали экспрессию миостатина в скелетных мышцах крыс [116]. В исследовании с участием здоровых добровольцев пероральный агонист грелина и секретагог ГР RC-1291 вызывал дозозависимое увеличение массы тела с независимыми от дозы побочными эффектами; авторы предполагают, что RC-1291 может стать эффективным средством для лечения связанной с раком кахексии и анорексии [117].

Антагонисты рецептора грелина

Различные фармакологические средства изучаются на предмет противодействия эффектам грелина (рис. 2). Антагонисты рецептора грелина являются примером инструмента такого воздействия. Исследование Beck и соавт. включало введение fa/fa тучным крысам Цукера антагониста грелинового рецептора (D-Lys)-GHRP-6; было обнаружено, что указанный антагонист снижал потребление пищи у крыс [118]. Более того, этот антагонист снижал потребление энергии, скорость опорожнения желудка и способствовал увеличению массы тела у ob/ob мышей [119].

Esler и соавт. также показали, что антагонист грелина YIL-781 не только уменьшал жировую массу в мышечной модели алиментарного ожирения, но и непосредственно улучшал гомеостаз глюкозы за счет повышения уровня стимулированной глюкозой секреции инсулина [120]. Несколько соединений были идентифицированы как антагонисты грелинового рецептора, в том числе пиперидин-замещенные производные хиназолинона, оптимизированные пиперазин-бисамид аналоги и производные карбогидразида. Эти классы GHSR1a антагонистов могут стать фармакологическими средствами для лечения ожирения, а также сахарного диабета 2 типа и метаболического синдрома. Тем не менее по-прежнему необходимы долгосрочные исследования на животных моделях и у человека для дальнейшего изучения положительного влияния антагонистов грелина в отношении ожирения.

Обратные агонисты грелиновых рецепторов

Рецептор грелина GHSR1a обладает высокой постоянной активностью. Было предположено, что обратные агонисты рецептора грелина могут быть полезны при лечении ожирения за счет снижения такой постоянной активности [121]. Более того, выдвинута гипотеза, что постоянная активность рецептора может быть высокой

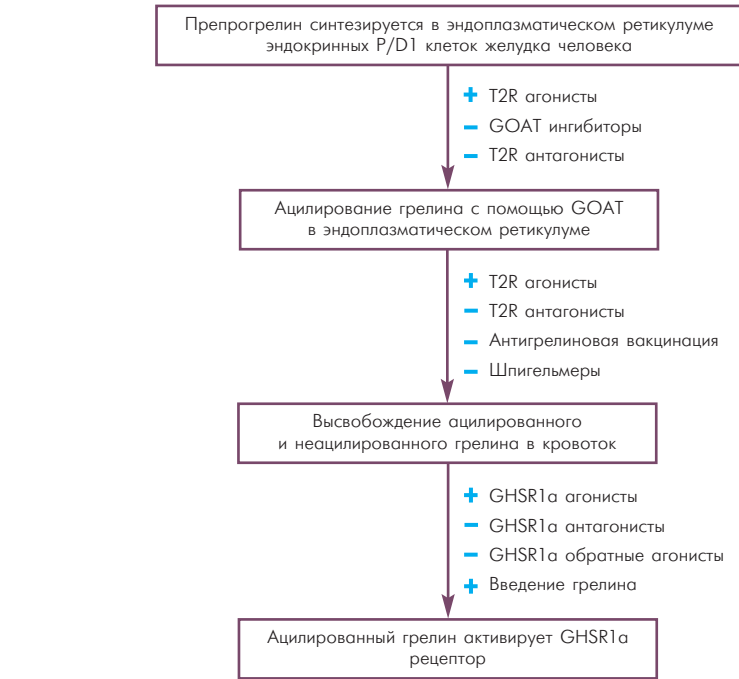


Рис. 2. Схема фармакологических подходов к модификации эффектов грелина

между приемами пищи, когда уровень грелина в плазме низок. Таким образом, в то время как антагонисты рецептора грелина могут использоваться для подавления острого препрандиального сигнала грелина, обратные агонисты грелина способны блокировать высокую постоянную активность рецептора [114]. Соединение [D-Arg1, D-Phe5, D-Trp7,9, Leu11] субстанции P было определено как антагонист с невысокой эффективностью, но при этом высокопотенциальный полный обратный агонист рецептора грелина [122]. Требуются длительные испытания на животных и исследования человека для объяснения положительного воздействия обратных агонистов рецепторов грелина при лечении ожирения.

Ингибиторы

грелин-О-ацилтрансферазы (GOAT) Были разработаны фармакологические средства для прицельного ингибирования GOAT. Примером их является GO-CoA-Tat, которое представляет собой пептидный бисубстратный аналог фермента. Barnett и соавт. продемонстрировали, что GO-CoA-Tat мощно подавляет GOAT *in vitro*, в культивируемых клетках и у мы-

шей [123]. Более того, они показали, что внутрибрюшинное введение GO-CoA-Tat улучшало толерантность к глюкозе и уменьшало набор веса у мышей дикого типа, но не у грелин-дефицитных мышей. Эти результаты показывают, что GOAT может стать перспективной мишенью для разработки лекарств, направленных на борьбу с ожирением и сахарным диабетом. С точки зрения будущей конструкции ингибиторов GOAT, результаты Yang и соавт. (2008) показывают, что GOAT подвергается ингибированию конечным продуктом, и это ингибирование лучше достигается субстратами, имеющими октаноиловую группу, присоединенную посредством амидной связи, а не соответствующего эфира [124].

Рецепторы горького вкуса

Рецепторы горького вкуса (T2R) и вкусовые G-белки, α-гастдудин (gust) и α-трансдудин, экспрессируются в кишечнике и участвуют в хемоощущении питательных веществ. Janssen и соавт. (2011) показали, что внутрижелудочное введение T2R-агонистов увеличивало потребление пищи в течение первых 30 минут у мышей дикого типа, но не у gust^{-/-} и нокаутных по

гену грелинового рецептора мышцей [125]. Кроме того, при кормлении через желудочный зонд T2R-агонисты повышали уровни ацилированного грелина в плазме у мышцей дикого типа, но эффект частично ослаблялся у *gust^{+/−}* мышцей. Результаты этого исследования свидетельствуют о том, что активация рецепторов горького вкуса стимулирует секрецию грелина, подразумевая, что T2R могут быть новой фармакологической мишенью для изменения уровней грелина.

Октреотид

Октреотид является агонистом соматостатиновых рецепторов 2 типа, который используется для лечения пациентов с акромегалией или нейроэндокринными опухолями. К побочным эффектам октреотида относится снижение секреции инсулина, что может привести к нарушению толерантности к глюкозе. Norrelund и соавт. (2002) показали, что инфузии соматостатина снижали уровни грелина на 70–80 % у здоровых добровольцев [126]. В пилотном исследовании Naqq и соавт. (2003b) кратковременное лечение октреотидом заметно снижало уровни грелина натощак у детей с синдромом Прадера-Вилли, но не в полной мере редуцировало нормальную супрессию грелина в ответ на прием пищи [127]. 56-недельное проспективное рандомизированное перекрестное исследование De Waele и соавт. (2008) оценивало, уменьшает ли октреотид пролонгированного действия концентрации ацилированного и неацилированного грелина, массу тела, аппетит и компульсивное пищевое поведение у подростков с синдромом Прадера-Вилли [128]. Было обнаружено, что лечение октреотидом привело к продолжительному снижению концентраций грелина у подростков с синдромом Прадера-Вилли, но не к уменьшению массы тела, аппетита или компульсивного пищевого поведения. На основании этих данных в настоящее время

октреотид не может быть рекомендован для лечения синдрома Прадера-Вилли [128]. Авторы предложили несколько возможных объяснений этих результатов. Так, снижение циркулирующего грелина может быть слишком малым для восприятия на уровне гипоталамуса и перехода в клинически значимые эффекты, или октреотид может ослаблять постпрандиальное снижение концентрации грелина.

Риккуншито:

усилитель действия грелина

Риккуншито (*rikkunshito*) применяется в традиционной системе траволечения (медицина Кампо) и широко используется в Японии для лечения симптомов верхних отделов ЖКТ [129]. Исследование Matsumura и соавт. (2010) включало введение риккуншито здоровым добровольцам и мышцам в течение двух недель и изучало изменения уровней пептидов и гормонов плазмы крови; было обнаружено, что риккуншито повышало плазменные уровни ацилированного грелина как у здоровых добровольцев, так и у обычных мышцей [130]. Помимо стимуляции секреции грелина, риккуншито может усиливать орексигенный эффект грелина за счет некоторых дополнительных механизмов; например, было обнаружено, что риккуншито повышал химическую активность грелина путем ингибирования активности фосфодиэстеразы-3 [131]. Применение риккуншито может оказаться полезным при цисплатин-индуцированной анорексии, возрастной анорексии, а также при увеличении или уменьшении обусловленного стрессом потребления пищи.

Нейтрализация действия грелина

Антигрелиновая вакцина

Вакцинация против грелина является одной из стратегий блокирования его эффектов. Активная вакцинация зрелых крыс иммуноконъюгатами грелина привела к выработке антител, направленных против ацилированного грелина; продукция антител снижа-

ла эффективность кормления, уменьшала выраженность ожирения и прибавку массы тела [132]. В исследовании мышцей с нормальной массой тела и алиментарным ожирением было показано, что вакцинация является эффективной в отношении быстрого уменьшения потребления пищи и увеличения расхода энергии, однако не было отмечено никаких изменений в массе тела в течение всего периода исследования [133]. В другом исследовании были получены специфические моноклональные антитела с высоким сродством к ацилированному грелину; хотя в ходе 4-недельного исследования антитела эффективно связывали эндогенный ацилированный грелин, длительное применение не влияло на потребление пищи или увеличение массы тела в мышичной модели алиментарного ожирения [134]. Кроме того, разработка грелиновой вакцины в Швейцарии была остановлена из-за получения отрицательных результатов в фазе IIa исследования с участием 111 пациентов, страдающих ожирением; была получена выраженная реакция антител на грелин, что привело к уменьшению голода, однако не было отмечено существенной потери массы тела [135]. Результаты этих исследований показывают, что, хотя периферическая нейтрализация грелина может подавлять аппетит, стимулированный транзиторным повышением грелина, компенсаторные механизмы, способствующие регуляции энергетического баланса, могут предотвращать долгосрочное влияние на массу тела. Эффективная антигрелиновая вакцина может быть полезной у людей с синдромом Прадера-Вилли. При ожирении большинство пациентов имеют низкие уровни грелина, и вакцина не может быть эффективна сама по себе в этой группе; напротив, антигрелиновая вакцина может принести пользу в качестве дополнительной терапии вместе с диетой и физическими нагрузками у пациентов, включенных в программу снижения и контроля массы тела [136].

Шпигельмеры

(«зеркальные» аналоги аптамеров) РНК шпигельмеры, или «РНК зеркала», являются новым типом блокатора грелина. Шпигельмеры являются олигонуклеотидами, синтезированными с использованием искусственно полученных L-энантимеров рибозы в сахаридофосфатном остове, что делает их стабильными в естественных условиях. Они были разработаны для активного и специфического связывания ацилированного грелина, таким образом предотвращая активацию рецептора грелина *in vitro* [114]. Шпигельмер NOX-B11-2 блокирует опосредованную грелином активацию рецептора стимулятора секреции гормона роста типа 1a в клеточной культуре, а также эффективно способствует снижению массы тела у мышей с алиментарным ожирением [137]. Другой шпигельмер, NOX-B11-3, эффективно блокировал активирующий эффект грелина в медиальном аркуатном ядре у крыс [138]. Кроме того, внутривенное введение шпигельмера NOX-B11 эффективно подавляет индуцированное грелином высвобождение гормона роста у крыс [139]. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения благоприятных клинических эффектов шпигельмеров, которые могут оказаться полезными для лечения заболеваний с высоким уровнем грелина и/или выраженным ожирением, таких как синдром Прадера-Вилли.

Выводы

Современные данные свидетельствуют о том, что грелин играет важную роль при ожирении и пищевых расстройствах, а также в регулировании аппетита и энергетического баланса у здоровых людей. Эффекты грелина могут быть как гомеостатическими (под контролем циркулирующих гормонов, действующих главным образом на гипоталамус), так и гедонистическими, включая контроль потребления пищи в «системе награды». При патологических состояниях уровень грелина может быть ниже, чем обычно, как это видно

при ожирении, или выше обычно, как в случае синдрома Прадера-Вилли, анорексии, булимии и некоторых типов кахексии.

В будущем представляется перспективным использование грелина в качестве клинической мишени. Это может включать в себя использование фармакотерапии (например, введение грелина, агонистов/антагонистов /обратных агонистов грелина, ингибиторов GOAT), а также нейтрализацию эффектов грелина (например, с помощью вакцин и шпигельмеров). Необходимы дальнейшие исследования и большие клинические испытания для окончательного определения той роли, которую грелин может играть в будущем в клинической практике.

Литература

1. Leite-Moreira AF, Rocha-Sousa A, Henriques-Coelho T, 2007. Cardiac, skeletal, and smooth muscle regulation by ghrelin. In: L Gerald (ed) *Vitam Horm*, Academic Press; pp. 207–238.
2. van der Velde M, Delhanty P, van der Eerden B, van der Lely AJ, van Leeuwen J, 2007. Ghrelin and Bone. In: L Gerald (ed) *Vitam Horm*, Academic Press; pp. 239–258.
3. Fuglsang J, 2007. Ghrelin in pregnancy and lactation. In: L Gerald (ed) *Vitam Horm*, Academic Press; pp. 259–284.
4. Tena-Sempere M, 2007. Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropic axis. In: L Gerald (ed) *Vitam Horm*, Academic Press; pp. 285–300.
5. Kemp BA, Howell NL, Gildea JJ, Keller SR, Padia SH, 2013. Intrarenal ghrelin receptors regulate EnaC-dependent sodium reabsorption by a cAMP-dependent pathway // *Kidney Int* 84: 501–508.
6. Altinova AE, Toruner FB, Akturk M, et al, 2006. Reduced serum acylated ghrelin levels in patients with hyperthyroidism // *Horm Res* 65: 295–299.
7. Ates Y, Degertekin B, Erdil A, Yaman H, Dagalp K, 2008. Serum ghrelin levels in inflammatory bowel disease with relation to disease activity and nutritional status // *Dig Dis Sci* 53: 2215–2221.
8. Freda PU, Reyes CM, Conwell IM, Sundeen RE, Wardlaw SL, 2003. Serum ghrelin levels in acromegaly: effects of surgical and long-acting octreotide therapy // *J Clin Endocrinol Metabol* 88: 2037–2044.
9. Kadoglou NPE, Lampropoulos S, Kapelouzou A, et al, 2010. Serum levels of apelin and ghrelin in patients with acute coronary syndromes and established coronary artery disease-KOZANI STUDY // *Transl Res* 155: 238–246.

10. Libe R, Morpurgo PS, Cappiello V, et al, 2005. Ghrelin and adiponectin in patients with Cushing's disease before and after successful transsphenoidal surgery // *Clin Endocrinol (Oxf)* 62: 30–36.
11. Monajemzadeh M, Mokhtari S, Motamed F, et al, 2013. Plasma ghrelin levels in children with cystic fibrosis and healthy children. *Arch Med Sci* 9: 93–97.
12. Nahata M, Muto S, Oridate N, et al, 2012. Impaired ghrelin signaling is associated with gastrointestinal dysmotility in rats with gastroesophageal reflux disease // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 303: G42–G53.
13. Nweneka C, Prentice A, 2011. Helicobacter pylori infection and circulating ghrelin levels – A systematic review // *BMC Gastroenterol* 11: 7.
14. Pinsker JE, Ondrasik D, Chan D, et al, 2011. Total and acylated ghrelin levels in children with poor growth // *Pediatr Res* 69: 517–521.
15. Poykko SM, Kellokoski E, Horkko S, et al, 2003. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes // *Diabetes* 52: 2546–2553.
16. Schoff C, Horn R, Schill T, et al, 2002. Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome // *J Clin Endocrinol Metab* 87: 4607–4610.
17. Selimoglu MA, Altinkaynak S, Ertekin V, Akcay F, 2006. Serum ghrelin levels in children with celiac disease // *J Clin Gastroenterol* 40: 191–194.
18. Yilmaz H, Gerdan V, Kozaci D, et al, 2012. Ghrelin and adipokines as circulating markers of disease activity in patients with Takayasu arteritis // *Arthritis Res Ther* 14: R272.
19. Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al, 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach // *Nature* 402: 656–660.
20. Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL, 2008. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone // *Cell* 132: 387–396.
21. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, 2000. Ghrelin and des-acyl ghrelin: Two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue // *Biochem Biophys Res Commun* 279: 909–913.
22. Heppner KM, Piechowski CL, Muller A, et al, 2013. Both acyl and des-acyl ghrelin regulate adiposity and glucose metabolism via CNS ghrelin receptors // *Diabetes* 63: 122–131.
23. Leung P-K, Chow KBS, Lau P-N, et al, 2007. The truncated ghrelin receptor polypeptide (GHS-R1b) acts as a dominant-negative mutant of the ghrelin receptor // *Cell Signal* 19: 1011–1022.
24. Gnanapavan S, Kola B, Bustin S, et al, 2002. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans // *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2988–2988.

25. Lango Allen H, Estrada K, Lettre G, et al, 2010. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height // *Nature* 467: 832–838.
26. Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Inui A, 2011. Ghrelin and anorexia nervosa: A psychosomatic perspective // *Nutrition* 27: 988–993.
27. Amini P, Wadden D, Cahill F, et al, 2012. Serum acylated ghrelin is negatively correlated with the insulin resistance in the CODING study // *PLoS ONE* 7: e45657.
28. Tong J, Prigeon RL, Davis HW, et al, 2010 Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans // *Diabetes* 59: 2145–2151.
29. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML, 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407: 908–913.
30. Theander-Carrillo C, Wiedmer P, Cettour-Rose P, et al, 2006. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism // *J Clin Invest* 116: 1983–1993.
31. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, et al, 2001. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans // *Diabetes* 50: 1714–1719.
32. Arafat AM, Weickert MO, Adamidou A, et al, 2013. The impact of insulin-independent, glucagon-induced suppression of total ghrelin on satiety in obesity and type 1 diabetes mellitus // *J Clin Endocrinol Metab* 98: 4133–4142.
33. Abizaid A, Liu Z-W, Andrews ZB, et al, 2006. Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite // *J Clin Invest* 116: 3229–3239.
34. Skibicka KP, Shirazi RH, Rabasa-Papio C, et al, 2013 Divergent circuitry underlying food reward and intake effects of ghrelin: Dopaminergic VTA-accumbens projection mediates ghrelin's effect on food reward but not food intake // *Neuropharmacology* 73: 274–283.
35. Perello M, Zigman JM, 2012. The role of ghrelin in reward-based eating // *Biol Psychiatry* 72: 347–353.
36. Malik S, McGlone F, Bedrossian D, Dagher A, 2008. Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior // *Cell Metab* 7: 400–409.
37. Disse E, Bussier A-L, Veyrat-Durebex C, et al, 2010. Peripheral ghrelin enhances sweet taste food consumption and preference, regardless of its caloric content // *Physiol Behav* 101: 277–281.
38. Finger B, Dinan T, Cryan J, 2012. Diet-induced obesity blunts the behavioural effects of ghrelin: studies in a mouse-progressive ratio task // *Psychopharmacology (Berl)* 220: 173–181.
39. Perello M, Sakata I, Birnbaum S, et al, 2010. Ghrelin increases the rewarding value of high-fat diet in an orexin-dependent manner // *Biol Psychiatry* 67: 880–886.
40. Landgren S, Simms J, Thelle D, et al, 2011. The ghrelin signalling system is involved in the consumption of sweets // *PLoS ONE* 6: e18170.
41. Hillman JB, Tong J, Tschop M, 2011. Ghrelin biology and its role in weight-related disorders // *Discov Med* 11: 521.
42. Gil-Campos M, Aguilera CM, Ramirez-Tortosa MC, Canete R, Gil A, 2010. Fasting and postprandial relationships among plasma leptin, ghrelin, and insulin in prepubertal obese children // *Clin Nutr* 29: 54–59.
43. Briggs DI, Enriori PJ, Lemus MB, Cowley MA, Andrews ZB, 2010. Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons // *Endocrinology* 151: 4745–4755.
44. Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, et al, 2001. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans // *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3996–3999.
45. Korbonits M, Gueorguiev M, O'Grady E, et al, 2002. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children // *J Clin Endocrinol Metab* 87: 4005–4008.
46. Leskela P, Ukkola O, Vartiainen J, et al, 2009. Fasting plasma total ghrelin concentrations in monozygotic twins discordant for obesity // *Metabolism* 58: 174–179.
47. Baessler A, Hasinoff MJ, Fischer M, et al, 2005. Genetic linkage and association of the growth hormone secretagogue receptor (ghrelin receptor) gene in human obesity // *Diabetes* 54: 259–267.
48. Garcia EA, Heude B, Petry CJ, et al, 2008. Ghrelin receptor gene polymorphisms and body size in children and adults // *J Clin Endocrinol Metab* 93: 4158–4161.
49. Pugliese-Pires PN, Fortin J-P, Arthur T, et al, 2011. Novel inactivating mutations in the GH secretagogue receptor gene in patients with constitutional delay of growth and puberty // *Eur J Endocrinol* 165: 233–241.
50. Ma X, Lin Y, Lin L, et al, 2012. Ablation of ghrelin receptor in leptin-deficient ob/ob mice has paradoxical effects on glucose homeostasis when compared with ablation of ghrelin in ob/ob mice // *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303: E422–E431.
51. Saeed S, Bech P, Hafeez T, et al, 2013. Changes in levels of peripheral hormones controlling appetite are inconsistent with hyperphagia in leptin-deficient subjects // *Endocrine* 45: 401–408.
52. Cole SA, Butte NF, Voruganti VS, et al, 2010. Evidence that multiple genetic variants of MC4R play a functional role in the regulation of energy expenditure and appetite in Hispanic children // *Am J Clin Nutr* 91: 191–199.
53. Karra E, O'Daly OG, Choudhury AI, et al, 2013. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity // *J Clin Invest* 123: 3539–3551.
54. Benedict C, Axelsson T, Soderberg S, et al, 2014. Brief communication: The fat mass and obesity-associated gene (FTO) is linked to higher plasma levels of the hunger hormone ghrelin and lower serum levels of the satiety hormone leptin in older adults // *Diabetes* 63: 3955–3959.
55. Nicholls RD, Knepper JL, 2001. Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman Syndromes // *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2: 153–175.
56. Bieth E, Eddiry S, Gaston V, et al, 2014. Highly restricted deletion of the SNORD116 region is implicated in Prader-Willi Syndrome // *Eur J Hum Genet* doi: 10.1038/ejhg.
57. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, et al, 2002. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery // *N Engl J Med* 346: 1623–1630.
58. Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S, et al, 2003. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi Syndrome // *J Clin Endocrinol Metab* 88: 174–178.
59. DelParigi A, Tschop M, Heiman ML, et al, 2002. High circulating ghrelin: a potential cause for hyperphagia and obesity in Prader-Willi Syndrome // *J Clin Endocrinol Metab* 87: 5461–5464.
60. Goldstone AP, Holland AJ, Butler JV, Whittington JE, 2012. Appetite hormones and the transition to hyperphagia in children with Prader-Willi syndrome // *Int J Obes* 36: 1564–1570.
61. Scerif M, Goldstone AP, Korbonits M, 2011. Ghrelin in obesity and endocrine diseases // *Mol Cell Endocrinol* 340: 15–25.
62. Choe YH, Song SY, Paik K-H, et al, 2005. Increased density of ghrelin-expressing cells in the gastric fundus and body in Prader-Willi Syndrome // *J Clin Endocrinol Metab* 90: 5441–5445.
63. Kojima M, Kangawa K, 2005. Ghrelin: Structure and Function // *Physiol Rev* 85: 495–522.
64. Goldstone AP, 2004. Prader-Willi syndrome: advances in genetics, pathophysiology and treatment // *Trends Endocrinol Metab* 15: 12–20.
65. Higgins S, Gueorguiev M, Korbonits M, 2007. Ghrelin, the peripheral hunger hormone // *Ann Med* 39: 116–136.
66. Feigerlova E, Diene G, Conte-Auriol F, et al, 2008. Hyperghrelinemia precedes obesity in Prader-Willi Syndrome // *J Clin Endocrinol Metab* 93: 2800–2805.
67. Bizzarri C, Rigamonti AE, Luce A, et al, 2010. Children with Prader-Willi syndrome exhibit more evident meal-induced responses in plasma ghrelin and peptide YY levels than obese and lean children // *Eur J Endocrinol* 162: 499–505.
68. Purtell L, Sze L, Loughnan G, et al, 2011. In adults with Prader-Willi syndrome, elevated ghrelin levels are more consistent with hyperphagia than high

- PYY and GLP-1 levels // *Neuropeptides* 45: 301–307.
69. Morris J, Tizzard S, 2007. Anorexia nervosa // *BMJ* 334: 894–898.
70. Hoek HW, 2006. Incidence, prevalence and mortality of anorexia nervosa and other eating disorders // *Curr Opin Psychiatry* 19: 389–394.
71. Monteleone P, Serritella C, Martiadis V, Scognamiglio P, Maj M, 2008. Plasma obestatin, ghrelin, and ghrelin/obestatin ratio are increased in underweight patients with anorexia nervosa but not in symptomatic patients with bulimia nervosa // *J Clin Endocrinol Metab* 93: 4418–4421.
72. Nedvidkova J, Krykorkova I, Bartak V, et al, 2003. Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa // *J Clin Endocrinol Metab* 88: 1678–1682.
73. Tolle V, Kadem M, Bluet-Pajot M-T, et al, 2003. Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women // *J Clin Endocrinol Metab* 88: 109–116.
74. Miljic D, Pekic S, Djurovic M, et al, 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: 1491–1495.
75. Asakawa A, Inui A, Fujimiya M, et al, 2005. Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacyl ghrelin // *Gut* 54: 18–24.
76. Koyama KI, Yasuhara D, Nakahara T, et al, 2010. Changes in acyl ghrelin, des-acyl ghrelin, and ratio of acyl ghrelin to total ghrelin with short-term refeeding in female in patients with restricting-type anorexia nervosa // *Horm Metab Res* 42: 595–598.
77. Terashi M, Asakawa A, Harada T, et al, 2011. Ghrelin reactive autoantibodies in restrictive anorexia nervosa // *Nutrition* 27: 407–413.
78. Sedlackova D, Kopeckova J, Papezova H, et al, 2012. Comparison of a high-carbohydrate and high-protein breakfast effect on plasma ghrelin, obestatin, NPY and PYY levels in women with anorexia and bulimia nervosa // *Nutr Metab* 9: 52.
79. Germain N, Galusca B, Grouselle D, et al, 2010. Ghrelin and obestatin circadian levels differentiate bingeing-purging from restrictive anorexia nervosa // *J Clin Endocrinol Metab* 95: 3057–3062.
80. Dardennes RM, Zizzari P, Tolle V, et al, 2007. Family trios analysis of common polymorphisms in the obestatin/ghrelin, BDNF and AGRP genes in patients with Anorexia nervosa: Association with subtype, body-mass index, severity and age of onset // *Psychoneuroendocrinology* 32: 106–113.
81. Muller TD, Tschop MH, Jarick I, et al, 2011. Genetic variation of the ghrelin activator gene ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is associated with anorexia nervosa // *J Psychiatr Res* 45: 706–711.
82. Ando T, Komaki G, Nishimura H, et al, 2010. A ghrelin gene variant may predict crossover rate from restricting type anorexia nervosa to other phenotypes of eating disorders: a retrospective survival analysis // *Psychiatr Genet* 20: 153–159.
83. Kindler J, Bailer U, de Zwaan M, et al, 2011. No association of the neuropeptide Y (Leu7Pro) and ghrelin gene (Arg51Gln, Leu72Met, Gln90Leu) single nucleotide polymorphisms with eating disorders // *Nord J Psychiatry* 65: 203–207.
84. APA 2000 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Washington.
85. Tanaka M, Naruo T, Muranaga T, et al, 2002. Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa // *Eur J Endocrinol* 146: R1–R3.
86. Kojima S, Nakahara T, Nagai N, et al, 2005. Altered ghrelin and peptide YY responses to meals in bulimia nervosa // *Clin Endocrinol (Oxf)* 62: 74–78.
87. Nakazato M, Hashimoto K, Shiina A, et al, 2004. No changes in serum ghrelin levels in female patients with bulimia nervosa // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 28: 1181–1184.
88. Atalayer D, Gibson C, Konopacka A, Geliebter A, 2013. Ghrelin and eating disorders // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 40: 70–82.
89. Cano S, Merkesteyn M, Skibicka K, Dickson S, Adan RH, 2012. Role of ghrelin in the pathophysiology of eating disorders // *CNS Drugs* 26: 281–296.
90. Troisi A, Di Lorenzo G, Lega I, et al, 2005. Plasma ghrelin in anorexia, bulimia, and binge-eating disorder: Relations with eating patterns and circulating concentrations of cortisol and thyroid hormones // *Neuroendocrinology* 81: 259–266.
91. Miyasaka K, Hosoya H, Sekime A, et al, 2006. Association of ghrelin receptor gene polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population // *J Neural Transm* 113: 1279–1285.
92. Evans WJ, Morley JE, Argiles J, et al, 2008. Cachexia: a new definition // *Clin Nutr* 27: 793–799.
93. Ashitani J, Matsumoto N, Nakazato M, 2009. Ghrelin and its therapeutic potential for cachectic patients // *Peptides* 30: 1951–1956.
94. Sharma R, Anker S, 2001. First cachexia symposium, Berlin, Germany, 1st-2nd December, 2000 // *Eur J Heart Fail* 3: 751–754.
95. Itoh T, Nagaya N, Yoshikawa M, et al, 2004. Elevated plasma ghrelin level in underweight patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am J Respir Crit Care Med* 170: 879–882.
96. Huang Q, Fan YZ, Ge BJ, Zhu Q, Tu ZY, 2007. Circulating ghrelin in patients with gastric or colorectal cancer // *Dig Dis Sci* 52: 803–809.
97. Wolf I, Sadetzki S, Kanety H, et al, 2006. Adiponectin, ghrelin, and leptin in cancer cachexia in breast and colon cancer patients // *Cancer* 106: 966–973.
98. Nikolopoulos D, Theocharis S, Kouraklis G, 2010. Ghrelin: A potential therapeutic target for cancer // *Regul Pept* 163: 7–17.
99. Aygen B, Dogukan A, Dursun F, et al, 2009. Ghrelin and obestatin levels in end-stage renal disease // *J Int Med Res* 37: 757–765.
100. Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, et al, 2002. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure // *J Am Soc Nephrol* 13: 2748–2752.
101. Garin MC, Burns CM, Kaul S, Cappola AR, 2013. The human experience with ghrelin administration // *J Clin Endocrinol Metab* 98: 1826–1837.
102. Broglio F, Gianotti L, Destefanis S, et al, 2004. The endocrine response to acute ghrelin administration is blunted in patients with anorexia nervosa, a ghrelin hypersecretory state // *Clin Endocrinol (Oxf)* 60: 592–599.
103. Hotta M, Ohwada R, Akamizu T, et al, 2009. Ghrelin increases hunger and food intake in patients with restricting-type anorexia nervosa: A pilot study. Endocrine in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women // *J Clin Endocrinol Metab* 88: 109–116.
104. Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y, et al, 2004. Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure // *Circulation* 110: 3674–3679.
105. Nagaya N, Itoh T, Murakami S, et al, 2005. Treatment of cachexia with ghrelin in patients with COPD // *Chest* 128: 1187–1193.
106. Wynne K, Giannitsopoulou K, Small CJ, et al, 2005. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: A randomized, placebo-controlled trial // *J Am Soc Nephrol* 16: 2111–2118.
107. Neary NM, Small CJ, Wren AM, et al, 2004. Ghrelin increases energy intake in cancer patients with impaired appetite: acute, randomized, placebo-controlled trial // *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2832–2836.
108. Akamizu T, Kangawa K, 2011. Therapeutic applications of ghrelin to cachexia utilizing its appetite-stimulating effect // *Peptides* 32: 2295–2300.
109. Porporato PE, Filigheddu N, Reano S, et al, 2013. Acylated and unacylated ghrelin impair skeletal muscle atrophy in mice // *J Clin Invest* 123: 611–622.
110. Ozcan B, Neggess SJ, Miller AR, et al, 2013. Does des-acyl ghrelin improve glycemic control in obese diabetic subjects by decreasing acylated ghrelin levels? // *Eur J Endocrinol* 170: 799–807.
111. Broglio F, Gottero C, Prodam F, et al, 2004. Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans // *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3062–3065.

112. Benso A, St-Pierre DH, Prodam F, et al, 2012. Metabolic effects of overnight continuous infusion of uncyclated ghrelin in humans // *Eur J Endocrinol* 166: 911–916.
113. Ejksjaer N, Wo JM, Esfandyari T, et al, 2013. A phase 2a, randomized, double-blind 28-day study of TZP-102 a ghrelin receptor agonist for diabetic gastroparesis // *Neurogastroenterol Motil* 25: e140–e150.
114. Depoortere I, 2009. Targeting the ghrelin receptor to regulate food intake // *Regul Pept* 156: 13–23.
115. Palus S, Schur R, Akashi YJ, et al, 2011. Ghrelin and its analogues, BIM-28131 and BIM-28125, improve body weight and regulate the expression of MuRF-1 and MAFbx in a rat heart failure model // *PLoS ONE* 6: e26865.
116. Lenk K, Palus S, Schur R, et al, 2013. Effect of ghrelin and its analogues, BIM-28131 and BIM-28125, on the expression of myostatin in a rat heart failure model // *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 4: 63–69.
117. Garcia JM, Polvino WJ, 2007. Effect on body weight and safety of RC-1291, a novel, orally available ghrelin mimetic and growth hormone secretagogue: Results of a phase I, randomized, placebo-controlled, multiple-dose study in healthy volunteers // *Oncologist* 12: 594–600.
118. Beck B, Richy S, Stricker-Krongrad A, 2004. Feeding response to ghrelin agonist and antagonist in lean and obese Zucker rats // *Life Sci* 76: 473–478.
119. Asakawa A, Inui A, Kaga T, et al, 2003. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice // *Gut* 52: 947–952.
120. Esler WP, Rudolph J, Claus TH, et al, 2007. Smallmolecule ghrelin receptor antagonists improve glucose tolerance, suppress appetite, and promote weight loss // *Endocrinology* 148: 5175–5185.
121. Delporte C, 2012. Recent advances in potential clinical application of ghrelin in obesity // *J Obes* 2012: doi: 10.1155/2012/535624.
122. Holst B, Lang M, Brandt E, et al, 2006. Ghrelin receptor inverse agonists: identification of an active peptide core and its interaction epitopes on the receptor // *Mol Pharmacol* 70: 936–946.
123. Barnett BP, Hwang Y, Taylor MS, et al, 2010. Glucose and weight control in mice with a designed ghrelin O-acyltransferase inhibitor // *Science* 330: 1689–1692.
124. Yang TJ, Zhao TJ, Goldstein JL, Brown MS, 2008. Inhibition of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) by octanoylated pentapeptides // *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 10750–10755.
125. Janssen S, Laermans J, Verhulst PJ, et al, 2011. Bitter taste receptors and α -gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying // *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 2094–2099.
126. Norrelund H, Hansen TK, Orskov H, et al, 2002. Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin // *Clin Endocrinol (Oxf)* 57: 539–546.
127. Haqq AM, Stadler DD, Rosenfeld RG, et al, 2003. Circulating ghrelin levels are suppressed by meals and octreotide therapy in children with Prader-Willi Syndrome // *J Clin Endocrinol Metab* 88: 3573–3576.
128. De Waele K, Ishkanian SL, Bogarin R, et al, 2008. Longacting octreotide treatment causes a sustained decrease in ghrelin concentrations but does not affect weight, behaviour and appetite in subjects with Prader-Willi syndrome // *Eur J Endocrinol* 159: 381–388.
129. Takeda H, Muto S, Nakagawa K, et al 2012. Chapter Twenty-One – Rikkunshito as a ghrelin enhancer. In: K Masayasu and K Kenji (eds) *Methods in Enzymology*, Academic Press; pp. 333–351.
130. Matsumura T, Arai M, Yonemitsu Y, et al, 2010. The traditional Japanese medicine Rikkunshito increases the plasma level of ghrelin in humans and mice // *J Gastroenterol* 45: 300–307.
131. Takeda H, Muto S, Hattori T, et al, 2010. Rikkunshito ameliorates the aging-associated decrease in ghrelin receptor reactivity via phosphodiesterase III inhibition // *Endocrinology* 151: 244–252.
132. Zorrilla EP, Iwasaki S, Moss JA, et al, 2006. Vaccination against weight gain // *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 13226–13231.
133. Andrade S, Carreira MC, Ribeiro A, et al, 2011. Development of an anti-ghrelin vaccine for obesity treatment // *Endocr Rev* 32: P2–305.
134. Lu SC, Xu J, Chinookoswong N, et al, 2009. An acyl-ghrelin-specific neutralizing antibody inhibits the acute ghrelin-mediated orexigenic effects in mice // *Mol Pharmacol* 75: 901–907.
135. Cytos Biotechnology 2006. Phase I/IIa clinical trial with obese individuals shows no effect of CYT009-GhrQb on weight loss. http://www.cytos.com/uploads/news/id180/Cytos_Press_E_061107.pdf Accessed 22nd September 2014.
136. Monteiro MP, 2011. Anti-ghrelin vaccine for obesity: a feasible alternative to dieting? // *Expert Rev Vaccines* 10: 1363–1365.
137. Shearman LP, Wang SP, Helmling S, et al, 2006. Ghrelin neutralization by a Ribonucleic Acid-SPM ameliorates obesity in diet-induced obese mice // *Endocrinology* 147: 1517–1526.
138. Beckskei C, Bilik KU, Klusmann S, et al, 2008. The anti-ghrelin spiegelmer NOX-B11-3 blocks ghrelin but not fasting-induced neuronal activation in the hypothalamic arcuate nucleus // *J Neuroendocrinol* 20: 85–92.
139. Helmling S, Maasch C, Eulberg D, et al, 2004. Inhibition of ghrelin action in vitro and in vivo by an RNA-Spiegelmer // *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 13174–13179.