

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Η σημασία της γκρελίνης στον καρκίνο του γαστρεντερικού συστήματος

Η γκρελίνη αποτελεί ένα πρόσφατα αναγνωρισμένο πεπτίδιο 28 αμινοξέων, το οποίο μπορεί να προκαλέσει στον άνθρωπο την έκκριση αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση. Κατά βάση, εκκρίνεται από το βλεννογόνο του στομάχου στη συστηματική κυκλοφορία, όμως εκφράζεται ευρέως –άλλοτε σε υψηλές και άλλοτε σε χαμηλές συγκεντρώσεις– σε ποικίλους ιστούς, φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς. Το γεγονός αυτό μας κάνει να πιστεύουμε ότι η γκρελίνη ασκεί διαφορετικές ενδοκρινείς, εξωκρινείς και παρακρινείς δράσεις ελέγχου στους φυσιολογικούς ιστούς –πρόσληψη τροφής, ρύθμιση επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης, ρύθμιση κινητικότητας και έκκρισης του γαστρεντερικού συστήματος, καρδιαγγειακές δράσεις, ανοσολογικές δράσεις, ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων– όπως και αυτοκρινείς ή παρακρινείς δράσεις στην καρκινογένεση. Σε αρκετούς ενδοκρινείς και μη ενδοκρινείς καρκινικούς όγκους *in vivo*, καθώς και σε πολλές σειρές καρκινικών κυττάρων *in vitro* –όπως σε αδενώματα της υπόφυσης, σε γαστρεντεροπαγκρεατικά και πνευμονικά καρκινοειδή, σε νεοπλάσματα του παχέος εντέρου, σε θυρεοειδικούς όγκους, σε πνευμονικά, μαστικά και παγκρεατικά καρκινώματα– έχει ανιχνευτεί η γκρελίνη, τόσο σε μορφή mRNA, όσο και σε πρωτεϊνική μορφή. Οι ποικίλες δράσεις της γκρελίνης ασκούνται μέσω της δέσμευσής της στον υποδοχέα της γκρελίνης, γνωστό και ως υποδοχέα των εκκρινικών αναλόγων της αυξητικής ορμόνης (GHS-R), υπότυπο 1α και 1β. Στην παρούσα ανασκόπηση συνοψίζεται (α) η δομή του μορίου της γκρελίνης και του υποδοχέα της, (β) οι φυσιολογικοί και οι καρκινικοί ιστοί όπου κατανέμεται και (γ) ο πιθανός ρόλος της γκρελίνης στην καρκινογένεση και ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά στον καρκίνο του γαστρεντερικού συστήματος. Επομένως, η γκρελίνη και ο υποδοχέας της αποτελούν έναν πιθανό και πολλά υποσχόμενο στόχο-δράση για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων σχετικά με τη θεραπεία του καρκίνου του γαστρεντερικού συστήματος.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ρυθμός έκκρισης της αυξητικής ορμόνης (GH) από τα σωματοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης ρυθμίζεται από δύο υποθαλαμικά πεπτίδια, την ορμόνη έκκρισης της GH (GHRH) και τη σωματοστατίνη. Η GHRH εκκρίνεται από τον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου και διεγείρει την έκκριση GH μέσω ενεργοποίησης των GHRH υποδοχέων στην υπόφυση. Αντίθετα, η σωματοστατίνη αναστέλλει την ενεργοποίηση των GHRH νευρώνων μέσω των υποδοχέων της και μέσω υπερπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης των σωματοτρόπων κυττάρων, με αποτέλεσμα να αναστέλλει την έκκριση GH. Επιπρόσθετα, μια τρίτη ανεξάρτητη οδός ρύθμισης ως προς την GH έκκριση ανακαλύφθηκε από τη

μελέτη των εκκρινικών αναλόγων της αυξητικής ορμόνης (GHSs). Τα GHSs είναι συνθετικά πεπτίδια που διεγείρουν την GH έκκριση μέσω ενός νέου G-πρωτεϊνικού-δεσμευτικού υποδοχέα, του GHS υποδοχέα (GHS-R).¹⁻³

Επειδή τα αρχικά GHSs ήταν συνθετικά μόρια, οι ερευνητές επέθεσαν ότι θα έπρεπε να υπάρχουν και ενδογενή μόρια σύζευξης για τον GHS-R, με ιδιότητες παρόμοιες με αυτές των GHSs. Εντελώς τυχαία, οι ερευνητές κατάφεραν να απομονώσουν και να ταυτοποιήσουν από το στόμαχο επίμυων ένα ενδογενές μόριο σύζευξης για τον GHS-R, το οποίο ονομάστηκε «γκρελίνη», από την πρωτο-ινδοευρωπαϊκή λέξη «γκρε» (“ghre”), που σημαίνει ανάπτυξη, και «ρελίνη» (“relin”), εφόσον δρα προκαλώντας την έκκριση αυξητικής ορμόνης (“release”).⁴ Η γκρελίνη είναι ένα πεπτίδιο

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2009, 26(2):195–205
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2009, 26(2):195–205

Δ. Νικολόπουλος,
Γ. Κουράκλης

Β΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Νοσοκομείο
«Λαϊκό», Αθήνα

The role of ghrelin in
gastrointestinal tract cancer

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρητηρίου

Γκρελίνη
Εκκρινικά ανάλογα της αυξητικής ορμόνης
(GHSs)
Καρκίνος γαστρεντερικού συστήματος
Υποδοχέας της γκρελίνης ή υποδοχέας
των GHSs (GHS-R)

Υποβλήθηκε 31.3.2008
Εγκρίθηκε 29.4.2008

με εκκρινόμενες ως προς την GH δράσεις, όμως παρουσιάζει ένα σύνολο διαφορετικών ενδοκρινικών, εξωκρινών και παρακρινών δράσεων-ελέγχου τόσο στους φυσιολογικούς ιστούς –πρόσληψη τροφής, ρύθμιση επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης, ρύθμιση κινητικότητας και έκκρισης του γαστρεντερικού συστήματος, καρδιαγγειακές δράσεις, ανοσολογικές δράσεις, ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων– όσο και σε παθολογικές καταστάσεις, όπως είναι η καρκινогένεση.

2. ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΗΣ ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ

Τα GHSs είναι μια οικογένεια μικρών συνθετικών πεπτιδίων και μη πεπτιδικών μορίων που ενεργοποιούν την έκκριση GH σε πολλά είδη και στον άνθρωπο. Το 1976, οι Bowers et al συνέθεσαν τα πρώτα GHS πεπτιδία, προερχόμενα από συνθετικά ανάλογα των μετεγκεφαλινών, τα οποία παρουσίαζαν *in vitro* ασθενή έκκριση αυξητικής ορμόνης.⁵⁻⁷ Περαιτέρω μελέτες οδήγησαν στην ανακάλυψη και τη σύνθεση πολλών νέων πεπτιδικών αναλόγων [όπως είναι το πεπτιδίο-6 απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GHRP-6),⁸ το εξαπεπτιδίο GHRP-2, το επταπεπτιδίο GHRP-1, η εξαρελίνη (hexarelin), η ηπαμορελίνη (ipamorelin)] και ακολούθως, το 1993, μη πεπτιδικών αναλόγων, όπως είναι τα MK-0677 και NN703, που παρουσίαζαν περισσότερο ισχυρή εκκρινόμενη δράση ως προς την GH και μικρότερη ή καθόλου οπιοειδική δράση.^{9,10}

Το 1996, η ερευνητική ομάδα της Merck προχώρησε σε μια ακόμα σημαντική ανακάλυψη, αυτή της κλωνοποίησης του γονιδίου του GHS υποδοχέα, ενός νέου G-πρωτεϊνικού-συζευκτικού υποδοχέα με επτά διαμεμβρανικές περιοχές (7-transmembrane domains, 7-TM), διαφορετικού από τον GHRH υποδοχέα τόσο δομικά-μοριακά, όσο και ως προς το μηχανισμό δράσης-μεταφοράς σήματος. Πιο συγκεκριμένα, η ορμόνη απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GHRH) δρα στον GHRH-υποδοχέα προκαλώντας αύξηση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) ενδοκυττάρια, ενώ τα εκκρινόμενα ανάλογα της αυξητικής ορμόνης (GHSs) δρουν μέσω του GHSR υποδοχέα αυξάνοντας την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ασβεστίου (Ca²⁺) μέσω της 1,4,5 τριφωσφορικής ινοσιτόλης, η οποία δρα ως δεύτερο σήμα μεταγωγής μέσα στο κύτταρο.¹¹⁻¹³ Το 1996, επίσης, οι Smith et al προσδιόρισαν τον GHS-R κατά βάση στον υποθάλαμο, στην υπόφυση και στον ιππόκαμπο.⁸

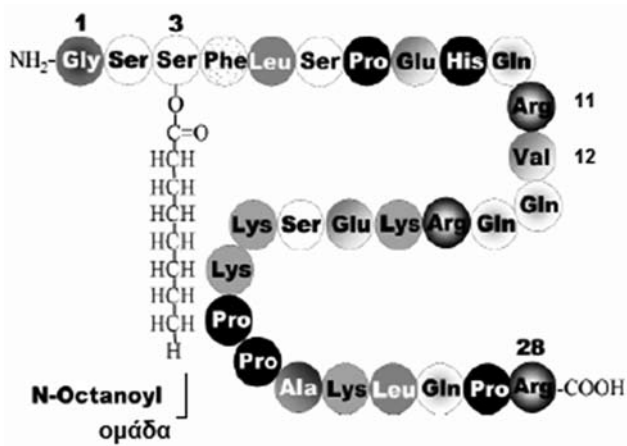
Καλλιεργώντας σειρές κυττάρων που εξέφραζαν τον GHS-R υποδοχέα και ακολούθως εγχέοντας εκχυλίσματα ιστών επίμυων και ελέγχοντας ποιοι ιστοί θα προκαλούσαν ενδοκυττάρια αύξηση Ca²⁺, οι Kojima et al (Ιαπωνική ερευνητική ομάδα), το Δεκέμβριο του 1999, παρατήρησαν πολύ ισχυρή δράση στα κύτταρα στομάχου επίμυων. Μέσα από

τα τέσσερα στάδια της χρωματογραφίας, απομονώθηκε ένα πεπτιδίο 28 αμινοξέων που ονομάστηκε «γκρελίνη».^{4,14} Το εντυπωσιακό είναι ότι η γκρελίνη αρχικά αναγνωρίστηκε στο στομάχο, όμως είναι επίσης παρούσα σε μικρότερα ποσά στον υποθάλαμο, αποτελώντας ένα νέο μέλος της ομάδας των πεπτιδίων εγκεφάλου-εντέρου (brain-gut peptide). Η ανακάλυψη της γκρελίνης αποτελεί ένα παράδειγμα ανάστροφης φαρμακολογίας (reverse pharmacology), εφόσον από τα συνθετικά εκκρινόμενα ανάλογα GHSs οδηγηθήκαμε στην ανακάλυψη του φυσικού υποδοχέα της γκρελίνης (GHS-R) και τελικά στην ανακάλυψη του φυσικού παράγοντα σύζευξης, της γκρελίνης.¹²⁻¹⁴

3. ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΤΗΣ ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ – ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η γκρελίνη είναι ένα πεπτιδίο 28 αμινοξέων, με μια μοναδική χαρακτηριστική μετα-μεταφραστική τροποποίηση:¹⁴ η υδροξυλική ομάδα του τρίτου αμινοξέος της σερίνης (Ser) έχει εστεροποιηθεί με το οκτανοϊκό οξύ, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για την άσκηση των βιολογικών δράσεων του μορίου της γκρελίνης. Επιπλέον, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η εστεροποίηση αυτή με την ακυλομάδα (C₇H₁₅CO-) καθιστά υδρόφοβο το αμινοτελικό άκρο της γκρελίνης, δίνοντας έτσι στην γκρελίνη τη δυνατότητα να διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να δεσμεύεται στον υποδοχέα της στον υποθάλαμο και στην υπόφυση.^{15,16} Επιπλέον, η υδροφοβική αλληλεπίδραση μεταξύ της η-οκτανοϊκής ομάδας της γκρελίνης και του υποδοχέα GHS-R θεωρείται σημαντική, προκειμένου να αναγνωριστεί το μόριο της γκρελίνης από τον υποδοχέα αυτόν.^{16,17} Η εστεροποίηση αυτή λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων της γκρελίνης, για τον άνθρωπο σε ποσοστό 80%, πριν από την έκκρισή της στη συστηματική κυκλοφορία.¹⁸

Οι Hosoda et al ανακάλυψαν την ακριβή αμινοξική αλληλουχία του μορίου της γκρελίνης στον άνθρωπο και στους επίμυες. Επίσης, διαφορά παρατηρήθηκε σε δύο μόνο αμινοξέα. Πιο συγκεκριμένα, στις θέσεις 11 και 12 στον άνθρωπο υπάρχουν τα αμινοξέα αργινίνη (Arg) και βαλίνη (Val), ενώ στους επίμυες λυσίνη (Lys) και αλανίνη (Ala), αντίστοιχα¹⁹⁻²¹ (εικ. 1). Μια παραλλαγή στην αλληλουχία του μορίου της γκρελίνης με 27 αμινοξέα, όπου απουσιάζει το 14ο αμινοξύ, η γλουταμίνη (des-Gln¹⁴-ghrelin), έχει επίσης αναγνωριστεί σε μικρές ποσότητες στο στομάχι, γεγονός που δείχνει ότι η γκρελίνη είναι το βασικό φυσιολογικό πεπτιδίο που απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος. Η des-Gln¹⁴-γκρελίνη –η οποία δημιουργείται από το γονίδιο της γκρελίνης με διαφορετική συναρμογή (splicing)– διεγείρει την έκκριση GH σε επίμυες, με τον ίδιο τρόπο όπως και η γκρελίνη.^{4,14,21}



Εικόνα 1. Η αμινοξική αλληλουχία του μορίου της γκρελίνης στον άνθρωπο και στους επίμυες. Στις θέσεις 11 και 12 στον άνθρωπο υπάρχουν τα αμινοξέα αργινίνη (Arg) και βαλίνη (Val), ενώ στους επίμυες τα αμινοξέα λυσίνη (Lys) και αλανίνη (Ala), αντίστοιχα.

Αργότερα, περιγράφηκαν βιολογικά ενεργά μόρια ανάλογα της γκρελίνης, σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις, με ακυλιωμένη την αλυσίδα του μορίου στη θέση του 10ου και 11ου ατόμου του άνθρακα ή με πεπτιδική αλυσίδα όπου το αμινοξύ στη θέση 28 (αργινίνη, Arg) έλειπε, αφού αυτό είναι το τελευταίο αμινοξύ στο ολοκληρωμένο μόριο του πεπτιδίου της γκρελίνης.^{4,21} Πρόσφατα, επίσης, αναφέρθηκε και ένα πεπτίδιο 12 αμινοξέων (στα κύτταρα όρχεως ποντικών), ως αποτέλεσμα διαφορετικής συναρμογής (splicing) κατά τη μεταγραφή του γονιδίου της γκρελίνης. Το παραγόμενο πεπτίδιο από τη μεταγραφή του γονιδίου της γκρελίνης –που ονομάζεται «γκρελίνη παραγόμενη από μεταγραφή του γονιδίου» (GGDT)– είναι μια διαφορετική ισομορφή, ως αποτέλεσμα διαφορετικής συναρμογής (splicing) και επακόλουθης διαφορετικής χρήσης του εξονίου 1. Δεν εκφράζεται στο στομάχι, παρά μόνο στους όρχεις.²²

Η η-οκτανοϊκή ομάδα της σερίνης στο μόριο της γκρελίνης φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για κάποιες από τις βιολογικές ενέργειες του πεπτιδίου, περιλαμβάνοντας και αυτήν της απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GH) και της επίδρασης στην όρεξη. Μη ακυλιωμένα μόρια γκρελίνης (desoctanoyl ή desacyl) κυκλοφορούν σε πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απ' ό,τι η ακυλιωμένη μορφή, χωρίς όμως να μετατοπίζουν την γκρελίνη από τις θέσεις σύνδεσής της στον υποθάλαμο και στην υπόφυση,⁴ ενώ δεν μπορούν να ενεργοποιήσουν την απελευθέρωση GH *in vivo*, σε επίμυες ή σε ανθρώπους.^{4,23} Παρόλα αυτά, ένας αυξανόμενος αριθμός εργασιών αναφέρουν βιολογικές δράσεις της μη ακυλιωμένης γκρελίνης και, πιο συγκεκριμένα, καρδιαγγειακές δράσεις και ενέργεια κατά του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.^{24–27} Η βιοενεργός γκρελίνη δεν αποτελεί μια σταθερή αναλογία στο σύνολο της ολικής γκρελίνης

στα διάφορα είδη.²⁸ Για παράδειγμα, στους ανθρώπους η αναλογία αυτή είναι 4:1.¹⁸

Το ανθρώπινο γονίδιο της γκρελίνης έχει εντοπιστεί στο χρωμόσωμα 3 (3p25–26). Πρωταρχικά, έχουν περιγραφεί τέσσερα εξόνια και τρία εσόνια (ή ιντρόνια).²⁹ Το περιγραφόμενο ανθρώπινο cDNA (συμπληρωματικό DNA στη φάση της αντιγραφής) κωδικοποιεί μια αλυσίδα μήκους 117 αμινοξέων, που αντιστοιχεί σε ένα πρόδρομο μόριο της προ-γκρελίνης (προ-προ-γκρελίνη). Η προ-προ-γκρελίνη αποτελείται από το «σήμα έναρξης» –μια αλληλουχία μήκους 23 αμινοξέων– και από την αλυσίδα της προ-γκρελίνης μήκους 94 αμινοξέων, η οποία με τη σειρά της αποτελείται από την αλυσίδα του «ώριμου» μορίου της γκρελίνης (28 αμινοξέα) και μια αλληλουχία 66 αμινοξέων ως ουρά, το «σήμα λήξης». Τα 4–5 πρώτα αμινοξέα της γκρελίνης [Gly-Ser-Ser(n-ontanoyl)-Phe-Leu] είναι υπεύθυνα για την κινητοποίηση του ασβεστίου (Ca^{2+}) *in vitro*.^{14,19} Η ακυλίωση της υδροξυ-ομάδας της σερίνης με μεγαλύτερου μήκους αλειφατικές αλυσίδες ή με ακόρεστες ή διακλαδούμενες οκτανοϊκές ομάδες δεν επιδρά πάνω στη δραστηριότητα του μορίου της γκρελίνης.^{30,31}

4. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Η γκρελίνη αρχικά απομονώθηκε από το στόμαχο. Στο στόμαχο υπάρχουν διαφορετικοί τύποι ενδοκρινικών κυττάρων. Περίπου το 20% των χρωμοφίλων οξεοπαραγωγών τύπου A ανοσοαντιδραστικών ενδοκρινικών κυττάρων του στομάχου περιέχουν mRNA γκρελίνης, ενώ τα πλούσια σε ισταμίνη εντεροχρωμοφιλα (ECL) κύτταρα (70%) όπως και τα παραγωγά κύτταρα σωματοστατίνης (D) (10%) και τα παραγωγά εντεροχρωμοφιλα κύτταρα σεροτονίνης (EC) δεν είναι θετικά για την γκρελίνη.^{32,33} Τα κύτταρα της γκρελίνης ή Grl κύτταρα είναι ανάλογα με εκείνα που παλαιότερα ήταν γνωστά ως A-κύτταρα ή όμοια με X/A κύτταρα, των οποίων το παραγόμενο ορμονικό προϊόν ήταν προηγουμένως αδιευκρίνιστο.

Τα κύτταρα της γκρελίνης στο στομάχο του ανθρώπου είναι κυκλικά ή ωοειδή με υψηλή περιεκτικότητα στο κυτταρόπλασμά τους από εκκριτικά κυστίδια (κόκκους). Τα εκκριτικά αυτά κυστίδια είναι κυκλικά, στέρεα ή με λεπτό περίβλημα και η διάμετρός τους διαφέρει ανάλογα με το είδος.³⁴ Τα κύτταρα της γκρελίνης στο στομάχι δεν έρχονται σε επαφή με τον αυλό, αλλά είναι τοποθετημένα κοντά στα τριχοειδικά αγγεία, και αυτό επειδή η γκρελίνη δεν εκκρίνεται στο γαστρεντερικό σύστημα όπως τα υπόλοιπα πεπτικά ένζυμα, αλλά εκκρίνεται εντός των αιμοφόρων αγγείων και μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας μεταφέρεται σε όλο το σώμα.³⁵ Τα κύτταρα της γκρελίνης ανευρίσκονται

σε ποσοστό 20% περίπου στο γαστρικό βλεννογόνο και σε μικρότερη αναλογία στον πυλωρό και το λεπτό έντερο, τόσο στους ανθρώπους όσο και στους επίμυες.^{6,32}

Γκρελίνη έχει βρεθεί στον πυθμένα του στομάχου στα οξεοπαραγωγά κύτταρα, αλλά όχι στην περιοχή του πυλωρού. Ένας μικρότερος αριθμός θετικών ανοσοϊστοχημικά κυττάρων έχουν βρεθεί στο λεπτό και στο παχύ έντερο. Έχει προταθεί ότι η πλειοψηφία της κυκλοφορούσας γκρελίνης προέρχεται από το στομάχι, με ένα μικρότερο ποσοστό (~30%) από το λεπτό έντερο.³⁶⁻³⁸ Αυτό φάνηκε από τις αλλαγές των επιπέδων της γκρελίνης μετά από γαστρεκτομή ή εντερεκτομή του λεπτού εντέρου, όπου αποδείχθηκε ότι τα 2/3 των κυκλοφορούντων επιπέδων της γκρελίνης προέρχονται από το στόμαχο και το 1/3 από το λεπτό έντερο.³⁶ Η συγκέντρωση της γκρελίνης στην κυκλοφορία του αίματος των επίμυων παρουσίασε μείωση κατά 80% μετά από χειρουργική αφαίρεση του οξεοπαραγωγού τμήματος του στομάχου, γεγονός που δείχνει ότι ο οξεοπαραγωγός βλεννογόνος του στομάχου είναι η βασική πηγή της γκρελίνης.³³ Παρόμοια πτώση των επιπέδων της γκρελίνης βρέθηκε και στον άνθρωπο μετά από γαστρεκτομή (~65%)⁷ ή μετά από χειρουργική γαστρική παράκαμψη.³⁹

Στο κατώτερο γαστρεντερικό σύστημα, δύο τύποι κυττάρων γκρελίνης έχουν παρατηρηθεί: (α) ένας τύπος κυττάρων που δεν επικοινωνούν με τον αυλό και τα οποία αποκαλούνται «κλειστά» κύτταρα –παρόμοια με αυτά του στομάχου– και (β) επιμηκυσμένα «ανοικτά» κύτταρα σε επικοινωνία με τον αυλό.^{32,40}

Εκτός από το γαστρεντερικό σύστημα, γκρελίνη έχει βρεθεί και σε άλλους ιστούς, είτε ως mRNA, είτε ως πρωτεΐνη ή και με τις δύο αυτές μορφές. Καταρχήν, το πεπτικό της γκρελίνης έχει βρεθεί στον υποθάλαμο, στον τοξοειδή πυρήνα (ARC) (μικρές ακανόνιστες περιοχές φαιάς ουσίας στο μεσοκοιλιακό τμήμα των πυραμίδων του προμήκους), στον κοιλιακό-έσω πυρήνα (VMN), στο ραχιαίο-έσω πυρήνα (DMN), στον παρακοιλιακό πυρήνα (PVN) και στο επενδυματικό τοίχωμα της 3ης κοιλίας του εγκεφάλου,^{22,41} στην αμυγδαλή, στο θάλαμο, στο ινίο του εγκεφάλου και στο κατώτερο τμήμα της τελικής ταινίας,⁴² στην υπόφυση,⁴³ στον ιππόκαμπο, στο φλοιό του εγκεφάλου, στη γέφυρα του εγκεφάλου (όπως στην καλύπτρα, στον υπομέλανα τύπο), στα χοριοειδή πλέγματα,^{43,44} στον πυρήνα Edinger-Westphal (παρασυμπαθητικός πυρήνας), στην οδοντωτή έλικα του ιπποκάμπεου σχηματισμού, στην παρεγκεφαλίδα, στο μεσολόβιο σώμα και στον προμήκη.^{43,44}

Επιπλέον, γκρελίνη έχει εντοπιστεί στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος,^{45,46} στον πνεύμονα,⁴⁷ στον πλακούντα,⁴⁸ ενώ φαίνεται να παρουσιάζει κυκλική έκφραση

στις ωθήκες^{49,50} και να εκφράζεται στους όρχεις^{51,52} και στους νεφρούς.⁵³ Στο πάγκρεας, άλλες έρευνες εντόπισαν την γκρελίνη στα ανθρώπινα β-νησιδιακά κύτταρα του Langerhans, όπου η γκρελίνη συνεκφραζόταν με την ινσουλίνη,⁵⁴ κάποιες άλλες στα α-κύτταρα του παγκρέατος, όπου η γκρελίνη συνεκφραζόταν με τη γλυκαγόνη,⁵⁵ ενώ άλλες σε κάποια νέα ομάδα νησιδιακών κυττάρων, τα ε-κύτταρα, που περιείχαν γκρελίνη και καμιά άλλη γνωστή ορμόνη.^{56,57}

5. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΓΚΡΕΛΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Κάποιος αυτοκρινής ή παρακρινής ρόλος της γκρελίνης στη νεοπλασία έχει αναφερθεί ήδη σε ένα σύνολο ερευνών για ένα μεγάλο εύρος όγκων (πίν. 1).⁵⁸ Το mRNA της γκρελίνης έχει βρεθεί τόσο σε φυσιολογικούς ιστούς υπόφυσης σε ανθρώπους, όσο και σε όγκους αυτής.⁴² Μη λειτουργικά αδενώματα υπόφυσης παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα mRNA γκρελίνης, ακολουθούμενα από αδενώματα που παρήγαγαν GH (σωματοτρόπα) και ακολούθως από αδενώματα που παρήγαγαν γοναδοτροπίνες (LH/FSH), ενώ τα προλακτινώματα φάνηκε να παρουσιάζουν τα χαμηλότερα επίπεδα,⁵⁹ όπως και τα κορτικοτρόπα αδενώματα (τα οποία μάλιστα ήταν αρνητικά ως προς την ανίχνευση του μορίου της γκρελίνης στο κυτταρόπλασμά τους).⁵⁸ Τα ευρήματα αυτά προτείνουν ότι η γκρελίνη που παράγεται στα αδενώματα της υπόφυσης πιθανόν να παίζει κάποιο ρόλο στο μηχανισμό που υποδεικνύει την ανάπτυξη των

Πίνακας 1. Εντόπιση γκρελίνης σε καρκινικά κύτταρα.

Εντόπιση νεοπλασίας	Κυτταρικός πολλαπλασιασμός
Καρκίνος μαστού	Αναστολή
Ηπάτωμα	+
Καρκίνος προστάτη	+
Θηλώδες ή αναπλαστικό καρκίνωμα θυρεοειδούς	Αναστολή
Θυλακίωδες καρκίνωμα θυρεοειδούς	+
Καρκίνος παγκρεατικών νησιδίων	;
Αδένωμα υπόφυσης	;
Νευροενδοκρινικός και μη ενδοκρινικός καρκίνος πνεύμονα	Αναστολή
Γαστρικό αδενοκαρκίνωμα	Αναστολή
Νευροενδοκρινικός γαστρικός όγκος	;
Αδενοκαρκίνωμα οισοφάγου	Αναστολή
Βλεννογονοεπιδερμικό αδενοκαρκίνωμα	Αναστολή
Όγκοι κεντρικού νευρικού συστήματος (αστροκύττωμα)	;

αδενωματωδών κυττάρων μέσω αυτοκρινών ή και παρακρινών οδών.⁵⁹

Επιπρόσθετα, η γκρελίνη έχει συνδεθεί με πολλές ακολουθίες καρκινικών κυττάρων και νευροενδοκρινικούς όγκους. Πιο συγκεκριμένα, σε νεόπλαστους ιστούς θυρεοειδούς, πνεύμονα και προστάτη στον άνθρωπο, όπως και σε ιστούς με καλοήγη υπερτροφία του προστάτη, έχουν εντοπιστεί συγκεκριμένες δεσμευτικές θέσεις για την γκρελίνη και γενικά για τα εκκριτικά ανάλογα GHSs (GHS-R), με τη μέθοδο της RT-PCR.^{58,60,61} Η Cassoni παρατήρησε ότι ορισμένα συνθετικά GHSs προκαλούν πολλαπλασιασμό σε σειρές κυττάρων ανθρώπινου θυλακιδώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς, μετά από 96 ώρες έκθεσης σε αυτά, ενώ σε άλλες μορφές καρκίνων του θυρεοειδούς (αναπλαστικός, θηλώδης καρκίνωμα ή μυελοειδές καρκίνωμα) διαπιστώθηκε αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων μετά από θεραπεία με συνθετικά GHSs.⁶⁰

Επιπρόσθετα, σε σειρές κυττάρων καρκίνου του προστάτη παρατηρήθηκε *in vitro* ότι η γκρελίνη ενεργοποιεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (αυξάνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό κατά 33%), γεγονός που πιθανόν να υποδεικνύει κάποιο ρόλο κινητοποιητή σε όγκους, όπως στον καρκίνο του προστάτη.⁶² Δύο χρόνια αργότερα, οι Cassoni et al, μελετώντας σειρές καρκινικών κυττάρων προστάτη και σειρές κυττάρων με καλοήγη υπερτροφία, παρατήρησαν ότι σε κάποιες σειρές η γκρελίνη –είτε σε ακετυλιωμένη είτε σε μη ακετυλιωμένη μορφή– σε χαμηλές συγκεντρώσεις (10 pmol/L) αύξανε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις (1 μmol/L) υπήρχε μείωση στον αριθμό των κυττάρων (μη ανδρογονο-εξαρτώμενη καρκινική σειρά κυττάρων του προστάτη). Επιπλέον, σε ορισμένες σειρές κυττάρων με καρκίνο του προστάτη υπήρχε αναστολή στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, είτε όταν η γκρελίνη βρισκόταν σε χαμηλές είτε σε υψηλές συγκεντρώσεις (ανδρογονο-εξαρτώμενη καρκινική σειρά κυττάρων του προστάτη).⁶³

Οι Murata et al ανέφεραν ότι η γκρελίνη ενεργοποιεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε κύτταρα ηπατώματος.⁶⁴ Επιπλέον, μελέτες προτείνουν ότι η γκρελίνη παράγεται σε αφθονία σε μυελοειδές θυρεοειδικό καρκίνωμα (από παραθυλακικά ή κύτταρα C) στον άνθρωπο, όπως και σε ενδοκρινικούς όγκους του στομάχου και του εντέρου.^{64,65} Επίσης, ορισμένοι παγκρεατικοί ενδοκρινικοί όγκοι, όπως το ινσουλίνωμα, το γαστρίνωμα, το γλουκαγόνωμα και ο ενδοκρινικός όγκος του αγγειοδραστικού εντερικού πεπτιδίου (VIPoma), εκφράζουν την γκρελίνη και τον υποδοχέα GHS-R, ανάλογα και με τον τύπο της παραγόμενης παγκρεατικής ορμόνης. Από την άλλη πλευρά, μη νευροενδοκρινικά παγκρεατικά αδενοκαρκινώματα δεν παρουσιάζουν ανοσοθετικότητα για την γκρελίνη.^{54,65}

Αντίθετα, οι Cassoni et al δημοσίευσαν μια μελέτη όπου διαπίστωσαν ανασταλτικό πολλαπλασιαστικό ρόλο της γκρελίνης σε καρκινικά κύτταρα μαστού στον άνθρωπο.²⁵ Στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκαν συγκεκριμένες δεσμευτικές θέσεις για την γκρελίνη σε σειρές κυττάρων με καρκίνωμα του μαστού, σε έναν ιστό που σε φυσιολογικές συνθήκες δεν εκφράζει υποδοχείς GHS-R. Αυτή η δεσμευτική ικανότητα ήταν ανεξάρτητη του ιστολογικού τύπου, του δείκτη πολλαπλασιασμού του όγκου, ή της προ- ή μετα-εμμηνοπαυσιακής κατάστασης των ασθενών, αλλά ήταν άμεσα σχετιζόμενη με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου. Πιο συγκεκριμένα, στους όγκους του μαστού, μεγαλύτερη δεσμευτική ικανότητα παρατηρήθηκε στα καλά διαφοροποιημένα διηθητικά καρκινώματα, ενώ υπήρξε σταδιακή μείωση της ισχύος της δεσμευτικής ικανότητας από τα μέτριας διαφοροποίησης προς τα χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα. Υποδοχείς GHS-R υπήρχαν τόσο σε οιστρογονο-εξαρτώμενες όσο και σε ανεξάρτητες σειρές καρκινικών κυττάρων στον καρκίνο του μαστού. Η γκρελίνη και τα GHSs ανέστειλαν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό *in vitro*, ανεξάρτητα από την ικανότητα απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης (GH).²⁵

Σε νευροενδοκρινικούς (καρκινοειδές) και μη ενδοκρινικούς (αδενοκαρκινώματα) όγκους του πνεύμονα, οι Ghe et al παρατήρησαν συγκεκριμένες δεσμευτικές θέσεις για τα GHSs, ο πολλαπλασιασμός των οποίων αναστέλλεται μόνο από συνθετικά πεπτιδικά ανάλογα και ανάλογα της εξαρελίνης και όχι από συνθετικά μη πεπτιδικά εκκριτικά ανάλογα (MK-0677) ή την γκρελίνη.⁶¹ Επιπλέον, υπέθεσαν ότι η ανασταλτική πολλαπλασιαστική δράση των συνθετικών πεπτιδικών GHSs στα καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα δεν πραγματοποιείται μέσω του GHS-R1α υποδοχέα, αλλά μέσω κάποιας άλλης δεσμευτικής θέσης διαφορετικής από αυτόν.⁶¹

Παρόλα αυτά, σε περίπτωση ασθενούς με νευροενδοκρινικό όγκο των βρόγχων (τυπικό καρκινοειδές) στην οποία παρατηρήθηκε έκτοπη παραγωγή ACTH ορμόνης και κλινικό σύνδρομο Cushing –ως αποτέλεσμα αυτής της έκτοπης παραγωγής– ανιχνεύτηκαν ανοσοϊστοχημικά τόσο mRNA των GHS-R1α και 1β υποδοχέων, όσο και της γκρελίνης.⁶⁶ Τα ευρήματα αυτά καθιστούν πιθανό έναν αυτοκρινή/παρακρινή ρυθμιστικό ρόλο της γκρελίνης στον ACTH-παραγωγό καρκινικό όγκο των βρόγχων του πνεύμονα.

Ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις σε όγκους όρχεως και σε δυσγενετικά σύνδρομα έδειξαν ότι η έκφραση της γκρελίνης διατηρείται σε όγκους κυττάρων Leydig και σε δυσγενετικά κύτταρα Sertoli. Επιπλέον, η έκφραση της γκρελίνης σε όγκους κυττάρων Leydig είναι άρρηκτα συνδεδεμένη

με το βαθμό κυτταρικής διαφοροποίησης. Έτσι, υψηλής διαφοροποίησης όγκοι κυττάρων Leydig παρουσιάζουν συγκεκριμένη ανοσοθετικότητα για την γκρελίνη, αν και μικρότερου βαθμού απ' ό,τι τα φυσιολογικά κύτταρα Leydig. Αντίθετα, χαμηλής διαφοροποίησης όγκοι κυττάρων Leydig χαρακτηρίζονται από μικρό όγκο κυττάρων με ελάχιστο κυτταρόπλασμα και ανοσοαρνητικότητα για την γκρελίνη.^{51,52} Έχει παρατηρηθεί ότι τόσο στους ανθρώπους όσο και στους επίμυες η απουσία έκφρασης γκρελίνης και των υποδοχέων της (GHS-R) χαρακτηρίζεται από μειωμένη πολλαπλασιαστική ικανότητα τόσο για φυσιολογικά κύτταρα Leydig, όσο και για χαμηλής διαφοροποίησης όγκους κυττάρων Leydig.^{51,52,67}

Τελευταία, οι ερευνητές άρχισαν να ερευνούν την έκφραση της γκρελίνης και του υποδοχέα της στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Ειδικότερα, περιγράφηκε ένας νέος ρόλος της γκρελίνης πάνω στην ανάπτυξη των αστροκυττωμάτων. Τα αστροκυττώματα είναι οι συχνότερα εμφανιζόμενοι πρωτοπαθείς κακοήθεις όγκοι του ΚΝΣ. Στα καρκινικά κύτταρα των αστροκυττωμάτων έχει παρατηρηθεί τροποποίηση στην ανταπόκρισή τους μετά από την επίδραση παραγόντων όπως του επιδερμικού και του αιμοπεταλιακού παράγοντα ανάπτυξης ή των σωματοτρόπων ορμονών, οδηγώντας σε αύξηση του πολλαπλασιασμού και της επιθετικότητας του όγκου και μειώνοντας το ρυθμό απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων. Πιο πρόσφατα, οι ερευνητές υπέθεσαν ότι η γκρελίνη μπορεί να συμμετέχει ενεργά ως παράγοντας ανάπτυξης στους νεοπλασματικούς όγκους. Οι Dixit et al παρατήρησαν ότι ο υποδοχέας της γκρελίνης GHS-R1α υπερεκφράζεται στα κύτταρα αστροκυττωμάτων σε σχέση με τα φυσιολογικά ανθρώπινα αστροκύτταρα (NHAs). Τα κύτταρα των αστροκυττωμάτων παρουσίαζαν αύξηση κατά 25 φορές στην έκφραση του GHS-R1α, ενώ τα άλλα κύτταρα παρουσίαζαν 5–15 φορές μεγαλύτερη έκφραση σε σχέση με τα NHAs. Παρόμοια, η έκφραση GHS-R mRNA ήταν 200 φορές και 10 φορές μεγαλύτερη στα αδενώματα που παρήγαγαν GH και TSH, αντίστοιχα, σε σχέση με τα φυσιολογικά νευρωνικά κύτταρα.^{68,69}

6. ΓΚΡΕΛΙΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Οι Papotti et al, χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημικές μεθόδους, *in situ* υβριδισμό και RT-PCR τεχνική, παρατήρησαν ότι η πλειοψηφία των γαστρικών καρκινοειδών (75% ανοσοϊστοχημικά και 81% με *in situ* υβριδισμό) και ένα μέρος των νευροενδοκρινικών όγκων του εντέρου (27% ανοσοϊστοχημικά, 72% με *in situ* υβριδισμό και 100% με RT-PCR τεχνική) παρουσίαζαν ανοσοθετικότητα για την γκρελίνη.⁷⁰ Η γκρελίνη εκφραζόταν έντονα και στις

περιπτώσεις υπερπλασίας νευροενδοκρινικών κυττάρων σε έδαφος γαστρικής ατροφίας.

Στο στόμαχο, οι νευροενδοκρινικοί όγκοι αποτελούν σπάνια οικογενή περίπτωση και σχετίζονται με MEN1 ή σύνδρομο Zollinger-Ellison, με πολλαπλά καρκινοειδή εντεροχρωμιόφιλων κυττάρων του ατροφικού οξεοπαραγωγού βλεννογόνου ή με σποραδικούς όγκους. Τις δύο τελευταίες περιπτώσεις νευροενδοκρινικών όγκων μελέτησαν οι Papotti et al και παρατήρησαν διάχυτη παραγωγή γκρελίνης σε ποσοστό 75%. Η ανοσοθετικότητα της γκρελίνης ήταν ανάλογη της έκφρασης mRNA της γκρελίνης στα ίδια καρκινικά κύτταρα τόσο σε νεοπλασματικές καταστάσεις, όσο και σε υπερπλαστικές. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι τα κύτταρα που παράγουν γκρελίνη μετεγγράφουν ενεργά σε mRNA και ακολούθως συνθέτουν την πρωτεΐνη.^{70,71}

Εν μέρει, παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στην ομάδα των καρκινοειδών του εντέρου, όπου διαπιστώθηκε ανοσοθετικότητα στην γκρελίνη 27%, όμως ανιχνεύτηκε με *in situ* υβριδισμό μεταγραφή του mRNA της γκρελίνης στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και με την υψηλής ευαισθησίας RT-PCR τεχνική (100%) (οι διαφορές οφείλονται στη διαφορετική ευαισθησία της κάθε μεθόδου ως προς την ανίχνευση γκρελίνης, mRNA ή πρωτεΐνης στα καρκινικά κύτταρα).^{70,71}

Επομένως, οι όγκοι που παράγουν γκρελίνη πρέπει να προστεθούν στη λίστα των ορμονοπαραγωγών ενδοκρινικών όγκων του γαστρεντερικού, με ειδική αναφορά στα γαστρικά καρκινοειδή. Το ποσοστό των γκρελινο-παραγωγών κυττάρων (διάχυτων, επίμηκων ή οζωδών υπερπλαστικών νευροενδοκρινικών κυττάρων) ήταν πολύ υψηλότερο από το αντίστοιχο ποσοστό σε φυσιολογικό οξεοπαραγωγό βλεννογόνο. Επομένως, είναι πιθανό η αυξημένη έκφραση γκρελίνης να οφειλόταν όχι μόνο στα A/X κύτταρα –που φυσιολογικά παράγουν γκρελίνη– αλλά και σε άλλου τύπου νευροενδοκρινικά κύτταρα. Η υπεργαστριναιμία μπορεί να οδηγήσει στον πολλαπλασιασμό των εντεροχρωμιόφιλων κυττάρων ή και άλλου τύπου κυττάρων, τα οποία, ακολούθως, μέσω νεοπλασματικών και υπερπλαστικών ενδοκρινικών κυτταρικών παραγόντων ανάπτυξης να προκαλούν αύξηση των γκρελινο-παραγωγών κυττάρων ή και ενεργοποίηση της υπερπαραγωγής γκρελίνης.^{70,72,73}

Μέχρι τώρα, με βάση τη βιβλιογραφία, δεν υπάρχουν αναφορές για λειτουργικά γαστρικά καρκινώματα που να παρουσιάζουν συμπτώματα σχετιζόμενα με έκκριση GH. Μία μόνο περίπτωση πολλαπλού γαστρικού καρκινώματος έχει αναφερθεί, το οποίο σχετιζόταν με αδένωμα της υπόφυσης που παρήγαγε αυξητική ορμόνη, πιθανόν σχετιζόμενο με προκαλούμενη GHRH απελευθέρωση λόγω υπεργαστριναιμίας.^{72,73}

Χρησιμοποιώντας ειδικό αντίσωμα στη μελέτη των Rapotti et al, το mRNA του υποδοχέα GHS-R (τύπου 1a και 1b) απουσίαζε στα λίγα γαστρικά καρκινώματα που ήταν κατάλληλα για RT-PCR τεχνική, ήταν όμως παρόν στο 63% των καρκινωμάτων του εντέρου. Κατά πόσο τα αρνητικά αποτελέσματα είναι αληθή ή δείχνουν την ύπαρξη ενός άλλου υπότυπου υποδοχέα άγνωστου για την ώρα δεν είναι σαφές. Σίγουρο πάντως είναι ότι ένα ποσοστό νευροενδοκρινικών όγκων του γαστρεντερικού συστήματος παρουσιάζουν έκφραση τόσο του υποδοχέα GHS-R όσο και του μορίου σύνδεσης, της γκρελίνης.⁷⁰

Σε μια πρόσφατη δημοσίευση των Tsolakis et al παρουσιάστηκε για πρώτη φορά ένας ασθενής με κακώθες γαστρικό γκρελίνωμα με υπερέκκριση ολικής γκρελίνης και δραστικά ενεργού μορίου γκρελίνης και φυσιολογικά επίπεδα GH. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές θεώρησαν ότι αυτή η μορφή καρκίνου πιθανόν να αποτελεί ένα νέο νευροενδοκρινικό όγκο του στομάχου. Επιπρόσθετα, προτείνουν ότι σε ασθενείς με νευροενδοκρινικούς όγκους του στομάχου θα πρέπει να εξετάζεται η ανοσοθετικότητα των καρκινικών κυττάρων στην γκρελίνη, όπως επίσης και οι συγκεντρώσεις της ολικής και της ακετυλιωμένης γκρελίνης στο αίμα.⁷⁴

Η πρώτη μελέτη όπου δεν ανευρέθηκε γκρελίνη σε καρκινικά κύτταρα γαστρικού αδενοκαρκινώματος είναι αυτή των Aydin et al, οι οποίοι σε μικρό αριθμό δειγμάτων δεν εντόπισαν ανοσοϊστοχημικά θετικότητα για την γκρελίνη, γεγονός που τους έκανε να υποθέσουν ότι σε κάποιο στάδιο του καρκίνου πιθανόν να χάνεται η παραγωγή γκρελίνης.⁷⁵ Όμοια αποτελέσματα είχε η ίδια ερευνητική ομάδα και σε βλεννοεπιδερμικά καρκινώματα σιελογόνων αδένων.

Το 2007, μια άλλη ερευνητική ομάδα, μελετώντας γαστρικά και οισοφαγικά αδενοκαρκινώματα, δημοσίευσε την απουσία κυττάρων που παρήγαγαν γκρελίνη, ενώ υψηλά επίπεδα γκρελίνης εκφράζονταν σε μη νεοπλασματικά κύτταρα στο βλεννογόνο του σώματος του στομάχου. Με βάση την παρατήρηση αυτή θεωρήθηκε ότι, κατά τη διάρκεια της γαστροοισοφαγικής μεταπλασίας σε κακώθεια, ο μηχανισμός παραγωγής γκρελίνης διασπάται.⁷⁶ Επιπλέον, το γεγονός ότι δεν εκφράζεται γκρελίνη στα κύτταρα γαστρικών, οισοφαγικών και βλεννογονοεπιδερμικών αδενοκαρκινωμάτων υποδεικνύει έναν πιθανό αντινεοπλασματικό ρόλο της γκρελίνης. Σε πρόσφατες μελέτες παρατηρήθηκε ότι η γκρελίνη διαδραματίζει ανασταλτικό ρόλο στην ανάπτυξη και εμφανίζει αντι-αγγειογενετική δράση, ρίχνοντας λίγο φως στον τρόπο ανάπτυξης του αγγειακού δικτύου στους καρκινικούς ιστούς. Η απουσία της γκρελίνης από το αδενοκαρκίνωμα του οισοφάγου ενισχύει ακόμα περισσότερο την άποψη ότι πολλοί καρκινικοί ιστοί πιθανόν να στερού-

νται αυτού του πεπτιδίου. Λαμβάνοντας όλα τα ανωτέρω υπόψη, έχει προταθεί ότι η γκρελίνη μπορεί να αποτελέσει ένα νέο θεραπευτικό στόχο για τον καρκίνο σε ορισμένες περιπτώσεις, από τη στιγμή που παρουσιάζει ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, μέσω αναστολής της ανάπτυξης του αγγειακού δικτύου που τροφοδοτεί και τρέφει τους όγκους.⁷⁶

Σε μια μελέτη 80 ασθενών πασχόντων από γαστρικό καρκίνο παρατηρήθηκαν ίδια επίπεδα γκρελίνης (πλάσμα-τος, υγιούς ιστού και νεοπλασματικού ιστού) και στις δύο ερευνητικές ομάδες (ομάδα 1: βαθμός απώλειας βάρους προεγχειρητικά $\geq 5\%$, ομάδα 2: βαθμός απώλειας βάρους προεγχειρητικά $\leq 5\%$). Επιπλέον, τα επίπεδα γκρελίνης στους νεοπλασματικούς ιστούς ήταν χαμηλότερα σε σχέση με τους υγιείς ιστούς και στις δύο ομάδες. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα γκρελίνης –πλάσματος, υγιούς ιστού και νεοπλασματικού ιστού– ούτε με βάση το στάδιο του όγκου ούτε με το βαθμό διήθησης του όγκου, αλλά ούτε και με το βαθμό λεμφαδενικών μεταστάσεων. Αντίθετα, υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά με βάση τον ιστολογικό τύπο, δηλαδή διαφοροποιημένοι προς μη διαφοροποιημένους καρκινικούς ιστούς, και μάλιστα τα επίπεδα γκρελίνης ήταν χαμηλότερα στους διαφοροποιημένους καρκινικούς ιστούς σε σχέση με τους αδιαφοροποίητους.⁷⁷

Σε μια άλλη ομάδα 29 ασθενών με ορθοκολικό καρκίνο, οι D'Onghia et al ανέφεραν ότι τα επίπεδα γκρελίνης ήταν χαμηλότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (υγιά άτομα), ανεξάρτητα από την εντόπιση του όγκου.⁷⁸ Επιπλέον, οι ερευνητές παρατήρησαν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τα επίπεδα της γκρελίνης μεταξύ πασχόντων και υγιών ατόμων, με σημαντική πτώση στα αρχικά στάδια του ορθοκολικού καρκίνου σε σχέση με αυτά τελικού σταδίου. Η παρατήρηση αυτή έχει ενδιαφέρον, εφόσον μπορεί να υποθεθεί ότι σχετίζεται με τη σταδιακή απώλεια κυτταρικής διαφοροποίησης κατά την εξέλιξη της νόσου. Ένα ακόμα ενδιαφέρον σημείο είναι η ανασταλτική πολλαπλασιαστική δράση της γκρελίνης ως προς τα καρκινικά κύτταρα, όπως παρουσιάστηκε από τους Maccarinelli et al,⁷⁹ οι οποίοι παρατήρησαν ότι η γκρελίνη και η HEXA, ένα συνθετικό GHS, ενεργοποιούν τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών, και μάλιστα με μέγιστη δράση στα χαμηλά επίπεδα και όχι στα υψηλά. Τα επίπεδα γκρελίνης μπορούν να συσχετιστούν αντίστροφα με το βαθμό επιθετικότητας του όγκου, επομένως τα χαμηλά επίπεδα μπορούν να θεωρηθούν ως παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη ορθοκολικού όγκου ή μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός δείκτης στη μετεγχειρητική άμεση ή απώτερη παρακολούθηση των ασθενών.⁷⁹

Μελετώντας τα κυκλοφορούντα επίπεδα γκρελίνης σε 78 ασθενείς με γαστρικό ή ορθοκολικό καρκίνο, οι Qi Huang et al παρατήρησαν ότι δεν υπήρξε αξιοσημείωτη διαφορά στα επίπεδα γκρελίνης πλάσματος μεταξύ ασθενών με γαστρικό ή ορθοκολικό καρκίνο και της ομάδας ελέγχου (υγιείς). Επιπροσθέτως, τα επίπεδα γκρελίνης πλάσματος δεν επηρεάζονταν από την εντόπιση του όγκου ή τα ορμονικά επίπεδα (GH, γλυκαγόνου και κορτιζόλης), γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με παλαιότερες μελέτες βασισμένες σε υγιή άτομα ή ασθενείς πάσχοντες από άλλη νόσο. Το φαινόμενο αυτό δείχνει ότι οι όγκοι του γαστρεντερικού, ειδικά του στομάχου, μπορεί να έχουν ειδική δράση στην παραγωγή γκρελίνης. Η καρκινική καχεξία στα άτομα αυτά μπορεί να οφείλεται εν μέρει στην απουσία αύξησης των επιπέδων της γκρελίνης, γεγονός που θα μπορούσε να καταστήσει την εξωγενώς χορηγούμενη γκρελίνη πιθανό θεραπευτικό χειρισμό στο γαστρικό ή τον ορθοκολικό καρκίνο. Ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί που εμπλέκονται στο μηχανισμό της όρεξης και στην ενεργειακή ισορροπία στους καρκίνους αυτούς χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης, ώστε να υπάρξει αποτελεσματική παρέμβαση στη θεραπεία της καρκινικής καχεξίας.⁸⁰

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η γκρελίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη η οποία εκκρίνεται στη συστηματική κυκλοφορία από το στόμαχο, αλλά συντίθεται επίσης και σε έναν αριθμό άλλων ιστών, γεγονός που εξηγεί μέρος των ενδοκρινικών και των παρακρινικών της δράσεων. Μια συγκεκριμένη τροποποίηση στην άλυσο του πεπτιδίου (ακυλίωση) είναι απαραίτητη για ορισμένες από τις βιολογικές δράσεις του μορίου, όπως για την έκκριση αυξητικής ορμόνης (GH), την έναρξη λήψης τροφής και γενικότερα την άσκηση αναβολικών δράσεων, ενώ σε άλλες περιπτώσεις δεν είναι ειδική, όπως στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Κάποιος αυτοκρινής ή παρακρινής ρόλος της γκρελίνης μελετήθηκε πρόσφατα και σε νεοπλασματικές καταστάσεις και μάλιστα για ένα σχετικά μεγάλο εύρος όγκων. Τέλος, ανοσοθετικότητα ως προς την γκρελίνη και τους υποδοχείς της εντοπίστηκε τελευταία και σε νευροενδοκρινικούς όγκους του γαστρεντερικού συστήματος, όπως και σε γαστρικά καρκινοειδή. Ωστόσο, θα απαιτηθούν πολλές ακόμα μελέτες προκειμένου να αποκαλυφθεί ο ακριβής φυσιολογικός και παθοφυσιολογικός ρόλος της γκρελίνης στον καρκίνο του γαστρεντερικού συστήματος.

ABSTRACT

The role of ghrelin in gastrointestinal tract cancer

D. NIKOLOPOULOS, G. KOURAKLIS

2nd Department of Propedeutic Surgery, University of Athens, "Laiko" Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2009, 26(2):195–205

Ghrelin is a recently identified 28 amino acid peptide, with pituitary growth hormone (GH) releasing activities in humans and other mammals. It is secreted mainly by the stomach mucosa into the systematic circulation. It is also expressed widely –in high or low concentrations– in different tissues, in physiological and neoplastic conditions, supporting the theory that ghrelin exerts variable endocrine, exocrine and paracrine effects in normal tissues –regulating feeding behavior, glucose and insulin blood levels, motility and secretion of the gastrointestinal tract, exerting cardiovascular effects and immunological effects, and regulating cell proliferation efficiency– as an autocrine and/or paracrine function in neoplasia. Ghrelin has been identified both at mRNA and protein levels in several endocrine and non-endocrine cancer tumors *in vivo*, as well as in their related neoplastic cell lines *in vitro* (pituitary adenomas; gastro-entero-pancreatic and pulmonary carcinoids; colorectal neoplasms; thyroid tumors; lung, breast, and pancreatic carcinomas). The pleiotropic actions of ghrelin are mediated via its receptor, known as GH secretagogue receptor (GHS-R), subtypes 1a and 1b. This review summarizes data available on (a) the structure of the ghrelin molecule and its receptor, (b) its tissue contribution in physiological and neoplastic conditions, and (c) ghrelin's possible role in carcinogenesis and specifically in gastrointestinal tract cancer. Ghrelin and its receptor comprise a possible and promising target for the elaboration of new drugs for gastrointestinal tract cancer.

Key words: Gastrointestinal tract cancer, Ghrelin, Ghrelin receptor or receptor of GHSs (GHS-R), Growth hormone secretagogues (GHSs)

Βιβλιογραφία

- FROHMAN LA, JANSSON JO. Growth hormone releasing hormone. *Endocr Rev* 1986, 7:223–253
- HOSODA H, KOJIMA M, KANGAWA K. Biological, physiological and pharmacological aspects of ghrelin. *J Pharmacol Sci* 2006, 100:398–410
- FROHMAN LA, KINEMAN RD, KAMEGAI J, PARK S, TEIXEIRA LT, COSCHIGANO KT ET AL. Secretagogues and the somatotrope: Signaling and proliferation. *Recent Prog Horm Res* 2000, 55:269–291
- KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, NAKAZATO M, MATSUO H, KANGAWA K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999, 402:656–660
- BOWERS CY, CHANG J, MOMANY FA, FOLKERS K. Effect of the enkephalins and enkephalin analogues on release of pituitary hormones *in vitro*. In: McIntyre G, Szelke H (eds) *Molecular endocrinology*. Elsevier, Amsterdam, 1977:287–292
- ROSICKA M, KRSEK M, JARKOVSKA Z, MAREK J, SCHREIBER V. Ghrelin – a new endogenous growth hormone secretagogue. *Physiol Res* 2002, 51:435–441
- MURRAY CDR, KAMM MA, BLOOM SR, EMMANUEL AV. Ghrelin for the gastroenterologist: History and potential. *Gastroenterology* 2003, 125:1492–1502
- SMITH RG. Development of growth hormone secretagogues. *Endocr Rev* 2005, 26:346–360
- KORBONITS M, GROSSMAN AB. Growth hormone-releasing peptide and its analogues; novel stimuli to growth hormone release. *Trends Endocrinol Metab* 1995, 6:43–49
- MUCCIOLI G, TSCHOP M, PAPOTTI M, DEGHENGI R, HEIMAN M, GHIGO E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: Implications in metabolism and obesity. *Eur J Clin Pharmacol* 2002, 440:235–254
- HOWARD AD, FEIGHNER SD, CULLY DF, LIBERATOR PA, ARENA JP, ROSENBLUM CI ET AL. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996, 273:974–977
- KORBONITS M, GOLDSTONE AP, GUEORGUIEV M, GROSSMAN AB. Ghrelin – a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol* 2004, 25:27–68
- ARVAT E, BROGLIO F, AIMARETTI G, BENSO A, GIORDANO A, DEGHENGI R ET AL. Ghrelin and synthetic GH secretagogues. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002, 16:505–517
- KOJIMA M, HOSODA H, MATSUO H, KANGAWA K. Ghrelin: Discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2001, 12:118–122
- ANDERSON LL, JEFTINIJA S, SCANES CG. Growth hormone secretion: Molecular and cellular mechanisms and *in vivo* approaches. *Exp Biol Med* 2004, 229:291–302
- BANKS WA, TSCHOP M, ROBINSON SM, HEIMAN ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 2002, 302:822–827
- JEFFERY PL, HERINGTON AC, CHOPIN LK. The potential autocrine/paracrine roles of ghrelin and its receptor in hormone-dependent cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, 14:113–122
- CASANUEVA FF, DIEGUEZ C. Ghrelin: The link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocr Metab Disord* 2002, 3:325–338
- BEDNAREK MA, FEIGHNER SD, PONG SS, KULJU MCKEE K, HRENIUK DL, SILVA LV ET AL. Structure and function studies on the new growth hormone releasing peptide, ghrelin: Minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 2000, 43:4370–4376
- HOSODA H, KOJIMA M, MIZUSHIMA T, SHIMIZU S, KANGAWA K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003, 278:64–70
- HOSODA H, KOJIMA M, MATSUO H, KANGAWA K. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000, 275:21995–22000
- TANAKA M, HAYASHIDA Y, NAKAON N, NAKAI N, NAKASHIMA K. Testis-specific and developmentally induced expression of a ghrelin gene-derived transcript that encodes a novel polypeptide in the mouse. *Biochim Biophys Acta* 2001, 1522:62–65
- BROGLIO F, BENSO A, GOTTERO C, PRODAM F, GAUNA C, FILTRI L ET AL. Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 2003, 26:192–196
- BEDENDI I, ALLOATTI G, MARCANTONI A, MALAN D, CATAPANO F, GHE C ET AL. Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoyl ghrelin and des-Gln(14)-ghrelin. *Eur J Pharmacol* 2003, 476:87–95
- CASSONI P, PAPOTTI M, GHE C, CATAPANO F, SAPINO A, GRAZIANI A ET AL. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogues in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:1738–1745
- THOMPSON NM, GILL DA, DAVIES R, LOVERIDGE N, HOUSTON PA, ROBINSON ICAF ET AL. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly *in vivo* by a mechanism independent of GHS-R1a. *Endocrinology* 2004, 145:232–242
- MATSUMOTO M, HOSODA H, KITAJIMA Y, MOROZUMI N, MINAMITAKE Y, TANAKA SH ET AL. Structure-activity relationship of ghrelin: Pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 287:142–146
- MURAKAMI N, MURAKAMI K, MODI K. Ghrelin in domestic animals: Distribution in stomach and its possible role. *Dom Anim Endocrinol* 2001, 21:17–24
- WANG HJ, GELLER F, DEMPFFLE A, SCHÄUBLE N, FRIEDEL S, LICHTNER P ET AL. Ghrelin receptor gene: Identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:157–162
- TOLLE V, ZIZZARI P, TOMASETTO C, RIO MC, EPELBAUM J, BLUETPAJOT MT. *In vivo* and *in vitro* effects of ghrelin/motilin-related peptide on growth hormone secretion in the rat. *Neuroendocrinology* 2001, 73:54–61
- TORSELLO A, GHE C, BRESCIANI E, CATAPANO F, GHIGO E, DEGHEN-

- GHI R ET AL. Short ghrelin peptides neither displace ghrelin binding *in vitro* nor stimulate GH release *in vivo*. *Endocrinology* 2002, 143:1968–1971
32. DATE Y, KOJIMA M, HOSODA H, SAWAGUCHI A, MONDAL MS, SUGANUMATA ET AL. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000, 141:4255–4261
 33. DORNONVILLE DLC, BJORKQVIST M, SANDVIK AK, BAKKE I, ZHAO CM, CHEN D ET AL. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul Pept* 2001, 99:141–150
 34. RINDI G, NECCHI V, SAVIOET A, TORSSELLO A, ZOLI M, LOCATELLI V ET AL. Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: Studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol* 2002, 21:17–24
 35. KOJIMA M, KANGAWA K. Ghrelin, an orexigenic signalling molecule from the gastrointestinal tract. *Curr Opin Pharmacol* 2002, 2:665–668
 36. ARIYASU H, TAKAYA K, TAGAMIT, OGAWA Y, HOSODA K, AKAMIZU T ET AL. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:4753–4758
 37. KRSEK M, ROSICKA M, HALUZIK M, SVOBODOVÁ J, KOTRLÍKOVÁ E, JUSTOVÁ V ET AL. Plasma ghrelin levels in patients with short bowel syndrome. *Endocr Res* 2002, 28:27–33
 38. KRSEK M, ROSICKA M, PAPEZOVA H, KRÍZOVÁ J, KOTRLÍKOVÁ E, HALUZIK M ET AL. Plasma ghrelin levels and malnutrition: A comparison of two etiologies. *Eat Weight Disord* 2003, 8:207–211
 39. LEONETTI F, SILECCHIA G, IACOBELLIS G, RIBAUDO MC, ZAPPATERRENO A, TIBERTI CL ET AL. Different plasma ghrelin levels after laparoscopic gastric bypass and adjustable gastric banding in morbid obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:4227–4231
 40. SAKATA I, NAKAMURA K, YAMAZAKI M, MATSUBARA M, HAYASHI Y, KANGAWA K ET AL. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 2002, 23:531–536
 41. COWLEY MA, SMITH RG, DIANO S, TSCHÖP M, PRONCHUK N, GROVE K ET AL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003, 37:649–661
 42. KORBONITS M, BUSTIN SA, KOJIMA M, JORDAN S, ADAMS EF, LOWE DG 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
 43. MUCCIOLI G, GHE C, GHIGO MC, PAPOTTI M, ARVAT E, BOGHEN MF ET AL. Specific receptors for synthetic GH secretagogues in the human brain and pituitary gland. *J Endocrinol* 1998, 157:99–106
 44. MUCCIOLI G, PAPOTTI M, LOCATELLI V, GHIGO E, DEGHENGI R. Binding of ¹²⁵I-labeled ghrelin to membranes from human hypothalamus and pituitary gland. *J Endocrinol Invest* 2001, 24:RC7–RC9
 45. DIXIT VM, SCHAFFER EM, TAUB DD. Ghrelin is expressed and secreted from human T lymphocytes and inhibits activation and leptin induced inflammatory cytokine expression via functional, lipid raft-associated growth hormone secretagogue receptors (GHS-R). Proceedings of the 85th Annual Meeting of the Endocrine Society, 2003, OR51–3
 46. HATTORI N, SAITO T, YAGYU T, JIANG BH, KITAGAWA K, INAGAKI CH. GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:4284–4291
 47. VOLANTE M, FULCHERI E, ALLIA E, CERRATO M, PUCCI A, PAPOTTI M. Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung. *J Histochem Cytochem* 2002, 50:1013–1021
 48. GUALILLO O, CAMINOS JE, BLANCO M, GARCÍA-CABALLERO T, KOJIMA M, KANGAWA K ET AL. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001, 142:788–794
 49. CAMINOS JE, TENA-SEMPERE M, GAYTAN F, SANCHEZ-CRIADO JE, BARREIRO ML, NOQUEIRAS R ET AL. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. *Endocrinology* 2003, 144:1594–1602
 50. GAYTAN F, BARREIRO ML, CHOPIN LK, SANCHEZ-CRIADO JE, BARREIRO ML, NOGUEIRAS R ET AL. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor in the cyclic human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:879–887
 51. BARREIRO ML, GAYTAN F, CAMINOS JE, PINILLA L, CASANUEVA FF, AGUILAR E ET AL. Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol Reprod* 2002, 67:1768–1776
 52. TENA-SEMPERE M, BARREIRO ML, GONZALEZ LC, ZHANG FP, CAMINOS JE, PINILLA L ET AL. Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 2002, 143:717–725
 53. MOZID AM, TRINGALI G, FORSLING ML, HENDRICKS MS, AJODHA S, EDWARDS R ET AL. Ghrelin is released from rat hypothalamic explants and stimulates corticotrophin-releasing hormone and arginine-vasopressin. *Horm Metab Res* 2003, 35:455–459
 54. VOLANTE M, ALLIA E, GUGLIOTTA P, FUNARO A, BROGLIO F, DEGHENGI R ET AL. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:1300–1308
 55. DATE Y, NAKAZATO M, HASHIGUCHI S, DEZAKI K, MONDAL MS, HOSODA H ET AL. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002, 51:124–129
 56. PRADO CL, PUGH-BERNARD AE, ELGHAZI L, SOSA-PINEDA B, SUSSEL L. Ghrelin cells replace insulin-producing {beta} cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:2924–2929
 57. WIERUP N, SVENSSON H, MULDER H, SUNDLER F. The ghrelin cell: A novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002, 107:63–69
 58. WU JT, KRAL JG. Ghrelin: Integrative neuroendocrine peptide in health and disease. *Ann Surg* 2004, 239:464–474
 59. KIM K, ARAI K, SANNO T, OSAMURA RY, TERAMOTO A, SHIBASAKI T. Ghrelin and GHSR mRNA expression in human pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001, 54:759–768
 60. CASSONI P, PAPOTTI M, CATAPANO F, GHE C, DEGHENGI R, GHIGO E ET AL. Specific binding sites for synthetic growth hormone secretagogues in non-tumoral and neoplastic human thyroid

- tissue. *J Endocrinol* 2000, 165:139–146
61. GHE C, CASSONI P, CATAPANO F, MARROCCO T, DEGHENGI R, GHIGO E ET AL. The antiproliferative effect of synthetic peptidyl GH secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology* 2002, 143:484–491
 62. CASSONI P, GHE C, MARROCCO T, TARABRA E, ALLIA E, CATAPANO F ET AL. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *Eur J Endocrinol* 2004, 150:173–184
 63. JEFFERY PL, HERINGTON AC, CHOPIN LK. Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *J Endocrinol* 2002, 172:R7–R11
 64. MURATA M, OKIMURA Y, IIDA K, MATSUMOTO M, SOWA H, KAJI H ET AL. Ghrelin modulates the downstream of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 2002, 277:5667–5674
 65. IWAKURA H, HOSODA K, DOI R, KOMOTO I, NISHIMURA H, SON CH ET AL. Ghrelin expression in islet cell tumors: Augmented expression of ghrelin in a case of glucagonoma with multiple endocrine neoplasm type I. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:4885–4888
 66. ARNALDI G, MANCINI T, KOLA B, APPOLLONI G, FREDDI S, CONCETTONI C ET AL. Cyclical Cushing's syndrome in a patient with a bronchial neuroendocrine tumor (typical carcinoid) expressing ghrelin and growth hormone secretagogue receptors. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:5834–5840
 67. GAYTAN F, BARREIRO ML, CAMINOS JE, CHOPIN LK, HERINGTON AC, MORALES C ET AL. Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:400–409
 68. DIXIT VD, WEERARATNA AT, YANG H, BERTAK D, COOPER-JENKINS A, RIGGINS GJ ET AL. Ghrelin and the growth hormone secretagogue receptor constitute a novel autocrine pathway in astrocytoma motility. *J Biol Chem* 2006, 281:16681–16690
 69. PUDUVALLI VK, KYRITSIS AP, HESS KR, BONDY ML, FULLER GN, KOURAKLIS GP ET AL. Patterns of expression of Rb and p16 in astrocytic gliomas, and correlation with survival. *Int J Oncol* 2000, 17:963–969
 70. PAPPOTTI M, CASSONI P, VOLANTE M, DEGHENGI R, MUCCIOLI G, GHIGO E. Ghrelin-producing endocrine tumors of the stomach and intestine. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:5052–5059
 71. RINDI G, AZZONI C, LA ROSA S, BORDI C, SOLCIA E. ECL cell tumor and poorly differentiated endocrine carcinoma of the stomach: Prognostic evaluation by pathological analysis. *Gastroenterology* 1999, 116:532–542
 72. LEWIN KJ, APPELMAN HO. Tumors of the esophagus and stomach. In: *Atlas of tumor pathology*. Armed Forces Institute of Pathology Publications, Washington, DC, 1996:331–352
 73. KOJIMA K, MIYAKE M, NAKAGAWA H, YUNOKI Y, OGURUSU K, SAINO S ET AL. Multiple gastric carcinoids and pituitary adenoma in type A gastritis. *Intern Med* 1997, 36:787–789
 74. TSOLAKIS A, PORTELLA-GOMES GM, STRIDSBERG M, GRIMELIUS L, SUNDIN A, ERIKSSON BK ET AL. Malignant gastric ghrelinoma with hyperghrelinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:3739–3744
 75. AYDIN S, OZERCAN IH, DAGLI F, AYDIN S, DOGRU O, CELEBI S ET AL. Ghrelin immunohistochemistry of gastric adenocarcinoma and mucoepidermoid carcinoma of salivary gland. *Bio-tech Histochem* 2005, 80:163–168
 76. MOTTERSHEAD M, KARTERIS E, BARCLAY JY, SUORTAMO S, NEWBOLD M, RANDEVA H ET AL. Immunohistochemical and quantitative mRNA assessment of ghrelin expression in gastric and esophageal adenocarcinomas. *J Clin Pathol* 2007, 60:405–409
 77. AN J, CHOI M, NOH J, SOHN T, JIN D, KIM S. Clinical significance of ghrelin concentration of plasma and tumor tissue in patients with gastric cancer. *J Surg Res* 2007, 143:344–349
 78. D'ONGHIA V, LEONCINI R, CARLI R, SANTORO A, GIGLIONI S, SORBELLINI F ET AL. Circulating gastrin and ghrelin levels in patients with colorectal cancer: Correlation with tumor stage, *Helicobacter pylori* infection and BMI. *Biomed Pharmacother* 2007, 61:137–141
 79. MACCARINELLI G, SIBILIA V, TORSSELLO A, RAIMONDO F, PITTO M, GIUSTINA A ET AL. Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *J Endocrinol* 2005, 184:249–256
 80. QI H, YUE-ZU F, BU-JUN G, QIN Z, ZHI-YUAN T. Circulating ghrelin in patients with gastric or colorectal cancer. *Dig Dis Sci* 2007, 52:803–809
- Corresponding author:*
- D. Nikolopoulos, Second Department of Propedeutic Surgery, Medical School, University of Athens, "Laiko" General Hospital, 17 Agiou Thoma street, GR-115 27 Athens, Greece
e-mail: drdnikol@hotmail.com