



FCNAUP

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação
Universidade do Porto

GRELINA

UMA NOVA E PROMISSORA HORMONA

INÉS MARIA DE CARVALHO LACERDA

RESUMO

Neste trabalho procura-se fazer uma caracterização geral, através de uma revisão bibliográfica, sobre a grelina.

Em primeiro é descrito o processo acidental e peculiar que levou à sua descoberta. Procura-se depois, com o objectivo de conhecer um pouco melhor a sua identidade, descrever a sua estrutura, distribuição ubiquitária, bem como, os mecanismos específicos de regulação da secreção e expressão. Este último ponto foi enfatizado, uma vez que o seu comportamento face aos factores que com ela interagem é único e determinante para a compreensão das suas funções.

De seguida torna-se então pertinente abordar algumas, das várias funções fisiológicas que a grelina desempenha, procurando sempre relacioná-las no âmbito da nutrição.

Embora os estudos apresentem ainda uma série de ambiguidades e estejam ainda a decorrer investigações na área, esta hormona apresenta-se já como uma hormona promissora no desenvolvimento de tratamentos, especialmente os de combate à obesidade.

ÍNDICE

RESUMO	i
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. DESENVOLVIMENTO DO TEMA	3
2.1. CONTEXTO HISTÓRICO – DOS GHSS À DESCOBERTA DA GRELINA	3
2.2. CARACTERIZAÇÃO DO GHS-R – BREVE ABORDAGEM	5
2.3. ESTRUTURA MOLECULAR DA GRELINA	7
2.4. DISTRIBUIÇÃO E FONTES DE GRELINA	10
2.5. REGULAÇÃO DA SECREÇÃO E EXPRESSÃO DE GRELINA	12
2.6. GRELINA E A SECREÇÃO DA GH	22
2.7. PAPEL DA GRELINA NA HOMEOSTASIA ENERGÉTICA	24
2.8. CIRURGIA BARIÁTRICA E GRELINA	29
2.9. EFEITOS DA GRELINA NA MOTILIDADE E SECREÇÃO ÁCIDA GÁSTRICAS	32
3. ANÁLISE CRÍTICA E CONCLUSÃO	33

LISTA DE FIGURAS

Fig.1 – Mecanismos de libertação da GH, de uma célula somatotrófica.....	5
Fig.2 – Sequência de aminoácidos da grelina e particularidade do grupo <i>n</i> - octanoílo.....	7
Fig.3 – Estrutura do gene da grelina.....	9
Fig.4 – Perfil da grelina em 24h, antes e após perda de peso.....	13
Fig.5 – Modelo da regulação da ingestão alimentar pela grelina e pela leptina.....	27
Fig.6 – Perfil da grelina em 24h, antes e após perda de peso e após <i>bypass</i> gástrico.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

BMI – Índice de Massa Corporal (*Body Mass Index*)

GHS-R – Receptor dos Secretagogos da Hormona de Crescimento (*Growth Hormone Secretagogue Receptor*)

GH – Hormona de Crescimento (*Growth Hormone*)

GHRH – Hormona Libertadora da GH (*GH-Releasing Hormone*)

GHSs – Secretagogos da Hormona de Crescimento (*GH Secretagogues*)

GHRH-R – Receptor da GHRH (*GHRH Receptor*)

Ser³ – Serina na posição 3

GPCR – Receptor Acoplado à Proteína G (*G-Protein Coupled Receptor*)

Arc – Núcleo Arqueado (*Arcuate nucleus*)

cAMP – Adenosina Monofosfato cíclica (*cyclic Adenosine Monophosphate*)

IP3 – Inositol trifosfato

DAG – Diacilglicerol

Lys – Lisina

Arg – Arginina

Ala – Alanina

Val – Valina

mRNA – Ácido Ribonucleico mensageiro (*messenger Ribonucleic Acid*)

Gln¹⁴ – Glutamina na posição 14

NPY – Neuropeptídeo Y (*Neuropeptide Y*)

AgRP – *Agouti gene-Related Protein*

POMC – *Proopiomelanocortin*

CART – *Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript*

α -MSH – *α -Melanocyte Stimulating Hormone*

1. INTRODUÇÃO

A obesidade representa uma das maiores ameaças globais, bem como uma das principais causas de morte em países industrializados ⁽¹⁾. As suas taxas e comorbilidades associadas têm vindo a aumentar rápida e assustadoramente, fazendo da obesidade uma crise de saúde pública ⁽¹⁾.

Em termos globais, mais de um bilião de adultos tem excesso de peso (Índice de Massa Corporal – *Body Mass Index* – BMI ≥ 25 kg/m²), sendo, pelo menos, 300 milhões obesos (BMI ≥ 30 kg/m²) ⁽²⁾.

Em Portugal, estima-se que, em crianças dos 7 aos 9 anos, haja uma prevalência de excesso de peso/obesidade na ordem dos 31,5% ⁽³⁾.

Até à data, a eficácia e a segurança inerentes às terapias para a obesidade permanecem ainda demasiado inconsistentes e insustentáveis, por longos períodos de tempo ⁽¹⁾.

A comunidade científica, com o intuito de melhor compreender os mecanismos patofisiológicos que estão na base dos distúrbios metabólicos da obesidade, tem dado uma crescente atenção aos elementos centrais da regulação da homeostasia energética, incluindo o dispêndio energético e a ingestão alimentar ^(4, 5, 6).

No desenrolar de várias investigações neste âmbito, foi descoberta a grelina. Esta, inicialmente descrita como o ligando endógeno para o receptor dos secretagogos da hormona de crescimento (*Growth Hormone Secretagogue Receptor* – GHS-R), induz a secreção da hormona de crescimento (*Growth Hormone* – GH). O inesperado achado de que a principal fonte de grelina era o

estômago, desencadeou logo a investigação de possíveis efeitos da grelina na homeostasia energética. No que a isto diz respeito, foi demonstrado que a grelina exógena estimula a ingestão alimentar e aumenta a adipogênese, promovendo assim um balanço energético positivo ⁽⁷⁾. Por esta razão, foi-lhe conferido o estatuto de única hormona orexigénica conhecida até à data ⁽⁸⁾. Estas revelações representam um marco para o conhecimento acerca da regulação da secreção da GH e do metabolismo energético. É, também, um dos tópicos “mais aliciantes” nas investigações actuais inerentes à obesidade ⁽⁹⁾.

Para esta monografia, efectuou-se uma revisão bibliográfica sobre esta temática, focando determinados aspectos relacionados com a grelina. Relata-se a sua descoberta e descrevem-se as suas características estruturais e distribuição, bem como as funções fisiológicas, sobretudo relacionadas com a regulação da sua secreção e expressão, e também com o metabolismo energético. Serão ainda referidos, considerando sempre a ambiguidade e insuficiente informação disponível, as perspectivas futuras associadas à grelina, no âmbito da utilização da hormona no tratamento da obesidade.

2. DESENVOLVIMENTO DO TEMA

2.1. CONTEXTO HISTÓRICO – DOS GHSS À DESCOBERTA DA GRELINA

A GH, um polipéptido de 191 aminoácidos, é produzida pelas células somatotróficas da adenohipófise ^(10,11). Trata-se de uma hormona anabólica, crucial para o crescimento ósseo longitudinal, formação muscular, homeostasia energética, e metabolismo das proteínas, glícidos, lípidos e minerais, em mamíferos ⁽¹¹⁾.

No passado, pensava-se que a secreção da GH era controlada por dois peptídeos: a hormona libertadora da hormona de crescimento (*GH-Releasing Hormone* – GHRH) e a somatostatina ^(10,11). A GHRH é um peptídeo hipotalâmico, de 44 aminoácidos, que estimula a síntese e libertação da GH. A somatostatina é sintetizada na área pré-óptica média do hipotálamo e inibe a secreção da GH ⁽¹⁰⁾.

Nos finais dos anos 70, com o objectivo de explorar alternativas para a administração de GH a pacientes com insuficiente produção desta, foram sintetizadas as primeiras moléculas com actividade indutora da secreção de GH, às quais foi dado o nome de secretagogos da hormona de crescimento (*GH Secretagogues* – GHSs). Depois disso, vários outros GHSs, peptídicos (*GHRP-6*) ⁽⁹⁾ e não peptídicos (*MK-0677*) ⁽⁹⁾ foram também sintetizados. O mais potente dos GHSs sintetizado foi o MK-0677. Este foi utilizado em estudos que acabaram por conduzir, em 1996, à identificação e clonagem do GHS-R. Este receptor, curiosamente, não corresponde ao receptor da GHRH (*GHRH Receptor* – GHRH-R) ⁽¹⁰⁾.

Em 1999, no decorrer de estudos sobre os efeitos cardiovasculares dos GHSs, o grupo de investigadores de Kojima purificou e caracterizou o ligando endógeno para o GHS-R. Tratava-se de um peptídeo de 28 aminoácidos, no qual o resíduo Serina na posição 3 (Ser³) sofre uma *n*-octanoilação. O peptídeo acilado induz especificamente a secreção da GH, tanto *in vitro* como *in vivo*., sendo a *n*-octanoilação da Ser³ essencial para a sua actividade. Foi chamado de **Grelina**, termo que contém o prefixo “ghre” – raiz etimológica de “growth” (crescimento) e “relin” – o sufixo para substâncias libertadoras. Grelina representa então a abreviatura de “growth – hormone – release” (secreção da GH) ^(5,12,13).

Farmacologia reversa será, desta forma, o termo mais indicado para descrever o percurso que levou à descoberta da grelina ^(5,14). Em primeiro lugar, foram obtidos os seus análogos sintéticos; em segundo, clonado o seu receptor e, por último, descoberto o ligando natural para esse receptor, a grelina ⁽¹⁵⁾.

2.2. CARACTERIZAÇÃO DO GHS-R – BREVE ABORDAGEM

O GHS-R é um receptor acoplado à proteína G (*G-Protein Coupled Receptor* – GPCR). Este receptor existe sob duas isoformas, geradas por *splicing* alternativo de um só gene: a forma 1a e a forma 1b. A primeira constitui o receptor funcional para a grelina ⁽¹⁶⁾. Este receptor é, principalmente, expresso nas células somatotróficas da adenohipófise e no hipotálamo, em particular no núcleo arqueado (*Arcuate nucleus* – Arc) ⁽¹⁷⁾. Encontra-se também disperso por outras partes do cérebro, assim como pelo estômago, intestino, rins, pâncreas, coração e aorta, em humanos e roedores. A larga distribuição do GHS-R poderá explicar as multifacetadas funções da grelina e dos GHSs ⁽¹⁰⁾. Relativamente à isoforma 1b do GHS-R, não são mencionadas relações específicas com as funções da grelina.

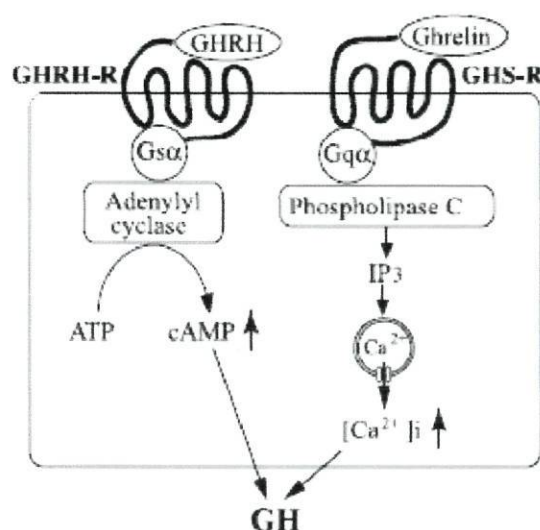


Fig.1 – Mecanismos de libertação da GH, de uma célula somatotrófica ⁽¹⁰⁾

Se atentarmos à activação do GHS-R pela grelina e à activação do GHRH-R pela GHRH, os mecanismos aí subjacentes parecem ocorrer por vias distintas, embora se obtenha o mesmo produto de secreção. A actividade indutora de secreção da GH pela GHRH deve-se à sua união ao GHRH-R, também um GPCR, que leva ao aumento intracelular de adenosina monofosfato cíclica (*cyclic adenosine monophosphate* – cAMP). Por outro lado, a grelina estimula a secreção de GH através do aumento dos níveis de cálcio intracelular, pela activação da via fosfolípase – inositol-trifosfato (IP3) ⁽¹⁰⁾. A fosfolípase C hidrolisa o fosfatidilinositol-4,5-bifosfato, presente na membrana, que, por sua vez, dá origem a diacilglicerol (DAG) e IP3. Este último liga-se ao receptor de IP3 no retículo endoplasmático, libertando cálcio das reservas intracelulares ⁽¹⁸⁾ (Fig.1).

2.3. ESTRUTURA MOLECULAR DA GRELINA

A Grelina humana é um peptídeo constituído por 28 aminoácidos. A sua sequência difere da sequência da grelina de rato nos resíduos 11 e 12, onde uma Lisina (Lys) substitui a Arginina (Arg) e uma Alanina (Ala) substitui a Valina (Val), respectivamente (Fig.2) ^(11,19-21).



Fig.2 – Sequência de aminoácidos da grelina e particularidade do grupo *n*-octanoílo ⁽²¹⁾.

A hormona aqui referida constitui a primeira de origem natural identificada, na qual o átomo de hidrogénio do grupo hidroxil do terceiro aminoácido *n*-terminal Ser³ é substituído por uma molécula hidrofóbica, a C₇H₁₅CO (grupo ácido de 8 carbonos ⁽²²⁾), ou seja, o grupo hidroxil da Ser³ é octanoilado (Fig.2). ^(5,11,12,13,18,20,23) A cadeia *n*-octanoilada tem demonstrado ser essencial para a ligação e activação do GHS-R1a ^(11,14). Esta modificação peculiar, pós-tradução, é capaz de aumentar a lipofilicidade da molécula ⁽²³⁾.

Curiosamente, a grelina circula maioritariamente sob a forma de grelina desoctanoilada (sem a esterificação da Ser³). Trata-se de uma forma incapaz de

estimular o GHS-R1a ^(11,23). Embora este campo não tenha, ainda, sido aprofundado, alguns estudos comprovam, contudo, que esta isoforma possui actividades próprias. De facto, trabalhos recentes demonstraram que a grelina desoctanoilada é capaz de induzir a adipogénese em ratos. Esta acção é levada a cabo, não pela activação do GHS-R1a, mas sim, por um outro tipo de receptor, ainda não identificado ⁽²⁴⁾. Actualmente decorrem investigações cujos objectivos se prendem, em primeiro lugar, com a procura da enzima gástrica responsável pela acilação da grelina e, em segundo, com a caracterização dos diferentes subtipos do GHS-R ou famílias de receptores, onde poderá actuar a grelina desacilada ⁽¹⁶⁾.

O gene humano da grelina encontra-se localizado no cromossoma 3, mais precisamente no locus 3p25-26, consistindo em 4 exões e 3 intrões (tal como no rato) ^(14,18). A proteína madura é codificada nos exões 1 e 2. O gene transcrito é processado por *splicing* alternativo para dar origem a dois fragmentos de ácido ribonucleico mensageiro (*messenger Ribonucleic Acid* – mRNA) e dois peptídeos finais: a grelina e a des-Gln¹⁴-grelina ^(13,14).

A des-Gln¹⁴-grelina foi descrita como o segundo ligando endógeno para o GHS-R. É um peptídeo homólogo à grelina, exceptuando a falta da glutamina na posição 14 (Gln¹⁴) ⁽²⁵⁾. A des-Gln¹⁴-Grelina possui também a esterificação da Ser³ pelo grupo *n*-octanoilo, necessária para activar o GHS-R. Estimula, igualmente, a secreção de GH quando injectada em ratos ^(11,25). Além disso, a des-Gln¹⁴-Grelina é codificada a partir do mesmo gene da grelina, por *splicing* alternativo ⁽²⁵⁾. Este peptídeo tem a mesma potência que a grelina na indução do aumento da

concentração de cálcio intracelular, embora seja produzido em menores quantidades no estômago ^(14,25).

O precursor da grelina (prepro-grelina) é composto por 117 aminoácidos ⁽²⁰⁾, sendo constituído por um peptídeo sinal de 23 aminoácidos e uma pró-grelina de 94 aminoácidos. Nestes últimos incluem-se os 28 aminoácidos da grelina madura e uma cadeia de 66 aminoácidos que constitui a cauda ⁽¹⁸⁾ (Fig.3).

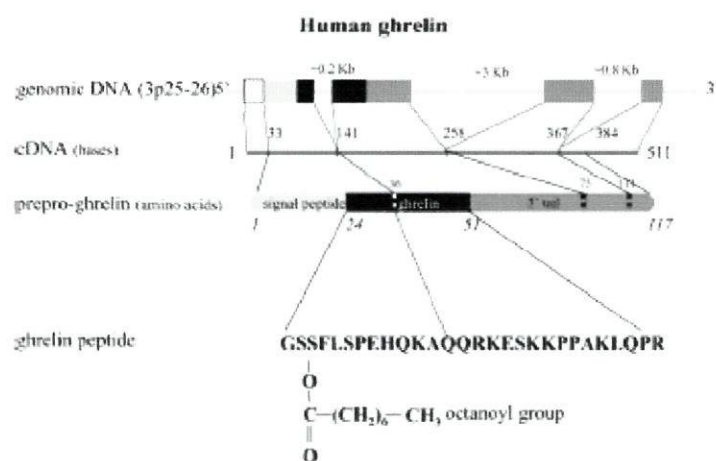


Fig.3 – Estrutura do gene da grelina ⁽¹⁸⁾.

2.4. DISTRIBUIÇÃO E FONTES DE GRELINA

A Grelina é predominantemente produzida no estômago ^(17,19,26,27), embora pequenas quantidades tenham origem, também, no intestino⁽²⁷⁾, pâncreas, hipófise, rim, placenta ⁽⁴⁾, hipotálamo ⁽⁵⁾, células imunitárias, pulmões ⁽²⁷⁾, testículos, ovários ⁽¹⁸⁾, coração, tiróide e tecidos neoplásicos ⁽¹⁴⁾.

A grelina plasmática, em indivíduos saudáveis, apresenta uma concentração circulante de $117,2 \pm 37,2 \text{ fmol ml}^{-1}$ ⁽¹²⁾. Desta, aproximadamente 80% tem origem no estômago ⁽²⁸⁾.

Embora o estômago seja a principal fonte de grelina circulante, outras fontes poderão aumentar a sua secreção de um modo compensatório ⁽²⁰⁾. Um estudo, realizado em indivíduos gastrectomizados, demonstrou que o nível plasmático de grelina se encontrava reduzido, apenas, a 35%, em relação ao grupo controlo de indivíduos saudáveis ⁽²⁷⁾.

Alguns estudos localizam a grelina pancreática nas células α e β , enquanto outros reportam a existência do mesmo tipo de grelina num novo conjunto celular – células tipo ϵ . Relativamente a estas últimas, desconhece-se, até à data, a existência de produção de outras hormonas ⁽¹⁸⁾.

A expressão de grelina no Sistema Nervoso Central é baixa. Através da análise imunohistoquímica, demonstrou-se a existência de neurónios produtores de grelina numa região muito limitada do Arc do hipotálamo. Esta região é conhecida por controlar o apetite, sugerindo, assim, que a produção de grelina, nesta área, possa estar envolvida na regulação da ingestão alimentar. Por outro lado, pode também ser encontrada no hipocampo, sugerindo, deste modo, o

desempenho de um possível papel na regulação do desenvolvimento da memória (14,29). Continua, todavia, por esclarecer se a detecção da grelina no hipotálamo reflecte a produção neuronal local, ou se é produzida no estômago e, por via sanguínea, atinge o cérebro. Independentemente da fonte, é provável que as mudanças na homeostasia energética sejam mediadas pela grelina através da modulação de circuitos hipotalâmicos (30).

Um estudo em ratos, evidenciou a expressão de grelina na hipófise, especificamente nas suas células somatotróficas, lactotróficas e tireotróficas. Os dados fornecem evidências morfológicas directas de que a grelina actua de forma parácrina na regulação das funções das células hipofisárias (31).

As células produtoras de grelina estão presentes, no tracto gastrointestinal, apresentando uma maior concentração no fundo gástrico. Estas células constituem cerca de 20% da população de células endócrinas presentes nas glândulas oxínticas. Constituem um tipo distinto de células imunorreactivas à cromogranina A, células *X/A like*, (18,26,28,32) cuja produção hormonal e função fisiológica eram desconhecidas (11,26). As células *X/A like* são actualmente designadas por células produtoras de grelina, ou células *Gr* (26,30). Não estão em contacto com o lúmen estomacal mas encontram-se intimamente associadas à rede capilar da lâmina própria, permitindo, assim, à grelina, entrar na corrente sanguínea, corroborando, desta forma, um papel endócrino clássico (11,26).

2.5. REGULAÇÃO DA SECREÇÃO E EXPRESSÃO DE GRELINA

Influência da Ingestão e do Jejum

Em roedores, as concentrações sanguíneas de grelina e a sua expressão no estômago aumentam no jejum e diminuem com a ingestão alimentar ^(13,18). Este facto foi confirmado num estudo, no qual, após a ingestão de glicose, verificou-se uma diminuição nos níveis de grelina circulante ⁽³³⁾, tendo-se verificado, por outro lado, o seu armazenamento no estômago. Em contraste, no jejum, os níveis de grelina no estômago diminuíram significativamente, verificando-se o seu aumento plasmático ⁽⁴⁾.

Comprovou-se, também, que níveis elevados da hormona, em animais em jejum, diminuía enchendo o estômago com uma solução de glicose a 50%. O mesmo não acontecia se fosse ingerido o mesmo volume, mas de água. Isto mostra que não é a distensão física do estômago a responsável pelas variações dos níveis de grelina ^(18,29,34).

Nos humanos observam-se mecanismos paralelos. Os níveis circulantes de grelina estão diminuídos em estados de balanço energético positivo crónicos (obesidade) e agudos (recente ingestão energética). Contrariamente, encontram-se aumentados em estados de balanço energético negativo, tais como situações de jejum ^(4,15, 30,35).

A grelina circula no sangue de um indivíduo saudável a uma concentração aproximadamente de $117,2 \pm 37,2$ fmol/ml ⁽¹⁵⁾. Esta concentração plasmática está reduzida em indivíduos obesos, comparativamente a indivíduos de baixo peso. De

facto, nestes últimos, os níveis encontram-se acentuadamente elevados, principalmente quando se tratam de pacientes com malnutrição, consequência de anorexia nervosa ou estados de caquexia. Os níveis de grelina tendem a normalizar com um aumento do peso^(15,18).

Posto isto, foram estudadas várias espécies, incluindo humanos, nas quais se analisaram as flutuações dos níveis circulatórios de grelina, de acordo com a ingestão alimentar, ao longo do dia (Fig.4)⁽⁸⁾.

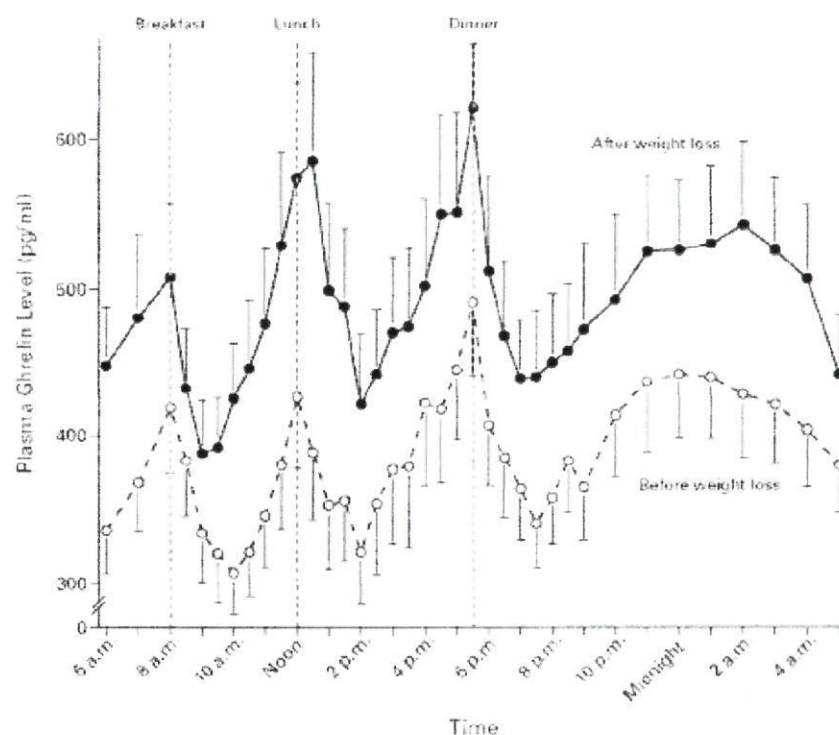


Fig.4 – Perfil da grelina em 24h, antes e após perda de peso⁽⁸⁾.

A análise do gráfico revela que a grelina funciona como um sinal de início de refeição⁽³⁶⁾, hipótese baseada na observação dos picos diurnos dos seus níveis plasmáticos⁽⁸⁾. Isto foi confirmado inicialmente em indivíduos com um horário fixo de refeições. Posteriormente, um estudo mais completo confirmou que os níveis

de grelina comportavam-se da mesma forma, mesmo em indivíduos que comiam livremente, ou seja, na ausência de estímulos alimentares e/ou imposição de horários ⁽⁸⁾. É, todavia, necessária sustentação desta hipótese através de um suporte experimental. Isto poderia ser obtido pelo bloqueio da sinalização pela grelina no período pré-ingestão, mas tal só será viável quando os antagonistas dos receptores da grelina se encontrarem melhor estudados ⁽⁸⁾.

Através da observação acima apresentada, também pode verificar-se que os níveis plasmáticos de grelina diminuem significativamente após a refeição. Os níveis de grelina duplicam no período pré-prandial e diminuem para metade duas horas após a refeição ⁽¹⁵⁾. Relativamente a esta diminuição pós-prandial, a hipótese mais aceite é aquela que indica que esta supressão hormonal desempenha um papel na saciedade, como consequência da ingestão alimentar. Posto isto, a redução pós-prandial de grelina pode potenciar os efeitos de saciedade de outras hormonas, como a colecistocinina. Supondo que a saciedade e a redução dos níveis de grelina estão de facto relacionados, pode dizer-se que estes últimos são inversamente proporcionais ao valor energético dos alimentos ingeridos ^(13,18,37). Confirma-se que assim seja, se nos reportarmos a um estudo, em humanos, no qual se providenciaram valores energéticos diferentes numa mesma refeição. Aqui pode verificar-se que o nível de supressão da hormona, após a refeição, estava directamente relacionado com o valor energético fornecido ^(8,38).

Estão a decorrer investigações com o objectivo de verificar se esta supressão pós-prandial da grelina se deve à estimulação directa, pelos nutrientes, nas células produtoras de grelina, ou se, por outro lado, se deve a sinais hormonais

ou neurológicos. Parece, contudo, inequívoca a hipótese da existência de algum mecanismo detector de nutrientes envolvido nesta resposta. Conseguiu, até agora, verificar-se apenas que a distensão gástrica e/ou a detecção de nutrientes a nível gástrico não são, por si só, estímulos suficientes para a supressão pós-prandial da grelina ⁽⁸⁾.

Influência do Tipo de Nutrientes

É importante referir o hipotético papel dos diferentes macronutrientes na modulação da secreção e expressão de grelina. Estudos revelam que todos os macronutrientes são activos para uma redução da secreção de grelina gástrica, ou seja, a secreção da hormona é inibida tanto pelos glícidos, como pelos lípidos e pelas proteínas ⁽³⁹⁾. No entanto, o que parece acontecer é que, todos os macronutrientes têm efeito supressor nos níveis de grelina, mas exercem-no com uma eficácia diferente. Pensa-se que os níveis de grelina ficam mais reduzidos com a ingestão de glicose e, em relação à ingestão de lípidos esta redução não é tão evidente. No que respeita à ingestão proteica, a sua influência é intermédia ⁽⁸⁾.

Regulação Hormonal

O modelo de supressão de grelina pelos alimentos é consistente com a hipótese de que as hormonas secretadas em resposta à ingestão poderão contribuir para a redução nos níveis plasmáticos de grelina. De facto, verifica-se

que a insulina, a colecistocinina, o peptídeo YY e o *glucagon-like peptide-1*, por exemplo, aumentam rapidamente após a ingestão, e, paralelamente, os níveis de grelina começam a diminuir ⁽⁸⁾.

Insulina

A hipótese da insulina ser a responsável pela redução pós-prandial da grelina tem sido alvo de grande e especial atenção ⁽⁸⁾. Assim, torna-se importante referir alguns estudos neste âmbito. Tem sido demonstrado que a insulina desempenha um efeito inibitório nos níveis de grelina em indivíduos obesos ^(18,33,40), insulino-resistentes e hiperinsulinémicos, onde os níveis circulatórios de grelina se encontram reduzidos ⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾. Embora elevadas doses de insulina, ou uma combinação desta à glicose, possam reduzir a grelina plasmática, um aumento da insulina após ingestão, não parece ser necessário para suprimir a grelina. Senão vejamos: (i) experimentalmente, uma ingestão ou infusão de lípidos, não aumentou os níveis de insulina, mas reduziu significativamente os níveis plasmáticos de grelina; (ii) na ausência de qualquer tratamento com insulina, em diabéticos tipo 1, não houve resposta pós-prandial dos níveis de grelina, contudo, quando lhes foi administrada uma pequena dose de insulina basal, apenas a necessária para manter a euglicemia após a refeição, a ingestão de nutrientes já provocou uma redução substancial na grelina circulante; (iii) do mesmo modo, ratos aos quais foram destruídas as células β , apresentaram uma redução parcial da grelina após ingestão, sem, no entanto, haver qualquer alteração na insulina circulante. Como tal, a elevação da insulina relacionada com a ingestão, não é premissa requerida para a supressão da grelina em resposta aos alimentos. Resumindo, os dados apresentados suportam a ideia de que a supressão de

grelina relacionada com os nutrientes solicita a presença de insulina, embora o aumento pós-prandial da insulina não seja directamente responsável por esta supressão ⁽⁸⁾.

Leptina

No que diz respeito à relação do efeito da leptina na regulação da grelina, os estudos apresentam-se pouco claros:

Uma administração de leptina provoca um aumento da expressão gástrica de grelina ^(13,18). Este aumento induzido pela leptina, poder-se-á dever, não a um efeito directo desta sobre a expressão de grelina, mas sim à redução de ingestão alimentar provocada pela leptina ⁽¹³⁾. Verificou-se, em cobaias com défice de leptina, ou do seu receptor, que os níveis de grelina se apresentavam baixos; em humanos chegou-se à mesma conclusão, sendo que, esta diminuição na grelina como consequência da deficiência de leptina, está de acordo com o BMI ⁽¹⁸⁾. Paralelamente, surgem estudos que contrariam esta hipótese: leptina administrada a humanos não regula a grelina, e a relação é simultaneamente, independente da adiposidade ^(18,37).

Pelo exposto, é necessário desenvolver mais investigações que permitam verificar a validade destas contradições.

Somatostatina

Recentemente, demonstrou-se que a infusão de somatostatina, em indivíduos saudáveis, reduzia os níveis plasmáticos de grelina em cerca de 70-80% ⁽⁴⁵⁾. Poder-se-á pensar que, pelo facto de a administração sistémica de somatostatina suprimir a secreção de várias hormonas (GH, insulina, glicagina e outras

hormonas gastro-entero-pancreáticas), também pode ter um efeito indirecto sobre a secreção de grelina. Todavia, foi demonstrado que as células D, produtoras de somatostatina, estabelecem contactos celulares directos com as células produtoras de grelina no fundo gástrico, o que então sugere uma interacção reguladora directa entre estas duas hormonas ⁽⁴⁶⁾.

GHRH

Foi recentemente demonstrado que a administração de GHRH em ratinhos faz aumentar a expressão de grelina na hipófise ⁽¹³⁾, levando a crer que a GHRH é responsável por uma *upregulation* da expressão de grelina neste local, sem, no entanto, ter efeito nos níveis plasmáticos de grelina. Como prova disto, uma administração do antagonista da GHRH, em indivíduos saudáveis, não alterou os níveis circulatórios de grelina ⁽¹⁸⁾.

Influência do Estado Nutricional

Relacionando o facto da grelina ser conhecida pelo seu papel de “sinal da fome”, uma administração crónica de grelina aumenta, a longo prazo, o peso corporal, e os níveis endógenos sofrem flutuações com variações ponderais (Fig.4) ⁽⁸⁾. Assim, os níveis endógenos de grelina alteram-se de acordo com o balanço energético ⁽¹⁸⁾.

Num estudo efectuado, após 18h de jejum, os níveis de grelina plasmática aumentaram, o que demonstra uma *upregulation* do jejum nos níveis circulatórios de grelina ⁽⁴⁷⁾. Por outro lado, a obesidade é responsável por uma *downregulation*

da expressão de grelina ⁽⁴⁷⁾. Os níveis de grelina durante o jejum são mais baixos em indivíduos obesos, do que em indivíduos normoponderais ⁽¹⁸⁾. Uma administração contínua de grelina, em ratos, induz hiperfagia e leva, a longo prazo, à obesidade ⁽³⁷⁾.

Indivíduos com baixo BMI têm altos níveis de grelina ⁽¹⁸⁾. Uma perda de peso eleva os níveis de grelina substancialmente, tanto em humanos, como noutros animais (Fig.4) ^(8,48). Isto tem vindo a ser demonstrado em vários estudos, no contexto de perdas de peso derivadas de dietas de baixo valor energético ^(49,50), de alterações do estilo de vida, exercício físico prolongado, bem como anorexia nervosa ⁽⁴⁸⁾, anorexia resultante de diferentes neoplasias ^(50,51), caquexia por falência cardíaca ⁽⁵²⁾ e caquexia hepática ⁽⁵³⁾. Pensou-se, inicialmente, que a elevação dos níveis de grelina, nestas circunstâncias, seria consequência de um reflexo à diminuição da ingestão alimentar, ou seja, uma menor ingestão energética anularia o efeito supressor sobre a grelina, que, por sua vez, aumentaria. Contudo, parece que os níveis de grelina respondem ao peso corporal, independentemente da ingestão alimentar. Um grupo de mulheres saudáveis iniciou, num âmbito experimental, um programa de exercício físico intenso. Simultaneamente, era alimentado com uma dieta para manutenção do peso corporal. Algumas permaneceram com peso estável, enquanto outras tiveram uma perda de peso. Os níveis de grelina aumentaram ao longo do tempo apenas no grupo onde se observou a perda de peso ⁽⁵⁴⁾. Ou seja, mesmo não havendo redução da ingestão alimentar, os níveis plasmáticos de grelina aumentam como resposta a uma perda de peso ⁽⁸⁾. No que se refere à diminuição da grelina em resposta a ganhos de peso, tem vindo a ser menos investigado,

embora tudo leve a crer que os níveis de grelina respondem de modo compensatório a alterações bidireccionais do peso corporal ⁽⁸⁾.

Pelo que foi visto até agora, podemos inferir que os níveis de grelina são afectados quer pela composição da dieta, quer pelo peso corporal (entre outros). Na obesidade entram em jogo estes dois factores, e verificam-se, nesta patologia, níveis reduzidos de grelina. Dado que níveis plasmáticos desta hormona parecem seguir a pista do peso corporal e contribuir para a regulação do mesmo, seria de grande interesse descobrir os mecanismos através dos quais o sistema regulador da grelina detecta as alterações ponderais ⁽⁸⁾.

Outros Factores

Foi relatado, recentemente ^(46,55), que durante o sono, os níveis de grelina aumentam na primeira parte da noite e diminuem durante a manhã (Fig.4). Enquanto os indivíduos permaneciam acordados, os níveis de grelina subiam lentamente e atingiam um pico durante a madrugada. À primeira vista, não é fácil perceber o porquê da produção de uma hormona estimulante do apetite estar aumentada durante a noite. Porém, a interacção entre redes metabólicas, endócrinas e reguladoras do sono é complexa e, por outro lado, a grelina tem inúmeras funções. Poderá então existir um mecanismo que regule a produção de grelina independente da ingestão alimentar, podendo relacionar-se com o ciclo circadiano (que regula a secreção de cortisol e leptina) ou com o próprio sono (como acontece com a secreção de GH) ^(46,55).

A maioria das publicações não referiu variações dos níveis de grelina de acordo com o sexo, embora alguns dados reportem níveis superiores em mulheres e fêmeas de roedores ⁽¹⁸⁾. Contudo, ainda que em ratos fêmeas a produção de grelina aumente mais que nos machos, não foram encontradas diferenças significativas entre os sexos ⁽¹⁴⁾.

Finalmente, há estudos que apresentam uma correlação negativa entre a grelina e a idade ⁽¹⁸⁾. Estes estudos fazem ainda uma referência ao facto do aumento da idade reduzir a produção de grelina para níveis idênticos aos verificados em sujeitos obesos ⁽¹⁴⁾.

2.6. GRELINA E A SECREÇÃO DA GH

A grelina estimula a libertação da GH, tanto *in vitro* como *in vivo* ⁽²⁹⁾. A administração intravenosa de grelina estimula a libertação de GH, pelas células da adenohipófise em humanos ^(4,56) e em ratos ^(4,10), através da activação do GHS-R, numa função dose-dependente ^(5,10,11,29).

Directamente na hipófise, a acção da grelina está relacionada com a *up-regulation* da expressão de *Pit-1*, um factor de transcrição específico da hipófise, conhecido por estar envolvido na expressão do gene da GH neste local ^(11,21).

Uma co-administração de grelina e GHRH afectou sinergicamente a secreção da GH ^(4,10), o que leva a crer que estas hormonas actuam por mecanismos diferentes ⁽¹⁴⁾. Além do mais, uma infusão de GHRH em ratinhos resulta num significativo aumento da expressão dos genes que codificam a grelina e do seu receptor na hipófise ⁽¹⁰⁾. Finalmente, estudos demonstraram que *antisera* anti-GHRH e antagonistas da GHRH atenuam a actividade secretora de GH induzida pela grelina. Estes resultados indicam que a GHRH poderá modular o papel da grelina na secreção da GH ⁽¹⁰⁾, embora estudos constatem que a eficácia da grelina, como libertadora da GH, é significativamente mais potente que o da GHRH ⁽⁵⁶⁾.

Estudos anatomo-funcionais suportam a ideia da existência de uma acção inibitória da somatostatina na libertação de GH pela grelina (se considerarmos os estudos que referem que a somatostatina tem um efeito inibidor na regulação da

grelina, isto seria de esperar), exercida tanto a nível hipotalâmico, como hipofisário ⁽²¹⁾.

2.7. PAPEL DA GRELINA NA HOMEOSTASIA ENERGÉTICA

Vários estudos demonstraram que a grelina está fortemente envolvida na regulação da homeostasia energética ⁽⁹⁾, uma vez que está implicada no aumento da ingestão alimentar e do peso corporal ⁽³⁰⁾, tanto em roedores ⁽⁴¹⁾ como em humanos ^(9,14). Este seu efeito orexigénico, era já uma suspeita, já que, antes da descoberta da grelina, alguns estudos haviam demonstrado que os GHSs, seus análogos sintéticos, quando administrados por via periférica ou central, tinham efeito orexigénico em ratos ⁽²³⁾.

A primeira evidência publicada acerca do envolvimento da grelina nestas funções surgiu num estudo, em que 3 de 4 indivíduos saudáveis manifestaram, como um efeito lateral, uma vez que este estudo clínico pretendia analisar a libertação de GH, uma “sensação de fome”, depois de lhes ser administrada grelina. Este efeito indutor de fome, pela grelina, foi confirmado noutros dois estudos em que, 3 de 7 e 9 de 11 indivíduos, respectivamente, relataram “fome” como a única sensação, após uma injeção de grelina. Por sua vez, um grande número de estudos em animais deram, também, credibilidade ao argumento de que a grelina está envolvida na regulação do equilíbrio energético ⁽⁵⁾.

A grelina exerce as suas funções orexigénicas, quer por administração central quer por periférica ⁽¹⁷⁾, sendo este um facto relevante, uma vez que outros peptídeos orexigénicos perdem acção quando administrados por via periférica ^(9,14).

A administração central de grelina induz a expressão do gene *c-fos*, marcador de activação neuronal, em múltiplos núcleos do hipotálamo que estão envolvidos

na regulação do balanço energético, tais como o Arc, o núcleo dorsomedial e o núcleo ventromedial. Além do mais, uma administração periférica sistemática de grelina induz igualmente a expressão de *c-fos* em neurónios, no Arc, que co-expressam o neuropeptídeo Y (NPY), a *agouti gene-related protein* (AgRP) e o GHS-R^(17,41).

O hipotálamo é considerado a unidade central de controlo do balanço energético. A grelina está, como já vimos, envolvida na regulação hipotalâmica da homeostasia energética⁽⁴¹⁾. O GHS-R, por sua vez, foi encontrado em várias áreas hipotalâmicas. A grelina, o ligando endógeno para este receptor, pode estimular a ingestão alimentar actuando a nível do Arc, que fica na base do hipotálamo. Este tem dois tipos de neurónios: os produtores de inibidores do apetite – como o *proopiomelanocortin* (POMC) e o *cocaine- and amphetamine-regulated transcript* (CART), situados no Arc lateral – e os produtores de estimuladores do apetite – como o NPY e a AgRP, situados no Arc medial^(4,14,23,35).

Os principais alvos hipotalâmicos da grelina são, principalmente, os neurónios NPY/AgRP, dois potentes estimuladores da ingestão⁽⁵⁷⁻⁵⁹⁾.

A administração de grelina aumenta a expressão do mRNA do NPY e da AgRP mas não a do POMC^(57,58). O que acontece é que o AgRP (peptídeo produzido por melanócitos) antagoniza a acção da *α-melanocyte stimulating hormone* (α -MSH), um derivado da POMC, inibindo o receptor para a melanocortina-4, tendo assim acção orexigénica.^(35,57,60)

Por sua vez, também, anticorpos e antagonistas do NPY e da AgRP suprimem a acção estimuladora da ingestão induzida pela grelina⁽⁴¹⁾.

Visto que actua no centro da fome, a grelina circulante, provavelmente, atravessa a barreira hematoencefálica, hipótese fortalecida pelo facto do jejum aumentar drasticamente os níveis plasmáticos de grelina, independentemente das alterações do volume gástrico ⁽¹⁴⁾.

A acção orexigénica da grelina também pode ser mediada pelo nervo vago, já que a administração da grelina, em pequenos níveis, melhora a actividade eferente deste nervo, que estimula a contracção do estômago, a secreção e o enchimento gástrico ⁽¹⁴⁾. As fibras aferentes gástricas, através do nervo vago, são a principal via de sinalização da grelina para a sensação de fome e para o estímulo de produção de GH para o cérebro ⁽⁵⁹⁾.

As funções da grelina parecem ser exactamente opostas às da leptina e supõe-se que sejam exercidas nas mesmas áreas hipotalâmicas ⁽¹⁴⁾. A leptina activa os neurónios POMC/CART ao nível da transcrição genética e, também, por despolarização directa, presumivelmente iniciando a libertação dos dois potentes peptídeos anorexigénicos: o α -MSH e o CART. Paralelamente, inibe directamente a transcrição do NPY e da AgRP e hiperpolariza os neurónios NPY/AgRP, prevenindo, assim, a libertação dos neuropeptídeos orexigénicos, NPY e AgRP ⁽³⁵⁾. Inibe a sensação de fome induzida pela grelina e esta, por sua vez, reverte substancialmente o efeito anorexigénico da leptina ⁽⁶⁰⁾ (Fig.5).

A grelina bloqueia a redução da ingestão induzida pela leptina, o que sugere que existe uma interacção competitiva entre a grelina e a leptina, na regulação da ingestão ⁽⁴¹⁾

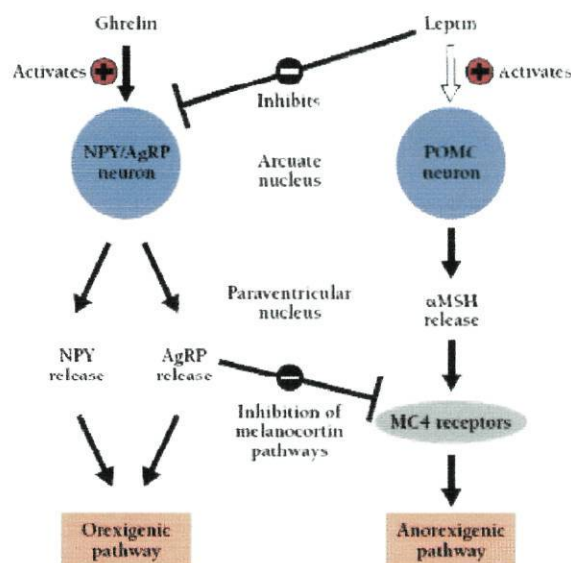


Fig.5 – Modelo da regulação da ingestão alimentar pela grelina e pela leptina ⁽⁴⁾.

Em roedores, uma administração crónica de grelina também mostrou que esta diminuía o dispêndio energético e aumentava a adipogénese, o que levou a um aumento da massa gorda e ganho de peso ⁽¹⁷⁾. O ganho de peso é significativo após 48h da administração crónica da grelina e continua a aumentar, tornando-se evidente após 2 semanas ⁽¹⁷⁾. O aumento da massa gorda, mas não da massa muscular e do crescimento ósseo longitudinal, foram também observados, sugerindo que a grelina induz um balanço energético positivo ⁽¹⁷⁾. Vários grupos sugeriram que esta indução de ganho de peso é independente da GH e da GHRH, porque os efeitos orexigénicos da grelina não se alteravam em ratos anões por deficiência de GH, ou utilizando antagonistas da GHRH ⁽¹⁷⁾. A grelina regula o balanço energético, servindo de ligação entre os sistemas nervoso central e periférico. Os níveis circulatórios de grelina, bem como os níveis de expressão do mRNA da grelina estão aumentados durante o jejum e diminuem com a ingestão alimentar. Em humanos, os níveis plasmáticos de grelina estão

aumentados antes de uma refeição e diminuem após a mesma, sugerindo o envolvimento da grelina no iniciar de uma refeição ⁽¹⁷⁾.

A administração de grelina em roedores gera um balanço energético positivo e, conseqüentemente, causa adipogênese através da estimulação do apetite e redução da oxidação de gorduras. Em estudos desenvolvidos, os níveis plasmáticos de grelina, em indivíduos obesos, surgiram mais baixos do que no grupo controlo, constituído por indivíduos magros. No geral, os níveis plasmáticos de grelina estão negativamente correlacionados com BMI, massa gorda corporal, tamanho dos adipócitos e níveis plasmáticos de insulina e de glicose ⁽⁶⁾.

Num estudo, com o objectivo de investigar um possível envolvimento da grelina na patogénese da obesidade humana, foram medidas as concentrações endógenas de grelina, em indivíduos caucasianos, de baixo peso e obesos e em indivíduos *Pima Indian* (população conhecida pelos elevados níveis de prevalência de obesidade e diabetes tipo 2) ⁽⁴²⁾. Os seus resultados demonstraram que, em jejum, os níveis de grelina plasmática estavam 27% mais baixos nos indivíduos obesos, comparativamente aos indivíduos com baixo peso. Em relação aos *Pima Indian*, os seus níveis estavam 37% mais baixos do que nos caucasianos. As conclusões que foram tiradas deste estudo foram que as concentrações plasmáticas de grelina estão negativamente correlacionadas com o peso corporal e com % BMI ⁽⁴²⁾.

A diminuição das concentrações plasmáticas de grelina, observada na obesidade, representa uma adaptação fisiológica ao balanço energético positivo associado à obesidade ⁽⁴²⁾.

2.8. CIRURGIA BARIÁTRICA E GRELINA

A Cirurgia de Derivação Gástrica (*bypass* gástrico) é considerada, actualmente, como o mais eficaz dos métodos de tratamento para perda de peso, sendo por isso muito utilizada na obesidade mórbida. Neste método cirúrgico é feita uma anastomose gastrojejunal, que inactiva grande parte do estômago e todo o duodeno. Esta restrição do volume gástrico limita a quantidade de alimentos e provoca saciedade precoce. Sendo obrigados a reduzir as suas refeições, seria de esperar que doentes submetidos a este tratamento, aumentassem a frequência e o valor energético das suas refeições, como resposta adaptativa ⁽²²⁾. Contrariamente isto parece não se verificar. Dados comprovam que estes indivíduos ingerem menos refeições por dia e reduzem o consumo de alimentos de alta densidade energética. Esta inesperada perda de apetite, assim como mudanças paradoxais no comportamento alimentar, fazem deste método terapêutico causador de maiores e mais longas perdas de peso relativamente a outros tratamentos, tais como a Banda Gástrica Ajustável ⁽²²⁾. Uma das hipóteses apresentadas para explicar esta maior eficácia na diminuição ponderal conseguida através do *bypass* gástrico, é a de que estes comportamentos sejam modelados pela supressão dos níveis de grelina ⁽⁴⁸⁾. Num estudo foi descoberto que, indivíduos obesos que perderam peso com uma dieta de baixo teor calórico, sofreram um aumento nas concentrações plasmáticas de grelina. Em contraste, indivíduos que tinham sofrido uma perda de peso mais acentuada, devido a *bypass* gástrico, apresentaram níveis de grelina mais baixos que os anteriores. Nos indivíduos que sofreram *bypass*, verificou-se ainda que

não ocorriam nem as oscilações prandiais, nem as variações diárias que normalmente caracterizam o perfil da grelina de 24h⁽⁴⁸⁾ (Fig.6).

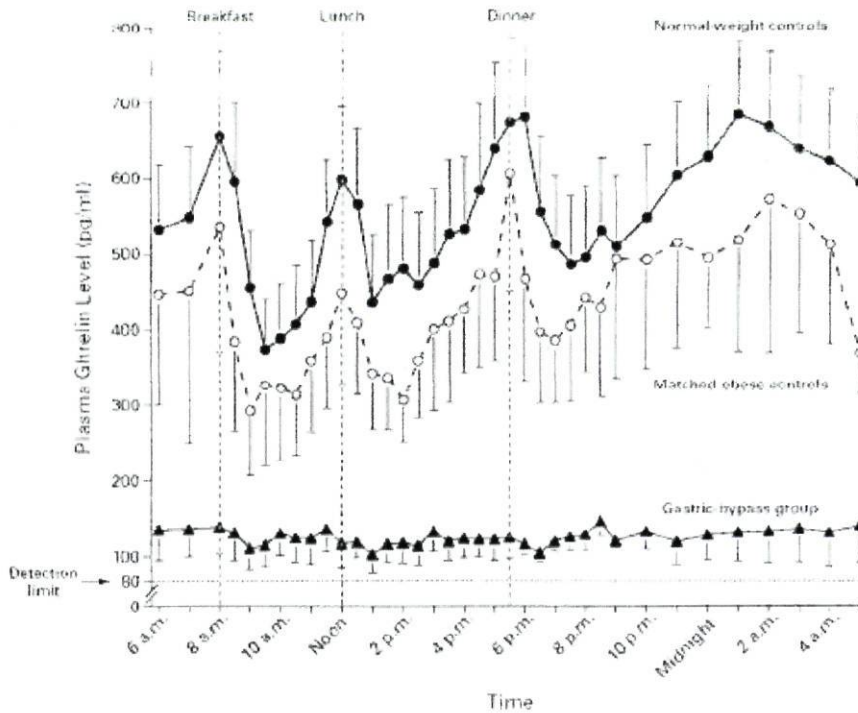


Fig.6 – Perfil da grelina em 24h, antes e após perda de peso e após *bypass* gástrico⁽²²⁾.

A relação grelina – *bypass* gástrico pode ser devida à influência que o método clínico exerce nas células gastro-intestinais produtoras da hormona. Especula-se que o *bypass* silencie as células produtoras de grelina, isolando-as do contacto directo com os nutrientes ingeridos, inibindo assim a libertação da grelina^(22,48).

Estudos apresentaram níveis de grelina aumentados em pacientes aos quais foi colocada Banda Gástrica Ajustável^(61/62). Isto pode ser explicado pelo facto desta intervenção cirúrgica não ter qualquer efeito inibitório sobre as regiões anatómicas produtoras de grelina. O aumento de grelina verifica-se apenas como resultado da perda de peso obtida com a terapia^(22,48).

É de grande interesse o investimento em estudos intervencionais que confirmem que uma supressão de grelina poderá efectivamente potenciar a perda de peso através do bypass. O desenvolvimento farmacológico de bloqueadores dos sinais da grelina poderiam potenciar as perdas de peso conseguidas pelo *bypass*⁽²²⁾.

2.9. EFEITOS DA GRELINA NA MOTILIDADE E SECREÇÃO ÁCIDA GÁSTRICAS

As semelhanças entre a grelina e a motilina (uma hormona gastrointestinal implicada na motilidade gástrica) ⁽⁶³⁾, quer no ligando (30%), quer a nível dos seus receptores (50%), desencadearam estudos sobre os efeitos da grelina a nível da motilidade e secreção ácida gástricas ^(6,11,14).

A grelina estimula a secreção ácida gástrica e a motilidade gástrica, em ratos ^(6,13, 18,63).

Outro estudo provou que existe uma correlação entre os níveis circulatórios de grelina com o tempo de esvaziamento gástrico, em humanos ^(6,63).

A motilidade gástrica induzida pela grelina ocorre, provavelmente, por uma dualidade entre mecanismos centrais e periféricos ⁽¹⁸⁾. A acção estimuladora da grelina, na secreção ácida gástrica, é mediada por um mecanismo colinérgico, dependente do nervo vago ^(6,13,14). Isto confirma-se, já que um bloqueio muscarínico suprime as acções da grelina ⁽⁶⁾. Uma vez que a grelina consegue estimular a libertação de gastrina, em ratos, pensa-se que o efeito da grelina na secreção ácida possa ser mediado, em parte, pela gastrina ⁽¹³⁾.

3. ANÁLISE CRÍTICA E CONCLUSÃO

Sendo ainda uma recente descoberta, a grelina é, actualmente, alvo de inúmeros estudos, nas mais variadíssimas áreas. Constitui uma hormona “completa”, possuindo um grande leque de funções e inúmeros contextos de actuação. Com este trabalho procurei desvendar uma ponta deste, já tão grande, *iceberg*. Embora tenham sido focados os aspectos mais importantes dos estudos no âmbito da nutrição, optei por não aprofundar certas especificidades, nomeadamente de índole fisiológica, por não se considerarem essenciais para a compreensão e desenvolvimento do tema.

Dada a actualidade e o contínuo desenvolvimento desta área, as dúvidas que permanecem por esclarecer são ainda muitas e o facto dos estudos serem, muitas vezes, inconclusivos dificultam não só o aprofundar do tema, mas também a obtenção de conclusões.

No entanto, o “futuro da grelina” avizinha-se promitente, não só porque constitui um avanço para o nosso conhecimento sobre o tão complexo equilíbrio energético, mas também porque nela estão depositadas esperanças no tratamento para a obesidade.

BIBLIOGRAFIA

1. Castañeda TR, Jürgens H, Wiedmer P, Pfluger P, Diano S, Horvath TL, *et al.* Obesity and the Neuroendocrine Control of Energy Homeostasis: The Role of Spontaneous Locomotor Activity. *J Nutr.* 2005; 135: 1314-1319.
2. World Health Assembly Resolution. Global strategy on diet, physical activity and health. WHO 2004.
3. Padez C, Fernandes T, Mourão I, Moreira P, Rosado V. Prevalence of Overweight and Obesity in 7-9-Year-Old Portuguese Children: Trends in Body Mass Index From 1970-2002. *Am J Hum Biol.* 2004; 16: 670-678.
4. Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin and the Regulation of Food Intake and Energy Balance. *Molecular Interventions.* 2002; 2(8): 494-503.
5. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschop M. Minireview: Ghrelin and the Regulation of Energy Balance – A Hypothalamic Perspective. *Endocrinology.* 2001; 142(10): 4163-4169.
6. Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of Ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 440(2-3): 235-254.
7. Truett GE, Parks EJ. Ghrelin: Its Role in Energy Balance. *J. Nutr.* 2005; 135: 1313.
8. Williams DL, Cummings DE. Regulation of Ghrelin in Physiologic and Pathophysiologic States. *J. Nutr.* 2005; 135: 1320-1325.
9. Gualillo O, Lago F, Reino JG, Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Letters.* 2003; 552(2): 105-109.

10. Ueno H, Yamaguchi H, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin: a gastric peptide that regulates food intake and energy homeostasis. *Regulatory Peptides*. 2005; 126: 11-19.
11. Anderson LL, Jeftinija S, Scanes CG, Stromer MH, Lee JS, Jeftinija K, *et al*. Physiology of Ghrelin and Related Peptides. *Domestic Animal Endocrinology*. 2005; 29: 111-144.
12. 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(6762): 656-660.
13. Wang G, Lee HM, Englander E, Greeley Jr. GH. Ghrelin – not just another stomach hormone. *Regulatory Peptides*. 2002; 105: 75-81.
14. De Ambrogi M, Volpe S, Tamanini C. Ghrelin: central and peripheral effects of a novel peptidil hormone. *Med Sci Monit*. 2003; 9(9): RA217-224.
15. Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin: The Link Connecting Growth with Metabolism and Energy Homeostasis. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*. 2002; 3(4): 325-338.
16. Sempera MT. Exploring the role of ghrelin as a novel regulatory of gonadal function. *Growth Hormone & IGF Research*. 2005; 15: 83-88.
17. Xu YL, Jackson VR, Civelli O. Orphan G protein-coupled receptors and obesity. *European Journal of Pharmacology*. 2004; 500: 243-253.
18. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin – a hormone with multiple functions. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2004; 25: 27-68.

19. Baskin DG, Lattemann DF, Seeley RJ, Woods SC, Porte Jr. D, Schwartz MW. Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Res.* 1999; 848(1-2): 114-123.

20. Hosoda, H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural Divergence of Human Ghrelin. *The Journal of Biological Chemistry.* 2003; 278(1): 64-70.

21. St-Pierre DH, Wang L, Taché Y. Ghrelin: A Novel Player in the Gut-Brain Regulation of Growth Hormone and Energy Balance. *News Physiol Sci.* 2003; 18: 242-246.

22. Cummings DE, Shannon MH. Roles for Ghrelin in the Regulation of Appetite and Body Weight. *Arch Surg.* 2003; 138(4): 389-396.

23. Rindi G, Torsello A, Locatelli V, Solcia E. Ghrelin Expression and Actions: A Novel Peptide for an Old Cell Type of the Diffuse Endocrine System. *Exp Biol Med.* 2004; 229: 1007-1016.

24. Thompson NM, Gill DAS, 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 the type 1a Growth Hormone Secretagogue Receptor. *Endocrinology.* 2004; 145(1): 234-242.

25. 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. *The Journal of Biological Chemistry.* 2000; 275(29): 21995-22000.

26. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, *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(11): 4255-4261.

27. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, 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(10): 4753-4758.

28. Cour, CD, 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. *Regulatory Peptides*. 2001; 99: 141-150.

29. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin, an orexigenic signaling molecule from the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Pharmacology*. 2002; 2(6): 665-668.

30. Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M, Date Y, Murakami N, Kojima M, *et al.* Upregulation of Ghrelin Expression in the Stomach upon Fasting, Insulin-Induced Hypoglycemia, and Leptin Administration. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2001; 281(5): 1220-1225.

31. Caminos JE, Nogueiras R, Blanco M, Seoane LM, Bravo S, Alvarez CV, *et al.* Cellular Distribution and Regulation of Ghrelin Messenger Ribonucleic Acid in the Rat Pituitary Gland. *Endocrinology*. 2003; 144(11): 5089-5097.

32. Shintani MT, Watanabe M. Distribution of ghrelin-immunoreactive cells in human gastric mucosa: comparison with that of parietal cells. *J. Gastroenterol*. 2005; 40: 345-349.

33. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, *et al.* Insulin Regulates plasma Ghrelin Concentration. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(8): 3997-4000.

34. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000; 407(6806): 908-913.
35. Zigman JM, Elmquist JK. Minireview: From Anorexia to Obesity – The Yin and Yang of Body Weight Control. *Endocrinology*. 2003; 144(9): 3749-3756.
36. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A Preprandial Rise in Plasma Ghrelin Levels Suggests a Role in Meal Initiation in Humans. *Diabetes*. 2001; 50: 1714-1719.
37. Pinkney J, Williams G. Ghrelin gets hungry. *The Lancet*. 2002; 359(9315): 1360-1361.
38. Callahan HS, Cummings DE, Pepe MS, Breen PA, Matthys CC, Weigle DS. Postprandial Suppression of Plasma Ghrelin Level Is Proportional to Ingested Caloric Load but Does Not Predict Intermeal Interval in Humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(3): 1319-1324.
39. Gomez G, Englander EW, Greeley Jr. GH. Nutrient inhibition of Ghrelin secretion in the fasted rat. *Regulatory Peptides*. 2004; 117: 33-36.
40. McCowen KC, Maykel JA, Bistrrian BR, Ling PR. Circulating Ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents. *Journal of Endocrinology*. 2002; 175: R7-R11.
41. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, *et al*. A role for Ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*. 2001; 409(6817): 194-198.
42. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, DEvanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating Ghrelin Levels Are Decreased in Human Obesity. *Diabetes*. 2001; 50: 707-709.

43. Murdolo G, Lucidi P, Loreto C, Parlanti N, Cicco A, Fatone C, *et al.* Insulin is Required for Prandial Ghrelin Suppression in Humans. *Diabetes*. 2003; 52: 2923-2927.

44. McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, Frayo S, Cummings DE. Plasma Ghrelin Concentrations Are Decreased in Insulin-Resistant Obese Adults Relative to Equally Obese Insulin-Sensitive Controls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(4): 1630-1635.

45. Shimada M, Date Y, Mondal MS, Toshinai K, Shimbara T, Fukunaga K, *et al.* Somatostatin suppresses Ghrelin secretion from the rat stomach. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003; 302: 520-525.

46. Dzaja A, Dalal MA, Himmerich H, Uhr M, Pollmacher T, Schuld A. Sleep enhances nocturnal plasma Ghrelin levels in healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004; 286: E963-E967.

47. Moesgaard SG, Ahrén B, Carr RD, Gram DX, Brand CL, Sundler F. Effects of high-fat feeding and fasting on Ghrelin expression in the mouse stomach. *Regulatory Peptides*. 2004; 120: 261-267.

48. Cummings DE, Shannon MH. Ghrelin and Gastric Bypass: Is There a Hormonal Contribution to Surgical Weight Loss? *J. Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(7): 2999-3002.

49. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, *et al.* Plasma Ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med*. 2002; 346(21): 1623-1630.

50. Wisse BE, Frayo RS, Schwartz MW, Cummings DE. Reversal of Cancer Anorexia by Blockade of Central Melanocortin Receptors in Rats. *Endocrinology*. 2001; 142(8): 3292-3301.

51. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, Imazu M, Okumura H, Hosoda H, *et al.* Increased Plasma Ghrelin Level in Lung Cancer Cachexia. *Clinical Cancer Research*. 2003; 9: 774-778.

52. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, *et al.* Elevated Circulating Level of Ghrelin in Cachexia Associated With Chronic Heart Failure. *Circulation*. 2001; 104: 2034-2038.

53. Tacke F, Brabant G, Kruck E, Horn R, Schöffsky P, Hecker H, *et al.* Ghrelin in chronic liver disease. *Journal of Hepatology*. 2003; 38: 447-454.

54. Leidy HJ, Gardner JK, Frye BR, Snook ML, Schuchert MK, Richard EL, *et al.* Circulating Ghrelin Is Sensitive to Changes in Body Weight during a Diet and Exercise Program in Normal-Weight Young Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(6): 2659-2664.

55. Tolle V, Bassant MH, Zizzari P, Jazat FP, Tomasetto C, Epelbaum J, *et al.* Ultradian Rhythmicity of Ghrelin Secretion in Relation with GH, Feeding Behavior, and Sleep-Wake Patterns in Rats. *Endocrinology*. 2002; 143(4): 1353-1361.

56. Norrelung H. The metabolic role of growth hormone in humans with particular reference to fasting. *Growth Hormone & IGF Research*. 2005; 15: 95-122.

57. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I. Central Effect of Ghrelin, an Endogenous Growth Hormone Secretagogue, on Hypothalamic Peptide Gene Expression. *Endocrinology*. 2000; 141(12): 4797-4800.

58. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, *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.

59. Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, Kaplan JM. Vagotomy Dissociates Short- and Long-Term Controls of Circulating Ghrelin. *Endocrinology*. 2003; 144(12): 5184-5187.

60. Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, *et al*. Ghrelin, an Endogenous Growth Hormone Secretagogue, is a Novel Orexigenic Peptide That Antagonizes Leptin Action through the Activation of Hypothalamic Neuropeptide Y/Y1 Receptor Pathway. *Diabetes*. 2001; 50: 227-232.

61. Leonetti F, Silecchia G, Iacobellis G, Ribaudo MC, Zappaterreno A, Tiberti C, *et al*. Different Plasma Ghrelin Levels after Laparoscopic Gastric Bypass and Adjustable Gastric Banding in Morbid Obese Subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(9): 4227-4231.

62. Monteiro M, Cardoso H, Sérgio A, Nogueira C, Serra B, Ghatei M. Evolução dos Níveis de Grelina Em Doentes Submetidos a Cirurgia Bariátrica. [resumo] *Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição*. 2005; 14 Suppl I: 25.

63. Folwaczny C, Chang JK, Tschop M. Ghrelin and motilin: two sides of one coin?. *European Journal of Endocrinology*. 2001; 144: R1-R3.

97 289

