

**ANTENATALIS STEROID TERÁPIA ANYAI ÉS
MAGZATI HATÁSAINAK VIZSGÁLATA**

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Lányi Éva

Klinikai Orvostudományok - Reproductív Endokrinológia

Programvezető: prof. Dr. Szabó István

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Pécs

2008

Tartalom

1. Bevezetés.....	3
2. Célkitűzés.....	3
3. RDS steroid profilaxisának elméleti háttere.....	4
3.1 Exogén glükokortikoidok hatása.....	4
3.2 Endogén glükokortikoidok szerepe.....	6
3.3 Glükokortikoid receptorok vizsgálata.....	8
3.4 Cortisol-, dexamethason recepció vizsgálata humán főtális tüdőben.....	8
3.5 Cortisol recepció vizsgálata anencephal magzati tüdőben.....	11
4. Ghrelin: egy új bioaktív peptid.....	14
4.1 Ghrelin hatásai.....	17
4.1.1 GH-release hatás.....	17
4.1.2 Orexigen hatás.....	18
4.1.3 Reprodukció.....	20
4.1.4 ACTH-release hatás.....	21
5. Ghrelin meghatározása anyai és magzati vérből steroid profilaxis után.....	22
5.1 Beteganyag és vizsgálati módszerek.....	22
5.2 Statisztikai módszerek.....	24
5.3 Eredmények.....	25
5.3.1 Anthropometriai adatok és hormonális paraméterek.....	26
5.3.2 Anyai és magzati hormonális paraméterek.....	27
5.3.3 Korreláció a hormonális paraméterek között.....	28
5.3.4 Multivariációs regressziós analízis.....	29
5.4 Eredmények megbeszélése.....	30
5.5 Az értekezés új megállapításai.....	32

1. Bevezetés

Az antenatalis steroid terápia hatékonysága a koraszülöttek Respirációs Distress Szindrómájának (RDS) megelőzésében bizonyított, az ezzel kapcsolatos protokoll kidolgozott, s minden részletében evidenciákon alapul.¹

Az „Antenatal corticosteroids: the good, the bad and the unknown”² címen néhány éve megjelent összefoglaló tanulmány szellemes címe azonban rávilágít a jelen problémájára, nevezetesen arra, hogy bár az RDS mortalitását valóban sikeresen csökkentette a prenatális steroid kezelés, azonban a bronchopulmonális diszplázia gyakorisága nem csökkent, azaz a tüdőfejlődés ontogenezisébe történő beavatkozás – akár magának a koraszülésnek a megvalósulásával, akár egyéb tényezőkkel – nem marad következmények nélkül.

A glükokortikoidok prenatális szerepével kapcsolatban egyre világosabban látszik, hogy a hatás nem korlátozódik pusztán a tüdőre, azaz egyre inkább beszélhetünk a glükokortikoidoknak a prenatális időszakban kifejtett „hormonális imprinting” hatásáról.³

2. Célkitűzés

Az értekezés első része, mely a humán főtális tüdő glukokortikoid recepciójának kialakulásával foglalkozik, mai szemmel nézve nem tartalmaz tudományos újdonságot, egyetlen érdeme, hogy „kiállta az idő próbáját”, azaz korszerűbb módszerekkel megerősítést nyert.

Az értekezés második része azonban egy viszonylag új peptid, a ghrelin lehetséges szerepével foglalkozik, egy relatíve új megvilágításból. A ghrelinnek a táplálkozás szabályozásában betöltött szerepéről jelentős mennyiségű irodalmi adat áll rendelkezésre, azonban kevés adat van a humán placentában is termelődő hormonnak a reprodukcióban játszott szerepével kapcsolatban. Hiányosak az adatok a korai magzati élet alatti ghrelin koncentrációkról, arról, hogy a feto-placentáris egység mely kompartmentjében játszódik le a ghrelin acylációja, s hogyan viszonyul

egymáshoz az un. acylált ghrelin és a totál ghrelin mennyisége az anyában és a magzatban. További tisztázatlan kérdés a ghrelinnek a hypothalamo-hypophyseus-adrenális tengely mentén kifejtett hatása, azaz a glukokortikoidok és a ghrelin kapcsolata. Jelen kutatás a fenti kérdések megválaszolásához kíván adatokat szolgáltatni.

3. RDS steroid profilaxisának elméleti háttere

3.1 Exogén glukokortikoidok hatása

Az antenatalis cortisosteroidokat Liggins and Howie⁴ vezette be a human prenatalis medicinába 1972-ben, igazolva azt, hogy a 32. terhességi hét előtt született koraszülöttek esetében ez hatékonyan csökkenti az RDS mortalitását és morbiditását.

Az eredeti megfigyelés, melyen a későbbi kutatások is alapultak Naeye-től származott,⁵ aki leírta, hogy a hyalin membrán betegségben elhunyt újszülöttek mellékveséjének súlya 19%-al volt kevesebb, mint a más betegségben elhunytaké.

Azóta számos randomizált kontroll vizsgálat és ezek meta-analízise erősítette meg az antenatalis steroid kezelés hatékonyságát^{6,7} és 1994-ben az amerikai National Institutes of Health konszenzusos ajánlásává lépett elő ennek rutin használata a 24-34 gestációs hét között született újszülöttek esetében.

Magyarországon Szabó^{8,9,10} és munkatársai elsők között kezdték alkalmazni a steroid profilaxist fenyegető koraszülések esetén, s számoltak be rövid és hosszú távú követéses vizsgálatokról a glukokortikoid kezeléssel kapcsolatban.

A glukokortikoidoknak a magzati tüdőre gyakorolt kedvező hatásai az alábbiakban foglalhatók össze:

1. Fokozza a szöveti és az alveoláris surfactant mennyiségét
2. Növeli a maximális tüdővolumen és complianciát.
3. Fokozza a tüdő parenchima érési folyamatát.

4. Csökkenti az erek permeabilitását.
5. Elősegítik az alveoláris folyadék felszívódását.
6. Javítja a születés utáni surfactant kezelés hatékonyságát.
7. A születést követően javítja a respirációs funkciót.

A klinikai vizsgálatok ma már egyértelműen eldöntötték, hogy a két fluorinált corticosteroid közül a betamethason a választandó. Mind a betamethason, mind pedig a dexamethason átmegy a placentán, nem célpontja a 11β -hydroxy-steroid-dehydrogenáz(11β HSDH) enzimnek és biológiai aktivitásuk hasonló. Egyik sem rendelkezik mineralocortikoid aktivitással, genomikus aktivitásuk hasonló, a non-genomikus aktivitása a betamethasonnak kisebb. A betamethason hosszabb félélettartóval rendelkezik és nagyobb az affinitása a glükokortikoid receptorokhoz. E két utóbbi tulajdonsága teszi alkalmasabbá a prenatalisan alkalmazott corticosteroid terápiára.

A klinikai vizsgálatok arra is egyértelmű választ adtak, hogy az antenatalis corticosteroid terápiának nem csupán a tüdő fejlődésére van hatása, azaz csökkenti az RDS gyakoriságát, hanem csökkenti az intraventriculáris hemorrhagia, valamint a necrotizáló enterocolitis gyakoriságát is, elsősorban az extrém alacsony súlyú újszülöttekben.^{9,10}

Az a kérdés is egyértelműen megválaszolásra került, hogy mi az az időintervallum, melyen belül a kezelés hatásos, illetve van-e hatása az ismételt dózisok adásának. Az antenatalis steroid terápia hatása 24 óra után jelentkezik és maximum 7 nappal a kezelés után tart. Nincs bizonyíték arra vonatkozóan, hogy az ismételt dózisok növelnék a hatékonyságot, azonban hosszú távú hatásként leírták,¹³ hogy 14 éves követéses vizsgálat után mind a systolés, mind pedig a diastolés vérnyomás emelkedettebb volt azoknál, akik ismételt dózisokat kaptak.

3.2 Endogén glükokortikoidok szerepe

Annak ellenére, hogy évtizedeken keresztül halmozódtak adatok mind a klinikai, mind pedig az alapkutatások szintjén, a pontos mechanizmusa a glükokortikoid-indukálta tüdő érésnek a mai napig nem ismeretes.

A humán tüdő prenatális fejlődésében a glükokortikoidok kulcsszerepet játszanak. A gestáció korai szakában a glükokortikoid receptorok expresszálódnak a főtális tüdőben, és a glükokortikoidok stimulálják a surfactant-asszociált proteinek, valamint a foszfolipidek szintézisét. A gestáció második hónapjában a humán főtális tüdő már magas affinitással köti a cortisolt.^{14,15} Azokban a struktúrákban, ahol magas glükokortikoid receptor expressziót mutattak ki – bronchiális epithel, terminális canaliculusok - igazolták, hogy a 11β -HSDH 2-es típusú enzim alacsony expressziójú, azaz a cortisol nem metabolizálódik biológiailag inaktív cortisonná, s ez magas lokális cortisol koncentrációt tesz lehetővé. A glükokortikoidok mellett, hogy az alveoláris 2-es típusú sejtek surfactant termelését serkentik, számos addicionális hatással bírnak a tüdő fejlődésére. Ez is az egyik magyarázata annak, hogy a mesterséges surfactant tüdőbe juttatásával nem sikerült teljes egészében a problémát megoldani, s a bronchopulmonális diszplázia a koraszülöttség egyik legproblematikusabb szövődménye ma is. Nagyon valószínű, hogy nem csupán a surfactant termelés, hanem egyéb, addicionális hatások is fontosak a glükokortikoid hatásban.

Így a glükokortikoidok befolyásolják a tüdő strukturális fejlődését,¹⁶ növekedési faktorait,¹⁷ inflammációs mediátorait és folyadék transzportját.¹⁸

Humán tüdő sejtekben in vitro körülmények között igazolható volt egyrészt a surfactant lipid összetevőjének, a foszfatidil-kolinnak a glükokortikoid mediált szintézise,¹⁹ másrészt a különböző típusú surfactant proteinek - SP-A,-B,-C és D- mRNA génexpressziója.²⁰

Az alveoláris 2-es típusú sejtek esetében állatkísérletes modellben igazolható, hogy glükokortikoid hatásra csökken a DNA szintézise, azaz csökken a sejtproliferáció mértéke, s következményesen gyorsul a sejtek érési, differenciálódási folyamata.

A glükokortikoidoknak a pulmonális oedémát csökkentő hatása egyrészt a pulmonális vasculáris rezisztencia csökkenésének köszönhető,²¹ azonban valószínű, hogy az aquaporin vízcsatornák bizonyos fajtái is glükokortikoid hatás alatt vannak. Patkányban igazolható volt az aquaporin-1 csatornáért felelős protein mRNA génexpressziójának növekedése antenatalis corticosteroid kezelés hatására.²²

Állatkísérletben intraamnionális endotoxin adagolása után igazolható proinflammatorikus cytokinek megjelenése először az amnionfolyadékban, később a tüdőszövetben, majd igazolható a surfactant proteinek emelkedett génexpressziója, és a tüdő volumen növekedése.²³ Azonban a főtális cortisol koncentrációja nem változik, jelezve, hogy a proinflammatorikus cytokinek által létrehozott hatás nem függ az endogén cortisol szinttől.

Mikrobiológiailag igazolt chorioamnionitis miatti koraszüléseknél emelkedett IL-6 szintet találtak újszülöttekben,²⁴ valamint ismert, hogy chorioamnionitis esetében ritkább az RDS előfordulása, azonban gyakoribb a késői szövődmenyként megjelenő bronchopulmonális-diszplázia. Valószínű, hogy a proinflammatorikus cytokinek a tüdő ontogenezis bizonyos fázisában – canalicularis fázis – a tüdő érését segítik és hatásuk nem steroid-mediált.

A fenti áttekintésből látható, hogy az utóbbi évtizedek kutatásainak fő irányai melyek voltak, s annak ellenére, hogy ma már klinikai rutin eljárás a prenatális steroid kezelés, a humán tüdő fejlődésének fiziológiája és pathofiziológiája ma is fontos kutatási terület.

3.3 Glükokortikoid receptorok vizsgálata

Az általunk vizsgált terület egyrészt a humán főtális tüdő cortisol ill. dexamethason recepciójának fiziko-kémiai jellemzése volt, másrészt annak igazolása, hogy a hypothalamo-hypophyseal-adrenalis tengely épsége szükséges a normál tüdő steroid recepciójának kialakulásához, tekintettel arra, hogy anencephal magzatoknál a tüdő steroid recepciója messze elmaradt a normál, azonos korú magzatokéhoz viszonyítva.

3.4 Cortisol és dexamethason recepció vizsgálata humán főtális tüdőben^{15,26,27,28,29}

A cortisol ill. a dexamethason recepciót a terhesség 14-28. hete között vizsgáltuk, az akkori standardok szerint a terhesség 28. hetéig abortusként definiált főtusokban.

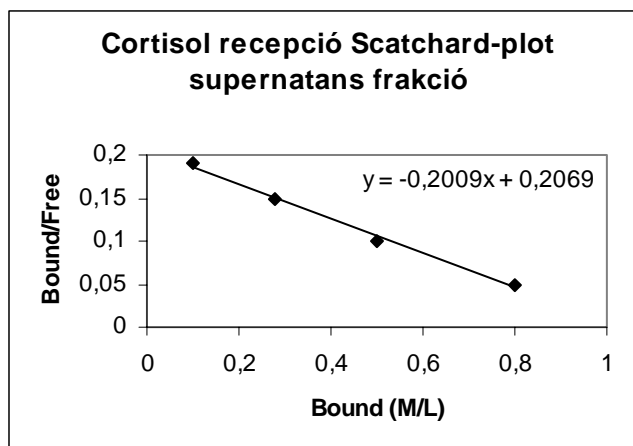
A vizsgálati módszer a tüdőszövet homogenizátumának supernatans ill. mag frakciójának szaturációs vizsgálata volt. Az eredményeket DNS koncentrációra vonatkoztatva adtuk meg.

A szaturációs vizsgálatot H^3 -al jelölt cortissal ill. dexamethasonnal végeztük, a specifikus kötés definiálása az 1000-szeres koncentrációban hozzáadott nem-radioaktívan jelölt cortisol ill. dexamethason jelenlétében történő radioaktív cortisol ill. dexamethason mennyiségének megadásával történt.

A cytoplasmikus cortisol receptor szaturálhatóságának vizsgálata során megállapítottuk, hogy a receptor 5×10^{-9} M koncentrációnál telítődik.

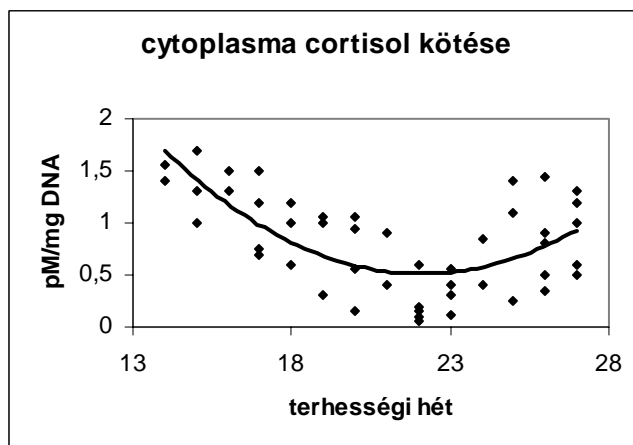
A hormon-receptor kötés erősségét Scatchard-plot felvételének segítségével, a diszociációs konstans megadásával (K_d) jellemeztük. (1. ábra).

A diszociációs konstans értéke $K_d = 5 \times 10^{-10}$ volt, mely igazolta, hogy a tüdő glükokortikoid célszervként viselkedik. A K_d -t a terhességi kor nem befolyásolta. Hasonló eredményt kaptunk, ha a vizsgálatokat dexamethasonnal végeztük.



1. ábra Humán főtális tüdő cytoplasmatikus cortisol recepció Scatchard plot analízise $K_d = 5 \times 10^{-10} M$

A cytosol cortisol koncentrációjának alakulását a terhességi hetek függvényében a 2. ábra mutatja. A mg DNA-ra vonatkoztatott cortisol receptor koncentráció a terhesség 22. hetéig csökkent, majd emelkedő tendenciát mutatott.



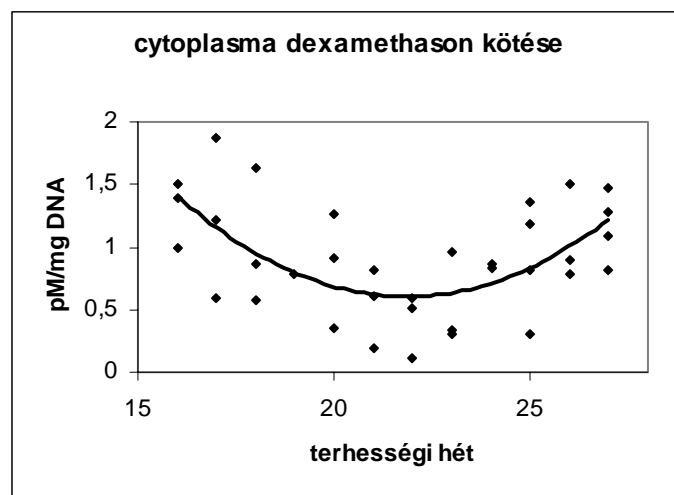
2. ábra Humán fetális tüdő cytoplasmatikus cortisol recepció a terhességi hetek függvényében $n=47$

A receptor koncentráció ilyen irányú változása indirekt bizonyítéka annak, hogy a tüdőnek csak bizonyos kitüntetett sejtjei szerepelnek glükokortikoid célsejtként. A tüdő celluláris proliferációja a 22-24. hétre befejeződik²⁵, ez a periódus, melyben a canaliculáris fejlődési fázist

felváltja a sacculáris fázis. A csökkenő receptor koncentráció az intenzív sejtproliferációt jelzi. Mivel nem minden sejt típus glükokortikoid célsejt, a sejtproliferációval szinkron csökken az egységnyi DNA-ra vonatkoztatott receptorszám.

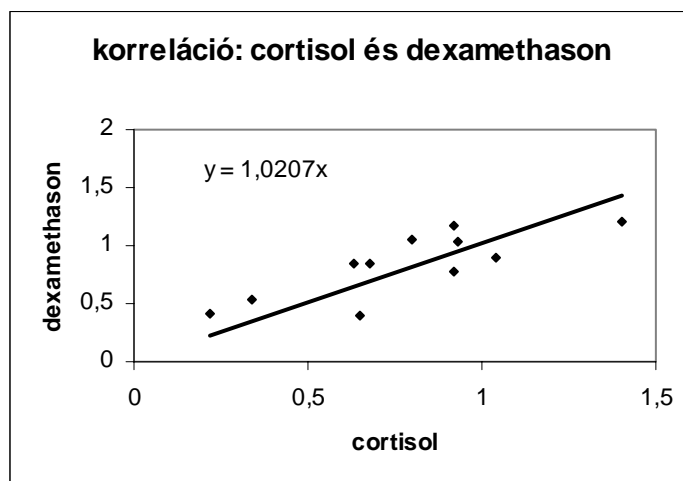
A gestációs hét és a cortisol receptor koncentráció közötti kapcsolat erősségének jellemzésére a Spearman-féle nonparametrikus korreláció vizsgálatot alkalmazva a szignifikancia 0,015 volt.

A humán főtális tüdő dexamethason kötésének vizsgálata nem csak a kötés erősségének jellemzőiben, de a gestációs héttel való korreláció vonatkozásában is hasonló eredményt adott, mint a cortisol. A 3. ábrán a cytoplasmikus dexamethason kötésének alakulását tüntettem fel a terhességi hetek függvényében.



3.ábra Humán fetális tüdő cytoplasmikus dexamethason recepció a terhességi hetek függvényében n=35

A cortisol és a dexamethason receptorszám alakulása a terhességi hetek függvényében egymással is szoros korrelációt mutatott, akár az adott terhességi hét egyedi értékeit, akár az ezekből kapott átlagértékeket hasonlítottuk össze (4.ábra).

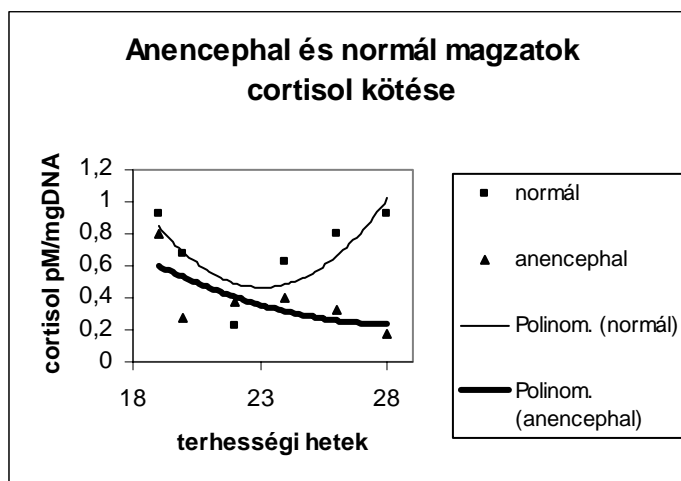


4.ábra Humán főtális tüdő cytoplasmaticus cortisol és dexamethason kötésének korrelációs vizsgálata az adott terhességi héthez tartozó receptorszám átlagértékének feltüntetésével. $r = 1.02$

3.5 Cortisol recepció anencephal magzati tüdőben

Tekintettel arra, hogy a cortisol és a dexamethason kötés egymással teljesen egyező eredményeket mutatott, a továbbiakban úgy tekintjük, hogy a cortisol receptorok számának alakulása jó indikátora a glükokortikoid recepció alakulásának. Az anencephal magzatok vizsgálatánál ezért már csak a cortisol kötés vizsgálatával foglalkoztunk. Kilenc anencephal magzat (19-28 hét) tüdő cytoplasma cortisol kötését vizsgáltuk, s hasonlítottuk össze a normál magzatokéval.(5.ábra)

A normál magzatok cortisol recepciójára illesztett polinomiális függvény eltér az anencephal értékekre illesztett polinomiális függvénytől abban, hogy a 22-23. hét utáni cortisol receptor koncentráció emelkedés nem következik be. Ismert, hogy ezekben az esetekben a hypothalamo-hypophyseo-adrenalis tengely működése sérült, ennek egyik következménye az alacsony endogén cortisol szint. Ezzel magyarázható, hogy nem következik be az a fiziológiás folyamat, melynek során az endogén steroidok emelkedő szintje indukálja az őket kötő receptorok szintézisét.



5.ábra Anencephal (▲) és normál (■) magzati tüdők cytoplasma cortisol kötése. Csak azok a gestációs hetek lettek feltüntetve, melyek az anencephaloknál előfordultak, az értékek adott gestációs hét átlagértékei.

A fenti eredmények annak ellenére, hogy nem a közelmúltban születtek, kiállták az idő próbáját, s modernebb módszerekkel megerősítést nyertek. Mindazonáltal, mai ismereteink szerint a glükokortikoidoknak sokkal fontosabb a szerepük a tüdő vonatkozásában a tüdő anatómiai fejlődésének szabályozásában, mint a surfactant szintézisének fokozásában.

A magzati élet alatt endokrin vonatkozásban kulcsszerepet játszik a placenta, részben, mint önálló endokrin szerv, részben, mint barrier. A humán placenta 11β HSD-2 mRNA expressziója a gestáció előrehaladtával exponenciálisan emelkedik,³⁰ ami azt jelzi, hogy az anyai aktív cortisolt a placenta igen nagy arányban inaktiválja. A főtális szövetekben azonban a 11β HSD-2 mRNA génexpressziója a 19-26 hét után nem detektálható, kivéve a vese, colon, nyálmirigyek mineralocorticoid receptor expresszáló sejtjeit. Tekintettel arra, hogy a glükokortikoidok in vitro ugyanolyan affinitással kötnek a mineralocorticoid receptorokhoz, mint az aldosteron, az ezen sejtekben jelenlévő 11β HSD-2 enzim jelenléte felelős azért, hogy ne jöjjön létre mineralocorticoid hatás glükokortikoidok révén.³¹

Látható tehát, hogy az endogén glükokortikoidoknak az egyedfejlődés alatt kifejtett hatása meglehetősen bonyolult rendszeren keresztül érvényesül, abban egyrészt szerepet játszik az anyai glükokortikoidnak a placentán átjutó része, továbbá szerepet játszik a placenta állapota. Ez utóbbit igazolja, hogy intrauterin növekedésben elmaradt újszülöttek placentáinak 11 β HSD-2 mRNA expressziója alacsony,³⁰ továbbá ilyen újszülöttekben a főtális cortisol/cortisone arány magas.³² Magzati oldalról természetesen szerepet játszik a fötus saját glükokortikoid termelésének beindulása, a glükokortikoid receptorok megjelenése, valamint az adott szövet 11 β HSD-2 aktivitása.

4. Ghrelin : egy új bioaktív peptid

A ghrelin felfedezése a reverz farmakológia klasszikus példája.³³

1982-ben, még a Growth-hormone-releasing hormone (GHRH) felfedezése előtt a szintetikus szubsztrátok egy új csoportja került kifejlesztésre, melyeknek közös tulajdonságuk volt a growth hormone-release képesség. Ezeket a szintetikus ligandokat lényegében a met-enkephalin molekulából teoretikus számításokkal és komputeres molekulamodellezéssel fejlesztették ki, s összefoglalóan growth hormone secretagogues (GHS) molekuláknak nevezték, melyek között egyébként non-peptidyl molekulák is voltak.

1996-ban sikerült feltérképezni a GHS receptor génállományát³⁴ és 1999-ben fedezték fel a receptor endogén ligandját, a ghrelint.³⁵

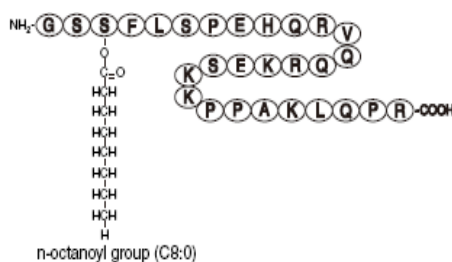
Az elnevezés utal a „grow”, azaz growth hormone release hatásra, miután a „ghre” a szó Indo-Európai szótöve, a „relin” végződés pedig utal a peptid releasing jellegére.

A GHS receptor (GHS-R) klónozása utáni funkcionális vizsgálatokból kiderült, hogy a receptornak két szubtypusa van.

A GHS-R1a, mely az evolúció során egy feltűnően konzervált struktúra, és az elülső hypophysis, a hypothalamus bizonyos területei, a hippocampus valamint a substantia nigra tartalmazzák, továbbá a perifériás szövetek közül a pancreas, a szív, a mellékvese és a pajzsmirigy. A másik szubtypus a GHS-R1b, mely egy rövidebb izoform és számos perifériás szövetben megtalálható. Ez utóbbit biológiailag inaktívnak nevezték azért, mert az eredetileg leírt hatás, a growth hormone release hatás kizárólag a GHS-R1a receptor által közvetített.

A ghrelin egy 28 aminosavból álló peptid, melynek N-terminális végén, a 3-as pozícióban lévő serin aminosavhoz kapcsolódik egy octánsav.(6.ábra)

6.ábra Ghrelin szerkezete



Ez utóbbi tulajdonság adja a peptid egyelőre unikális jellegét, ez ugyanis az első olyan bioaktív peptid, melyhez egy poszttranszlációs mechanizmus során szerves sav kapcsolódik.

A ghrelinen kívül két hormont ismerünk, melyek poszttranszlációs modifikációja szükséges a biológiai aktivitás kifejtéséhez, az egyik a cholecystokinin, mely szulfatálódik,³⁶ a másik pedig a neuropeptid-B, mely brominálódik.³⁷

A ghrelin esetében a serin hydroxyl csoportja észterifikálva lesz egy octánsavval, ezt a formát hívjuk acylált ghrelinnek, vagy aktív ghrelinnek. A biológiai aktivitáson azonban a felfedezés története okán azt értjük, hogy GH release hatást képes-e kiváltani a peptid vagy nem. Bizonyított, hogy a GH release hatás kizárólag a GHS-R1a receptoron mediált hatás, s ehhez a receptorhoz kizárólag az acylált ghrelin képes kötni.

Nem csak a receptor, de maga a ghrelin molekula is rendkívüli mértékben konzerválódott az evolúció során, az emlős ghrelin N-terminális 10 aminosav sorrendje teljesen azonos.³⁸

A ghrelin elsődleges termelődési helye a gyomor, azonban kisebb mértékben, de termeli a bélrendszer, a pancreas, a hypophysis, a hypothalamus, a vese és a placenta.^{39, 40}

A gastro-entero-pancreatikus rendszer specializált endokrin sejtjei – oxyntic mucosa - képezik a szervezet egyik legnagyobb endokrin szervét,⁴¹ a ghrelint termelő sejtek ennek a rendszernek a részei, s elsősorban a gyomor fundusában helyezkednek el, sokkal kisebb mértékben mutathatók ki a vékonybél endokrin sejtjeiben.⁴²

Immunhisztokémiai vizsgálatokkal igazolták, hogy az oxyntic mucosa négy endokrin sejtje közül az egyik – X/A like sejt- termeli kizárólagosan

a ghrelint. A főtális élet alatt a gyomorban nagyon alacsony a ghrelin expressziója, azonban a korrrel emelkedik, s felnőttben magas. A pancreas vonatkozásában viszont úgy tűnik, sokkal nagyobb mértékben mutatható ki az insulin termelő B sejtekben a ghrelin termelése a főtális élet alatt, mint felnőttél.⁴³

A fenti rövid áttekintésből is látható, hogy a ghrelin termelődési helyei ill. a ghrelin receptorok jelenléte egymással nem feltétlenül átfedő területek. A ghrelin tehát részben biztosan klasszikus endokrin hormon, valószínűsíthetően azonban van parakrin funkciója is. Azonban az a tény, hogy maga az acyláció megváltoztatja a hormon receptorhoz való kötésének képességét, valamint a vér-agy gáton való átjutását,⁴⁴ erősíti azt az elképzelést, hogy a ghrelin felfedezése kapcsán nem csupán egy új biológiailag fontos peptidet ismertünk meg, hanem egy eddig ismeretlen jelenséget is. A ghrelin az első olyan biológiailag aktív peptid, melynek acylációja bizonyítottan befolyásolja a peptid hatását ill. hatásának helyét.

Az értekezésnek nem célja, hogy a ghrelin valamennyi jelenleg ismert biológiai hatásával foglalkozzon, így pusztán röviden tekintem át a jelenleg ismert főbb területeket.

Didaktikailag meglehetősen sokféle interpretáció látott napvilágot a ghrelin biológiai szerepének összefoglalója kapcsán,^{38,42, 45, 46} felosztva a hatásokat centrális ill. perifériás hatásra, vagy endokrin és non-endokrin hatásra. Ezt a megközelítést az a tény is bonyolítja, hogy nem mindig tudjuk pontosan, vajon acylált vagy a nem acylált ghrelin hatásáról van-e szó.

4.1 Ghrelin hatásai

4.1.1 GH-release hatás

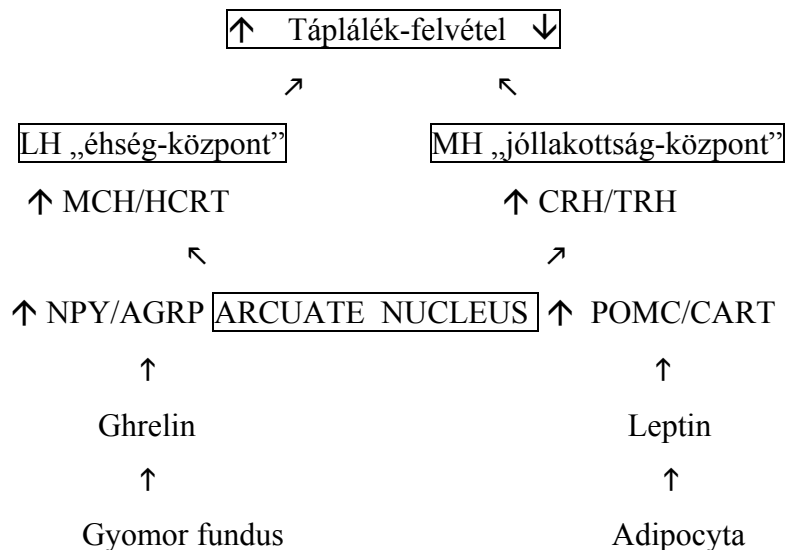
Az eredeti felfedezés alapja volt az acylált ghrelin GH release hatása, mely bizonyítottan a GHSR-1a mediált hatás. Az eddig ismert két hypophyseotróp hormon, a GHRH és a Somatostatin mellett megjelent egy harmadik hormon, mely képes befolyásolni a GH felszabadulást. Ez önmagában is novum, azonban az, hogy egy perifériásan is termelődő hormon képes ezen hatás létrehozására, alapjaiban változtatta meg az addigi hypothalamus-hypophysis tengely szabályozásáról alkotott elképzeléseket.⁴⁴ GHS-R knockout egerekben a ghrelin nem képes sem a GH release, sem pedig az orexigén hatás produkálására, igazolva, hogy a ghrelin ezen hatásaihoz a magas specificitású ghrelin receptor jelenléte szükséges.

Az acylált ghrelinről az utóbbi évekig úgy tűnt, hogy kizárólagos endogén ligandja a GHSR-1a receptornak, azonban a cortistatin (CST) felfedezése ezt a hegemóniát megtörte. A cortistatin a somatostatin strukturális homológja, bár a két peptidet más gén kódolja. A két peptid között a ghrelin receptor szempontjából alapvető különbség, hogy míg a somatostatin kizárólag a somatostatin receptor szubtypusokhoz (1-5 type) képes nagy affinitással kötődni, addig a cortistatin mind a somatostatin receptor szubtypusokhoz, mind pedig a ghrelin receptorhoz kötődik.⁴⁷ Ez teoretikusan felveti annak a lehetőségét, hogy a cortistatin lenne az összekötő láncszem a ghrelin és a somatostatin rendszer között.⁴⁸

4.1.2 Orexigen hatás

Számos hypothalamikus peptid képes étvágy stimulálásra centrális adagolás után, azonban ezek a peptidek hatástalanok, ha perifériásan adják őket. A ghrelin az első olyan peptid, mely szisztémás adás után is képes evést provokálni, vagyis étvágyat stimulálni.⁴⁷

Úgy tűnik, hogy a ghrelin orexigén hatásának perifériás libikókája a leptin, (7.ábra) melyről ismert, hogy az adypociták termelik, s képes gátolni a ghrelin-indukálta evést.



7.ábra Ghrelin és leptin szerepe a táplálékfelvétel szabályozásában
 LH:lateral hypothalamus, MH: medial-hypothalamus, NPY: neuropeptide Y, AGRP: agouti-related peptide, MCH: melanin concentrating hormone, HCRT : hypocretin, POMC: proopio-melanocortin, CART: cocain-amphetamine-related transcript, CRH: corticotropin releasing hormone, TRH: thyrotropin releasing hormone

Mindkét peptidnek – ghrelin, leptin – kitüntetett targetje a hypothalamus nucleus arcuatus, mely az étvágy regulációban játszik szerepet. Bizonyított, hogy a ghrelin képes az orexigén peptidek stimulációjára, míg a leptin az anorexigén peptidek stimulációját okozza.

Humán kísérletekben is bizonyítást nyert a ghrelin étvágyat és kalóriafelvételt serkentő hatása, s ez a hatás független a GH-release hatástól.

A ghrelinnek az elhízásban játszott lehetséges szerepét vizsgálva azt a meglepő eredményt találták, hogy kaukázusi rassz kövér populációban, valamint Pima indián populációban - ahol genetikai okok miatt az elhízás és a II. típusú diabetes gyakorisága a legmagasabb - a keringő ghrelin szint alacsonyabb, mint a kaukázusi rassz sovány populációban.⁴⁹

A munkahipotézisnek tehát az ellenkezője igazolódott, s azóta további megerősítést nyert, hogy anorexia esetében az éhomi keringő ghrelin szint magas, obesitas esetében pedig alacsony.^{50,51}

Általánosabban megfogalmazva, ha pozitív energia-egyensúly állapotában van a szervezet akár akut, (evés) akár krónikus (obesitas) stádiumban, akkor a keringő ghrelin szint csökken, a negatív energia-egyensúly állapotában pedig, akár akut (éhezés), akár krónikus (anorexia) stádiumban, a ghrelin szint emelkedik.

A ghrelin metabolikus hatásainak vizsgálata során humán kísérletekben is igazolódott, hogy a ghrelin hyperglükémiát indukál és csökkenti a plasma insulin koncentrációját.⁵² Fordítva, az insulin – clamp technikával stabilizált glukóz koncentráció mellett – csökkenti a plasma ghrelin szintet.^{53,54}

A keringő ghrelin és az insulin közötti reciprok összefüggés azonban csak farmakológiai insulin szintek esetén igazolható. Az eredmények értelmezésének további korlátja, hogy ha a kísérleti paradigmát megfordították, azaz glukózt adagoltak és az insulin szintet somatostatin adagolásával tartották stabilan, akkor változatlan insulin szint mellett is csökkent a ghrelin koncentrációja.⁵⁵

Nagyon valószínű, hogy a ghrelin orexigén és metabolikus hatása egymással szorosan összefüggő hatás, bár egyelőre nincs direkt bizonyíték a somatostatin és a ghrelin termelő sejtek kapcsolatára.

4.1.3 Reprodukció

A ghrelint, mint placenta eredetű hormont humán placentában 2001-ben írták le először,⁵⁵ majd igazolták, hogy a GHS-R1b típusú, azaz nagy kapacitású, de a ghrelin acylációját nem igénylő receptor mRNA is jelentős mértékben kimutatható.⁵⁶ Mivel a placenta tartalmazza a somatotróp tengely valamennyi elemét (GH, GHRH, Somatostatin, IGF-1) elméletileg felvethető, hogy a ghrelinnek szerepe lehet a decidualizáció folyamatában.⁵⁷

Humán köldökvérben is kimutatható a keringő ghrelin jelenléte,^{58,59} azonban annak eredetéről az irodalomban ellentmondó adatok láttak napvilágot. Az umbilicális vénában és artériában azonos koncentrációban találták a ghrelint olyan vizsgálatban, ahol a 20-39 terhességi hét között a totál ghrelin koncentrációt mérték,⁵⁸ azonban olyan vizsgálati protokollban, ahol időre született újszülöttekben mérték a totál ghrelin koncentrációt, az umbilicális véna ghrelin koncentrációját szignifikánsan magasabbanak találták.⁶⁰ Az a kérdés tehát, hogy a főként keringő ghrelin anyai, magzati vagy placentáris eredetű-e, jelenleg egyértelműen nem megválaszolható, továbbá az sem egyértelmű, hogy az acylálás lejátszódik-e valamennyi kompartmentben.

Magasabb umbilicális ghrelin koncentrációt találtak kis súlyú újszülöttekben^{61,62} a normál súlypercentillel születettekhez képest, és alacsonyabbat a relatíve magas súllyal születettekben. A kis súllyal születettek gyorsult növekedése régóta ismert jelenség, bár az emögött álló fiziológiai mechanizmus ismeretlen. Kis súllyal születetteket egy éves korban vizsgálva azt találták, hogy azok éhomi ghrelin szintje nem különbözött a normál súllyal születettekéétől,⁶³ azonban a glukóz terhelés utáni ghrelin csökkenésben különbség volt észlelhető.

A ghrelinnek a terhesség alatti szerepét állatkísérletes modellen is vizsgálták.⁶⁴ Patkánykísérletben igazolható volt, hogy az acyl-ghrelin az anyának adagolva képes a placentán való átjutásra, s krónikusan adagolva növeli a fötus születési súlyát akkor is, ha az anya kalóriabevitelét a kontroll csoport szintjén tartották. Ez a hatás a des-acyl ghrelinnel nem volt elérhető.

4.1.4 ACTH release hatás

A ghrelin GH-release melletti további neuroendokrin hatásai az ACTH, valamint a Prolactin release.

Az acylált-ghrelin adása utáni ACTH-releaset humán kísérletekben is igazolták⁶⁵ az ennek megfelelő cortisol szint emelkedéssel együtt.

A cortisol diurnális ritmusával ellentétesen változik ugyanakkor az acylált-ghrelin koncentrációja folyamatos éhezés kapcsán.⁶⁶

Ez felveti annak a lehetőségét, hogy létezik egy feed-back mechanizmus a hypothalamo-hypophyseus-adrenális tengely mentén, bár ennek pontos helyét és mechanizmusát nem ismerjük.

Patofiziológiai körülmények között, nevezetesen centrális eredetű Cushing-szindrómában az acylált ghrelinnel kiváltott ACTH release szignifikánsan magasabb, mint kontroll vagy obes páciensekben.⁶⁵ Az acylált ghrelinnek a GH-releaset okozó hatása hasonló körülmények között azonban nem nő, hanem csökken. A jelenség magyarázatát nem ismerjük, azonban más ectópiás ACTH termelő tumorok esetében ugyanezt a jelenséget leírták, s igazolták a tumorban a GHS-R jelenlétét.⁶⁷ Adrenális szövetben is kimutatható a GHS-R1a típusú, kizárólag az acylált ghrelint kötő receptor jelenléte. A glukokortikoidok és a ghrelin összefüggése még korántsem tisztázott, bár vannak állatkísérletes adatok a glukokortikoidoknak a ghrelin mRNA expresszióra kifejtett direkt hatásáról gyomor és hypophysis vonatkozásában.^{68,69}

5. Ghrelin meghatározása anyai és magzati vérből steroid profilaxis után

Az irodalmi áttekintés azokat a kapcsolódási pontokat igyekezett felvillantani, melyek alapján a felállított kísérleti protokoll választ próbál adni arra a kérdésre, hogyan viszonyul egymáshoz az anyai és a magzati acylált és des-acylált ghrelin szintje a terhesség bizonyos szakaszában, továbbá találunk-e bármilyen összefüggést akár az anthropometriai adatokkal, akár pedig az előbbieken felvázolt hormonális paraméterekkel, úgymint leptin, insulin, GH és cortisol szintekkel.⁷⁰

5.1 Beteganyag és vizsgálati módszerek

A vizsgálatba bevont terhesek (n=23) 25-35 gestációs hét közöttiek voltak, akiknél valamilyen ok miatt koraszülés következett be. Azokat a terheseket, akiknél pre-eclampsia, hypertenzió vagy diabetes volt igazolható, a vizsgálatból kizártuk. Irodalomból ismert, hogy a terhességi diabetesben ill. az 1-es típusú diabetesben szenvedő anyák és magzataik totál ghrelin szintje szignifikánsan eltér a diabetesesben nem szenvedő anyák ill. magzatok ghrelin szintjétől.^{53,71} A terhesség alatti anyai hypertenzió szintén befolyásolja az anyai keringő ghrelin koncentrációját⁷², így a bármilyen okból fellépő hypertenzió kizáró ok volt. Nem zártuk ki a vizsgálatból az ikerterhességet, valamint a császármetszést sem. Három esetben volt ikerterhesség, mindhárom esetben közös placentával, és nyolc esetben volt császármetszés. Az ikerterhességeknél a magzatok köldökvérében mért ghrelin ill. leptin koncentrációk az ikerpárok tagjaiban szinte megegyeztek, a császármetszést pedig, mint külön csoportképző tényezőt vizsgáltuk, és nem találtunk eltérést egyik mért paraméter vonatkozásában sem. Tekintettel a gesztációs hétre, a protokoll szerint minden anya steroid profilaxisban részesült a fenyegető RDS miatt. A steroid adása és a születés között eltelt idő 10 órától 7 napig változott, a statisztikai számításoknál ezt, mint korrekciós faktort szerepeltettük. Az anthropometriai adatok tartalmazták a placenta súlyokat, valamint a magzatok súlyát, hosszát, fejkörfogatát. Csak azok a magzatok

szerepeltek a végső vizsgálati protokollban, akiknek a születési súlyuk megfelelt a gesztációs hétnek, mivel jól ismert, hogy az alacsony ill. magas súllyal születetteknél a keringő ghrelin koncentrációja szignifikánsan eltér.^{59,60,61,62} A magyar standard alapján megállapított születési súly átlagtól kevesebb mint 1.5 SD-vel való eltérést vettünk csak figyelembe. A születési súly z-score számolása a következő képlet alapján történt: (születési súly- populációs átlag)/populációs S.D.

Mindezen szempontok érvényesítése után 26 koraszülött és 23 anya vizsgálati mintáját elemeztük.

A minta vétele a születés után azonnal történt, az anyától a cubitális vénából, a magzattól a köldökvénából történő vérvétellel. A vérmintát EDTA-t és aprotinint tartalmazó csövekbe gyűjtöttük, azt azonnal jégbe tettük, s egy órán belül megtörtént a plazma leválasztása, aliquotokban eltéve azokat -70C-ra. A minta kezelése alapvető fontosságú az acyl-ghrelin mérése kapcsán. Az irodalomban található mérési adatok legnagyobb problémája, hogy nehezen összevethetők. Nem mindig világos, hogy valójában totál ghrelin vagy acyl-ghrelin méréséről van-e szó, továbbá a home-made immunoassay-k és a gyári assay-k bár korrelálnak, de korántsem ugyanazokat az értékeket mérik. Általánosságban elmondható, hogy a ghrelin C-terminális epitópját antitestként használó módszerek a totál ghrelint, az N-terminális epitópot használó módszerek pedig az acylált ghrelin mérik.^{72,73} A preanalitika legnagyobb problémája, hogy a serinhez kapcsolt észterkötés kémiailag és enzimatikusan is instabil. Ezért szükséges az aprotinin használata, az állandó és folyamatos hűtés, valamint javasolt a plazma acidifikációja. Saját tapasztalatunk az, hogy amennyiben a minta feldolgozása egy órán belül megtörténik és a fagyasztás -70C alatti, akkor acidifikáció nélkül is stabil marad az acylált ghrelin.

A kereskedelmi forgalomban két gyártó forgalmazza a humán ghrelin mérésére szolgáló KIT-et, ezek korrelációja kiváló, azonban a Linco Research Co. KIT 10x magasabb értékeket mér, mint a Phoenix Pharmaceuticals KIT.⁷⁴ Az általunk használt KIT a Linco USA Res. Inc.-től származott, mind az acylált, mind pedig a totál ghrelin vonatkozásában. Az intra- és interassay variációs koefficiensek acylált ghrelin esetében

6.5-9.5 és 9.6-16.2% voltak. Az assay szenzitivitása 7.8 pg/ml, a specificitása 100% volt az acylált és az 1-10 ghrelin fragmens vonatkozásában, és 0.1% alatti a totál ghrelin és a 14-28 ghrelin fragmens vonatkozásában. A total ghrelin intra- és interassay variációs koefficiensei 3.3-10.0 és 14.7-17.8% voltak. Az assay szenzitivitása 93 pg/ml volt, a specificitása 100% a totál ghrelin és a ghrelin 14-28 fragmens vonatkozásában, az 1-10 fragmens nem volt detektálható.

A leptin mérése szintén a Linco cég RIA KIT-el történt, a szenzitivitás 0.5 ng/ml volt, az intra- és interassay variációs koefficiens pedig 3.4-8.3 ill. 3.0-6.2% volt.

A cortisol, az insulin és a GH mérése az Isotope Inst. Kft. Hungary RIA ill. IRMA KIT-el történt. A cortisol esetében a szenzitivitás 4.6 nmol/l, a specificitás 100% volt cortisolra és 0.01% alatti volt betamethasonra. Az intra- és interassay variációs koefficiens 5.2-8.8 ill. 5.2-10.8% volt.

Az insulin esetében a szenzitivitás 5 mU/l volt, az intra- és interassay variációs koefficiens 5.7-7.1 ill. 6.0-10.1% volt.

A szenzitivitás a GH esetében 0.01 µg/l, a specificitás 100% volt GH-ra, 0.2% prolactinra, az intra- és interassay variációs koefficiens 2.1-6.2 ill. 4.5-6.7% volt.

A glukóz mérése hexokinase módszerrel történt Vitalab Selectra-2 (Merck) automata használatával.

5.2 Statisztikai módszerek

Az adatok prezentációja átlag \pm S.D formájában történt. Az anyai és a magzati értékek összehasonlítására a Mann-Whitney tesztet használtuk.

A korreláció vizsgálatát a különböző hormonális, valamint anthropológiai paraméterek között Spearman féle korreláció számítással végeztük.

A regresszió analízis további módszerei közül a Többváltozós regressziós analízist alkalmaztuk, ezek közül is a „stepwise” regressziót. Ebben a modellben a független változók modellbe való beléptetésének sorrendje a korreláció erősségétől függ, azonban a modellbe bekerült egyetlen független változónak sincs biztos helye a modellben. Ha egy új változó

beléptetésével egy már bent lévő változó magyarázóereje oly mértékben lecsökken, hogy a hozzá tartozó t-érték nem szignifikáns, akkor a változó „kiesik” a modellből.

Valamennyi statisztikai számítást az SPSS 11.5 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) software segítségével végeztük, a $p \leq 0.05$ szintet tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

5.3 Eredmények

5.3.1 Anthropometriai adatok és hormonális paraméterek

Az anthropometriai paramétereket az I. táblázat foglalja össze.

I. Táblázat Klinikai adatok

	n	átlag±S.D.	tartomány
Fiú/Lány	15/11		
Egyes/Iker	20/3		
Császármetszés	8		
Gesztációs kor (hét)	26	30.8±2.4	25-35
Születési súly (g)	26	1676±535	570-2380
Súly z-score	26	0.22±0.37	-0.75-1.07
Placenta súly (g)	23	436±109	250-580

n= esetszám, Súly z-score: (születési súly – populációs átlag)/
populációs S.D.

Nem találtunk korrelációt a nem, a születés módja, a gestációs hét, a születési súly, a születési súly z-score - azaz összefoglalóan az antropometriai paraméterek - valamint az anyai vagy magzati acylált ghrelin, totál ghrelin, cortisol, leptin és insulin szintek – azaz összefoglalóan a hormonális paraméterek – között.

Azonban szignifikáns korrelációt találtunk a placenta súlyok és a magzati acylált ghrelin szintek ($r=0.396$, $p=0.045$), valamint a placenta súlyok és a magzati GH szintek ($r=0.483$, $p=0.008$) között. (II. Táblázat)

II. Táblázat Spearman-féle korrelációs koefficiens értéke a vizsgált hormonok, glukóz, valamint az anthropometriai paraméterek között magzati vérben * $p < 0.05$

	Acyl-ghrelin	Total ghrelin	Cortisol	Inzulin	Glukóz	Leptin	GH
Gestációs hét	0.266 p=0.190	-0.221 p=0.268	0.480 p=0.010*	0.131 p=0.498	0.005 p=0.980	0.362 P=0.075	-0.195 p=0.310
Születési súly	0.038 p= 0.855	-0.104 p=0.604	0.422 p= 0.025	0.247 p=0.196	0.008 p=0.968	0.334 P=0.103	-0.304 p=0.109
Placenta súly	0.396 p=0.045*	0.158 p=0.431	0.149 P= 0.448	0.171 p=0.375	-0.161 p=0.422	0.085 P=0.685	0.483 p=0.008*
Acyl-ghrelin	1.00	0.050 p=0.812	0.547 p=0.005*	0.004 p=0.984	0.213 p=0.306	0.076 P=0.737	-0.009 p = 0.966
Total Ghrelin		1.00	0.260 p = 0.200	0.039 p=0.846	0.154 p=0.453	-0.243 P=0.264	-0.234 p = 0.239
Cortisol			1.00	-0.040 p=0.841	0.254 p=0.201	-0.029 P=0.890	0.035 p = 0.861
Inzulin				1.00	0.509 p=0.007*	0.184 P=0.379	-0.367 p=0.050*
Glukóz					1.00	-0.083 P=0.700	-0.031 p=0.878
Leptin						1.00	-0.267 p=0.197
GH							1.00

5.3.2 Anyai és magzati hormonális paraméterek

Az acylált- és totál ghrelin valamennyi mintában detektálható volt. A III. táblázat tartalmazza az anyai és a magzati vizsgált hormonok koncentrációit, valamint azok statisztikai összehasonlítását.

III. Táblázat Anyai és magzati hormon koncentrációk

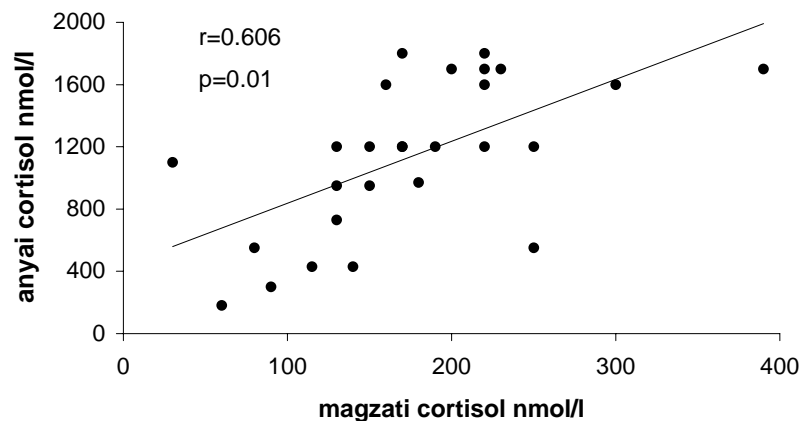
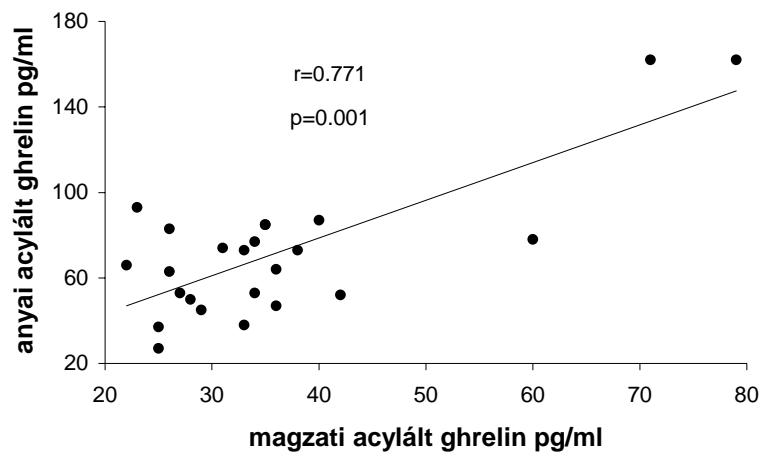
	Anyai (n=23)	Magzat (n=26)
Acyl-ghrelin(pg/ml)	73.1±33.1	36.5±14.6*
Total ghrelin(pg/ml)	295.9±41.3	611.9±183.2*
Cortisol(nmol/l)	1082.6±528.8	174.1±74.6*
Inzulin(mU/l)	44.2±43.5	15.4±15.6*
Glukóz(mmol/l)	7.4±2.3	5.6±1.2*
Leptin(ng/ml)	28.9±13.3	0.86±0.76*
GH(µg/l)	2.6±3.8	60.2±33.2*

n=esetszám, az adatok átlag±S.D. formájában vannak feltüntetve, * $p < 0.01$ Mann-Whitney teszt

Az acylált ghrelin koncentrációja magasabb volt az anyában, mint a magzatban (73.1 ± 33.1 vs 36.5 ± 14.6 pg/ml, $p < 0.01$), továbbá korreláció volt az anyai és a magzati acylált ghrelin koncentrációk között (8. ábra $r = 0.771$, $p = 0.001$).

A totál ghrelin koncentrációk vonatkozásában a helyzet fordított volt, a magzatban mért koncentráció szignifikánsan magasabb volt (611.9 ± 183.2 vs 295.9 ± 41.3 pg/ml $p < 0.01$), azonban nem volt korreláció az anyai és a magzati koncentrációk között.

8. ábra Anyai és magzati acylált-ghrelin, valamint cortisol értékek közötti korreláció



5.3.3 Korreláció a hormonális paraméterek között

A magzati hormonális és anthropometriai paraméterek bivariációs korreláció vizsgálata során (II.Táblázat) szignifikáns korrelációt találtunk a köldökvér acylált ghrelin és cortisol értékei között ($r=0.547$, $p=0.005$). A total ill. acylált ghrelin szintek semmilyen más hormonális paraméterrel nem korreláltak a magzatban.

Az anya hormonális paramétereinek bivariációs korrelációvizsgálata (IV.Táblázat) során negatív korrelációt találtunk a totál ghrelin és a glukóz anyai koncentrációi között ($r=-0.577$, $p=0.003$), valamint a totál ghrelin és az insulin szintek között ($r=-0.510$, $p=0.008$). Az acylált ghrelin szintek az anyában nem korreláltak egyetlen vizsgált hormonális paraméterrel sem.

IV. Táblázat Spearman-féle korrelációs koefficiens értéke a vizsgált hormonok és glukóz között az anyai vérben * $p<0.05$

	Acyl-ghrelin	Total ghrelin	Cortisol	Insulin	Glukóz	Leptin	GH
Acyl-ghrelin	1.00	-0.290 $p=0.169$	-0.019 $p=0.930$	0.165 $p=0.452$	0.101 $p=0.656$	-0.175 $p=0.425$	-0.066 $p=0.759$
Total ghrelin		1.00	0.096 $p=0.641$	-0.510 $p=0.008^*$	-0.577 $p=0.003^*$	0.215 $p=0.291$	0.131 $p=0.516$
Cortisol			1.00	0.035 $p=0.865$	0.229 $p=0.271$	-0.396 $p=0.041^*$	0.027 $p=0.893$
Insulin				1.00	0.772 $p=0.0001^*$	0.047 $p=0.820$	0.087 $p=0.665$
Glukóz					1.00	-0.020 $p=0.924$	0.005 $p=0.981$
Leptin						1.00	-0.121 $p=0.547$
GH							1.00

Azonban, mint az a 8. ábrán látható, szignifikáns univariációs korrelációt találtunk az anyák és magzataik acylált ghrelin koncentrációja között ($r=0.771$, $p=0.001$), valamint az anyai és magzati cortisol koncentrációk között ($r=0.606$, $p=0.01$). Az anyai és magzati cortisol koncentrációk közötti korreláció megmaradt akkor is, ha a korrigáltuk a modellt az utolsó betamethason injekció óta eltelt idővel.

5.3.4 Multivariációs Regressziós Analízis

Az univariációs regressziós analízisek után a „stepwise” multivariációs regressziós modellt alkalmaztuk. Először a Spearman-féle korrelációvizsgálattal a keresztkorrelációkat is megnéztük, azaz a vizsgált hormonok vonatkozásában az anya és a magzat paramétereit szerepeltettük egymással szemben.(V.Táblázat)

V. Táblázat Spearman-féle korrelációs koefficiens értéke az anya és magzat között * $p < 0.05$

anya magzat	Acyl- ghrelin	Total ghrelin	Cortisol	Insulin	Glucose	Leptin	GH
Acyl- ghrelin	0.771 p=0.001*	-0.176 p=0.390	0.368 p=0.070	0.156 p=0.457	0.296 p=0.151	0.191 p=0.360	0.084 p=0.683
Total ghrelin	-0.342 p=0.101	0.187 p=0.350	0.363 p=0.069	0.155 p=0.450	0.132 p=0.520	-0.143 p=0.486	0.036 p=0.859
Cortisol	0.061 p=0.770	-0.186 p=0.342	0.606 p=0.01*	-0.095 p=0.637	0.369 p=0.053	-0.230 p=0.238	-0.082 p=0.679
Insulin	0.144 p=0.482	-0.296 p=0.120	0.020 p=0.921	0.279 p=0.151	0.390 p=0.040*	0.140 p=0.476	-0.178 p=0.356
Glucose	0.023 p=0.915	-0.431 p=0.025*	-0.029 p=0.887	0.141 p=0.493	0.618 p=0.001*	0.306 p=0.121	0.186 p=0.353
Leptin	0.119 p=0.599	0.068 p=0.748	-0.233 p=0.263	-0.244 p=0.251	-0.180 p=0.390	0.325 p=0.134	-0.178 p=0.356
GH	0.067 p=0.743	0.078 p=0.687	-0.159 p=0.420	-0.143 p=0.469	-0.132 p=0.504	0.070 p=0.722	0.283 p=0.137

Ezután a multivariációs regressziós modellt úgy építettük fel, hogy a függő változók voltak a magzati ill. az anyai acylált- és totál ghrelin. Valamennyi változó szerepelt a modellben, melyre az univariációs korrelációs vizsgálatban szignifikáns korrelációt kaptunk, s a „stepwise” modell lényegéből fakad, hogy a modell nem súlyozza a beléptetett független változókat, hanem a korreláció erősségének csökkenése esetén az újonnan beléptetett változót kiejti a modellből. A vizsgálat végeredménye, hogy az anyai acyl-ghrelin ill. a magzati totál ghrelin, mint függő változó esetében nem találtunk független prediktort. Azonban a magzati acylált-ghrelin ill. az anyai totál ghrelin esetében független prediktort találtunk.(VI.Táblázat) Ekkor a vizsgálatba bevont változók a placenta súly, az anyai acyl-ghrelin, a magzati cortisol, továbbá az anyai

glukóz, anyai insulin és a magzati glukóz voltak. A magzati acyl-ghrelin független prediktorai az anyai acyl-ghrelin ($\beta=0.733$, $p=0.0001$), valamint a magzati cortisol ($\beta=0.286$, $p=0.038$) voltak. Az anyai totál ghrelin egyetlen független prediktora az anyai glukóz volt ($\beta=0.467$, $p=0.019$).

VI. Táblázat Multivariációs regressziós modell, magzati acyl-ghrelin és anyai totál ghrelin, mint függő változók, β =regressziós együttható, * $p<0.05$

	Magzati acyl-ghrelin	Anyai totál ghrelin
	$R^2=0.639$	$R^2=0.184$
Anyai acyl-ghrelin	$\beta=0.733$, $p=0.0001$	
Magzati cortisol	$\beta=0.286$, $p=0.038$	
Anyai glukóz		$\beta=-0.467$, $p=0.019$

5.4 Eredmények megbeszélése

A ghrelint mint GH release-t okozó hormont fedezték fel és ismert, hogy a terhesség előrehaladásával a placentárisan termelődő GH mennyisége nő.⁷⁵ Mi szintén korrelációt találtunk a placenta súly és a magzati GH szintek között. Azonban a ghrelin és a GH keringő szintjének korrelációjáról ellentmondásos adatok állnak rendelkezésre.^{58,60} Ennek egyik lehetsége oka, hogy a totál ghrelin szint vizsgálata nem feltétlenül tükrözi az aktuális acylált ghrelin koncentrációját, ugyanakkor a GH release aktivitás az acylált ghrelinhez köthető.⁴⁶ Vizsgálataink ezért párhuzamosan mérték a totál és az acylált ghrelin koncentrációkat, azonban másokhoz hasonlóan szintén nem támasztották alá azt a feltételezést, hogy a terhesség alatti magas GH koncentrációk létrejöttében a ghrelinnek szerepe lenne.⁷⁶

Azonban szignifikáns korrelációt találtunk a fötusok keringő acylált ghrelin szintje és a placenta súly között. Ez ellentmondásban van Yokota

és társai által leírtakkal,⁷⁷ akik inverz korrelációt találtak a köldökvér acylált ghrelin szintje és a placenta súly között. Azonban ebben a vizsgálatban csak időre született magzatokat vizsgáltak, továbbá nem volt kizáró ok, ha a születési súly nem felelt meg a gesztációs kornak. Ismert azonban, hogy a gesztációs korhoz képest kis súlyú újszülöttek ghrelin szintje magasabb.⁶¹ További vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, vajon a placenta szerepet játszik-e az acyláció folyamatában a gesztáció folyamán.

Másokhoz hasonlóan^{59,78,79} mi sem találtunk korrelációt az anyai és a magzati totál ghrelin koncentráció között, azonban az acylált ghrelin koncentrációk között szignifikáns összefüggést mutattunk ki. Elképzelhető, hogy az acylált ghrelin átjut a placentán, mint azt patkányban Nakahara és munkatársai igazolták.⁶⁴ A placenta súly és az acylált ghrelin közötti koreláció pedig felveti annak a lehetőségét, hogy a placenta szerepet játszhat az acyláció folyamatában.

A ghrelinnek a táplálék-felvételben, az étvágy szabályozásában, valamint az insulin secretióban játszott szerepe az irdalomban jól dokumentált.^{79,80,81} A totál ghrelin és a glukóz, valamint a totál ghrelin és az insulin közötti negatív korrelációt az anyai oldalon mi is igazoltuk. Farquhar és munkatársai⁶² ezt az összefüggést a köldökvér ghrelin és glukóz koncentrációja között is kimutatták. A mi vizsgálatunkban az anyai diabetes kizáró ok volt, az említett vizsgálatban a gesztációs diabetes nem szerepelt kizáró okként, ez magyarázhatja az eltérő eredményeket.

A leptin és a ghrelin egymással ellentétes hatása a táplálékfelvétel szabályozásában ismert.⁸³ A leptin a köldökvérben már a gesztáció második trimeszterétől detektálható,⁸⁴ és pozitív korreláció figyelhető meg az időre született magzatoknál a születési súly és a leptin szint között.⁸⁵ Ez látszólag ellentmond a saját adatainknak, tekintettel arra, hogy nem találtunk korrelációt a köldökvér leptin szintjével egyik vizsgált paraméter esetében sem. Azonban a placenta által termelt leptin 98%-a az anyai oldalon jelenik meg,⁸⁶ így a magzati vérben jelenlévő leptin majdnem teljes egészében a főtális sejtek által termelődik. Az általunk vizsgált gesztációs kor valószínűleg olyan korai volt, hogy ekkor még a magzat által termelt leptin szintek alacsonyok. Ezt látszik alátámasztani az a tény

is, hogy a fiúk és a lányok között nem találtunk különbséget, bár ismert, hogy a leptin koncentrációja nemenként eltérő.

A multivariációs regressziós modellel kapott összefüggés a magzati cortisol és az acyl-ghrelin között vizsgálatunk egyik új eredménye. Az anyai és a magzati cortisol koncentrációk közötti különbség átlagosan tízszeres volt, ez megfelel az irodalomban található adatoknak.⁸⁷ Vizsgálatunk korlátja az a tény volt, hogy valamennyi terhes betamethasone profilaxisban részesült, tekintettel a magyar RDS profilaxis protokollra. Mivel a betamethason nem szubsztrátja a 11- β -hydroxysteroid dehydrogenase-2 enzimnek, - mely a cortisolt inaktív cortisonná konvertálja -, az anyai és a magzati koncentrációk a betamethasone vonatkozásában hasonlóak.⁸⁸ Ismert továbbá, hogy az anyai prenatalis betamethasone kezelés csökkenti az endogén cortisol szintet egészen addig, míg a szintetikus glucocorticoid a keringésben marad, ez az idő egy hét.⁸⁹ Míg a szintetikus glukokortikoidok genomikus potenciálja sokkal magasabb, mint a cortisolé, addig a membrán-receptorhoz köthető, ún. nem klasszikus, non-genomikus hatás a cortisol esetében sokkal erősebb.⁹⁰ Ez azt mutatja, hogy nincs szoros összefüggés egy glukokortikoid klasszikus értelemben vett genomikus hatásának erőssége és az ún. non-genomikus hatás erőssége között. Mivel adataink korrelációt mutatnak az acylált ghrelin és a keringő cortisol között a magzati oldalon, ezért elképzelhető, hogy a cortisol szerepet játszhat magának az acylációnak a folyamatában egy nem klasszikus, membránhoz kötött, non-genomikus glukokortikoid hatás révén.

5.5 Az értekezés új megállapításai

Jelen tanulmány egyik új megállapítása, hogy a gesztáció vizsgált szakaszában - 25-35 hét – a magzati acylált ghrelin koncentrációja alacsonyabb, mint az anyai koncentráció.

A másik új megállapítás, hogy korreláció van az anyai és a magzati acylált ghrelin koncentrációja között.

A harmadik új megállapítás, hogy a magzati acylált ghrelin a magzati cortisoltal mutat korrelációt.

Bár a ghrelin fiziológiai szerepe a terhesség alatt ismeretlen, azonban a placenta súlyával való szoros korreláció támogatja azt a hipotézist, hogy a placenta szerepet játszhat a ghrelin acylációjának folyamatában, s ez a folyamat cortisoltal befolyásolható.

1. Sweet D, Bevilacqua G, Carnelli V, Greisen G, Plavka R, Saugstad O.D, Simeoni U, Speer C.P, Valls-i-Soler A, Halliday H : European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome. *J. Perinat. Med.* 2007 35 175-186
2. Newnham J.P, Moss T.J.M, Nitsos I, Sloboda D.M: Antenatal corticosteroids: the good, the bad and the unknown. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2002 14 607-612
3. Seckl JR: Glucocorticoid programming of the fetus: adult phenotypes and molecular mechanisms. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2001 185 61-71
4. Liggins GC, Howie RN: A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infant. *Pediatrics* 1972 50 515-25.
5. Naeye R.L, Harcke H.T, Blanc W.A: Adrenal gland structure and development of hyalin membrane disease. *Pediatrics* 1971 47 650
6. Crowley P: prophylactic cortisosteroids for preterm delivery: review In: *The Cochrane Library. The Cochrane Collaboration. Oxford, Engl. Update software: Issue 3, 1999*
7. National Institutes of Health. Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. *NIH Consensus Statement* 1994 12 1-24
8. Drozgyik I, Bódis J, Szabó I, Novák P: Terhesség alatti glukokortikoid kezelés hatása az újszülöttek súlyára és a lepényi vérátáramlására. *Magyar Nőorvosok Lapja* 1986 49 155-58
9. Szabó I: Antenatalisan RDS profilaxisban részesült gyermekek utánvizsgálata 14-16 éves korban. *Magyar Nőorvos Társaság XXV. Nagygyűlése Debrecen* 1994
10. Szabó I, Csaba I, Novák P, Drozgyik I: Single-dose of glucocorticoid for prevention of respiratory distress syndrome. *Lancet* 1977 2 243
11. Shankaran S, Bauer CR, Bain R, Wright LL, Zachary J,: Relationships between antenatal steroid administration and grade III and IV intracranial hemorrhage in low birth weight infants. *The NICHD Neonatal Research Network. Am J. Obstet Gynecol* 1995 173 305-12
12. Harding JE, Pang J, Knight DB, Liggins GC: Do antenatal corticosteroids help in the setting of preterm rupture of membranes? *Am J Obstet Gynecol* 2001 184 131-9
13. Doyle LW, Ford GW, Davis NM, Callanan C: Antenatal corticosteroid therapy and blood pressure at 14 years of age in preterm children. *Clin Sci* 2000 98 137-42
14. Condon J, Gosden C, Gardener D, Nickson P, Hewison M, Howie AJ, Stewart PM: Expression of type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and corticosteroid hormone receptors in early human fetal life. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 83 4490-97
15. Szabo I, **Lányi E**, Vertes M, Csaba I: Glucocorticoid and estradiol receptors in human fetal lung. *J Perinatal Med* 1991 19 408-13.
16. Whitsett JA, Stahlman MT: Impact of advances in physiology, biochemistry and molecular biology on pulmonary disease in neonates. *Am. J Respir Crit Care Med* 1998 157 67-71

17. Jaskoll T, Choy HA, Melnick M.: The glucocorticoid-glucocorticoid receptor signal transduction pathway, transforming growth factor-beta, and embryonic mouse lung development. *Pediatr Res* 1996 39 749-759.
18. Vyas J, Kotecha S.: Effects of antenatal and postnatal corticosteroids on the preterm lung. *Arch Dis Child* 1997 77 147-150.
19. Ballard PL: Hormonal regulation of pulmonary surfactant. *Endocr Rev* 1989 10 165-181
20. Dekowski SA, Snyder JM: The combined effects of insulin and cortisol on surfactant protein mRNA levels. *Pediatr Res* 1995 38 513-21.
21. Gao Y, Tolsa JF, Shen H, Raj JU: A single dose of antenatal betamethasone enhances isoprenaline and prostaglandin E2-induced relaxation of preterm ovine pulmonary arteries. *Biol Neonate* 1998 73 182-89
22. King LS, Nielsen S, Agre P: Aquaporin-1 water channel protein in lung: ontogeny, steroid-induced expression, and distribution in rat. *J Clin Invest* 1996 97 2183-2191
23. Kallapur SG, Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Bachurski C: Intra amniotic endotoxin: Chorioamnitis precedes lung maturation in preterm lambs. *American Journal of Physiology* 2001 280 L527- L536
24. Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, Jun JK: A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1999 181 773-779
25. Jobe AH: Glucocorticoids, inflammation and perinatal lung. *Semin Neonatol* 2001 6 331-342
26. Szabó I, Vértes M, Bódis J, **Lányi É**, Sauerhering E: Steroid receptors in human fetal lung. *Lancet* 1980 2 751
27. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M: Humán magzati tüdő glükokortikoid receptorai *Magyar Nőorvosok Lapja* 1986 49 16
28. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M, Drozgyik I, Csaba I: Glucocorticoid receptors in human fetal lung. *Problems of the fetal lung maturation and of insufficient lung maturity in the newborn.* (Ed.: I.Cretti 1988 Vol I. 170-187)
29. Szabó I, **Lányi É**, Szilágyi A, Vértes M, Csaba I: Glucocorticoid receptors in human fetal lung. *Gynecol Endocrinol* 1990 4 S1 113
30. McTernan CL, Draper N, Nicholson H, Chalder SM, Driver P, Hewison M, Kilby MD, Stewart PM: Reduced placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 mRNA levels in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction: an analysis of possible mechanisms. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001 86 4979-4983
31. White PC, Mume T, Agarwal AK: 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocr Rev* 1997 18 135-156
32. Kajantie E, Dunkel L, Turpeinen U, Stenman UH, Wood PJ, Nuutila M, Andersson S: Placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-2 and fetal cortisol/cortisone shuttle in small preterm infants. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 493-500

33. Lengyel AM: Novel mechanisms of growth hormone regulation: growth hormone-releasing peptides and ghrelin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2006 39 1003-1011
34. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberatore PA, Rosenbaum CI, et al.: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996 273 974-977
35. 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
36. Beinfeld MC: Cholecystokinin in the central nervous system: a minireview. *Neuropeptides* 1983 3 411-427
37. Tanaka H, Yosida T, Miyamoto N, Motoike T, Kurosu H, Shibata K, Yamanaoka A, Williams SC, Richardson JA, Tsujino N, Garry MG, Lerner MR, King DS, O'Dowd BF, Sakurai T, Yanagisawa M: Characterization of a family of endogenous neuropeptide ligands for the G protein-coupled receptors GPR7 and GPR8. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 2003 100 6251-6256
38. Hosoda H, Kojima M, Kangawa K: Biological, physiological and pharmacological aspects of ghrelin. *J. Pharmacol Sci* 2006 100 398-410
39. Ariyasu H, Takaya T, 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 4753-4758
40. 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 4255-4261
41. Rechfeld JF: The new biology of gastrointestinal hormones. *Physiol Rev* 1998 78 1087-1108
42. 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
43. Rindi G, Necchi V, Savio A, Torsello 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 117 511-519
44. Banks WA, Tschöp 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
45. Ghigo E, Broglio F, Arvat E, Maccario M, Papotti M, Muccioli G: Ghrelin: more than a natural GH secretagogue and/or orexigenic factor. *Clinical Endocrinology* 2005 62 1-17
46. Root AW, Root MJ: Clinical pharmacology of human growth hormone and its secretagogues. *Current Drug Targets – Immune, Endocrine and Metabolic Disorders* 2002 2 27-52
47. Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Ghigo E: Brain-gut communication: cortistatin, somatostatin and ghrelin. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 2007 18 246-251

48. Gauna C, van der Lely AJ: Somatostatin, cortistatin, ghrelin and glucose. *Journal of Endocrinol Invest* 2005 28 127-31
49. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML: Circulating ghrelin levels are decrease in human obesity. *Diabetes* 2001 50 707-709
50. Rigamonti AE, Pincelli AI, Corra B, Viarengo R, Bonomo SM, Galimberti D, Scacchi M, Scarpini E, Cavagnini F, Müller EE: Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *Journal of Endocrinology* 2002 175 R1-R5
51. **Lányi E**, Csernus K, Erhardt E, Tóth K, Urbán B, Lénárd L, Molnár D: Plasma levels of acylated ghrelin during an oral glucose tolerance test in obese children. *Journal of Endocrinol Invest* 2007 30 133-137
52. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, van de Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E: Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J. Clin Endocrinol Metab* 2001 86 5083-5086
53. Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP, Rife F, Heptulla RA, Tamborlane WV, Sherwin RS: The influence of insulin on circulating ghrelin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003 284 313-316
54. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, Boyadjian R: Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 87 3997-4000
55. Gualillo O, Caminos JE, Blancos M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, Dieguez C, Casanueva FF: Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001 142 788-794
56. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, carpenter R, Grossman AB, Korbonits M: The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002 87 2968-2991
57. Tanaka K, Minoyuki M, Isobe T, Yonaha H, Kawato H, Wang DF, Yoshida T, Kojima M, Kangawa K, Toyoda N: Ghrelin is involved in the decidualization of human endometrial stromal cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 2335-2340
58. Chanoine JP, Yeung LPK, Wong ACK, Birmingham CL: Immunoreactive ghrelin in human cord blood: relation to anthropometry, leptin and growth hormone. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2002 35 282-286
59. Cortelazzi D, Cappiello V, Morpurgo PS, Ronzoni S, Nobile De Santis MS, Cetin I, Beck-Peccoz P, Spada A: Circulating levels of ghrelin in human fetuses. *European Journal of Endocrinology* 2003 149 111-116
60. Kitamura S, Yokota I, Hosoda H, Kotani Y, Matsuda J, Naito E, Ito M, Kangawa K, Kuroda Y: Ghrelin concentration in cord and neonatal blood: relation to fetal growth and energy balance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 5473-5477
61. Önal EE, Cinaz P, Atalay Y, Türkyilmaz C, Bideci A, Aktürk A, Okumus N, Ünal S, Koc E, Ergenekon E: Umbilical cord ghrelin concentrations in small- and appropriate-for-gestational age newborn infants: relationship to anthropometric markers. *Journal of Endocrinology* 2004 180 267-271

62. Farquar J, Heiman M, Wong ACK, Wach R, Chessex P, Chanoine JP: Elevated umbilical cord ghrelin concentrations in small for gestational age neonates. *Journal of Endocrinology and Metabolism* 20003 88 4324-4327
63. Iniguez G, Ong K, Pena V, Avila A, Dunger D, Merico V: Fasting and post-glucose ghrelin levels in SGA infants: relationship with size and weight gain at one year of age. *Journal of Endocrinology and Metabolism* 2002 87 5830-5833
64. Nakahara K, Nakagawa M, Baba Y, Sato M, Toshinai K, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Miyazato M, Kaiya H, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N: Maternal ghrelin plays an important role in rat fetal development during pregnancy. *Endocrinology* 2006 147 1333-1342
65. Giordani R, Picu A, Pagotto U, De Iasio R, Bonelli L, Prodam F, Broglio F, Marfetti L, Pasquali R, Maccario M, Ghigo E, Arvat E: The negative association between total ghrelin levels, body mass and insulin secretion is lost in hypercortisolemic patients with Cushing's disease. *European Journal of Endocrinology* 2005 153 535-543
66. Espelund U, Hansen TK, Hajlund K, Beck-Nielsen H, Clausen JT, Hansen BS, Orskov H, Jorgensen JOL, Frystyk J: Fasting unmasks a strong inverse association between ghrelin and cortisol in serum: studies in obese and normal-weight subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005 90 741-746
67. Arnaldi G, Mancini T, Kola B, Appolloni G, Freddi S, Concettoni C, Bearzi I, Masini A, Boscaro M, Mantero F: Cyclical Cushing's syndrome in a patient with a bronchial neuroendocrine tumor (typical carcinoid) expressing ghrelin and growth hormone secretagogue receptors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 5834-5840
68. Gualillo O, Caminos JE, Kojima M, kangawa K, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF, Dieguez C: Gender and gonadal influences on ghrelin mRNA levels in rat stomach. *European Journal of Endocrinology* 2001 144 687-690
69. Caminos JE, Noguerras R, Blanco M, Seoane LM, Bravo S, Alvarez CV, garcia-caballero T, Casanueva FF, Dieguez C: Cellular distribution and regulation of ghrelin messenger ribonucleic acid in the rat pituitary gland. *Endocrinology* 2003 144 5089-5097
70. Lányi É, Várnagy Á, Kovács AK, Csermely T, Szász M, Szabó I: Ghrelin and acyl-ghrelin in preterm infants and maternal blood: relationship with endocrine and anthropometric measures. *European Journal of Endocrinology* 2008 158 27-33
71. NG PC, Lee CH, Lam WK, Wong E, Chan IHS, Fok TF: Plasma ghrelin and resistin concentrations are suppressed in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *Journal of Endocrinology and Metabolism* 2004 89 5563-5568
72. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M, Ono F, Kangawa K: Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clinical Chemistry* 2004 50 1077-1080
73. Gröschl M, Wagner R, Dötsch J, Wolfgang R, Rauh M: Preanalytical influences on the measurement of ghrelin. *Clinical Chemistry* 2002 48 1114-1116
74. Gröschl M, Uhr M, Kraus T: Evaluation of the comparability of commercial ghrelin assays. *Clinical Chemistry* 2004 50 457-458

75. Mirlesse V, Frankenne F, Alsat E, Poncelet M, Hennen G, Evain-Brion D: Placental growth hormone levels in normal pregnancy and in pregnancies with intrauterine growth retardation. *Pediatric Research* 1993 34 439-443
76. Pirazzoli R, Lanari M, Zucchini S, Gennari M, Pagotto U, de Iasio R, Pasquali R, Cassio A, Cicognani A, Cacciari E: Active and total ghrelin concentrations in the newborn. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 2005 18 379-384
77. Yokota I, Kitamura S, Hosoda H, Kotani Y, Kangawa K: Concentration of the n-octanoylated active form of ghrelin in fetal and neonatal circulation. *Endocrine Journal* 2005 52 271-276
78. Bellone S, Rapa A, Vivenza D, Vercelotti A, Petri A, Radetti G, Bellone J, Broglio F, Chigo A, Bona G: Circulating ghrelin levels in the newborn are positively associated with gestational age. *Clinical Endocrinology* 2004 60 613-617
79. Fuglsang J, Sandager P, Mellert N, Fiskert S, Frystyk J, Oversen P: Peripartum maternal and foetal ghrelin, growth hormones, IGFs and insulin interrelations. *Clinical Endocrinology* 2006 64 502-509
80. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, kangawa K, Matsukura S: A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001 409 194-198
81. Nakagawa E, Magaya N, Okumura H, Enomoto M, Oya H, Ono E, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K: Hyperglycaemia suppresses the secretion of ghrelin, a novel growth-hormone-releasing peptide: responses to the intravenous and oral administration of glucose. *Clinical Science* 2002 103 325-328
82. Haqq AM, Farooqi S, O'rahilly S, Stadler DD, Rosenfeld RG, Pratt KL, LaFranchi SH, Purnell J: Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003 88 174-178
83. Geary N: Endocrine controls of eating: CCK, leptin and ghrelin. *Physiology and Behavior* 2004 81 719-733
84. Geary M, Herschkovitz R, Prongle PJ, Rodeck CH, Hindmarch PC: Ontogeny of serum leptin concentrations in the human. *Clinical Endocrinology* 1999 51 189-192
85. Tsai PJ, Yu CH, Hsu SP, Lee YH, Chiou CH, Hsu YW, Ho SC, Chu CH: Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. *Clinical Endocrinology* 2004 61 88-93
86. Linnemann K, Malek A, Sager R, Blum WF, Schneider H, Fusch C: Leptin production and release in the dually in vitro perfused human placenta. *Journal of Endocrinology and Metabolism* 2000 85 4298-4301
87. Cameron RA, Fisk NM, Glower V: Fetal exposure to maternal cortisol. *Lancet* 1998 352 707-708
88. Anderson ABM, Gennser G, Jeremy JY, Ohrlander S, Sayers L, Turnbull AC: Placental transfer and metabolism of betamethasone in human pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* 1977 49 471-474
89. Marioni E, Korebits C, Dilorio R, Cosmi EU, Challis JR: Effect of betamethasone in vivo on placental corticotropin-releasing hormone in human pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1998 178 770-778

90. Daufeldt S, Klein R, Wildt L, Alléra A: Membrane initiated steroid signalling (MISS): computational, in vitro and in vivo evidence for a plasma membrane protein initially involved in genomic steroid hormone effects. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2006 246 42-52

A doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Könyvfejezet:

1. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M, Drozgyik I, Csaba I.: Glucocorticoid receptors in human fetal lung. Problems of the fetal lung maturation and of insufficient lung maturity in the newborn (Ed.: I. Cretti) Vol. I. 170-187 1988

Közlemények:

1. Szabó I, Vértes M, Bódis J, **Lányi É**, Sauerhering E: Steroid receptors in human fetal lung Lancet 1980 2 751 IF₁₉₈₆:9.44
2. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M: Human magzati tüdő glükokortikoid receptorai Magyar Nőorvosok Lapja 1986 49 16
3. Szabó I, **Lányi É**, Szilágyi A, Vértes M, Csaba I: Glucocorticoid receptors in human fetal lung. Gynecology and Endocrinology 1990 4 Suppl.1. 113 IF₁₉₉₀:0.43
4. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M, Csaba I: Glucocorticoid and oestradiol receptors in human fetal lung. Journal of Perinatal Medicine 1991 119 Suppl. 1. 408 IF₁₉₉₁:0.34
5. **Lányi É**, Csernus K, Erhardt É, Tóth K, Urbán B, Lénárd L, Molnár D: Plasma levels of acylated ghrelin during an oral tolerance test in obese children. Journal of Endocrinological Investigation 2007 30(2) 133-137 IF₂₀₀₇:1.47
6. **Lányi É**, Várnagy Á, Kovács A.K, Cermely T, Szász M, Szabó I: Ghrelin and acyl ghrelin in preterm infants and maternal blood: relationship with endocrine and anthropometric measures. European Journal of Endocrinology 2008 158(1) 27-33 IF₂₀₀₇:3.14

Idézhető abstractok:

1. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M, Csaba I: Glucocorticoid and estradiol receptors in human fetal lung. XI. European Congress of Perinatal Medicine Roma 1988
2. Szabó I, **Lányi É**, Vértes M, Drozgyik I, Csaba I: Glucocorticoid and estradiol receptors in human fetal lung. „Problems of the fetal lung maturation and of insufficient lung maturity in the newborn” Symposium Szczecin 1988

3. Szabó I, **Lányi É**, Szilágyi A, Vértes M, Csaba I: Cortisol and dexamethason receptors in human fetal lung. 2nd International Symposium on the surfactant system of the lung : Prevention and treatment of neonatal and adult respiratory distress syndrome. Perugia 1989

4. Molnar D, **Lanyi E**, Csernus K, Erhardt E: Active ghreline levels in childhood obesity. Pediatric Research 2005 58(2) Abstr 255 IF:2.88

Összesített impakt faktor: 17,7