

REVISIÓN

Ghrelin en la Amenorrea Hipotalámica Funcional relacionada con la desnutrición

Ghrelin in Functional Hypothalamic Amenorrhoea related with undernourished

Fiszlejder León

Ex coordinador del Sector Neuroendocrinología, División Endocrinología, Hospital Carlos G. Durand. Buenos Aires. Argentina

Resumen

La amenorrea hipotalámica funcional (AHF) presenta un proceso de adaptación homeostática frente al desbalance energético (consumo/gasto calórico). En este síndrome participan hormonas hipotalámicas y neuropéptidos periféricos provenientes del tejido graso (leptina, adiponectina y otras adipokinas), el tracto gastrointestinal superior Ghrelin y el páncreas (insulina). Este "circuito periférico" está funcionalmente interrelacionado con un "circuito central" o hipotalámico. El descenso de la leptina, (un péptido anorexígeno), potencia el efecto orexígeno del Ghrelin. Los niveles basales de esta citokina están elevados en la AHF e inducen en el hipotálamo, un aumento de la actividad del CRH. Esta hormona, a su vez, inhibe la secreción pulsátil del GnRH.

El Ghrelin, además de ser un potente GH secretagogo, influye en la secreción de insulina e interviene en la metabolización de los glúcidos y lípidos. Normalmente se puede observar un ascenso preprandial del Ghrelin, seguido por un descenso posprandial relacionado con la sensación de saciedad. En los obesos, este descenso es menos pronunciado y lento. En cambio, en las mujeres anoréxicas la caída de este orexígeno es más rápida. Ambos comportamientos resultan ser acciones desfavorables para sus respectivas patologías.

La administración de Ghrelin induce un rápido incremento de la glucemia y reducción de los niveles de insulina. Este aumento de la glucemia precede al descenso de la insulina, sugiriendo que el Ghrelin podría estimular directamente la glucogenólisis en el hígado. La hiperghrelemia podría entonces ser considerada como un probable mecanismo defensivo tendiente a prevenir la hipoglucemia de estas pacientes amenorreicas y desnutridas.

Por otro lado, la hiperghrelemia basal en la AHF sería un efecto secundario a la resistencia a la insulina, la cual a su vez, es inducida por los niveles elevados de los ácidos grasos provenientes de la lipólisis que se encuentra acentuada en estas pacientes. La correlación negativa entre la insulina y el Ghrelin

Dirección Postal: Camacú 144 (1406) CABA

Correspondencia a: Dr. León Fiszlejder

Palabras clave: Desnutrición, Estrés, Homeostasis, Ghrelin, Insulina

Key words: Undernourished, Stress, Homeostasis, Ghrelin, Insuline

probablemente es mediada por el sistema vagal, como lo sugiere el aumento del polipéptido pancreático, un marcador confiable de la actividad vagal. Adicionalmente, el hipercortisolismo de estas pacientes y posiblemente la somatostatina a través de sus receptores en el páncreas, podrían regular en forma negativa la actividad de los receptores de insulina, con el consiguiente incremento del Ghrelin.

Conclusión: el ascenso del Ghrelin en la AHF y sus particulares interrelaciones con la insulina y el eje adrenal convergen para mantener el equilibrio homeostático, intentando facilitar así el aporte de metabolitos energéticos a estas pacientes desnutridas, frecuentemente osteoporóticas, inmunodeprimidas y con un alto riesgo cardiovascular. **Rev Argent Endocrinol Metab 47: 27-35, 2010**

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Abstract

Functional Hypothalamic Amenorrhoea (FHA) reflects a homeostatic adaptive process resulting from a negative energy balance (increased caloric output/expenditure with inadequate nutrient replenishment). Hypothalamic hormones and peripheral neuropeptides from the fat tissue (leptin, adiponectin and other adipokines), the upper gastrointestinal tract (Ghrelin) and pancreas (insulin) are involved in this syndrome. This "peripheral circuit" is functionally interrelated with the central hypothalamic circuit controlling appetite and satiety. The decrease in leptin, an anorexigenic signal, potentiates the orexigenic effect of Ghrelin (the basal levels of Ghrelin are elevated in FHA) and induces an increased CRH activity within the hypothalamus. This hormone, in turn, inhibits pulsatile GnRH secretion.

Besides its potent GH secretagogue activity, Ghrelin is a peptide that influences insulin secretion and affects the metabolism of carbohydrates and lipids. Usually, a preprandial increase in Ghrelin levels is observed, followed by a postprandial decrease related to satiety. In obese subjects, this decrease is less marked and slower. Conversely, in anorexic women, the drop in this orexigenic peptide is faster. Both behaviours are unfavourable for the pathologies in which they occur.

Ghrelin administration induces a rapid increase in blood glucose and a decrease in insulin levels. The fact that an increase in blood glucose precedes a decrease in insulin might suggest that Ghrelin could directly stimulate hepatic glucogenolysis activity. Thus, hyperghrelinemia might be considered as a potential defence mechanism to prevent hypoglycaemia in undernourished amenorrhoeic patients. Basal hyperghrelinemia in FHA is secondary to insulin resistance and it is induced by elevated free fatty acids resulting from lipolysis, a process that is increased in patients with FHA. The negative correlation between insulin and Ghrelin is probably mediated by the vagal system, as suggested by the increase in the pancreatic polypeptide, a reliable marker of vagal activity. Additionally, the hypercortisolism that typically occurs in patients with FHA, and possibly somatostatin through its pancreas receptors, could negatively regulate the activity of insulin receptors, with a consequent increase in Ghrelin.

Conclusion: the increase in Ghrelin in FHA and its particular interrelations with insulin and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis reflect an attempt to maintain the homeostatic balance, contributing to facilitate the supply of energy metabolites in these undernourished patients. These patients commonly develop osteoporosis, immunosuppression and a high risk of cardiovascular disease. **Rev Argent Endocrinol Metab 47: 27-35, 2010**

No competing financial interests exist.

Introducción

En una publicación anterior⁽¹⁾, hemos destacado que en la amenorrea hipotalámica funcional

(AHF) existe un complejo proceso de adaptación homeostática de protección destinado a promover un balance energético positivo durante los períodos de restricción alimenticia. En función de

ello, las secreciones de una serie de neuropéptidos hipotalámicos y periféricos se modifican en respuesta al balance energético negativo imperante. Generalmente, se observa una reducción de la masa grasa y la consiguiente disminución de la síntesis de leptina. Ello se asocia a cambios en el proceso oxidativo de los lípidos y la característica pérdida del apetito y peso corporal⁽²⁻⁴⁾. En adición, los ascensos de la adiponectina (otra adipokina), y la del Ghrelin en estas pacientes desnutridas, son también destacados participantes de este proceso de adaptación en estas mujeres desnutridas.^(5,6)

El Ghrelin, un péptido de 28 aminoácidos, es principalmente sintetizado por las células oxínticas del estómago y del tracto gastrointestinal superior. El Ghrelin acetilado es la forma molecular predominante en la circulación.^(12,18)

Asimismo, también se ha hallado expresión de este péptido en el hipotálamo, hipófisis, intestino, páncreas y en otros tejidos periféricos.^(30,33)

En el sistema nervioso central, los receptores del Ghrelin, al igual que los de la leptina, están ubicados en los núcleos arcuato y ventromedial del hipotálamo^(7,8). En estas áreas, el Ghrelin ejerce su potente efecto estimulador del apetito mediante la activación del Neuropéptido Y (NPY)⁽⁷⁾ además, en esta área, el Ghrelin se relaciona directamente con las neuronas secretoras de CRH^(47,48).

Asimismo, el descenso de la leptina en la desnutrición también activa al NPY. Por otro lado, este neuropéptido se interrelaciona con el eje adrenal provocando el ascenso del CRH, quien a su vez, inhibe la actividad pulsátil del Gn-RH, un aspecto "clave" en la fisiopatología de la disfunción gonadal de la AHF⁽¹⁾.

Además de sus efectos orexígenos y sobre el peso corporal, el Ghrelin está implicado en el proceso digestivo, en la regulación de la actividad endocrina del páncreas, ejerciendo entonces, una destacada influencia sobre el metabolismo glucídico y lipídico.^(7,9,14,15,18,19)

Estudios en humanos han revelado un ascenso preprandial, seguido por un descenso posprandial de los niveles séricos de Ghrelin, sugiriendo que este péptido juega un rol en la fisiología relacionada con las sensaciones de hambre preprandial y de saciedad posprandial⁽⁸⁾.

Algunas investigaciones sugieren que el valor calórico de los alimentos y el grado de almacenamiento de los lípidos en el tejido adiposo, son más importantes que la composición de las dietas en la regulación de la secreción del Ghrelin⁽¹⁰⁾. No obstante, existen otros hallazgos que contradicen, en parte, algunas de estas observaciones. La infusión intravenosa o directa de glucosa en el estómago o la ingestión de comidas mixtas disminuyen los niveles séricos de Ghrelin en forma proporcional al contenido de hidratos de carbono de las mismas⁽¹¹⁾. Es decir, el grado de supresión de este péptido orexígeno aparentemente depende de la proporción de macronutrientes de la dieta.

Otros autores⁽¹²⁾ han observado que en comparación con la alimentación abundante en carbohidratos, las dietas proteicas y/o ricas en grasas, inducen un descenso posprandial lento y cuantitativamente menor del Ghrelin, en los obesos. En consecuencia, la sensación de saciedad es menor y ello tiende a perpetuar la obesidad⁽⁹⁾. En cambio, esta curva de descenso es más pronunciada en la anorexia nerviosa y la sensación de saciedad es entonces alcanzada rápidamente, entorpeciendo así la predisposición de estas pacientes a una alimentación adecuada⁽⁵³⁻⁵⁵⁾. Por otro lado, algunas investigaciones señalan una curva de descenso posprandial del Ghrelin atenuada en estas mujeres anoréxicas⁽⁵⁶⁾. Sin embargo, otros autores no han observado modificaciones significativas de este péptido durante tests que consistieron en la administración de comidas mixtas o de glucosa^(26,54). Probablemente, estos resultados divergentes serían atribuibles a diferentes períodos en los que se efectuaron las investigaciones o el estado de gravedad de la enfermedad, formas moleculares dosadas (Ghrelin total o forma acetilada) u otras condiciones experimentales.

Por otro lado, la secreción del Ghrelin está condicionada además, por una serie de factores generalmente relacionados con las respuestas metabólicas durante el proceso de alimentación. Sus niveles séricos están inversamente relacionados con la masa corporal y grasa, las concentraciones de leptina, insulina y glucosa^(13,14). Los efectos del Ghrelin sobre la secreción de insulina depende,

entre otros factores, del estado nutricional de las pacientes. No obstante, los resultados obtenidos en las investigaciones en humanos no permiten llegar a conclusiones definitivas. Se han reportado resultados contradictorios. Mientras algunos estudios mencionan inhibición, otros han hallado estimulación de la insulina ejercida por el Ghrelin⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Investigaciones más recientes señalan que la administración de Ghrelin induce un descenso de los niveles de insulina seguido por el rápido aumento de la glucemia^(18,19).

Este incremento es observado antes de producirse el descenso de la insulina, sugiriendo que el Ghrelin podría actuar directamente en el hígado para liberar la glucosa.

Estudios en ratas, utilizando líneas celulares de hepatomas humanos, demuestran, que a nivel transcripcional, este péptido es capaz de activar el signo intracelular del receptor de insulina y revertir el efecto inhibitorio, ejercido por la misma sobre la expresión de enzimas "clave" que intervienen en la neoglucogénesis⁽²⁰⁾. Asimismo, se ha sugerido que el Ghrelin puede estimular directamente la glucogenólisis en el hígado⁽²¹⁾. En consecuencia, el aumento del Ghrelin y su capacidad de estabilizar las concentraciones de glucosa, sugiere que la actividad de este neuropéptido es importante y puede ser considerada como un mecanismo de defensa tendiente a disminuir el riesgo de hipoglucemia en estas mujeres con AHF habitualmente desnutridas.

Los niveles de Ghrelin pueden estar elevados en distintas formas de caquexia como se observada en ratas tumoradas o en la caquexia cardíaca y en las desnutridas con anorexia nerviosa, entre otros ejemplos⁽²²⁻²⁵⁾. No obstante, la capacidad orexígena de este péptido puede estar reducida en estas patologías⁽²²⁾.

Estos hallazgos sugieren que así como la resistencia a la leptina, (un péptido anorexígeno) está presente en la obesidad, lo cual constituye un inconveniente en estas pacientes, la resistencia al Ghrelin (orexígeno) observada en la caquexia⁽²³⁾ o en algunas pacientes con anorexia nerviosa, es también una circunstancia desfavorable para estas mujeres desnutridas.

La sobrecarga aguda de glucosa oral induce un

descenso del Ghrelin que alcanza su nadir a los 60 min. en los controles normales. En la anorexia nerviosa este descenso es lento, observándose el nadir a los 120 min. Simultáneamente, los niveles basales de insulina son más bajos que el de los controles normales y el pico máximo de ascenso postsobrecarga de glucosa es observado a los 120 min y ello resulta ser también tardío en comparación con los niveles máximos de insulina alcanzados a los 60 min en los normales. En relación a ello, las glucemias observadas a los 180 min en las anorexígenas son más altas que la de los controles normales⁽²⁶⁾.

La fisiopatología de esta correlación inversa de la insulina con el Ghrelin es compleja y dista de estar completamente dilucidada.

Se ha observado que en la AHF los cambios en las concentraciones del Ghrelin inducidos por la ingestión de alimentos son inversas a las hallados en la secreción de insulina, sugiriendo que el descenso del Ghrelin puede ser atribuido al ascenso de la insulina posprandial⁽²⁶⁻²⁸⁾.

Anteriormente, hemos mencionado que pacientes con AHF que consumen dietas inadecuadas y principalmente en la desnutrición severa como la observada en la anorexia nerviosa, cursan con niveles basales de Ghrelin elevados, atribuibles, entre otras causas, a una alteración funcional relativa de la secreción de insulina y que ello a su vez, sería la consecuencia de una menor ingesta diaria. Adicionalmente, se podría considerar como importante, la existencia de cierto grado de resistencia a la insulina^(53,54). Es probable que el aumento de los ácidos grasos circulantes, (provenientes de la lipólisis acentuada frecuentemente observada en estas enfermas), provoque un bloqueo funcional de los receptores de la insulina⁽²⁹⁾. Esta elevación de los ácidos grasos libres, es capaz de alterar la acción de la insulina e inhibir los mecanismos oxidativo y no oxidativo de la glucosa^(26,52).

Asimismo, el hipercortisolismo habitualmente presente en la AHF, sería otro de los factores que podría interferir la actividad de estos receptores. Resulta entonces aparentemente paradójal la coincidencia de resistencia a la insulina en estas amenorreicas desnutridas y en las mujeres obesas.

Se ha observado que la respuesta de la insulina al estímulo con arginina es muy significativo y por otro lado, la insulina inhibe los niveles de Ghrelin en los normales^(30,31).

En relación a estas interrelaciones, se ha demostrado la presencia de receptores de Ghrelin en las células endocrinas del páncreas. Su estimulación con este péptido incrementa las concentraciones de calcio libre en las células beta, aumentando así la secreción de insulina⁽³³⁾. Ambas hormonas son reguladas por el sistema vagal^(32,34).

Se puede entonces concluir que la conducta nutritiva y los cambios en la composición de la dieta o una alimentación inadecuada en relación al consumo alimenticio/gasto energéticos de estas pacientes, ejercería una importante influencia sobre la interrelación negativa Ghrelin /insulina a través del sistema vagal.

Por otro lado, se ha postulado que la somatostatina podría también jugar un rol en el descenso posprandial de los niveles de Ghrelin. Se ha comprobado que la infusión I.V. de somatostatina inhibe la secreción de Ghrelin. Además, se ha observado que las células de la mucosa gástrica de ratas que sintetizan Ghrelin, presentan inmunorreactividad a la somatostatina^(35,36), indicando así, un efecto paracrino de la somatostatina sobre la secreción de Ghrelin.

No menos llamativo y a su vez interesante, resulta el antes mencionado ascenso preprandial del Ghrelin. No obstante, sus mecanismos endocrinos no están completamente esclarecidos. Considerando que este neuropéptido posee efectos orexígenos, se ha interpretado que probablemente su ascenso preprandial sería la expresión de un reflejo fisiológico condicionado^(37,38).

Investigaciones en ratas revelan que el ayuno prolongado induce una elevación de las concentraciones del Ghrelin mediadas por la activación del sistema vagal^(39,40). No obstante, el ayuno relativamente corto (3 días) en adultos no provoca el aumento de los niveles séricos integrados de 24 hs. de Ghrelin⁽⁴¹⁾. Aparentemente, la actividad del sistema vagal es baja durante el ayuno de corta duración. Así lo sugiere la ausencia de modificaciones de niveles séricos del polipéptido

pancreático, un sensible marcador de la actividad vagal⁽⁴²⁾. Asimismo, no ha sido comprobado en el humano que este sistema esté involucrado en la estimulación del eje somatotrófico por el Ghrelin⁽⁵⁷⁾.

Así como se ha interpretado que el descenso del Ghrelin en la obesidad sería una adaptación fisiológica de este orexígeno al balance energético positivo que presentan estos pacientes^(27,37,43), estimamos entonces que el ascenso del Ghrelin observado en la anorexia nerviosa y en la bulimia, entre otras mujeres con alimentación inadecuada, pueden ser también considerado como una respuesta de adaptación homeostática a la desnutrición prolongada.

Ghrelin y su relación con el eje Hipotálamo-Hipofiso-Adrenal

Los niveles del cortisol plasmáticos están elevados en la anorexia nerviosa y en otros estados que cursan con un desbalance nutricional, y delgadez; y declinan cuando se produce un ascenso del peso corporal. No obstante, el ritmo diurno de secreción de este esteroide no está alterado^(24,44,45).

Similarmente a los hallazgos en experiencias efectuadas en animales estresados sometidos a dietas restrictivas, se ha observado que las pacientes con anorexia nerviosa presentan un aumento en la síntesis de CRH, según se pudo constatar en estudios efectuados en líquido céfalo-raquídeo de estas enfermas⁽⁴⁶⁾.

Investigaciones "in vitro" demuestran que el Ghrelin promueve en el hipotálamo la síntesis del CRH y el de la de arginina-vasopresina, ambos considerados como potentes estimulantes del ACTH. No han sido descritos efectos directos del Ghrelin en la hipófisis o en la glándula adrenal⁽⁴⁷⁻⁴⁸⁾. Los mecanismos de esta interrelación Ghrelin-CRH a nivel hipotalámico son complejos. Investigaciones en animales demuestran una estimulación directa del CRH. Por otro lado, el Ghrelin puede estimular al neuropéptido Y (NPY) y éste, a su vez, bloquea las interneuronas que sintetizan el GABA, evitando así, la acción inhibitoria que ejerce normalmente este neurotransmisor sobre las neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo productoras de CRH⁽⁴⁹⁾.

Estos hallazgos plantean algunos interrogantes. El CRH es una hormona anorexígena, mientras que el Ghrelin es un orexígeno. Hipotéticamente, es posible que el Ghrelin podría ejercer sus acciones a través de diferentes subgrupos de receptores GH-secretagogos⁽²⁹⁾. Algunos de estos receptores podrían estar ubicados en las neuronas que sintetizan péptidos orexígenos, mientras que otros estarían más relacionados con neuronas secretantes de CRH, para contribuir entonces, en la activación del eje adrenal. Por otro lado, éste constituye un factor importante en la fisiopatología de la disfunción gonadal de la AHF^(50,51).

Conclusiones

El Ghrelin desarrolla una amplia variedad de efectos sobre distintos ejes neuroendocrinos y vías metabólicas, particularmente involucradas en los controles del peso corporal y crecimiento. El descenso de los niveles de leptina y el ascenso del Ghrelin observados en la AHF, influyen en la actividad de varios sistemas hormonales, entre ellos, el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal. La activación de estos ejes está destinada a mantener la homeostasis metabólica frente al desequilibrio del balance energético (consumo/gasto calórico) de estas pacientes mal nutridas. Esta movilización de neuropéptidos centrales y periféricos está destinada a facilitar el aporte de nutrientes metabólico-energéticos en estas pacientes, frecuentemente osteoporóticas, inmunodeprimidas y alto riesgo cardiovascular. Por otro lado, la hiperactividad del eje H.H.- adrenal y sus interrelaciones con el eje gonadal constituye un aspecto "clave" en la fisiopatología de la disfunción gonadal que caracteriza a este síndrome.

Agradecimientos por su valiosa colaboración:

Sra. Nora Klass
Dra. Beatriz Tepper

Bibliografía

- 1 **Fiszlejder L.** Etiopatogenia de la amenorrea hipotalámica funcional. Interacción de las respuestas hormonales del Sistema Nervioso Central y Neuropéptidos Periféricos. *Rev Argent Endocrinol Metab* 45(2):75-88.2008.
- 2 **Doucet E., Inbeault P., St Pierre S. y col.** Appetite after weight loss by energy restriction and low-fat-diet-exercise follow-up. *Int.J.Obes* 24 : 906-914 .2000 .
- 3 **Doucet E., St Pierre S., Almèras N. y col.** Changes in energy expenditure and substrate oxidation resulting from weight loss in obese men and women is there an important contribution of leptin ? . *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85 : 1550-1556 .2000 .
- 4 **Verdich C. , Toubro S., Buermann B. y col.** Leptin levels are associated with fat oxidation and dietary-induced weight loss in obesity. *Obes. Res.* 9 ; 452-461 .2001 .-
- 5 **Dulloo A.G. , Jacquet J. , Girandier L.** Post starvation hypophagia and body fat overshooting in humans : a role for feedback signals from lean and fat tissues .*Am. J.Clin. Nutr.* 65 :717-723. 1997.
- 6 **Doucet E. , St Pierre S. , Almèras N. y col.** Evidence for the existence of adaptive thermogenesis during weight loss .*Br J. Nutr.* 85 : 715-723 . 2001.
- 7 **Zigman J.M. y Elmquist J.K.** Minireview: from anorexia to obesity – the yin and yang of body weight control . *Endocrinology* .144 : 3749-3756. 2003 .
- 8 **Doucet E., Pomereau M. y Harper M.E.** Fasting and post prandial total Ghrelin remain unchanged after short term energy restriction. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 89:1727-1732 2004.
- 9 **Alamizu T., Takaya K. , Irako T. y col.** Pharmacokinetics, safety and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects .*Europ.J. Endocrinol.* 150 : 447-455 .2004.
- 10 **Ghizzoni L., Mastorakos G., Vottero A. y col.** Spontaneous growth hormone (GH) secretion is not directly affected by Ghrelin in either short normal prepubertal children or children with GH secretory dysfunction . *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 89 : 5488-5495 .2004
- 11 **Nakagawa E., Nagaya N. , Okumura H. y col.** Hyperglycaemia suppresses the secretion of

- Ghrelin, a novel growth-hormone-releasing peptide: response to intravenous and oral administration of glucose. *Clin. Sci.* 103 : 325-328 2002.
- 12 **Wren A.M., Seal L.J., Cohen M.A. y col.** Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J. Clin. Metab.* 86 : 5992-5995 .2001.
 - 13 **Muccioli G., Tschop M., Papotti M. y col.** Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur. J. Pharmacol.* 440 : 235-254 . 2002.
 - 14 **Ukkola O.** Ghrelin and insulin metabolism. *Eur. J. Invest* 33 : 183-185 .2003.
 - 15 **Weigle D.S., Cummings D.E., Newby P.D. y col.** Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat high carbohydrate diet. *J. Clin. Endocrinol Metab* 88 :1577-1586.2003 .
 - 16 **Cummings D.E., Foster K.E.** Ghrelin-leptin tango in body weight regulation. *Gastroenterology* .124 :1532-1535 .2003 .
 - 17 **Asakawa A., Inui A., Kaga T. y col.** Ghrelin is an appetite stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 120 : 337-345 2001.
 - 18 **Broglio F., Arvat E., Benso A. y col.** Ghrelin a natural GH secretagogue produced by the stomach induced hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 : 5083-5086 . 2001.
 - 19 **Broglio F., Gottero C., Benso A. y col.** Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine or free fatty acids load in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88 : 4268-4272 . 2003
 - 20 **Matura M., Okimura Y., Ida K. y col.** Ghrelin modulates downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J. Biol. Chem.* 277: 5667-5674 . 2002.
 - 21 **Gauna C., Patric J.D., Delhanty L. y col.** Ghrelin stimulates, whereas desoctanoyl Ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90 : 1055-1060. 2005 .
 - 22 **Wisse B.E., Frayo R.S., Scharz M.W. y col.** Reversal of cancer anorexia by blockade of central melanocortin receptors in rats. *Endocrinology* 142 :3292-3301 . 2001 .
 - 23 **Nagaya N., Uematsu M., Kojima M. y col.** Elevated circulating levels of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 104 : 2034-2038 .2001
 - 24 **Tole V., Kadem M., Blubet-Pajot M.T y col.** Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. *J. Clin. Endocrinol.* 89 :109-116.2003 .
 - 25 **Otto B., Cuntz U., Fruehau E. y col.** Weight gain decreases elevated plasma concentrations of ghrelin in patients with anorexia nervosa. *Eur. J. Endocrinol* 145 : 669-673 .2001.-Tanaka M., Talebe Y. Nakahara T. y col. Eating pattern and the effect of oral glucose on ghrelin and insulin secretion in patients with anorexia nervosa. *Clin. Endocrinol. (oxf).* 59: 574-579 . 2003.
 - 27 **Shiiba T., Nakazato M., Mizuta M. y col.** Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effects of glucose on ghrelin secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87 : 240-244.2002
 - 28 **Moneleone P., Bencivenga R., Lombardi N. y col.** Differential responses of circulating ghrelin to high-fat or high carbohydrate meal in healthy women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88 : 5510-5514. 2003
 - 29 **Yen S.S.C.** The human menstrual cycle: Neuroendocrine regulation. "En Yen S.S.D. and Jaffe R.B. (ed) Reproductive Endocrinology. Philadelphia W.B. Saunders. P 273-308.1991.
 - 30 **Egido E.M., Rodríguez Gallardo J., Silvestre R.A. y col.** Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Europ. J. Endocrinol* 146 : 241-244 .2002 .
 - 31 **Saad M.F., Bernaba B., Hwu C.M. y col.** Insulin regulates ghrelin concentrations. *J. Clin. Endocrinol Metab.* 87 : 3997-4000. 2002.
 - 32 **Blat S., and Malbert C.H.** The vagus is inhibitory of insulin secretion under fasting conditions. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 281 : E782-788.2001.
 - 33 **Date Y., Nakazato M., Hashiguchi S. y col.** Ghrelin

- is present in pancreas alfa cells of human and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 51 : 124-129.2002.
- 34 **Date Y., Murakami N., Toshinai K. y col.** The role of gastric afferent vagal nerve in ghrelin induced feeding and growth hormone secretion. *Gastroenterology* 123 : 1120-1128. 2000.
- 35 **Broglio F., Koetsveld P., Benso A. y col.** Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans, *J.Clin.Endocrinol. Metab.* 87 ;4829-4832. 2002
- 36 **Shimada M., Date Y., Mondal M.S. y col.** Somatostatin suppress ghrelin secretion from the rat stomach *Biochem. Biophys. Res. Commun* 302 :520-525 .2003.
- 37 **Muccioli G., Tschop M., Pappoi M. y col.** Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin : implications in metabolism and obesity. *Eur. J. Pharmacol.* 440 :235-254 2002.
- 38 **Arosio M., Ronghi C.L., Beck-Pecoz P., Gebbia C. y col.** Effects of modified sham feeding on ghrelin levels in healthy human subjects. *J.Clin. Endocrinol.Metab.* 89 : 5101-5104. 2004.
- 39 **Willians D.L., Grill H.J., Cummings D.E. , y col.** Vagotomy dissociated short and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 144 : 5184-5187 .2003.
- 40 **Date Y., Murakami M., N., Toshinai K. y col.** The role of gastric afferent vagal nerve in ghrelin induced feeding in rats *Gastroenterology.* 123 ; 1120-1128 .2002.
- 41 **Chan H. , Murakami N., Lee J.H. y col.** Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 89 :335-343 .2004
- 42 **Arosio M., Ronchi C. L., Gebbia C. y col.** Stimulatory effects of ghrelin on circulating somatostatin and pancreatic polypeptide levels. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* . 88 :701-712. 2003.
- 43 **Englis P. J. , Ghatei M. A., Malk I. A. y col.** Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans *J.Clin.Endocrinol. Metab* 87 : 2984-2987.2002.
- 44 **Boyar R. M., Helman L. D., Roffwarg H., Katz J. y col.** Cortisol secretion and metabolism in anorexia nervosa. *N. Engl. J.Med.* 296 ; 190-193 .1977 .
- 45 **Gold P. W. Gwirtsman H., Avgerinos P.C. y col.** Abnormal hypothalamic –pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanism in underweight and weight corrected patients. *N. Engl.J.Med.* 314 : 1325-1342. 1986 .
- 46 **Hotta M., Shibasaki T., Masuda A. col.** The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotrophin-releasing-hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 62 : 319-324.1986.
- 47 **Wren A. M., Small C. J., Fribbens C. V. y col.** The hypothalamic mechanism of the hypophysiotropic action of ghrelin. *Neuroendocrinology* 76 ; 316-324.2002.
- 48 **Mozid A. M., Tringali G., Forsling M. L. y col.** Ghrelin is released from rat hypothalamic explants and stimulates corticotrophin –releasing hormone and arginine-vasopressin. *Horm. Metabol. Res.* 35 ; 455-459.2003.
- 49 **Korbonits M. y Grossman A. B.** Ghrelin uptake on a novel hormonal system. *Europ.J. of Endocrinol.*151 ; 567-570.2004
- 50 **Gnanapavan S., Kola B., Bustin S.A. y col.** The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R in humans.*J.Clin.Endocrinol.Metab.* 87 : 2988-2996.2002.
- 51 **Cowley M. A. Smith R.G., Diano S. y col.** The distribution and mechanism of action ghrelin in the CNS demonstrate a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron.* 37 :649-661.2003.
- 52 **Rizzo M. R, Paolisso R., Grella R. y col.** Is dermolipectomy effective in improving insulin action and lowering inflammatory markers in obese women. *Clin-Endocrinol (Oxf)* 63;253-258. 2005
- 53 **Nakai Y. Hosada H. ,Nin K. y col.** Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa.*Eur J. Endocrinol* 149:R1-R3. 2003.

- 54 **Nedvidkova J., Ktykorkova I., Barak V. y col.** Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 88 : 1578-1682. 2003
- 55 **Hotta M. , Ohwada R., Katakami H. y col.** Plasma levels of intact and degraded ghrelin and their responses to glucose infusion in anorexia nervosa. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 89 :5707-5712. 2004.
- 56 **Espelun U., Krarup T., Hojlund K. y col.** Fasting Unmasks a strong inverse association between Ghrelin and cortisol in studies in obese and normal-weight subjects. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 90:741-746..2005
- 57 **Takano R., Okimura Y., Iguchi G. y col.** Intravenous administration of ghrelin stimulates growth hormone secretion in vagotomized patients as well as normal subjects. *Europ. J. of Endocrinol.* 151:147-150 .2004-
- 58 **Gaudillo O., Caminos J., Blanco M. y col.** Ghrelin a novel placental derived hormone .*Endocrinology.*142 :788-794.200.
- 59 **Volante M., Alilla F., Gugliotta y col.** Expression of ghrelin and of the secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors .*J.Clin. Endocrinol. Metab.* 87:1300-1308. 2002.