

---

## REVISIÓN

---

# Interacciones de la respuesta del eje somatotrófico en la amenorrea hipotalámica funcional relacionada con la desnutrición

## The activity of the somatotrophic function in Functional Hypothalamic Amenorrhea (FHA) related to undernourishment

Fiszlejder L.

Excoordinador del Sector Neuroendocrinología. Servicio de Endocrinología. Hospital Carlos G. Durand. Buenos Aires. Argentina.

---

### RESUMEN

La función somatotrófica en la amenorrea hipotalámica funcional (AHF) exhibe un aumento central de su actividad y paradójicamente, el comportamiento hormonal periférico, el metabolismo intermedio y varios aspectos clínicos pueden ser compatibles con los observados en la insuficiencia del eje somatotrófico.

Los niveles basales y la secreción diaria de GH son altas, pero su perfil pulsátil es irregular. En virtud de ello, se produce una resistencia a la GH, con disminución de los receptores de la hormona, que, sumado al descenso de la proteína ligadora de GH (GH binding protein, GHBP), alteran su capacidad de estimular en el hígado las síntesis de IGF-I, IGFBP-3 y la de la subunidad ácido-lábil. Ello disminuye la disponibilidad de IGF-I libre en los tejidos.

Por otro lado, los IGFBP-1 y IGFBP-2 aumentan significativamente. Si bien estos péptidos son regulados por la GH, aparentemente resulta ser más importante su correlación inversa con la actividad de la insulina (que se encuentra disminuida en estas pacientes) y con el bajo aporte proteico de las dietas. El aumento de los niveles séricos de estos péptidos también contribuye al descenso de la IGF-I libre. Las alteraciones en la dinámica de secreción inducen a una reducción de la concentración de la leptina (una adipokina) y al aumento de la ghrelina (la cual, a su vez, facilita la secreción de GH) y presentan una destacada incidencia en el metabolismo intermedio de estas pacientes desnutridas. Estos cambios hormonales pueden ser interpretados como un mecanismo de adaptación homeostática tendiente a preservar la disponibilidad de los nutrientes energéticos. En relación a ello, existe inicialmente un predominio de la lipólisis, seguido de proteólisis a nivel muscular. Si la restricción dietética continúa, se desarrolla en el hígado y en el tejido muscular, un proceso de neogluco-génesis utilizando como sustrato, las proteínas y los NEFA. Ello es seguido por la gluconeólisis que aporta glucosa. No obstante, el aumento de los ácidos grasos libres y eventualmente la aparición de cuerpos cetónicos cuando la alimentación es muy restringida, sugieren la presencia de acidosis metabólica.

Este estadio clínico implica un aumento del riesgo cardiovascular y la posibilidad de muerte prematura o súbita, una eventualidad latente en las pacientes con AHF y desnutridas. **Rev Argent Endocrinol Metab 48: 38-50, 2011**

El autor declara no poseer conflictos de intereses.

**Palabras clave:** Amenorrea - GH - Ghrelina - Resistencia a GH - IGF-I

### ABSTRACT

The activity of the somatotrophic function in Functional Hypothalamic Amenorrhea (FHA) is increased at the central level, and paradoxically, the peripheral hormonal behaviour, intermediate metabolism and several clinical aspects may be similar to those observed in somatotrophic axis deficiency.

Baseline and daily GH secretion levels are high, but its pulsatile profile is irregular. This results in resistance

to GH, i.e., downregulation of hormone receptors, which, together with the decrease in GH binding protein (GHP), impair GH ability to stimulate the synthesis of IGF-I, IGFBP-3 and the acid-labile subunit in the liver. This causes a decrease in the availability of free IGF-I in tissues.

In addition, IGFBP-1 and IGF-BP2 significantly increase. Even if these peptides are regulated by GH, their inverse correlation with insulin activity (which is decreased in these patients) and the low protein diet, respectively, appear to be more important factors. The increase in the serum levels of these peptides also contributes to the decrease in free IGF-I.

Alterations in secretory patterns lead to a decrease in leptin concentration (an adipokine) and to an increase in Ghrelin, which, in turn, facilitates GH secretion and has a remarkable incidence in intermediate metabolism in these undernourished patients.

These hormonal changes can be interpreted as a mechanism of homeostatic adaptation tending to preserve availability of energetic nutrients. Thus, there is an initial predominance of lipolysis followed by proteolysis at muscle level. If dietary restriction continues, a process of neoglucogenesis occurs in the liver and muscle tissue, with proteins and free fatty acids (NEFAs) being used as substrates. This is followed by glycogenolysis, which produces glucose. However, the increase in NEFAs and the potential presence of ketone bodies in highly restricted diets, suggest the presence of metabolic acidosis. This clinical condition implies an increased cardiovascular risk and the possibility of premature death, a potential outcome in undernourished patients with FHA. **Rev Argent Endocrinol Metab 48: 38-50, 2011**

No competing financial interests exists.

**Key words:** Amenorrhea - GH - Ghrelin - GH Resistance - IGF-I

---

## INTRODUCCIÓN

En dos publicaciones anteriores realizadas en esta revista<sup>(1,2)</sup> efectuamos una revisión de la etiopatogenia y fisiopatología de la amenorrea hipotálamica funcional (AHF) relacionada con el desequilibrio metabólicoenergético observado en la desnutrición. De acuerdo a ello, analizamos globalmente los neuropéptidos hipotalámicos involucrados en la movilización de metabolitos nutritivoenergéticos (hidratos de carbono, proteínas y lípidos) tendientes a preservar la homeostasis metabólica.

En estos trabajos destacamos que en este proceso, participa un "circuito central" compuesto principalmente por neuropéptidos hipotalámicos: CRH-ACTH (+ cortisol), GHRH (+ GH) y GnRh (+ FSH, LH), interrelacionado, a su vez, con otro "circuito periférico" constituido por los péptidos provenientes del tejido adiposo (leptina, adiponectina, entre otras citocinas), del tracto gastrointestinal (que sintetiza la ghrelin), del páncreas que aporta la insulina y del hígado donde se sintetizan los IGFs<sup>(2)</sup>.

En la actual revisión analizamos los componentes central y periférico del eje somatotrófico y su influencia en la homeostasis metabólica de estas enfermas anoréxicas, quienes frecuentemente están desnutridas.

## Secreción de somatotropina (GH) en la AHF

Las enfermas con AHF que cursan con un desbalance energético (alteración de la relación consumo/gasto calórico) o con franca desnutrición, presentan niveles séricos normales o normales altos de GH<sup>(3)</sup>.

Existe una correlación inversa entre las concentraciones de GH y el peso o el índice de masa corporal (IMC)<sup>(5)</sup>. Se ha reportado asimismo que, entre otros estímulos, la respuesta a la clonidina (un agonista adrenérgico) está bloqueada, insinuando así una alteración funcional del hipotálamo en la regulación de la GH<sup>(4)</sup>.

Cuando la restricción alimenticia es prolongada, se desarrolla una resistencia a la GH y el consiguiente incremento relativo de sus niveles basales<sup>(5)</sup>. Estudios efectuados sobre la secreción espontánea e integrada de 24 h. demuestran un significativo aumento de esta hormona<sup>(6)</sup>. Sin embargo, en virtud de la resistencia a la GH, los niveles de IGF-I son bajos en la anorexia nerviosa y en otras mujeres amenorreicas malnutridas<sup>(7-9)</sup>. Este péptido normalmente activa en el hipotálamo la síntesis de somatostatina y mediante ello, inhibe la secreción de GHRH, con el consiguiente descenso de la GH. El descenso de IGF-I en estas pacientes disminuye su actividad normalmente estimuladora de la síntesis de somatostatina en el

hipotálamo, favoreciendo así, mediante esta forma indirecta, la secreción de GH de estas mujeres<sup>(6,9)</sup>. No obstante, no siempre las anormalidades revierten con la recuperación del peso corporal mediante el consumo de dietas adecuadas<sup>(5)</sup>. Evidentemente existen otros factores relacionados con la desnutrición, que pueden estar involucrados en esta compleja fisiopatología.

Una serie de investigaciones confirman estas alteraciones funcionales a nivel hipotalámico en el control de la secreción de GH. De acuerdo a ello, se han mencionado respuestas atenuadas de GH postestímulo con L-dopa o clonidina y aumentadas con la administración aguda de GHRH o TRH y ocasionalmente, también se ha observado un incremento paradójico durante el test de inhibición de GH mediante una sobrecarga oral de glucosa<sup>(9-11)</sup>. Asimismo, el 70 % de estas mujeres amenorreicas no logra suprimir los niveles de GH a menos de 1.0 ng/ml durante este test, tal como puede ser observado en las adolescentes sanas<sup>(10, 11)</sup>.

Por otro lado, los niveles basales de ghrelina de estas pacientes son generalmente superiores a los hallados en las anoréxicas que inhiben adecuadamente la GH. Además, tampoco este péptido es suprimido con la ingestión de alimentos<sup>(12,13)</sup>.

En función de éstas y otras investigaciones y el hallazgo de concentraciones menores de somatostatina en líquido cefalorraquídeo en relación con las observadas en los controles normales<sup>(9,14,15)</sup>, se podría inferir que la actividad de la somatostatina en el hipotálamo, está disminuida en los procesos de desnutrición prolongada de las mujeres con AHF.

La secreción pulsátil de GH está aumentada y es irregular<sup>(6)</sup>. Se ha interpretado que el ascenso de la GH basal podría ser secundario a la mencionada reducción del tono somatostatinérgico, mientras que el aumento de la secreción pulsátil de la GH representaría principalmente una mayor descarga de secreción rítmica de GHRH hacia la hipófisis<sup>(29)</sup>. El peso y más aún la composición corporal y posiblemente los niveles de estradiol fueron considerados como principales factores que intervienen en esta patología para regular la secreción de GH<sup>(9-29)</sup>.

Algunas mujeres con AHF que cursan con un peso corporal normal, generalmente presentan concentraciones integradas de 24 h de GH similares a las observadas en los controles normales<sup>(29)</sup>. Sin embargo, las pacientes amenorreicas desnutridas exhiben múltiples alteraciones del

perfil secretorio de GH. Si bien la vida media de la hormona es similar a la de los controles normales, las concentraciones integradas de las 24 h., la producción diaria y la secreción nocturna están significativamente elevadas<sup>(6,28)</sup>.

El análisis matemático computarizado mediante la técnica de deconvolución, revela una secreción pulsátil irregular, con un aumento de la frecuencia e intervalos interpulsos más cortos y duración prolongada de las ondas pulsátiles<sup>(6)</sup>. Además, la amplitud o masa (área bajo la curva) de los picos pulsátiles están aumentadas<sup>(6,103)</sup>. El hipoestrogenismo de estas pacientes amenorreicas, actuando en la unidad hipotálamohipofisaria, probablemente es uno de los factores responsables del incremento de la frecuencia de la GH<sup>(104)</sup>.

El aumento de los niveles séricos de GH en la AHF habitualmente asociado a la desnutrición, es inducido por las alteraciones de la síntesis de IGF-I en el hígado. Ello es secundario a un hipoinulinismo relativo y a la colaboración del hipercortisolismo, omnipresente en esta patología<sup>(9)</sup>.

A nivel hipotalámico, la atenuación del "feedback" negativo que normalmente ejerce la IGF-I a este nivel, provoca un desenfreno de la actividad pulsátil del GHRH, la cual se superpone con una disminución del tono somatostatinérgico. La hipoleptinemia de estas pacientes que cursan con un bajo peso y reducción de la masa grasa corporal favorece la activación del eje hipotálamohipofisoadrenal, anteriormente mencionada<sup>(1,2,9,26,29,34)</sup>. Si la restricción alimenticia es mantenida y las alteraciones del perfil de secreción pulsátil de GH persisten, se desarrolla una resistencia a la GH. Secundariamente a ello, las concentraciones séricas de IGF-I son bajas en la anorexia nerviosa y en otros estados clínicos que cursan con mala nutrición<sup>(9)</sup>.

A nivel central, normalmente, la IGF-I estimula en el hipotálamo la síntesis de somatostatina para inhibir finalmente la secreción de GH. Una serie de investigaciones sugieren que la síntesis de somatostatina está alterada en estas pacientes.

### Secreción de somatostatina en la AHF

Es aceptado el concepto de que en los normales la administración de carbohidratos desciende los niveles de GH mediante la inhibición de la síntesis del GHRH y/o por el estímulo de la somatostatina en el hipotálamo. En cambio, la sobrecarga

aguda de glucosa no logra generalmente inhibir adecuadamente la GH de las pacientes con AHF. Ello sugiere nuevamente que la actividad somatostatínérgica está disminuida en estas mujeres que cursan con desnutrición prolongada<sup>(14)</sup>.

Existen estudios que avalan estas hipótesis. Se ha reportado que las concentraciones de somatostatina en líquido cefalorraquídeo son bajas en las pacientes con anorexia nerviosa<sup>(15)</sup>. Los agonistas muscarínicocolinérgicos, tales como la pyridostigmina o la pilocarpina potencian la respuesta de GH al estímulo con GHRH o a los ejercicios físicos<sup>(16-20)</sup>. La administración de pyridostigmina disminuye en el hipotálamo la secreción de somatostatina. Este fármaco es capaz de potenciar la secreción de GH provocada por el estímulo con GHRH en los controles normales<sup>(21)</sup>. No obstante, este efecto está ausente en las mujeres con anorexia nerviosa. La pirenzepina, un antagonista de los receptores colinérgicomuscarínicos, no logra bloquear en estas pacientes la respuesta de la GH al estímulo con GHRH. Estos hallazgos son compatibles con la hipótesis que sugiere la existencia de un tono somatostatínérgico crónicamente disminuido en esta patología, lo que facilita la secreción de GH<sup>(17-24)</sup>.

### Interrelaciones de los ejes hipotálamo-hipófiso-adrenal y somatotrófico

La activación del CRH en el hipotálamo ejerce una importante influencia sobre varios aspectos de la fisiopatología de la AHF<sup>(2)</sup>. Ello no sólo se limita a la disfunción gonadal, modificaciones del metabolismo intermedio y fosfocálcico o del sistema inmunológico, sino que también incide en la actividad del eje somatotrófico<sup>(15)</sup>. El hipercortisolismo, omnipresente en la AHF, inhibe la secreción de GH espontánea y la estimulada por el GHRH<sup>(2,9,25)</sup>. Este bloqueo no es absoluto, ya que las concentraciones séricas basales de GH son moderadamente altas. Probablemente, según nuestra interpretación, el hipercortisolismo representa un efecto homeostático equilibrante destinado a impedir una mayor elevación de los niveles de GH.

Las concentraciones basales de cortisol están inversamente correlacionadas con los picos máximos de GH postestímulo mediado por la administración de pyridostigmina asociada al GHRH. Ello sugiere que la actividad de las neuronas hipotalámicas que sintetizan CRH y somatostatina están negativamente correlacionadas.

Se ha demostrado que además de inhibir la secreción de GH, el CRH posee propiedades anorexígenas<sup>(24, 25)</sup>. Por otro lado, la hiperactividad de este neuropéptido tiene importantes implicancias en otras manifestaciones clínicas y psicosomáticas de esta patología. Entre ellas, se pueden destacar la depresión u otras alteraciones conductuales, la disfunción gonadal y osteoporosis<sup>(9)</sup>.

Las neuronas que sintetizan el CRH están localizadas principalmente en el Núcleo Paraventricular (NPV) del hipotálamo, cuyos axones se proyectan hacia el Núcleo arcuato y la eminencia media del hipotálamo para transportar el CRH, a través de los vasos portales, hacia la hipófisis. Múltiples poblaciones de neuronas con receptores de este neuropéptido han sido localizadas en varias regiones del cerebro<sup>(33-37)</sup>. En relación a ello, la experimentación en animales permite comprobar que además de sus propiedades anorexígenas<sup>(33)</sup>, el CRH posee efectos estimulantes del "arousal" (despertar) y de la actividad locomotriz, de la ansiedad y promueve acciones relacionadas con la conducta<sup>(36-39)</sup>. Estos hallazgos resultan interesantes, ya que alguno de estos aspectos psicosomáticos son observados frecuentemente en pacientes<sup>(9)</sup>.

Anteriormente hemos mencionado que el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal ejerce en los controles normales una acción inhibitoria sobre la secreción pulsátil espontánea y estimulada de GH y que el hipercortisolismo prolongado suprime la respuesta de GH Postestímulo con GHRH<sup>(9, 24)</sup>. Ello sugiere que la actividad del CRH y la secreción de GH están inversamente correlacionadas en estas enfermas malnutridas. Se ha postulado que este efecto inhibitorio del CRH sobre el eje somatotrófico estaría mediado a través del estímulo secretorio de somatostatina. En relación a ello, se ha observado que la pyridostigmina, (un agonista colinérgico que bloquea en el hipotálamo la secreción de somatostatina), potencia la respuesta somatotrófica postestímulo con GHRH en los controles normales. No obstante, este efecto está ausente en las pacientes con anorexia nerviosa, evidenciando así que el tono somatostatínérgico está disminuido en esta patología<sup>(14)</sup>.

Existen estudios en ratas, donde es posible observar que la administración de somatostatina contrarresta la acción anorexígena del CRH<sup>(41)</sup>. Este desequilibrio entre el funcionamiento de estas hormonas puede tener una importante implicancia en la patología de la AHF. Probablemente, el descenso de la somatostatina tendería a perpetuar

la acción anorexígena originada por el ascenso del CRH y su consiguiente repercusión sobre los otros ejes hipotalámicos, entre ellos, el gonadal y el somatotrófico<sup>(2,9)</sup>. Se establece entonces un círculo vicioso y perverso por el cual la disminución del peso y/o la reducción de la grasa corporal y el consiguiente descenso de la leptina, promueven la secreción del CRH y sus acciones anorexígenas e inhibitoras de la función gonadal<sup>(35-41)</sup>.

### **Interrelaciones LEPTINA CRH y su relación con la secreción de GH en la AHF**

La leptina es una adipokina cuyos niveles séricos dependen del estado nutricional de los pacientes y están relacionados en el hipotálamo con la actividad de los neuropéptidos involucrados en la conducta nutritiva<sup>(2)</sup>. Sus niveles en sangre son bajos en la AHF. Existen fundamentadas evidencias de su participación en la regulación del eje somatotrófico<sup>(96)</sup>. Investigaciones en animales, señalan que la leptina estimula la secreción de somatostatina. La reducción de las concentraciones séricas de esta adipokina en estas mujeres adelgazadas y el consiguiente descenso de la somatostatina constituye otro de los factores “disparadores” de la hipersecreción de GH en estas pacientes<sup>(26-29)</sup>.

Existen subpoblaciones de neuronas ubicadas en núcleos hipotalámicos que sintetizan el Neuropéptido Y (NPY). Éstas, a su vez, se encuentran localmente interrelacionadas con las neuronas que secretan CRH. El NPY es un potente orexígeno. La leptina se comporta como un anorexígeno, en virtud de su comprobada capacidad de inhibir la síntesis del NPY en las ratas normales. En consecuencia, el descenso de leptina en la AHF induce la activación del circuito NPY-CRH; por otro lado, estos neuropéptidos también influyen en el funcionamiento del sistema somatostatina-GHRH-GH<sup>(2,9,27,31)</sup>.

El análisis en profundidad revela que estas interrelaciones son complejas. Se ha hallado co-expresión de los receptores de leptina y NPY en el núcleo arcuato de ratas con alimentación normal o restringida<sup>(30,32)</sup>. Asimismo, estas interrelaciones funcionales, se han observado en fragmentos de los núcleos arcuato y paraventricular hipotalámicos perfundidos con leptina y corticosterona, pero no en ausencia de este esteroide<sup>(34)</sup>. Por otro lado, la relación leptina-NPY también se manifiesta en neuronas hipotalámicas que coexpresan los

receptores de norepinefrina, galanina y GABA. Éstos son neurotransmisores que al estar funcionalmente relacionados con el NPY, configuran en el hipotálamo un sistema regulador del apetito y saciedad<sup>(34)</sup>.

Surge entonces, como conclusión, que el descenso de la leptina (un reflejo del estado nutricional) seguido por el ascenso del NPY, al inducir la activación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal constituye uno de los aspectos más importantes de la fisiopatología, ya que el ascenso prolongado de CRH en la AHF, además de inhibir la pulsatilidad del GnRH, probablemente también interfiere la actividad de la somatostatina en el hipotálamo<sup>(1,2)</sup>.

### **Ghrelina: Efectos orexígenos y GH secretagogos en la AHF. Interrelaciones con el eje adrenal e insulina**

La ghrelina es un péptido sintetizado en el tracto gastrointestinal superior que se comporta como un potente GH secretagogo; sus niveles elevados en la AHF están inversamente correlacionados con la actividad de la insulina. Este péptido es un estimulador del apetito, y tiene una importante intervención en la homeostasis del metabolismo energético del organismo<sup>(2,42,43)</sup>. En una publicación anterior<sup>(80)</sup>, hemos efectuado una revisión con un enfoque particular de los aspectos relacionados con la intervención de la ghrelina en la fisiopatología del desequilibrio metabólicoenergético observado en la AHF.

Además del metabolismo, este péptido está involucrado en una amplia variedad de acciones: entre ellas, destacamos sus influencias en el funcionamiento de los aparatos gastrointestinal, cardiovascular, gonadal, sistema inmune, así como en el sueño y la memoria<sup>(97-99)</sup>.

En la presente revisión analizamos las interrelaciones de la ghrelina con la GH y otros ejes hipotalámohipofisarios. Los efectos centrales de la ghrelina son mediados a través de los núcleos arcuato e infundíbuloventricular del hipotálamo<sup>(44,46)</sup>. En esta área, la ghrelina se relaciona directamente con neuronas que sintetizan CRH, NPY y GHRH<sup>(47-50)</sup>. Existen diferentes subtipos de receptores de ghrelina; el 30 % de ellos se halla localizado en las neuronas del núcleo arcuato que sintetizan NPY, (un neuropéptido orexígeno). Si bien se considera que esta relación es el mecanismo principal de su acción, se ha observado la

estimulación del apetito durante la administración de ghrelina a roedores genéticamente NPY deficientes. Ello sugiere que la presencia de este neuropéptido no es obligatoria para que la ghrelina ejerza su efecto orexígeno<sup>(49, 81-83)</sup>. Posiblemente también intervengan otros factores<sup>(9,42,43,49)</sup>.

Se ha hallado una colocalización de la “Agouti-related-peptide” (AgRP), otro neuropéptido orexígeno, con el NPY en el núcleo arcuato y se ha observado en la experimentación animal, un aumento del RNAm de estos péptidos durante la administración central de ghrelina<sup>(82)</sup>. Se ha postulado que el NPY y la AgRP configuran un sistema orexígeno interrelacionado y que ambos son estimulados por la ghrelina para manifestar este efecto<sup>(42,43,49)</sup>.

No menos importantes son las consideraciones acerca de las relaciones de la ghrelina con el eje somatotrófico. La ghrelina activa sus receptores localizados en los núcleos arcuato y ventromedial del hipotálamo que coexpresan GHRH<sup>(83-85)</sup>. La inmunoneutralización del GHRH endógeno virtualmente bloquea totalmente la respuesta de GH a la ghrelina, sugiriendo que “in vivo”, esta respuesta requiere un funcionamiento intacto del GHRH<sup>(47)</sup>.

Se ha demostrado, en animales de experimentación, que su administración provoca directamente la liberación de GHRH en los vasos portales, sin influenciar la secreción de somatostatina<sup>(48)</sup>. Si bien estos estudios sugieren que la relación de la ghrelina con el GHRH es considerada como una de la más importante en la regulación del eje somatotrófico, el rol de la somatostatina también debe ser estimado.

Investigaciones en ratas, utilizando técnicas de hibridación “in vitro”, muestran una señal del RNAm de somatostatina en las células del núcleo arcuato secretantes de GHRH, uno de los órganos blanco de la ghrelina<sup>(84)</sup>.

Asimismo, se ha observado que la exposición a este péptido disminuye la expresión del RNAm de somatostatina en el hipotálamo de ratas<sup>(85)</sup>.

No se ha hallado una relación significativa entre la ghrelina y la secreción pulsátil de GH en animales o en humanos normales<sup>(86,87)</sup>. Estudios del perfil de secreción pulsátil de GH y ghrelina durante un ayuno relativamente breve, no han logrado demostrar una concordancia entre los pulsos de GH y la ghrelina. Asimismo, el aumento nocturno de la actividad pulsátil de GH y el incremento de los niveles séricos basales ghrelina

no están correlacionados<sup>(100)</sup>. No obstante, otros estudios señalan que este péptido puede jugar un rol permisivo o sinérgico de la secreción de GH<sup>(101-102)</sup>. En relación a ello, se ha comprobado que la administración prolongada de compuestos GH secretagogos, inducen un aumento de la amplitud de los pulsos de GH mediante la amplificación de la actividad pulsátil del GHRH endógeno<sup>(101,102)</sup>.

Las investigaciones del perfil de la secreción espontánea de la GH en las mujeres con anorexia nerviosa, sugieren que los niveles séricos altos de ghrelina, pueden ser en ellas, un factor importante que incide en el aumento de la actividad pulsátil de la GH<sup>(51)</sup>. No obstante, la respuesta de la GH post estímulo con ghrelina está atenuada. Ello sería atribuible, entre otros factores, a la hiperactividad del eje adrenal, una manifestación constante en la AHF<sup>(2,9)</sup>. Este bloqueo de la respuesta de la GH a la ghrelina también fue mencionado en el síndrome de Cushing<sup>(52)</sup>. Hipotéticamente se puede interpretar que la activación del eje adrenal en la AHF podría ser un efecto homeostático tendiente a modular la respuesta somatotrófica a la ghrelina, un potente estimulador de la secreción de GH.

La interrelación de la secreción de ghrelina con la actividad del eje adrenal está también presente en la AHF. La administración aguda de este neuropéptido en humanos estimula el eje adrenal en forma más intensa que la inducida por la arginina-vasopresina o el CRH<sup>(88,97)</sup>.

La ghrelina estimula este eje mediante mecanismos que involucran al CRH, AVP y GABA<sup>(49)</sup>.

La activación de este sistema hipotalámico inducida por el ascenso de la ghrelina y adicionalmente, el descenso de la leptina, constituye un aspecto clave en la fisiopatología de la disfunción gonadal en la AHF de estas pacientes malnutridas<sup>(80,96-98)</sup>.

Por otro lado, estas interrelaciones de la ghrelina con los ejes somatotrófico y adrenal, también tienen otras implicancias independientes de las relacionadas con el metabolismo energético<sup>(1,2)</sup>.

Se ha mencionado que la anorexia nerviosa presenta una hiperactivación del sistema límbico-hipotalámico-hipofisario-adrenal en respuesta a factores estresantes crónicos<sup>(53)</sup>.

Estas observaciones pueden ser relevantes si se tiene en cuenta que este sistema está involucrado en la fisiología del sueño y en varios aspectos relacionados con alteraciones de la conducta, que frecuentemente están presentes en esta patología psicopatológica<sup>(9)</sup>.

No menos importante, es destacar la interrelación de la ghrelina con la insulina en estas pacientes, que habitualmente cursan con alteraciones del metabolismo intermedio.

Se ha hallado expresión de ghrelina RNA m en las células alfa del páncreas endocrino y una correlación negativa entre las concentraciones séricas de ghrelina e insulina en los controles normales<sup>(89, 90)</sup>. De acuerdo a ello, la administración de ghrelina induce un descenso de los niveles de insulina y el consiguiente ascenso de la glucemia<sup>(91)</sup>. Por otro lado, la insulina inhibe la síntesis de ghrelina<sup>(92)</sup> y se ha observado que la secreción de este neuropéptido es inhibida durante el test de tolerancia a la insulina<sup>(92)</sup> o por la administración endovenosa de glucosa o de arginina, dos reconocidos estimulantes de la síntesis de insulina<sup>(93)</sup>.

No obstante, algunos investigadores consideran que la insulina es incapaz de suprimir la secreción de ghrelina “per se”. Ello es sugerido por estudios donde la administración de glucagón (un potente estimulador de la insulina), no logra modificar significativamente los niveles plasmáticos de ghrelina<sup>(94)</sup>. Esta relación inversa de la ghrelina/insulina está presente en las pacientes desnutridas con AHF, y se la encuentra acoplada a las alteraciones de los ejes somatotrófico y adrenal, para favorecer los procesos de lipólisis, proteólisis y neoglucogénesis y promover así la disponibilidad de los nutrientes energéticos necesarios para estas enfermas<sup>(2,9,95)</sup>.

Uno de los hechos más intrigantes y a su vez contradictorio de esta patología, es la existencia de ghrelina y secreción de GH elevadas en presencia de alteraciones del crecimiento y del metabolismo intermedio compatibles con las descritas en la insuficiencia del eje somatotrófico. La fisiopatología de esta resistencia a la GH es compleja.

### Resistencia periférica a la GH

La vida media de la GH no está alterada en las pacientes con AHF y en consecuencia, este parámetro no debe ser considerado como un factor responsable del aumento de los niveles séricos de la GH<sup>(9)</sup>. La secreción diurna de GH es moderadamente elevada, pero presenta un aumento muy significativo durante el sueño nocturno en la anorexia nerviosa<sup>(28)</sup>. No obstante, la disminución del número de sus receptores lleva a que la efectividad biológica esté reducida<sup>(6,8)</sup>. En relación a ello, la dinámica de

secreción de GH se encuentra alterada<sup>(3,6-8)</sup>. Estudios matemáticos computarizados de este perfil secretorio muestran una actividad pulsátil diaria de GH cuatro veces aumentada, con una secreción no pulsátil veinte veces incrementada en pacientes con anorexia nerviosa<sup>(6)</sup>.

El aumento de la secreción no pulsátil de esta hormona, ha sido atribuido a la reducción del tono somatostatínérgico, mientras que el incremento de la frecuencia pulsátil puede provenir de una mayor descarga de GHRH desde el hipotálamo<sup>(6)</sup>.

Las pacientes con amenorrea nerviosa y otras mujeres amenorreicas que cursan con desnutrición prolongada, presentan, de acuerdo a lo mencionado anteriormente, pulsos de GH generalmente irregulares, con un aumento de su frecuencia que resulta ser mayor que el de los valores de su amplitud. Esta desorganización del ritmo pulsátil induce, probablemente, un fenómeno de “down regulation” (desensibilización) de los receptores de GH en el hígado, alterando así, su capacidad para inducir la síntesis de IGF<sup>(54-56)</sup>.

Un 50 % de la GH circula unida a una proteína, “GH binding protein” (GHBP). Esta proteína puede ser considerada como un “marcador” indirecto de los receptores de GH. Se ha observado un significativo descenso de la GHBP en la anorexia nerviosa y en otras formas clínicas de la AHF que cursan con un desbalance calórico / energético<sup>(57,58)</sup>. Estos niveles bajos de GHBP han sido atribuidos a una alteración del clivaje enzimático de las beta proteínas que integran la estructura de estos receptores<sup>(7,55)</sup>. El descenso de la GHBP refleja en forma indirecta una disminución de la densidad de sus receptores y en consecuencia, una menor capacidad de la hormona para estimular la síntesis de IGF-I<sup>(59)</sup>.

Por otro lado, IGF-I ejerce normalmente un “feedback” positivo sobre la síntesis de somatostatina en el hipotálamo. Los bajos niveles de IGF-I en las mujeres con AHF malnutridas, provocan una reducción de la liberación de somatostatina y el consiguiente desenfreno de la secreción de GH<sup>(6,14,28,64-66)</sup>.

La incapacidad de la GH para estimular adecuadamente la síntesis de IGF-I en el hígado, no sólo afecta el peso y crecimiento corporal, sino que también influye sobre importantes aspectos relacionados con el metabolismo intermedio de los nutrientes, produciendo ciertos cambios que se asemejan a los mencionados en la insuficiencia del eje somatotrófico del hipopituitarismo presente

en otras etiopatogenias y que son también constatables en el ayuno prolongado<sup>(2,9)</sup>.

Los efectos de la desnutrición prolongada no solo se limitan al descenso del IGF-I, sino que también se extienden al IGF-II y sus correspondientes "binding proteins" y a la proteína de transporte de la GH (GHBP).

Además de los descensos de las concentraciones séricas de IGF-I anteriormente mencionados, se ha observado una moderada reducción de los niveles de IGF II y IGFBP-3 (una proteína GH dependiente).

Asimismo, las concentraciones de IGFBP-1 e IGFBP-2 experimentan un ascenso significativo en las pacientes con anorexia nerviosa y en otras amenorreicas con bajo peso corporal o en las atletas competitivas que presentan disfunción gonadal<sup>(7,9,55,74)</sup>. Ello reduce el porcentaje de IGF-I libre disponible.

La IGFBP-1 es principalmente regulada por la insulina, la cual inhibe su síntesis en el hígado<sup>(75-79)</sup>. De acuerdo a ello, los niveles de este péptido están inversamente correlacionados con la secreción de insulina y son suprimidos durante la ingestión de las comidas o por la administración de insulina<sup>(64,78,79)</sup>. Se ha comprobado que un 50 % de reducción en el consumo calórico habitual, se asocia a un sustancial incremento de los niveles basales de la IGFBP-1; ello coincide con un 22 % de aumento de las concentraciones de la proteína C-reactiva, un reconocido marcador de riesgo cardiovascular, que también es sintetizado en el hígado<sup>(9)</sup>.

Estas observaciones merecen ser especialmente consideradas en estas pacientes desnutridas, cuyo riesgo de padecer accidentes cardíacos y las probabilidades de muerte súbita son relativamente altas.

La IGFBP-1 está significativamente elevada en las pacientes delgadas que cursan con insulinoopenia y glucemias bajas. A su vez, existe una correlación inversa entre este péptido e IGF-I e IGF-II, sugiriendo que la IGFBP-I puede cumplir un rol regulador del metabolismo energético en estados clínicos que cursan con una acentuada desnutrición. Se ha postulado que la IGFBP-1 podría estar indirectamente involucrada en la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono, posiblemente mediante un "secuestro" del IGF-I, para interferir de este modo, la capacidad de acción insulínica intrínseca de IGF-I y regular así, la disponibilidad de la glucosa a nivel tisular<sup>(65)</sup>.

Los mecanismos de regulación de la IGFBP-2 no están aún completamente dilucidados. Así como la

síntesis de IGFBP-1 es principalmente modulada por las actividades de la insulina, los niveles de IGFBP-2 dependen no solo de la GH sino también de otros factores, entre ellos, la composición dietética. Se ha observado que las concentraciones de IGFBP-2 son frecuentemente altas en niños y adultos GH deficientes y desnutridos. No obstante, es posible un retorno a la normalidad cuando la administración de GH es acompañada por una dieta con un aporte proteico adecuado<sup>(66,71)</sup>. Asimismo, se han hallado niveles de IGFBP-2 elevados en pacientes con anorexia nerviosa<sup>(55)</sup> y en otras mujeres mal nutridas alimentadas durante un tiempo prolongado con dietas hipoproteicas. Estas observaciones tienen cierta correlación, con los resultados obtenidos en ratas alimentadas con dietas carentes de proteínas<sup>(70)</sup>.

Si bien las concentraciones de IGFBP-1 e IGFBP-2 son altas en los animales hipofisectomizados<sup>(65,70)</sup>, aparentemente la secreción somatotrófica no es el único factor responsable de la elevación de los niveles séricos de estas proteínas, ya que el tratamiento con GH en estas ratas hipofisoprivas, no logra normalizar la IGFBP-2<sup>(65)</sup>. Asimismo, ratas con una prolongada restricción alimenticia proteica, presentan una alta expresión de IGFBP-2 RNAm en el hígado<sup>(70)</sup>.

Se debe destacar que el aumento de estas "binding proteins" constituye otros de los factores responsables del descenso del IGF-I libre, que disminuye entonces su disponibilidad a nivel tisular.

Por otro lado, durante los estadios de restricción dietética prolongada, se observa un descenso de la IGFBP-3, mientras que la IGFBP-1 experimenta un 70 % de ascenso<sup>(79)</sup>.

Se ha propuesto que las IGFbps y el IGF-I podrían ser marcadores sensibles que reflejan indirectamente el grado de restricción calórica y composición de las dietas que consumen estas pacientes<sup>(72,74)</sup>.

El IGF-I, en su mayor proporción, circula unido a IGF BP-3 y a una subunidad acidolábil (ALS), para constituir un complejo de 150 kd. Los niveles séricos de este complejo disminuyen en la anorexia nerviosa y otras mujeres con AHF y disbalance del consumo calórico /gasto energético<sup>(2)</sup>. En estas pacientes, las concentraciones de IGF-I libre están relativamente más reducidas que las de IGF-I total e IGFBP-3<sup>(74-79)</sup>. Existen otros factores que favorecen el descenso de estas proteínas cuya síntesis es GH dependiente.

De acuerdo a lo ya mencionado, las pacientes con anorexia nerviosa cursan con un incremento de la producción diaria de GH asociada a una actividad pulsátil irregular, en presencia de niveles bajos de IGF-I. Ello sugiere una resistencia adquirida a la GH, por la cual la GH endógena es incapaz de estimular adecuadamente la síntesis de IGF-I en el hígado.

Recientemente se ha propuesto que Fibroblast Growth Factor-21 (FGF) puede ser considerado como uno de los responsables de la resistencia a la GH en la anorexia nerviosa y en otras patologías que cursan con desnutrición prolongada<sup>(105,106)</sup>. Principalmente sintetizada en el hígado y en los adipocitos, la expresión del FGF-21 RNAm en el hígado es 100 veces mayor que la observada en el tejido adiposo<sup>(105,106)</sup>. Las elevadas concentraciones séricas observadas en las pacientes desnutridas y particularmente en la anorexia nerviosa, provienen del hígado<sup>(106, 107)</sup>, mientras que en los obesos, los niveles altos de FGF son aportados por el compartimento graso<sup>(7)</sup>.

Existe una correlación inversa entre la actividad insulínica y la síntesis de FGF. Las pacientes con anorexia nerviosa frecuentemente cursan con un aumento de los ácidos grasos libres y NEFA.

Se ha comprobado en humanos que el FGF aumenta en respuesta a dietas muy hipocalóricas que inducen cetoacidosis<sup>(106,107)</sup>. Estos hallazgos sugieren que el aumento de la síntesis de esta proteína en el hígado puede ser un mecanismo de adaptación. Éste se expresa con la inducción de la lipólisis, inhibición de la actividad metabólica y gasto energético, aspectos característicos y posibles de observar en pacientes que consumen dietas hipocalóricas<sup>(109)</sup>.

Experiencias en animales demuestran que la sobreexpresión del FGF, induce a una resistencia a la GH mediante la inhibición del activador de transcripción STAT-5. Este es un factor "clave" en la actividades biológicas de la GH, entre ellas, la de estimular la síntesis de IGF-I en el hígado<sup>(109)</sup>. En consecuencia, los niveles elevados de FGF en estados de desnutrición crónica, se comportan como importantes inductores de la resistencia a la GH<sup>(106)</sup>.

## CONCLUSIONES

Resumiendo los resultados de estas investigaciones, podemos destacar que si bien los niveles

basales y la secreción diaria de GH son altos, su perfil secretorio es irregular en la AHF. Ello provoca "down-regulation" (disminución) de los receptores periféricos de GH, que, al sumarse al descenso del GHBP, afectan su capacidad de estimular la síntesis en el hígado de IGF-I, IGFBP-3 y las de la subunidad acidolábil. En contraste, la IGFBP-1 y la IGF BP-2 ascienden significativamente y en consecuencia, la disponibilidad de la IGF-I libre en los tejidos periféricos disminuye.

Por otro lado, el aumento de la producción de FGF en el hígado induce también resistencia a la GH y la consiguiente dificultad para estimular la síntesis de IGF-I.

Los cambios en la actividad de estos péptidos pueden ser considerados como un mecanismo de adaptación ante la desnutrición tendiente a "proteger" la homeostasis metabólica para preservar la disponibilidad de los nutrientes utilizados por órganos vitales. Éste es un proceso prioritario que se desarrolla en detrimento del estímulo del crecimiento, a este déficit de la funcional somatotrófica se asocia a una hiperactividad del eje adrenal inducida, en parte, por el descenso de leptina. A ello se suma el ascenso de la ghrelina. Las actividades de ambos péptidos son influenciadas por la hipofunción de la insulina que presentan estas pacientes habitualmente mal nutridas. Ello provoca inicialmente la lipólisis y luego una importante proteólisis<sup>(2)</sup>.

Estas actividades generan el aporte de nutrientes energéticos: ácidos grasos libres y los NEFA. Asimismo existe un proceso de neoglucogénesis seguida por glucogenólisis que produce glucosa en el hígado y tejido muscular, utilizando como sustratos, las proteínas y los NEFA<sup>(2,9)</sup>. No obstante, el aumento de los ácidos grasos libres y eventualmente, cuando el consumo de alimentos es muy restringido, la aparición de cuerpos cetónicos indica indudablemente la presencia de acidosis metabólica. Ello implica un aumento del riesgo cardiovascular y la posibilidad de una muerte súbita, una eventualidad latente en las pacientes con AHF y desnutridas.

**Agradecimientos:** Al Dr. Oscar Levalle por sus sugerencias y aportes, a la Dra. Beatriz Tepper y Sra. Nora Klass por su gentil colaboración en la redacción de este trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Fiszlejder L.** Etiopatogenia de la amenorrea hipotalámica funcional. Interacción de las respuestas hormonales del sistema nervioso central y neuropeptidos periféricos. *Rev Argent Endocrinol Metab* 45: 75-88; 2008.
- Fiszlejder L.** Desnutrición y amenorrea hipotalámica funcional. Neuropeptidos periféricos (Leptina, Adiponectina, Ghrelina) y su relación con la homeostasis metabólica. *Rev Argent Endocrinol Metab* 46: 11-21; 2009.
- Golden N, Kreitzer P, Jacobson M y col.** Disturbances in growth hormone secretion and actions in adolescents with anorexia nervosa. *J Pediatr* 125: 655-660; 1994.
- Nussbaunn M, Bleten S, Chsalow F y col.** Blunted growth hormone responses to clonidine in adolescents girls with early anorexia nervosa. Evident for an early hypothalamic defect. *J Adolesc Heart Care* 11: 145-148; 1990.
- Misra M, Miller K, Almazan C y col.** Hormonal and body composition predictors of soluble leptin receptors, leptin and free leptin index in adolescent girls with anorexia nervosa and controls and relation to insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3486-3495; 2004.
- Stoving R., Veldhuis J, Flyvbjerg A y col.** Jointly amplified basal and pulsatile growth hormone (GH) secretion and increased process irregularity in women with anorexia nervosa: indirect evidence for disruption of feedback regulation within the GH-Insulin-Like Growth Factor I axis. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 2056-2063; 1999.
- Argente J, Caballo N, Barrios V y col.** Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulin-like growth factor axis in patients with anorexia nervosa; effect of short and long term weight recuperation. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 2084-2092; 1997.
- Misra M, Miller K, Bjomson J y col.** Alterations in growth hormone secretory dynamics in adolescent girls with anorexia nervosa and effects on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5615-5623; 2003.
- Yen S S C.** Chronic anovulation due to CNS-hypothalamic-pituitary dysfunction. En: *Reproductive Endocrinology*. Yen S.S.C. y Jaffe R.B. Saunders W.B., pp 631-688; 1991.
- Tamai H, Barini A, Caroln G y col.** Responses of growth hormone and cortisol to intravenous glucose loading test in patients with anorexia nervosa. *Metabolism* 40: 31-34; 1991.
- Misra M, Miller K, Herzog D y col.** Growth hormone and Ghrelin response to an oral glucose load in adolescent girls with anorexia nervosa and controls. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 1605-1612; 2004.
- 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.
- Nedvidkova J, Krykokaova I, Bartak V y col.** Loss of meal-induced decrease plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 88:1678-1682; 2003
- Stoving R, Andersen M, Flybert A y col.** Indirect evidence decreased hypothalamic somatostatinergic tone in anorexia nervosa. *Clin Endocrinol* 56: 391-396; 2002.
- Kave W, Rubinow D, Gwirtsman HE y col.** CSF Somatostatin in anorexia nervosa and bulimia, relationships to the hypothalamic-pituitary-adrenal-cortisol axis. *Psychoneuroendocrinology* 13: 265-272; 1988.
- Muller E, Locatelli V, Cocchi D.** Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Physiol Rev* 9: 511-607; 1999.
- Locatelli V, Torsello A, Redaelli M y col.** Cholinergic agonist and antagonist drugs modulate the growth reponse to growth hormone-releasing hormone in the rat evidence for mediation by somatostatin. *J Endocrinol* 111: 271-78, 1986.
- Penalva A, Muruais C, Casanueva F y col.** Effect of enhancement of endogenous cholinergic tone with pyridostigmine on the dose-response relationships of growth hormone (GH)-releasing hormone induced GH secretion in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 324-327; 1999.
- De Vris W, Abdesslan S, Schers T y col.** Complete inhibition of hypothalamic somatostatin activity is only partially responsible for the growth hormone response to strenuous exercise. *Metabolism* 51: 1093-1096; 2002.
- Massara F, Ghigo E, Demmisliis K y col.** Cholinergic involvement in the growth hormone release studies in normal and acromegalic subjects. *Neuroendocrinology* 43: 670-67; 1986.
- Richardson S, Hollander C, Deletto R y col.** Acetylcholine inhibits the release of somatostatin from rat hypothalamus "in vitro". *Endocrinology* 107: 122-129; 1980.
- Rolla M, Androni A, Belliti D y col.** Blockade of cholinergic muscarinic receptors by pirenzepine and GHRH-induced GH secretion in the acute and recovery phase of anorexia nervosa, and atypical eating disorders. *Biol Psych* 27: 215-222; 1990.
- Muller E, Rolla M, Ghigo E y col.** Involvement of brain catecholamines and acetylcholine in growth hormone hypersecretory states. *Drugs* 50: 805-837; 1995.
- Giustina A, Veldhuis J.** Patophysiology of the neuroendocrine of GH secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 19: 717-797; 1988.
- Miel J, Corder R, Pralog F y col.** Effects of dexamethasone on growth hormone releasing-hormone, arginine and dopaminergic stimulate GH secretion and total plasma insulin-like growth factor I concentrations in normal volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 72: 675-681; 1999.
- Considine R,** Weight regulation, leptine, growth hormone and growth secretion. *Horm Res* 48(supp5): 116-121; 1997.
- Quintela M, Senaris R, Casanueva F y col.**

- Leptin inhibits "in vitro" hypothalamic somatostatin secretion and somatostatin mRNA levels. *Endocrinology* 138: 5641-5644; 1997.
28. **Scacchi M, Pinelli A, Cauno A y col.** Spontaneous nocturnal growth secretion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 3225-3229; 1997.
  29. **Laughlin G, Dominguez C, Yen S.** Nutritional and endocrine metabolic aberrations in women with hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 25-32; 1998.
  30. **Mercer J, Hoggard N, Williams L y col.** Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 8: 733-735; 1996.
  31. **Stephens T, Basinski M, Bristow P y col.** The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 377: 530-532; 1995.
  32. **Wang Q, Bing C, Barazani K y col.** Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy-homeostasis in the rat. *Diabetes* 46: 335-41; 1997
  33. **Pelleymounter M, Cullen M, Baker M y col.** Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 269: 540-543; 1995.
  34. **Kalra S, Dube M, Pu S y col.** Interacting appetite regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrinol Rev* 20: 68-100; 1999.
  35. **Antoni F.** Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion advances since the discovery of 41 residue corticotropin releasing factor. *Endocr Rev* 7: 351-378; 1986.
  36. **Perrin M, Donaldson C, Chen R y col.** Cloning and functional expression of a rat brain corticotropin releasing factor (CRF) receptor. *Endocrinology* 133: 3058-3061; 1993.
  37. **Potter S, Sutton S, Chen R y col.** Distribution of corticotropin-releasing factor receptor mRNA expression in the rat brain and pituitary. *Proc Nat Acad Sci USA* 91: 8777-8781; 1994.
  38. **Monnikes H, Heymann-Monnikes I, Tache Y.** CRH in the paraventricular nucleus dose related behavioral profile in rats. *Brain Res* 574: 70-76; 1992.
  39. **Dunn A, Beridge C.** Physiological and behavioral responses to CRH administration: is CRH a mediator of anxiety or stress responses?. *Brain Res Rev* 15: 71-100; 1990.
  40. **Britton D, Koob G, Vale W.** Intraventricular corticotropin releasing factor enhances behavioral effects novelty. *Life Sci* 31: 363-367; 1982.
  41. **Shibasaki T, Yamauchi N, Kato Y y col.** Involvement of corticotropin releasing factor in restraint stress induced anorexia and reversion of the anorexia by somatostatin in the rat. *Life Sci* 43: 1003-1110; 1988.
  42. **Wren A, Small C, Murphy H y col.** The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth secretion. *Endocrinology* 141: 4225-4228; 2000.
  43. **Wren A, Seal L, Cohen M y col.** Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5992-5999; 2001.
  44. **Lu S, Guan J, Wang Q y col.** Immunocytochemical observation of ghrelin containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci Lett* 321: 157-160; 2002.
  45. **Korbonitz M, Bustin S, Kojima M y col.** The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumours. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 881-887; 2001.
  46. **Tannenbaum G, Zang W, Lapointe M y col.** Growth hormone-releasing-hormone neurons in the arcuate nucleus express both ssI and sst2 somatostatin receptor genes. *Endocrinology* 139: 1450-1443; 1998.
  47. **Clark R, Carlsson L, Trojnar J y col.** The effects of a growth hormone-releasing peptide and growth hormone-releasing factor in conscious and anaesthetized rats. *J Neuroendocrinol* 1: 249-255; 1989.
  48. **Guillaune V, Magnan E, Cataldi M y col.** Growth hormone (GH) releasing hormone secretion is stimulated by a new GH releasing hexapeptide in sheep. *Endocrinology* 135: 1073-1076; 1994.
  49. **Wren A, Small C, Fribbens C y col.** The hypothalamic mechanism of the hypophysiotropic action of Ghrelin. *Neuroendocrinology* 76: 316-324; 2002.
  50. **Mozida M, Trinsali G, Forling M y col.** Ghrelin is released from rat hypothalamic explants and stimulates corticotropin releasing hormone and arginine-vasopressin. *Horm Metab Res* 35: 455-459; 2003.
  51. **Misra M, Miller K, Luo K y col.** Secretory dynamics of ghrelin in adolescent girls with anorexia nervosa and healthy adolescents. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289: E47-E56; 2005.
  52. **Leal-Cerro A, Torres E, Soto A y col.** Ghrelin is no longer able to stimulate growth hormone secretion in patients with Cushing's syndrome but instead induces exaggerated corticotropin and cortisol responses. *Neuroendocrinology* 76: 390-396; 2002.
  53. **Miljic S, Pekic M, Djutovic M y col.** Ghrelin has a partial or no effect on Appetite, growth hormone, prolactin, and cortisol release in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1491-1495; 2006.
  54. **Debra L, Clifford W, Quallis R y col.** Increased pulsatility, processes irregularity, and nocturnal trough concentrations of growth hormone in amenorrheic compared to eumenorrheic athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1013-1019; 2001.
  55. **Debra R, Counts H, Gwirtsman L y col.** The effect of anorexia nervosa and refeeding on growth hormone-binding protein, the IGFs and the IGF binding protein. *J Clin Endocrinol Metab* 75: 762-767; 1992.
  56. **Gianotti L, Pincelli A, Scacchi M y col.** Effects of recombinant human IGF-I administration on spontaneous and GHRH stimulated GH secretion in anorexia nervosa. *J Clin Endocr Metab* 85: 2805-2809; 2000.
  57. **Postel-Vinay M, Saab C, Gourmelem M.** Nutritional status and growth hormone-binding protein. *Horm Res* 44: 177-181; 1995.

58. **Zamboni G, Dufilton D, Antoniazzi F y col.** Growth hormone-binding protein in proteins-energy malnutrition before and after nutritional rehabilitation. *Pediatr Res* 39: 410-414; 1996.
59. **Stoving R, Flybjerg A, Frystyk J y col.** Low serum levels of free and total IGF-I in patients with anorexia nervosa are not associated with increased IGF Binding protein-3 proteolysis. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 1346-1350; 1999.
60. **Tamai H, Komaki G, Matsubayashi S y col.** Effects of cholinergic-muscarinic receptor blockade on human growth hormone (GH) releasing hormone (1-44) induced GH secretion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 738-741; 1990.
61. **Rolla M, Andreoni A, Belletti D y col.** Blockade of cholinergic muscarinic receptor by pirenzepine and GHRH induced secretion in the acute and recovery phase of anorexia nervosa and typical eating disorders. *Biol Psychiatry* 29: 1079-1091; 1991.
62. **Ghigo E, Arvat E, Gianotti L y col.** Arginine but not pyridostigmine, a cholinesterase inhibitor enhances the GHRH induced GH rise in patients with anorexia nervosa. *Biol Psychiatry* 36: 689-695; 1994.
63. **Gianotti L, Arvat E, Valletto M y col.** Effects of beta-adrenergic agonists and antagonists on the growth hormone response to GHRH in anorexia nervosa. *Biol Psychiatry* 43: 181-187; 1998.
64. **Suikkari A, Koivisto V, Rutanen E y col.** Insulin regulates the serum levels of low molecular weight insulin-like growth factor-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab* 66: 266-272; 1988.
65. **Ooi G, Orłowski C, Brown D y col.** Different tissue distribution and hormonal regulation of mRNA encoding rat insulin-like growth factor binding proteins rIGFBP-1 and IGF-2. *Mol Endocrinol* 4: 321-328; 1990.
66. **Smith W, Underwood L, Clemons D.** Effect of caloric or protein restriction on Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) and IGF-I Binding Protein in children and adults. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 443-449; 1995.
67. **Pucilowka J, Davenport M, Kabir L y col.** The effects of dietary protein supplementation on insulin like growth factors (IGF's) and IGF binding protein in children with shigellosis. *J Clin Endocrinol Metab* 77: 1516-1521; 1993.
68. **Clemons D, Busby W, Snyder D.** Variables controlling the secretion of insulin-like growth factor binding protein-2 in normal human subjects *J Clin Endocrinol Metab* 73: 727-733; 1991.
69. **Donovan S, Atlano L, Hintz R y col.** Differential regulation of the insulin-like growth factors (IGF-I) and IGF binding proteins during nutrition in the neonatal rat. *Endocrinology* 129: 149-157; 1991.
70. **Straus D, Takemoto C.** Effect of dietary protein deprivation, insulin-like factor, IGF-I and II, IGF binding protein-2 and serum albumin gene expression in the rat. *Endocrinology* 127: 1849-1860; 1990.
71. **Smith W, Nam T, Underwood L y col.** Use of insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2), IGFBP-3 and IGF-I for assessing growth hormone status in short children. *J Clin Endocrinol Metab* 77: 1294-1299; 1993.
72. **Clemmons D, Klibanski A, Underwood L.** Reduction of plasma immunoreactive somatomedin-C during fasting in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 53: 1247-50; 1981.
73. **Blum W, Jenne E, Reppin F y col.** Insulin-like factor I (IGF-I) binding protein complex is a better mitogen than free IGF-I. *Endocrinology* 125: 766-772; 1989.
74. **Katz L, Rosenfeld R, Cohen P.** Clinical significance of Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins. *The Endocrinologist* 5: 36-43; 1995.
75. **Bar R, Clemmons D, Boes M y col.** Transcapillary permeability and subendothelial distribution of endothelial and amniotic fluid IGF-binding proteins in the rat heart. *Endocrinology* 127: 1078-1086; 1990.
76. **Mohn K, Melby A, Tewari D y col.** The gene encoding rat insulin-like-growth factor binding protein 1 is rapidly and highly induced in regenerating liver. *Mol Cell Biol* 11: 1393-1401; 1991.
77. **Orłowski C, Ooi G, Brown D y col.** Insulin rapidly inhibits insulin-like growth factor binding protein 1 expression in rat hepatoma cells. *Mol Endocrinol* 51: 1180-1187; 1990.
78. **Snyder D, Clemmons D.** Insulin dependent regulation of IGFBP-1. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 1632-1636; 1990.
79. **Busby W, Snyder D, Clemmons D.** Radioimmunoassay of a 26000 dalton plasma insulin like growth factor binding protein: control by nutritional variables. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 1225-1230; 1980.
80. **Fiszlejder L.** Ghrelina en la amenorrea hipotálamica funcional relacionada con la desnutrición. *Rev Argent Endocrinol Metab* 47: 27-35, 2010.
81. **Tehop M, Smiley D, Heiman D.** Ghrelin induced adiposity in rodents. *Nature* 409: 194-198; 2000.
82. **Kamegai J, Tamura H, Shimizu T y col.** Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 50: 2438-2443, 2001.
83. **Herwson A, Dicson S.** Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *J Neuroendocrinol* 1049-1459; 2000.
84. **Tannenbaum G, Epelbaum J, Bowers C.** Interrelationship between the novel peptide Ghrelin and Somatostatin/Growth Hormone-Releasing Hormone in regulation of pulsatile Growth Hormone secretion. *Endocrinology* 144: 967; 74.2003.
85. **Seoane L, Lopez M, Tovar S y col.** Agouti-related peptide, neuropeptide Y and somatostatin producing are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology* 144: 544-551; 2003.
86. **Tolle V, Bassant M, Zizzari P y col.** Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with feeding behavior and sleep patterns in rats. *Endocrinology* 143: 1353-1361; 2002.
87. **Barkan A, Dimaraki E, Jessup S y col.** Ghrelin

- secretion in humans is sexually dimorphic suppressed by somatostatin and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2180-2184; 2003.
88. **Muccioli G, Tshop M, Papotti M y col.** Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 440: 235-254; 2002.
  89. **Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S y col.** Ghrelin is present in pancreatic alpha cells of human and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 51: 124-129; 2002.
  90. **Cummings D, Pumell J, Frayo R y col.** A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50: 1714-1719; 2001.
  91. **Broglia F, Arvat E, Benso A y col.** Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach induced hyperglycemia and reduced insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5083-5086; 2001.
  92. **Saad M, Bernaba B, Hwu C y col.** Insulin regulates plasma ghrelin concentration *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3997-4000; 2002.
  93. **Broglia F, Benso A, Gottero C y col.** Effects of glucose free fatty acids or arginine load on the GH-releasing activity of ghrelin in humans. *Clin Endocrinol* 57: 265-271; 2002.
  94. **Broglia F, Prodant F, Gottero C y col.** Ghrelin does not mediate the somatotrophic and corticotrophic responses to the stimulatory effect of glucagon or insulin induced hypoglycaemia in humans. *Clin Endocrinol* 60: 699-704; 2004.
  95. **Shiyya T, Nakazato M, Mizuta M y col.** Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 240-244; 2002.
  96. **LaPaglia N, Steiner J, Kirstein L y col.** Leptin alters the response of the growth hormone releasing factor growth hormone insulin-like growth-I axis to fasting. *J Endocrinol* 159: 79-83; 1998.
  97. **van der Lely A, Tschöp M, Heiman M y col.** Biological, physiological, pathophysiological and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 25: 426-457; 2004.
  98. **Garcia M, Lopez M, Casanueva F y col.** Role of ghrelin in reproduction. *Reproduction* 133: 531-540; 2004.
  99. **Mc Nay E.** Insulin and ghrelin: peripheral hormones modulating memory and hippocampal function. *Curr Opin Pharmacol* 7: 628-632; 2007.
  100. **Avran A, Jaffe G, Symons K y col.** Endogenous-circulating Ghrelin does not mediate growth hormone rhythmicity or response to fasting. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 2982-2987; 2005.
  101. **Jaffe G, Ho P, Demott-Friberg R y col.** Effects of a prolonged growth hormone (GH)-releasing peptide infusion on pulsatile GH secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 77: 1641-1647; 1993.
  102. **Bowers C, Rynolds C, Durhan D y col.** Growth Hormone (GH) releasing peptide stimulate release in normal men and acts synergistically with GH releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 975-982; 1990.
  103. **Laughlin G, Dominguez C, Yen S.** Nutritional and endocrine-metabolic aberrations in women with functional hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 25-32 1998.
  104. **Veldhuis J, Meltzer D, Martha Jr P y col.** Estrogen and testosterone but not a non aromatizable androgen direct network integration of the hypothalamo-somatotrope-IGF-I axis in the human: evidence from pubertal pathophysiology and sex steroid hormone replacement. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 3414-3420, 1997.
  105. **Dosostalová I, Kaválová P, Halzíkova D y col.** Plasma concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 3627-3632, 2008.
  106. **Fazeli P, Misra M, Goldstein M y col.** Fibroblast Growth Factor-21 may mediate growth hormone resistance in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 369-374; 2010.
  107. **Badman M, Pissios P, Kennedy A y col.** Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR $\alpha$  and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab* 5: 426-437; 2007.
  108. **Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X y col.** Endocrine regulation of the fasting response by PPAR $\alpha$  mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab* 5: 415-425; 2007.
  109. **Inagaki T, Lin V, Goetz R y col.** Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metab* 8: 77-83; 2008.