



Artículo de revisión

Ghrelina, un péptido modulador del metabolismo energético

Juan Pablo del Rincón Jarero*

* University of Virginia Health System,
Charlottesville, VA, USA.Correspondencia
Dr. Alejandro Romero Zazueta
Clínica de Endocrinología
Hospital Ángeles Culiacán
Blvd. Vialidad Central 2193-A
80020 Culiacán, Sin. Méx.
Tel.: 667-7587935
E-mail: aromez@gmail.comFecha de recepción: 29-Abril-2007
Fecha de aceptación: 30-October-2007

Resumen

La ghrelina es un péptido producido principalmente en estómago que actúa como ligando natural del receptor de secretagogos de hormona de crecimiento (GHS-R). Al igual que los secretagogos de GH sintéticos, la ghrelina aumenta potentemente la liberación de hormona de crecimiento (GH). La ghrelina tiene una serie de peculiaridades desde el punto de vista estructural y funcional. Entre éstas se incluyen las siguientes: a) la ghrelina es la primera hormona peptídica en que se haya identificado una modificación por un ácido graso (ghrelina acilada); b) es el primer péptido circulante con un potente efecto orexígeno; c) aunque su forma acilada es la que inicialmente se describió como la forma activa, también la forma no acilada ha mostrado una serie de efectos, al menos desde el punto de vista farmacológico; d) aunque la ghrelina se identificó como el ligando endógeno del GHS-R, los efectos de su forma no acilada no son mediados por este receptor; e) la ghrelina es una molécula inestable y su forma acilada produce efectos distintos de los de la forma no acilada, por lo tanto la medición de sus niveles circulantes requiere de técnicas cuidadosas de obtención y preservación, y análisis específico de sus formas (e.g. detección específica de ghrelina acilada). La ghrelina ha generado gran interés debido a su efecto orexígeno y a sus efectos en metabolismo energético. Al menos en roedores, la ghrelina favorece una disminución en la utilización de ácidos grasos como sustrato energético y un aumento en la acumulación de grasa corporal. La disminución de la acción de ghrelina en roedores ha generado un balance energético negativo. En esta revisión se destacan algunos de los aspectos más relevantes de la bioquímica, fisiología, acción y aplicaciones potenciales de ghrelina.

Palabras clave: Ghrelina, orexígeno, hormona de crecimiento, acilación, obesidad, balance energético, receptor de secretagogos de hormona de crecimiento.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2007; 15(3): 138-148

Abstract

Ghrelin is a peptide produced mainly in the stomach which serves as a natural ligand for the growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). Like synthetic GH secretagogues, ghrelin potently increases growth hormone (GH) release. A number of interesting structural and functional aspects of ghrelin include: a) ghrelin is the first peptide hormone in which a structural modification by a fatty acid (acylation) has been described; b) is the first circulating peptide with a potent orexigenic effect; c) although the acylated form of ghrelin is the one originally described as active, non-acylated ghrelin has also shown a number of effects, at least pharmacologically; d) despite being the first endogenous ligand of the GHS-R, the effects of non-acylated ghrelin are mediated by a different receptor; e) ghrelin is an unstable molecule thus proper measurement of circulating ghrelin requires very careful sampling and specific assays (e.g. specifically recognizing the acylated form). Substantial interest on ghrelin is due in part to its orexigenic effect and to its modulatory role in energy metabolism. At least in rodents, ghrelin favors a decrease in fatty acid utilization as energy substrate, and an increase in body fat. Maneuvers decreasing ghrelin action in rodents have resulted in negative energy balance. Some of the most relevant biochemical and physiological aspects, action, and potential applications of ghrelin are presented in this review.

Key words: Ghrelin, orexigenic, growth hormone, acylation, obesity, energy balance, growth hormone secretagogue receptor.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2007; 15(3): 138-148

INTRODUCCIÓN

La ghrelina es un ligando natural del receptor de secretagogos de hormona de crecimiento (GHS-R) producido principalmente en estómago. Además de su posible función como secretagogo endógeno de GH, la ghrelina ha generado gran interés debido a su efecto estimulador de ingesta de alimentos (orexígeno) y a sus efectos moduladores en el metabolismo energético. En esta revisión se destacan algunos de los aspectos más relevantes de la bioquímica, fisiología, acciones y aplicaciones potenciales de ghrelina.

A) ASPECTOS MOLECULARES Y ESTRUCTURALES

Un grupo de moléculas sintéticas pequeñas denominadas secretagogos de hormona de crecimiento estimulan la secreción pulsátil de GH. Estos secretagogos fueron desarrollados por Bowers y colaboradores desde finales de la década de 1970.¹ El receptor de estas moléculas fue descrito en 1996 y fue llamado GHS-R. Este receptor es miembro de la familia de receptores acoplados a proteínas G, cuenta con siete dominios transmembrana y está integrado por 366 aminoácidos. El GHS-R fue aislado de hipófisis e hipotálamo utilizando pruebas de estimulación con uno de los secretagogos de GH llamado MK-0677.² Además de hipotálamo e hipófisis, el GHS-R se expresa

en otras áreas del sistema nervioso central y algunos tejidos periféricos.

A este receptor a veces se le llama GHS-R1a dado que también se encontró una secuencia que se denominó GHS-R1b, producto truncado del mismo gen que codifica GHS-R1a. El llamado GHS-R1b carece del segundo exón responsable de codificar los dominios transmembrana 6 y 7. El GHS-R1b no responde a secretagogos de GH y de hecho se desconoce si tiene algún papel fisiológico. Recientemente la Unión Internacional de Farmacología (IUPHAR) propuso que al GHS-R1a se le llame receptor de ghrelina.³ Dado que hasta el momento de esta revisión esta nomenclatura no se ha utilizado, en esta revisión se usa el término mejor conocido, GHS-R, en alusión al receptor GHS-R1a.

Como dato histórico, varios intentos de búsqueda de un ligando endógeno del GHS-R habían sido infructuosos, hasta que Kojima y colaboradores en vez de concentrarse en hipotálamo estudiaron otros tejidos y encontraron un ligando endógeno no a nivel central sino en estómago al cual denominaron ghrelina.⁴ Este grupo decidió acuñar el término ghrelina a partir de la raíz indoeuropea «ghre» que significa crecer, en vista de la capacidad de este péptido para liberar GH.⁴ La ghrelina es un péptido de 28 aminoácidos con peso molecular de 3.3 kDa. El gen de ghrelina codifica el péptido preproghrelina de 117 residuos. Además de ghrelina, del péptido preproghrelina se deriva otro péptido denominado obestatina (Figura 1).

Un aspecto inesperado fue el descubrimiento de una modificación en la molécula de ghrelina que es clave en su función: la ghrelina es un péptido que se encuentra acilado, esto es, con una cadena de ácido graso unida a uno de sus residuos. Este residuo es la serina localizada en posición 3 de la región N-terminal (Figura 2).⁴ Al mismo tiempo que Kojima y colaboradores en Japón descubrieron un ligando endógeno del GHS-R en estómago de rata, Tomasetto y colaboradores en Francia aislaron un péptido en epitelio gástrico de ratón con un parecido lejano a motilina, al que llamaron péptido relacionado con motilina.⁵ La secuencia de este péptido resultó ser idéntica a la de ghrelina, mas debido al diferente abordaje de estudio, sólo el grupo japonés logró identificar la acilación, misma que es clave para la unión con el GHS-R y por lo tanto para su efecto en la secreción de GH.⁶ La cadena

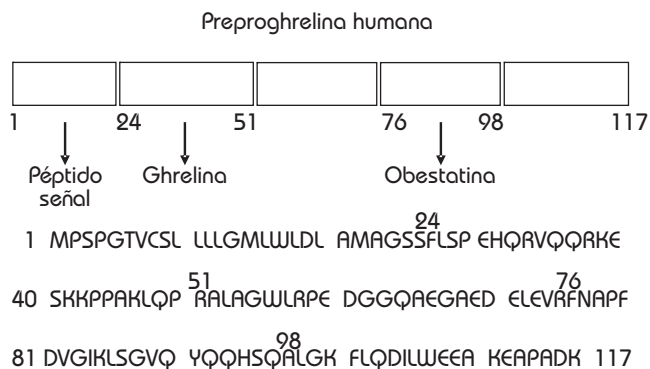


Figura 1. El gen de ghrelina humana codifica un prepropéptido de 117 residuos. Los primeros 23 residuos corresponden al péptido señal. Los residuos 24 a 51 se seccionan para dar lugar al péptido ghrelina. Los residuos 76 a 96 dan lugar a obestatina.



Figura 2. Representación esquemática de ghrelina acilada. La ghrelina está constituida por 28 residuos. Una cadena de ácidos grasos, comúnmente de ocho carbonos, se une a la serina en posición 3 dando lugar a ghrelina octanoílda.

de ácido graso en su forma más común contiene 8 carbonos, motivo por el cual a dicha acilación se le denomina octanoilación (Figura 2).⁴

Además de la forma más abundante de ghrelina con 28 aminoácidos, se han descrito variantes codificadas por el mismo gen como la des-Gln14-ghrelina, que es igual a la ghrelina excepto por la ausencia de la glutamina en posición 14, lo que resulta en un péptido de 27 aminoácidos.⁷ Se ha encontrado que la des-Gln14-ghrelina tiene la misma potencia que la ghrelina, mas en humanos su producción es mínima.⁸ En todos los mamíferos que se han estudiado las secuencias de aminoácidos de ghrelina han mostrado un alto grado de similitud. De hecho, los 10 aminoácidos N-terminales son idénticos, y la acilación del residuo en posición 3 se ha encontrado no sólo en mamíferos sino en todas las especies de vertebrados estudiados incluyendo aves, reptiles, anfibios y peces.⁹ El papel clave de la región N-terminal se ha comprobado con la observación *in vitro* de que un fragmento acilado con sólo los primeros 5 aminoácidos estimula el GHS-R con una potencia similar a la del péptido completo.¹⁰ La ghrelina se produce predominantemente en células X/parecidas a células A en estómago, las cuales constituyen cerca de una quinta parte de las células enteroendocrinas en la mucosa oxíntica de humanos adultos.¹¹ También se produce ghrelina desde duodeno hasta colon, así como en páncreas, riñón, y algunos otros órganos y células.⁹ Su síntesis en hipotálamo ha sido objeto de controversia, ya que las cantidades encontradas son muy pequeñas y se ha puesto en duda que sean significativas en términos fisiológicos. Recientemente se describió su localización en un pequeño grupo de células hipotalámicas cuyos axones desembocan en neuronas productoras de neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con la proteína Agouti (AgRP),¹² mismas que, como se describe más adelante, tienen un papel clave en la ingesta de alimentos.

B) REGULACIÓN FISIOLÓGICA DE GHRELINA

De entre toda una serie de incertidumbres en torno a la ghrelina, posiblemente el área de mayor controversia sea la de su regulación fisiológica. Algunos conceptos parecen estar razonablemente fundamentados, mas una parte importante de los resultados con que se cuenta muy posiblemente sean rectificadas en la medida que mejore la calidad en las técnicas de detección de ghrelina circulante. Teniendo en cuenta las limitaciones mencionadas, se describen algunos de los datos más relevantes.

Regulación de ghrelina circulante

En pacientes con gastrectomía total los niveles circulantes de ghrelina son de 35% a 50% de los observados en

sujetos normales^{13,14} o en los propios pacientes previamente a la cirugía, lo que confirma que la mayor parte de la ghrelina circulante proviene del estómago.⁸ Se ha estimado que la vida media en plasma de ghrelina acilada y no acilada es de 9 a 13 y 27 a 31 minutos, respectivamente.¹⁵

La ghrelina se secreta de manera pulsátil, y varía notablemente durante el día, con niveles pico precediendo a la ingesta de alimentos, lo cual sugiere que dicha ingesta sea precipitada, al menos en parte, por ghrelina.¹⁶⁻¹⁹

Las concentraciones circulantes de ghrelina muestran sus niveles más bajos después de la ingesta de alimentos.^{13,16,20-23} Existe evidencia de que el efecto de los alimentos sobre ghrelina depende, al menos parcialmente, de la presencia de insulina ya que en pacientes con diabetes tipo 1 en quienes se suspendió transitoriamente la administración de insulina no se observó disminución postprandial de ghrelina.²⁴ En general se ha observado una relación inversa entre los niveles circulantes de ghrelina con respecto a los de insulina y glucosa.²⁵ La secreción de ghrelina disminuye con administración de glucosa oral o intravenosa.^{26,27} No se ha determinado claramente si la glucosa o la insulina regulan la secreción de ghrelina *per se*.

Ghrelina en pacientes con balance energético negativo

Diversos estudios han mostrado que los niveles circulantes de ghrelina dependen del estado energético del organismo. Los niveles plasmáticos de ghrelina se han encontrado inversamente relacionados con el índice de masa corporal y se ha observado que aumentan después de pérdida de peso inducida por restricción calórica.^{18,26,28,29} En diversos estudios en pacientes con anorexia nervosa se ha encontrado niveles circulantes inicialmente elevados de ghrelina,^{26,29-37} los cuales se han normalizado si ocurre recuperación de peso.^{29,30,37} Un sólo grupo ha informado que la forma acilada de ghrelina no se eleva en anorexia nervosa, aunque sí la forma no acilada. Esto contrasta con lo encontrado por otros grupos.³⁸ Además de la anorexia nervosa, los niveles circulantes de ghrelina se han encontrado elevados en otras formas de desnutrición crónica como la observada en pacientes con caquexia cardíaca,³⁹ caquexia relacionada con cáncer⁴⁰⁻⁴³ y en enfermedad pulmonar obstructiva crónica.⁴⁴ También se ha observado elevación de ghrelina en mujeres con desnutrición asociada con edad avanzada.⁴⁵

Ghrelina en pacientes con balance energético positivo y con cirugía debida a obesidad

De manera inversa a lo observado en personas con balance energético crónicamente negativo se han encontra-

do niveles bajos de ghrelina circulante en individuos con obesidad.^{26,46,47} Esta observación sugiere que la ghrelina juega un papel compensador más que causal en obesidad común. La única entidad conocida en la que el sobrepeso se asocia con niveles elevados de ghrelina es el síndrome de Prader-Willi.⁴⁸⁻⁵⁵

Los niveles disminuidos de ghrelina en personas con obesidad aumentan hacia niveles observados en personas sin sobrepeso, ya sea que se pierda peso con maniobras dietéticas,^{28,29} como con cirugía con colocación de banda gástrica ajustable o con derivación biliopancreática.⁵⁶⁻⁵⁹ Parece haber una diferencia en los pacientes que pierden peso después de derivación gástrica en Y de Roux, aunque existen algunas discrepancias entre diversos estudios. En un estudio prospectivo de derivación gástrica en Y de Roux no se encontró un aumento significativo en las concentraciones circulantes de ghrelina a pesar de la disminución de peso, en tanto que sí se encontró un aumento de ghrelina asociado con pérdida de peso en pacientes con colocación de banda gástrica ajustable.⁶⁰ En otro estudio prospectivo los niveles plasmáticos de ghrelina, a diferencia de lo informado en otros estudios no disminuyeron después de cirugía, mas fueron similares a los valores prequirúrgicos en sujetos que habían mantenido un balance energético estable por al menos 6 meses (definido como disminución de peso < 10%) y aumentaron en los sujetos que estaban en balance energético negativo (definido como pérdida de peso ≥ 10%) aunque sin llegar a los valores observados en sujetos sin obesidad.⁶¹ Cabe aclarar que en la cohorte más grande prospectiva con derivación en Y de Roux se encontró un aumento en ghrelina plasmática 6 y 12 meses después de la operación.⁶² Varios estudios adicionales han encontrado niveles menores de ghrelina en pacientes con Y de Roux que los observados en grupos de controles,^{18,57,63-65} o al menos el aumento de ghrelina hacia niveles normales, es menor en proporción al observado con otras formas de pérdida de peso.^{66,67} Se desconoce la razón de la discrepancia entre estos estudios aunque se ha especulado que se deba a diferencias en el procedimiento quirúrgico.⁶⁸ Se están haciendo estudios adicionales para definir mejor el papel de ghrelina y de otras hormonas gastrointestinales en pacientes con derivación gástrica en Y de Roux.

Regulación de ghrelina con maniobras farmacológicas

Desde el punto de vista farmacológico, la secreción de ghrelina ha sido inhibida con la administración de somatostatina, de cortistatina y de octreótido.^{69,70} Los niveles circulantes de ghrelina también disminuyeron con la administración de pirenzepina, un antagonista muscarínico,⁷¹ en tanto que se elevaron con la administración de piridostigmina, la cual aumenta indirectamente la activación de

receptores colinérgicos muscarínicos.⁷¹ Otras maniobras, como la administración de glucagón, han dado resultados inconsistentes, ya que algunos grupos encontraron una disminución en ghrelina circulante⁷²⁻⁷⁴ y en otros estudios no se encontraron cambios.^{75,76} Algunos mas no todos los estudios han encontrado una relación inversa entre cortisol y ghrelina. No se ha encontrado que la GH tenga un papel relevante en la regulación de ghrelina.²⁵

C) EFECTOS DE GHRELINA

Aunque se han descrito hasta ahora una gran variedad de efectos de ghrelina, está aún por determinarse cuales de éstos forman realmente parte de la fisiología del organismo. Los efectos más estudiados se dividen básicamente en dos categorías: a) efectos sobre balance energético y b) efectos sobre secreción de GH. En ambos casos se han demostrado efectos de la forma acilada de ghrelina a través del GHS-R.

Efectos de ghrelina en balance energético

Diversos estudios en humanos y en otras especies han mostrado que la administración de ghrelina favorece un incremento en la ingesta de alimentos.⁷⁷ Existe evidencia de que la ghrelina ejerce efectos sobre el balance energético de manera dependiente e independiente del aumento de ingesta de alimentos. Estudios en roedores han mostrado también que la ghrelina altera el cociente respiratorio hacia una mayor utilización de carbohidratos sobre la de grasas y favorece un aumento de volumen de tejido adiposo.^{78,79} Los efectos sobre ingesta de alimentos y adiposidad son independientes de los efectos sobre secreción de GH y son mediados por mecanismos centrales específicos. A nivel hipotalámico, la ghrelina ha mostrado efectos contrarios a los de leptina. A este respecto, se ha encontrado que la ghrelina aumenta la expresión en neuronas del núcleo arqueado hipotalámico de dos péptidos con claros efectos orexígenos: NPY y AgRP. Se ha comprobado además que la ghrelina aumenta la activación de dichas neuronas.⁸⁰ Asimismo, la ghrelina inhibe neuronas que producen proopiomelanocortina (POMC) y el transcrito regulado por cocaína y anfetamina (CART) las cuales producen efectos anorexígenos.¹² En contraste, la leptina disminuye la expresión de NPY y AgRP.^{81,82} Otro nivel de interacción entre ghrelina y leptina parece ser a través de la regulación del receptor de ghrelina GHS-R, ya que se ha observado que en tanto la ghrelina estimula la expresión del ARNm de este receptor, la leptina la inhibe.⁸³ La administración conjunta de ghrelina y leptina en roedores ha mostrado una inhibición dependiente de la dosis de los efectos de una hormona sobre la otra.⁸⁴

Aunque la administración de dosis suprafisiológicas de ghrelina pudiera mostrar una serie de efectos sin relevancia fisiológica, cada vez se acumula más evidencia de que los efectos de ghrelina en metabolismo energético son fisiológicos. Un estudio en ratones en el que se administró (D-Lys-3)-GHRP-6, que actúa como antagonista del GHS-R, mostró una disminución en la ingesta de alimento y un menor aumento de peso. La administración de este mismo antagonista en ratones *ob/ob* que son deficientes en leptina disminuyó la ganancia de peso y la glucemia sin disminuir la masa muscular.⁸⁵ En ratas transgénicas que expresan una secuencia inversa del ARNm del GHS-R, la disminución en los niveles de la proteína del GHS-R en el núcleo arqueado del hipotálamo se asoció con menor peso corporal, menor cantidad de tejido adiposo y menor ingesta de alimento que en el grupo control.⁸⁶

En ratones en que se anuló el gen de ghrelina (*ghrl*^{-/-}) y que recibieron una dieta alta en grasa, se observó una disminución del cociente respiratorio lo cual indica una mayor utilización de grasa como sustrato energético.⁸⁷ Cuando se inició la dieta alta en grasa a una edad más temprana en ratones *ghrl*^{-/-} encontramos que éstos muestran protección contra el rápido aumento de peso corporal inducido por esta dieta. Esta reducción del peso corporal se asoció con una menor proporción de tejido adiposo y con un aumento en gasto energético y en actividad locomotora.⁸⁸ En un estudio similar, en este caso en ratones con anulación del gen del GHS-R, se encontraron resultados semejantes.⁸⁹

Como se mencionó anteriormente, del péptido preproghrelina se deriva otro péptido denominado obestatina. En un estudio en ratas, la administración de obestatina produjo disminución en ingesta de alimentos y menor peso, efectos opuestos a los observados con ghrelina. Se ha propuesto que la obestatina actúa a través de un receptor distinto al de ghrelina denominado GPR39.⁹⁰ En los modelos murinos que se han estudiado con anulación de ghrelina también se anuló la producción de obestatina, lo cual hipotéticamente podría haber enmascarado el fenotipo, si realmente las acciones fisiológicas de estos péptidos son opuestas.⁹⁰ Sin embargo, en ratones con anulación exclusiva del GHS-R, que resulta en la pérdida de efectos de ghrelina acilada y conservación de los efectos de obestatina,⁸⁹ no ha observado un fenotipo claramente distinto del observado con la anulación de ghrelina y obestatina.⁸⁸ La producción de modelos murinos con anulación selectiva tanto de ghrelina como de obestatina pudiera contribuir a un mejor entendimiento del papel de cada uno de estos péptidos. Se puede concluir que aún se desconoce si los supuestos efectos de obestatina contrarios a los de ghrelina tienen un papel fisiológico.

La evidencia conjunta indica que la ghrelina, al menos en roedores, favorece un menor consumo de ácidos gra-

dos como sustrato energético y un aumento en la acumulación de grasa en tejido adiposo.

Efectos de ghrelina en secreción de hormona de crecimiento

Estudios en diversas especies animales y en humanos han demostrado consistentemente que la ghrelina tiene un potente efecto liberador de GH. Se ha observado que este efecto sobre la liberación de GH *in vivo* llega a ser 2 a 3 veces mayor que el ejercido con la administración de GHRH. Cuando se administra ghrelina y GHRH se ha observado un efecto sinérgico, lo cual implica que ghrelina y GHRH actúan, al menos parcialmente, a través de mecanismos distintos. Se ha observado también que la ghrelina sólo puede ejercer su máximo efecto sobre secreción de GH en presencia de actividad de GHRH.²⁵

Aunque la ghrelina, además de la GHRH, posiblemente juegue un papel fisiológico en la liberación de GH, su ausencia no implica que ocurra deficiencia de GH. Tanto en ratones en que se ha anulado el gen de ghrelina como en los que se ha anulado el gen del GHS-R se ha observado crecimiento normal.^{87,89,91,92} Resulta interesante mencionar que en ratones *ghrl*^{-/-} encontramos una preservación paradójica de GH e IGF-I, ya que en vez de encontrarse una reducción, como podría esperarse por la deficiencia de ghrelina, los niveles de ARNm de GH en hipófisis fueron mayores en ratones *ghrl*^{-/-} que en ratones *ghrl*^{+/+} con dieta alta en grasa. Este fenómeno se asemeja a lo observado en humanos, en quienes los niveles circulantes de GH disminuyen si hay obesidad; análogamente, los ratones con mayor obesidad fueron los que tuvieron menores niveles de GH, independientemente de que fueron estos los que conservaron la capacidad de producir ghrelina.⁸⁸

Aunque los estudios antes mencionados muestran que la ghrelina no es indispensable para la producción de niveles suficientes de GH para inducir crecimiento normal, algunos,⁹³ aunque no todos^{94,95} los estudios en humanos han encontrado correlación entre los niveles circulantes de ghrelina y GH. En un estudio en la Universidad de Virginia se analizó a voluntarios que recibieron 3 comidas en 24 horas con toma de muestras cada 10 minutos, mismas que se analizaron con ELISA de doble anticuerpo que detecta específicamente la molécula intacta acilada de ghrelina, y se encontró una correlación entre ghrelina y GH (Liu J, comunicación personal).

Se ha descrito que la ghrelina estimula la secreción de varias otras hormonas²⁵ mas con objeto de deslindar mejor los efectos farmacológicos de los fisiológicos, Lucidi y colaboradores estudiaron los efectos agudos de dosis de ghrelina dentro de límites fisiológicos, y encontraron un incremento en las concentraciones plasmáticas de GH, mas

en contraste con estudios con dosis mayores de ghrelina, no encontraron aumento de glucosa, insulina, péptido C, glucagón, IGF-I, cortisol o noradrenalina.⁹⁶

Efectos de ghrelina a nivel cardiovascular

En pacientes con insuficiencia cardiaca a quienes se administró ghrelina (2 µg/kg, 2 veces al día) por 3 semanas se observó un modesto aumento en la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo asociada con un aumento de la masa ventricular y disminución del volumen diastólico final del ventrículo izquierdo, y disminución en niveles de noradrenalina en plasma. También se observó un aumento en consumo máximo de oxígeno durante ejercicio y aumento en fuerza muscular y en masa corporal magra. Asimismo en este estudio, en el que la mayoría de pacientes cumplían criterios de caquexia cardiaca, hubo aumento de apetito y tendencia a aumento de peso.⁹⁷ En otros estudio se observó aumento de gasto cardíaco con administración de ghrelina en voluntarios sanos.⁹⁸ Sin embargo, en pacientes con deficiencia de hormona de crecimiento y función miocárdica normal, una dosis única de ghrelina (1 µg/kg) no produjo cambios en función cardiaca.⁹⁹ Más recientemente se ha informado que la administración de ghrelina produce efectos favorables en función endotelial en individuos con criterios de síndrome metabólico.¹⁰⁰

Efectos de ghrelina en otros órganos o sistemas

Se han descrito una serie de acciones de ghrelina a varios otros niveles incluyendo efectos a nivel gastrointestinal, óseo, inmunológico y cerebral. A nivel gastrointestinal existen informes discrepantes en cuanto a los efectos de ghrelina sobre la secreción ácida gástrica, ya que algunos han encontrado un aumento y otros no han encontrado cambios.^{101,102} Con respecto al sistema inmunológico, tanto ghrelina como el GHS-R se expresan en linfocitos T y monocitos y se ha observado que la ghrelina inhibe la expresión de citocinas proinflamatorias incluidas interleucina (IL) 1β, IL-6, y el factor de necrosis tumoral actuando a través del GHS-R.¹⁰³ Se ha postulado que los efectos de ghrelina sobre citocinas proinflamatorias ocurren mediante el bloqueo de la activación del factor de transcripción NF-κB.¹⁰⁴ También se han observado efectos antiinflamatorios de ghrelina en un modelo murino de colitis.¹⁰⁵ Finalmente, la ghrelina ha demostrado efectos a nivel cerebral. Entre estos efectos se incluye un aumento en la fase de sueño de ondas lentas en humanos.¹⁰⁶ En roedores, la ghrelina induce cambios en la organización de sinapsis no sólo en hipotálamo,¹⁰⁷ sino también en hipocampo, lo que se asocian con aumento en aprendizaje espacial y memoria.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ A este respecto, ratones con anula-

ción del gen de ghrelina mostraron un desempeño reducido en pruebas de memoria el cual se corrigió rápidamente con la administración de ghrelina.¹¹⁰ Estos efectos implican que se debe vigilar minuciosamente los efectos a nivel cerebral en estudios con fármacos que antagonicen los efectos de ghrelina. Por otra parte, resulta interesante la posibilidad de estudios con ghrelina u otros agonistas del GHS-R con objeto de valorar si tiene efectos positivos sobre funciones cerebrales tales como memoria.

D) USOS POTENCIALES DE GHRELINA Y SUS ANÁLOGOS

Existen diversas aplicaciones clínicas potenciales, tanto de la estimulación del GHS-R como del bloqueo de las acciones del mismo, aunque en vista de los múltiples efectos descritos de ghrelina, es altamente deseable tener un mejor conocimiento de la fisiología de este sistema.

El bloqueo de las acciones del GHS-R teóricamente podría ser una herramienta en el tratamiento de obesidad. Como se mencionó previamente, aunque los estudios iniciales de ratones con anulación genética de ghrelina o del receptor GHS-R no mostraron diferencias fenotípicas aún en animales alimentados con una dieta alta en grasa, estudios más recientes mostraron que la anulación genética de ghrelina o del receptor GHS-R confiere protección contra obesidad inducida por una dieta alta en grasa iniciada en animales jóvenes. Estos resultados, aunados a estudios farmacológicos en ratones adultos mantienen la posibilidad de que el bloqueo de la acción de ghrelina tenga un papel en el tratamiento de obesidad. A este respecto, la neutralización de ghrelina acilada endógena mediante el uso de un oligonucleótido sintético denominado NOX-B11-2 el cual se une con alta afinidad a ghrelina, redujo la ingesta de alimento y el aumento de peso en respuesta a una dieta alta en grasa en ratones.¹¹¹ En otros estudios, el uso del antagonista (D-Lys-3)-GHRP-6 ha demostrado disminuir la ingesta de alimentos en ratones que recibieron dieta habitual o dieta alta en grasa, en ratones *ob/ob* que carecen de leptina,⁸⁵ en ratas delgadas (*FA/FA*) y en ratas obesas (*fa/fa*), las últimas sin receptores funcionales de leptina.¹¹² Como se mencionó en la sección previa, cabe la posibilidad de efectos adversos del antagonismo de ghrelina o del receptor GHS-R, a niveles tan importantes como el de ciertas funciones cerebrales,¹¹⁰ por lo que el uso de cualquier fármaco que disminuya acciones de ghrelina debiera primero demostrar rigurosamente su seguridad en modelos preclínicos.

Por su efecto sobre vaciamiento gástrico, se han evaluado los efectos de ghrelina en gastroparesia. En pacientes con gastroparesia idiopática la administración aguda de una dosis alta de ghrelina aumentó el vaciamiento

gástrico y mejoró los síntomas relacionados con ingesta de alimentos.¹¹³ En un estudio similar en pacientes con gastroparesia diabética, aunque también se observó aumento en el vaciamiento gástrico, no hubo mejoría sintomática.¹¹⁴ Se requieren estudios más prolongados y con un mayor número de pacientes para determinar si existe alguna utilidad en esta área.

Desde el punto de vista del potencial orexígeno de ghrelina, se han hecho algunos estudios en pacientes con desnutrición asociada con cáncer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, e insuficiencia renal y en mujeres con anorexia nervosa. La administración de ghrelina aumentó la ingesta de alimentos en pacientes con disminución de apetito asociada con cáncer.⁴¹ En un estudio en pacientes caquéticos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica que recibieron ghrelina durante 3 semanas, se observó un aumento significativo en ingesta de alimentos, en peso (+1 kg) y en fuerza de músculos respiratorios y periféricos.¹¹⁵ La administración subcutánea de ghrelina aumentó la ingesta de alimentos al menos a corto plazo en pacientes en diálisis con desnutrición leve a moderada.¹¹⁶

En el caso de anorexia nervosa, en un estudio en mujeres que recibieron una infusión de ghrelina durante 5 horas no se observó aumento de apetito.¹¹⁷ Una entidad en la que la ghrelina o sus análogos pudieran tener alguna utilidad es la hiporexia asociada con edad avanzada. En otras especies (ratas y perros), la administración de un agonista del GHS-R llamado EP51216 dio por resultado un aumento de ingesta de alimento en animales de edad avanzada,¹¹⁸ mas aún no se cuenta con resultados en humanos.

PUNTOS FINALES

La ghrelina es un péptido producido principalmente en estómago que constituye un ligando natural del GHS-R. Como los secretagogos de hormona de crecimiento (GH) sintéticos, la ghrelina aumenta potentemente la liberación de GH en humanos y en otras especies. La ghrelina ha generado gran interés debido a su efecto orexígeno y a sus efectos moduladores en el metabolismo energético. La ghrelina tiene una serie de peculiaridades desde el punto de vista estructural y funcional. Entre éstas se incluyen las siguientes: a) es la primera hormona peptídica en que se haya identificado una modificación por un ácido graso (ghrelina acilada); b) es el primer péptido circulante con un potente efecto orexígeno; c) aunque la forma acilada es la que inicialmente se describió como la forma activa, la forma no acilada ha mostrado una serie de efectos, al menos desde el punto de vista farmacológico, algunos de éstos opuestos a los de la forma acilada; d) la ghrelina se identificó como el primer péptido endó-

geno del GHS-R, mas los efectos de la forma no acilada no son mediados por este receptor, lo cual ha llevado a una intensa búsqueda de otro(s) receptor(es); e) algunos estudios sugieren que la forma acilada tiene efectos en tejidos que no poseen el GHS-R, lo que sugiere la existencia de receptor(es) adicional(es) para ghrelina acilada; f) el mismo gen de ghrelina codifica un segundo péptido que se ha denominado obestatina cuyos supuestos efectos son en general opuestos a los de ghrelina acilada;⁹⁰ g) se debe destacar también que el estudio adecuado de la regulación fisiológica de la ghrelina se ha visto limitado por aspectos inherentes a la inestabilidad de la molécula de ghrelina y el uso de pruebas analíticas sin la capacidad de detectar específicamente las formas acilada y la no acilada. Es imperativo un mejor conocimiento del papel fisiológico de ghrelina, el cual guiará mejor el estudio del potencial terapéutico de ghrelina y el de la estimulación o bloqueo farmacológico de sus acciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K. Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone *in vitro*. *Endocrinology* 1980; 106: 663-7.
2. Howard AD, Feighner SD, Cully DF et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996; 273: 974-7.
3. Davenport AP, Bonner TI, Ford SM et al. International Union of Pharmacology. LXI. Ghrelin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 541-6.
4. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-60.
5. Tomasetto C, Karam SM, Ribieras S et al. Identification and characterization of a novel gastric peptide hormone: the motilin-related peptide. *Gastroenterology* 2000; 119: 395-405.
6. del Rincon JP, Thorner MO, Gaylinn BG. Motilin-related peptide and ghrelin: lessons from molecular techniques, peptide chemistry, and receptor biology. *Gastroenterology* 2001; 120: 587-8; author reply 589.
7. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 21995-2000.
8. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
9. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85: 495-522.
10. Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS et al. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing pep-

- tide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 2000; 43: 4370-6.
11. Date Y, Kojima M, Hosoda H et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255-61.
 12. Cowley MA, Smith RG, Diano S et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; 37: 649-61.
 13. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-8.
 14. Popovic V, Miljic D, Pekic S et al. Low plasma ghrelin level in gastrectomized patients is accompanied by enhanced sensitivity to the ghrelin-induced growth hormone release. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2187-91.
 15. Akamizu T, Takaya K, Irako T et al. Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Eur J Endocrinol* 2004; 150: 447-55.
 16. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; 50: 1714-9.
 17. Sugino T, Hasegawa Y, Kikkawa Y et al. A transient ghrelin surge occurs just before feeding in a scheduled meal-fed sheep. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 295: 255-60.
 18. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002; 346: 1623-30.
 19. Cummings DE, Frayo RS, Marmonier C, Aubert R, Chapelot D. Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287: E297-304.
 20. Tschop M, Wawarta R, Riepl RL et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: RC19-21.
 21. Gottero C, Bellone S, Rapa A et al. Standard light breakfast inhibits circulating ghrelin level to the same extent of oral glucose load in humans, despite different impact on glucose and insulin levels. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 1203-7.
 22. Doucet E, Pomerleau M, Harper ME. Fasting and postprandial total ghrelin remain unchanged after short-term energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1727-32.
 23. Greenman Y, Golani N, Gilad S, Yaron M, Limor R, Stern N. Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner. *Clin Endocrinol* 2004; 60: 382-8.
 24. Murdolo G, Lucidi P, Di Loreto C et al. Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. *Diabetes* 2003; 52: 2923-7.
 25. Ghigo E, Broglio F, Arvat E, Maccario M, Papotti M, Muccioli G. Ghrelin: more than a natural GH secretagogue and/or an orexigenic factor. *Clin Endocrinol* 2005; 62: 1-17.
 26. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-4.
 27. Nakagawa E, Nagaya N, Okumura H et al. Hyperglycemia suppresses the secretion of ghrelin, a novel growth-hormone-releasing peptide: responses to the intravenous and oral administration of glucose. *Clin Sci* 2002; 103: 325-8.
 28. Hansen TK, Dall R, Hosoda H et al. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol* 2002; 56: 203-6.
 29. Soriano-Guillen L, Barrios V, Campos-Barros A, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. *J Pediatr* 2004; 144: 36-42.
 30. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E et al. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 669-73.
 31. Nakai Y, Hosoda H, Nin K et al. Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: R1-3.
 32. Nedvidkova J, Krykorkova I, Bartak V et al. Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1678-82.
 33. Tanaka M, Naruo T, Yasuhara D et al. Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology* 2003; 28: 829-35.
 34. Tolle V, Kadem M, Bluet-Pajot MT et al. Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 109-16.
 35. Krsek M, Rosicka M, Papezova H et al. Plasma ghrelin levels and malnutrition: a comparison of two etiologies. *EUD* 2003; 8: 207-11.
 36. Misra M, Miller KK, Herzog DB et al. Growth hormone and ghrelin responses to an oral glucose load in adolescent girls with anorexia nervosa and controls. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1605-12.
 37. Otto B, Tschop M, Fruhauf E et al. Postprandial ghrelin release in anorectic patients before and after weight gain. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30: 577-81.
 38. Hotta M, Ohwada R, Katakami H, Shibasaki T, Hizuka N, Takano K. Plasma levels of intact and degraded ghrelin and their responses to glucose infusion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5707-12.
 39. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M et al. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 2001; 104: 2034-8.
 40. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T et al. Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 774-8.
 41. Neary NM, Small CJ, Wren AM et al. Ghrelin increases energy intake in cancer patients with impaired appetite: acute, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2832-6.

42. Garcia JM, Garcia-Touza M, Hijazi RA et al. Active ghrelin levels and active to total ghrelin ratio in cancer-induced cachexia. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2920-6.
43. Wolf I, Sadetzki S, Kanety H et al. Adiponectin, ghrelin, and leptin in cancer cachexia in breast and colon cancer patients. *Cancer* 2006; 106: 966-73.
44. Itoh T, Nagaya N, Yoshikawa M et al. Elevated plasma ghrelin level in underweight patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 879-82.
45. Sturm K, MacIntosh CG, Parker BA, Wishart J, Horowitz M, Chapman IM. Appetite, food intake, and plasma concentrations of cholecystokinin, ghrelin, and other gastrointestinal hormones in undernourished older women and well-nourished young and older women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3747-55.
46. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707-9.
47. Ravussin E, Tschop M, Morales S, Bouchard C, Heiman ML. Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. [erratum appears in *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5972.
48. Cummings DE, Clement K, Purnell JQ et al. Elevated plasma ghrelin levels in Prader Willi syndrome. *Nat Med* 2002; 8: 643-4.
49. DelParigi A, Tschop M, Heiman ML et al. High circulating ghrelin: a potential cause for hyperphagia and obesity in prader-willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5461-4.
50. Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 174-8.
51. Tauber M, Conte Auriol F, Moulin P, Molinas C, Delagnes V, Salles JP. Hyperghrelinemia is a common feature of Prader-Willi syndrome and pituitary stalk interruption: a pathophysiological hypothesis. *Horm Res* 2004; 62: 49-54.
52. Paik KH, Jin DK, Song SY et al. Correlation between fasting plasma ghrelin levels and age, body mass index (BMI), BMI percentiles, and 24-hour plasma ghrelin profiles in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3885-9.
53. Goldstone AP, Thomas EL, Brynes AE et al. Elevated fasting plasma ghrelin in Prader-Willi syndrome adults is not solely explained by their reduced visceral adiposity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1718-26.
54. Goldstone AP, Patterson M, Kalingag N et al. Fasting and postprandial hyperghrelinemia in Prader-Willi syndrome is partially explained by hypoinsulinemia, and is not due to peptide YY3-36 deficiency or seen in hypothalamic obesity due to craniopharyngioma. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2681-90.
55. Paik KH, Choe YH, Park WH et al. Suppression of acylated ghrelin during oral glucose tolerance test is correlated with whole-body insulin sensitivity in children with Prader-Willi Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1876-1881.
56. Schindler K, Prager G, Ballaban T et al. Impact of laparoscopic adjustable gastric banding on plasma ghrelin, eating behaviour and body weight. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 549-54.
57. Fruhbeck G, Diez Caballero A, Gil MJ. Fundus functionality and ghrelin concentrations after bariatric surgery. *N Engl J Med* 2004; 350: 308-9.
58. Adami GF, Cordera R, Andraghetti G, Camerini GB, Marinari GM, Scopinaro N. Changes in serum ghrelin concentration following biliopancreatic diversion for obesity. *Obesity Res* 2004; 12: 684-7.
59. Mingrone G, Granato L, Valera-Mora E et al. Ultradian ghrelin pulsatility is disrupted in morbidly obese subjects after weight loss induced by malabsorptive bariatric surgery. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1017-1024.
60. Stoeckli R, Chanda R, Langer I, Keller U. Changes of body weight and plasma ghrelin levels after gastric banding and gastric bypass. *Obesity Res* 2004; 12: 346-50.
61. Faraj M, Havel PJ, Phelis S, Blank D, Sniderman AD, Cianflone K. Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1594-602.
62. Holdstock C, Engstrom BE, Ohrvall M, Lind L, Sundbom M, Karlsson FA. Ghrelin and adipose tissue regulatory peptides: effect of gastric bypass surgery in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3177-83.
63. Geloneze B, Tambascia MA, Pilla VF, Geloneze SR, Repetto EM, Pareja JC. Ghrelin: a gut-brain hormone: effect of gastric bypass surgery. *Obes Surg* 2003; 13: 17-22.
64. Coates PS, Fernstrom JD, Fernstrom MH, Schauer PR, Greenspan SL. Gastric bypass surgery for morbid obesity leads to an increase in bone turnover and a decrease in bone mass. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1061-5.
65. Morinigo R, Casamitjana R, Moize V et al. Short-term effects of gastric bypass surgery on circulating ghrelin levels. *Obesity Res* 2004; 12: 1108-16.
66. Leonetti F, Silecchia G, Iacobellis G et al. Different plasma ghrelin levels after laparoscopic gastric bypass and adjustable gastric banding in morbid obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4227-31.
67. le Roux CW, Bloom SR. Why do patients lose weight after Roux-en-Y gastric bypass? *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 591-2.
68. Cummings DE, Shannon MH. Ghrelin and gastric bypass: is there a hormonal contribution to surgical weight loss? *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2999-3002.
69. Broglio F, Koetsveld Pv P, Benso A et al. Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4829-32.
70. Norrelund H, Hansen TK, Orskov H et al. Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin. *Clin Endocrinol* 2002; 57: 539-46.
71. Broglio F, Gottero C, Van Koetsveld P et al. Acetylcholine regulates ghrelin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2429-33.
72. Arafat MA, Otto B, Rochlitz H et al. Glucagon inhibits ghrelin secretion in humans. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 397-402.

73. Hirsh D, Heinrichs C, Leenders B, Wong AC, Cummings DE, Chanoine JP. Ghrelin is suppressed by glucagon and does not mediate glucagon-related growth hormone release. *Horm Res* 2005; 63: 111-8.
74. Soule S, Pemberton C, Hunt P, Cole D, Raudsepp S, Inder W. Prandial regulation of ghrelin secretion in humans: does glucagon contribute to the preprandial increase in circulating ghrelin? *Clin Endocrinol* 2005; 63: 412-7.
75. Broglio F, Prodam F, Gottero C et al. Ghrelin does not mediate the somatotroph and corticotroph responses to the stimulatory effect of glucagon or insulin-induced hypoglycaemia in humans. *Clin Endocrinol* 2004; 60: 699-704.
76. Broglio F, Gottero C, Prodam F et al. Ghrelin secretion is inhibited by glucose load and insulin-induced hypoglycaemia but unaffected by glucagon and arginine in humans. *Clin Endocrinol* 2004; 61: 503-9.
77. Bagnasco M, Tulipano G, Melis MR, Argiolas A, Cocchi D, Muller EE. Endogenous ghrelin is an orexigenic peptide acting in the arcuate nucleus in response to fasting. *Regul Pept* 2003; 111: 161-7.
78. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-13.
79. Tang-Christensen M, Vrang N, Ortman S, Bidlingmaier M, Horvath TL, Tschöp M. Central administration of ghrelin and agouti-related protein (83-132) increases food intake and decreases spontaneous locomotor activity in rats. *Endocrinology* 2004; 145: 4645-52.
80. Wang L, Saint-Pierre DH, Tache Y. Peripheral ghrelin selectively increases Fos expression in neuropeptide Y-synthesizing neurons in mouse hypothalamic arcuate nucleus. *Neurosci Lett* 2002; 325: 47-51.
81. Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes* 1996; 45: 531-5.
82. Mizuno TM, Mobbs CV. Hypothalamic agouti-related protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated by fasting. *Endocrinology* 1999; 140: 814-7.
83. Nogueiras R, Tovar S, Mitchell SE et al. Regulation of growth hormone secretagogue receptor gene expression in the arcuate nuclei of the rat by leptin and ghrelin. *Diabetes* 2004; 53: 2552-8.
84. Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K et al. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001; 50: 227-32.
85. Asakawa A, Inui A, Kaga T et al. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut* 2003; 52: 947-52.
86. Shuto Y, Shibasaki T, Otagiri A et al. Hypothalamic growth hormone secretagogue receptor regulates growth hormone secretion, feeding, and adiposity. *J Clin Invest* 2002; 109: 1429-36.
87. Wortley KE, Anderson KD, Garcia K et al. Genetic deletion of ghrelin does not decrease food intake but influences metabolic fuel preference. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 8227-32.
88. Wortley KE, del Rincon JP, Murray JD et al. Absence of ghrelin protects against early-onset obesity. *J Clin Invest* 2005; 115: 3573-8.
89. Zigman JM, Nakano Y, Coppari R et al. Mice lacking ghrelin receptors resist the development of diet-induced obesity. *J Clin Invest* 2005; 115: 3564-72.
90. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 2005; 310: 996-9.
91. Sun Y, Ahmed S, Smith RG. Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7973-81.
92. Sun Y, Wang P, Zheng H, Smith RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 4679-84.
93. Muller AF, Lamberts SW, Janssen JA et al. Ghrelin drives GH secretion during fasting in man. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 203-7.
94. Avram AM, Jaffe CA, Symons KV, Barkan AL. Endogenous circulating ghrelin does not mediate growth hormone rhythmicity or response to fasting. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2982-7.
95. Koutkia P, Schurgin S, Berry J et al. Reciprocal changes in endogenous ghrelin and growth hormone during fasting in healthy women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289: E814-22.
96. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C et al. Metabolic and endocrine effects of physiological increments in plasma ghrelin concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15: 410-7.
97. Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y et al. Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2004; 110: 3674-9.
98. Enomoto M, Nagaya N, Uematsu M et al. Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in healthy humans. *Clin Sci* 2003; 105: 431-5.
99. Janssen JA, Poldermans D, Hofland LJ et al. There are no acute cardiac effects of a single iv dose of human ghrelin in severe growth hormone deficient patients. *J Endocrinol Invest* 2004; 27: 659-64.
100. Tesouro M, Schinzari F, Iantorno M et al. Ghrelin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *Circulation* 2005; 112: 2986-92.
101. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276: 905-8.
102. Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Norlen P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; 120: 23-32.
103. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 57-66.
104. Li WG, Gavrila D, Liu X et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in

- human endothelial cells. *Circulation* 2004; 109: 2221-6.
105. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1707-20.
106. Weikel JC, Wichniak A, Ising M et al. Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284: E407-15.
107. Pinto S, Roseberry AG, Liu H et al. Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin. *Science* 2004; 304: 110-5.
108. Carlini VP, Monzon ME, Varas MM et al. Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299: 739-43.
109. Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 635-41.
110. Diano S, Farr SA, Benoit SC et al. Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nat Neurosci* 2006; 9: 381-8.
111. Shearman LP, Wang SP, Helmling S et al. Ghrelin neutralization by a ribonucleic acid-SPM ameliorates obesity in diet-induced obese mice. *Endocrinology* 2006; 147: 1517-26.
112. Beck B, Richy S, Stricker-Krongrad A. Feeding response to ghrelin agonist and antagonist in lean and obese Zucker rats. *Life Sciences* 2004; 76: 473-8.
113. Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Verbeke K, Janssens J, Peeters T. Influence of ghrelin on gastric emptying and meal-related symptoms in idiopathic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 847-53.
114. Murray CD, Martin NM, Patterson M et al. Ghrelin enhances gastric emptying in diabetic gastroparesis: a double blind, placebo controlled, crossover study. *Gut* 2005; 54: 1693-8.
115. Nagaya N, Itoh T, Murakami S et al. Treatment of cachexia with ghrelin in patients with COPD. *Chest* 2005; 128: 1187-93.
116. Wynne K, Giannitsopoulou K, Small CJ et al. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: a randomized, placebo-controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2111-8.
117. Miljic D, Pekic S, Djurovic M et al. Ghrelin has partial or no effect on appetite, growth hormone, prolactin, and cortisol release in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1491-5.
118. Rigamonti AE, Bonomo SM, Scanniffio D, Cella SG, Muller EE. Orexigenic effects of a growth hormone secretagogue and nitric oxide in aged rats and dogs: correlation with the hypothalamic expression of some neuropeptidergic/receptorial effectors mediating food intake. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61: 315-322.