

Efectos de la grelina y la obestatina en la salud y la enfermedad

Llamas-Covarrubias Iris Monserrat, Ruiz-Solorio Lucía del Sagrario, Llamas-Covarrubias Mara Anaís, Rivera-León Edgar Alfonso y Sánchez-Enríquez Sergio.

Autor para correspondencia

Sergio Sánchez Enríquez. Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.
Domicilio: Calle Sierra Mojada 950, Colonia Independencia Oriente C.P. 44340, Guadalajara, MX.
Contacto al correo electrónico: serlucis@hotmail.com

Palabras clave: Diabetes mellitus 2, función, grelina, obesidad, obestatina, polimorfismos, tratamiento.
Keywords: ghrelin, obestatin, function, obesity, diabetes mellitus 2, polymorphysm, treatment.

REVISTA MÉDICA MD, Año 6, número 3, febrero-abril 2015, es una publicación trimestral editada por Roberto Miranda De La Torre, Sierra Grande 1562 Col. Independencia, Guadalajara, Jalisco, C.P. 44340. www.revistamedicamd.com, md.revistamedica@gmail.com. Editor responsable: Javier Soto Vargas. Reservas de Derecho al Uso Exclusivo No. 04-2013-091114361800-203. ISSN: 2007-2953. Licitud de Título y Licitud de Contenido: en Trámite. Responsable de la última actualización de este número Comité Editorial de la Revista Médica MD Sierra Grande 1562 Col. Independencia, Guadalajara, Jalisco, C.P. 44340. Fecha de última modificación 30 de abril de 2015.





Efectos de la grelina y la obestatina en la salud y la enfermedad

Llamas-Covarrubias IM^{ab}, Ruiz-Solorio LS^a, Llamas-Covarrubias MA^c, Rivera-León EA^{ab}, Sánchez-Enríquez S^{ab}

Resumen

La grelina y la obestatina, hormonas recientemente descubiertas, tienen funciones importantes sobre la regulación del apetito. La grelina conocida como la primera hormona orexigénica periférica que actúa a nivel central, principalmente induce el apetito, acelera el vaciamiento gástrico y se incrementa sus niveles séricos antes de una comida. Por su parte, la obestatina se opone a las funciones de la grelina sobre la inducción de apetito y también tiene otras funciones en la regulación de la glucemia y la supervivencia de las células beta pancreáticas. Las funciones hasta ahora descritas, relacionan a estas hormonas en procesos patológicos crónicos como obesidad, Diabetes Mellitus tipo 2, anorexia, enfermedad renal, cardiopatías entre otras. El estudio a nivel genético de estas hormonas muestra variantes polimórficas que se relacionan con una susceptibilidad a incremento de peso o menor tolerancia a la glucosa. Se ha sugerido que estas hormonas pueden utilizarse como terapia para diversas condiciones.

Palabras clave: *Diabetes mellitus 2, función, grelina, obesidad, obestatina, polimorfismos, tratamiento.*

The effects of ghrelin and obestatin over health and sickness

Abstract

Ghrelin and Obestatin are recently discovered hormones with important regulatory functions over appetite. Ghrelin is known as the first peripheral orexigenic hormone with central actions. One of its most important actions is to induce appetite, accelerate gastric emptying and it is mainly secreted before meals. On the other hand, obestatin has opposite actions to ghrelin over appetite regulation, glucose regulation and pancreatic beta cell survival.

Functions attributed to these hormones relate them to chronic pathological states, such as obesity and type 2 diabetes mellitus. They also play a role in other illnesses such as anorexia, kidney failure, heart disorders, etc. Genetic studies of these hormones show polymorphic variants that are related to weight increase and glucose intolerance susceptibility. Possible therapeutic uses of these hormones have been suggested.

Key words: *Ghrelin, Obestatin, Function, Obesity, Diabetes Mellitus 2, Polymorphism, Treatment.*

a. Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, MX.

b. Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Departamento de Biología Molecular y Genómica, Cuerpo Académico UDG-CA-533 Estudio Multidisciplinario de las Enfermedades Crónico Degenerativas.

c. Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Departamento de Clínicas Médicas.

Autor para correspondencia

Sergio Sánchez Enríquez. Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. Domicilio: Calle Sierra Mojada 950, Colonia Independencia Oriente C.P. 44340, Guadalajara, MX.
Contacto al correo electrónico:
serlucis@hotmail.com

Abreviaturas

5'UTR: del inglés *Untranslated region*, región orientada en el extremo 5' de un gen que no es traducida y tiene funciones principalmente sobre la regulación de la expresión génica.
 ACTH: Hormona adrenocorticotropa, que se encarga de estimular la secreción de cortisol.
 AgRP: del inglés agouti-related protein, regula el peso corporal vía receptores de melanocortina.
 Akt serina cinasas: proteína cinasa que actúa en procesos de metabolismo de glucosa, apoptosis y proliferación celular.
 AMP: Adenosin monofosfato
 AMPK: Proteína cinasa activada por AMP, activado cuando aumenta la relación entre AMP/ATP, considerado detector de energía celular.
 BCL2: del inglés *B-cell lymphoma 2*, proteína que regula la apoptosis tanto positiva como negativamente.
 BSX: Factor de transcripción que actúa en el sistema nervioso central como regulador de la expresión hipotalámica de neuropeptido Y y AgRP.
 CaMKK2: del inglés *calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2*, enzima que regula la producción de estimulantes del apetito como NPY.
 CART: del inglés *cocaine and amphetamine regulated transcript*, proteína que está involucrada en acciones como regulación de la energía y en el estrés.
 Cinasa 1/2: proteína cinasa que al activarse evita la apoptosis.

CREB: del inglés *c'AMP response element binding*, factor de transcripción que se une a secuencias del ADN llamadas elementos de respuesta a AMP cíclico.

CRH: del inglés *corticotropin-releasing hormone*, es una hormona que actúa en respuesta al estrés y activa la secreción de la hormona adrenocorticotropa.

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2.

DPS: Estudio Finlandés de Prevención de la Diabetes (del inglés *Finnish Diabetes Prevention Study*).

Factor κβ: Factor de transcripción que desencadena procesos de supervivencia incluyendo aumento de transcripción de enzimas antioxidantes.

FoxO1: Factor de transcripción que participa de manera importante en la regulación de la gluconeogénesis y glucogenolisis mediante la señalización de insulina.

GA: Grelina Acilada

GH: del inglés *growth hormone*. Hormona de crecimiento

GHRL: Gen de Grelina

GHRLOS: del inglés *Ghrelin Opposite Strand*, transcritos antisentido del gen *GHRL*

GHS-R: del inglés *Growth Hormone Secretagogue Receptor*. Receptor secretagogo de hormona de crecimiento.

GHSR1a: Tipo de receptor de hormona de crecimiento 1^a, que contiene dominios transmembranales completos y propicia la unión con la grelina.

GOAT: Enzima grelina O-acetyltransferasa (del inglés, *ghrelin O-acetyltransferase*)

GPR-39: Receptor huérfano acoplado a proteínas G 39.

HDL: Lipoproteína de alta densidad (del inglés *High Density Lipoprotein*).

HL-1: Línea celular de músculo cardiaco que tiene características fenotípicas del cardiomiocto adulto.

HOMA IR: Modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina.

HT: Hipertensión

ICC: Índice Cintura Cadera

IMC: Índice de Masa Corporal

LDL: Lipoproteína de baja densidad.

mRNA: Ácido ribonucleico de tipo mensajero.

NAT: del inglés *Natural Antisense Transcripts*, Transcritos antisentido que pueden tener implicación en la regulación de la expresión génica.

NPY: Neuropeptido Y.

p53: proteína supresora de tumores.

PDX1: del inglés *Pancreatic and duodenal homeobox 1*, es un factor de transcripción necesario para el desarrollo del páncreas y la maduración de las células beta.

POMC: Propiomelanocortina.

PRL: Prolactina

RI: Resistencia a insulina.

SNC: Sistema Nervioso Central.

TRH: Hormona liberadora de tirotropina.

TSH: Hormona estimulante de la tiroides.

UAG: del inglés *Unacylated ghrelin*, forma desacilada del péptido grelina.

UCP2: Proteína desacoplante 2.

Introducción

Muchos son los mecanismos por los cuales se lleva a cabo la modulación del apetito en el cuerpo humano. Por su parte, existen numerosos reguladores hipotalámicos del apetito entre ellos componentes orexigénicos (estimuladores del apetito) como el neuropeptido Y (NPY), proteína relacionada a agouti (AgRP, del inglés *Agouti Related Protein*), grelina, orexina y canabinoides; así como componentes anorexigénicos (supresores del apetito) como proopiomelanocortina (POMC), transcríto regulado por cocaína y anfetaminas (CART, del inglés, *Cocaine-and-Amphetamine-Regulated Transcript*), hormona liberadora de tirotropina (TRH, del inglés *Thyrotrophin Release Hormone*) y hormona liberadora de corticotropina (CRH, del inglés *Corticotrophin Release Hormone*).¹ En 2005, Zhang y cols fueron los primeros

en identificar a la obestatina, un péptido que es codificado por el mismo gen de la grelina pero con funciones antagónicas a la misma, en especial su acción anorexígena. A nivel periférico, la obestatina participa en el proceso de vaciamiento gástrico, liberación de insulina y supervivencia de células beta pancreáticas.² Desde el descubrimiento de la grelina en 1999³ y de la obestatina 6 años después, estas dos moléculas han sido estudiadas de manera intensa debido a su potencial participación en diferentes situaciones tanto fisiológicas como fisiopatológicas de diferentes aparatos y sistemas. Por lo anterior, la presente revisión se enfoca en la descripción de los efectos de la grelina y la obestatina en la salud y su relación con algunas enfermedades.

Gen GHRL: Codificador de la grelina y obestatina

El gen de la grelina en el humano (*GHRL*) se localiza en el brazo corto del cromosoma 3 (3p25-26). Wajnrajch en el 2000 reportó que el gen *GHRL* estaba constituido por 4 exones que codificaban a la preprogrelina.⁴ Durante el estudio del gen, se encontraron exones adicionales en la región 5' del gen, así como variantes de *splicing*. Los exones “nuevos” se denominaron exón -1, exón 0 y exón 1 extendido por lo que a estos exones se les suman los ya conocidos anteriormente⁵ (Figura 1). La estructura actualizada del gen sugiere que el

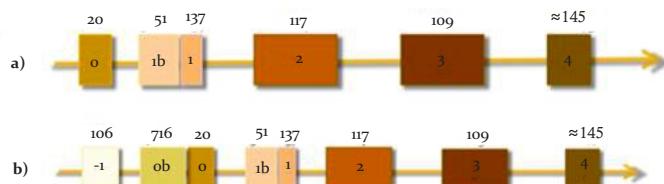


Figura 1. Diagrama esquemático del gen *GHRL*. a) Estructura original del gen *GHRL* en donde se muestran los exones codificantes 1-4 de la preprogrelina y los exones no codificantes corriente arriba y 1b. b) Estructura del gen *GHRL* con los exones adicionales descubiertos por el grupo de Seim, los exones no codificantes son los -1, 0b, 0 y 1b. Fuente: Tomado de Seim 2011.

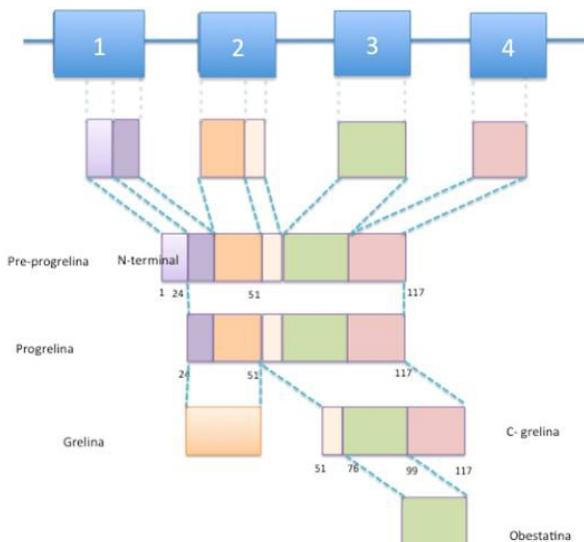


Figura 2. El gen *GHRL*, se encuentra formado por 4 exones codificantes de un primer propéptido de 117 aminoácidos, posteriormente pierde la péptido señal y mediante escisiones posteriores genera los dos péptidos de actividad biológica que son grelina y obestatina.

gen *GHRL* abarca 7.2 kb y está formado por 6 exones de los cuales 4 de ellos codifican para la preprogrelina. Además, se ha reportado la identificación de nuevos sitios de transcripción y múltiples variantes de *splicing*, lo cual sugiere que la regulación del gen *GHRL* es más compleja de lo que se pensaba con anterioridad.^{5,6}

Los exones del 1 al 4, codifican la preprogrelina de 117 aminoácidos y el mRNA puede sufrir *splicing* alternativo para generar múltiples variantes relacionadas y péptidos putativos.⁷ El péptido señal de la preprogrelina esta codificado por el exón 1 y la secuencia que codifica para el péptido de 28 aminoácidos de la grelina lo componen parte de los exones 1 y 2. El extremo carboxilo (C-terminal) de la preprogrelina o C-grelina, constituido por 66 aminoácidos, está codificado por el resto del exón 2, exón 3 y exón 4. La C-grelina puede contener al menos un péptido bioactivo adicional de 23 aminoácidos conocido como obestatina² (Figura 2).

Se conocen dos variantes del gen *GHRL* producidas por *splicing* alternativo. La primera está truncada de 3 pares de bases 5' del exón 2 la cual codifica el péptido de 27 aminoácidos determinado como des-Gln¹⁴-grelina, con estructura idéntica a la grelina, con excepción de la ausencia de glutamina en la posición 14. No se conocen los efectos de

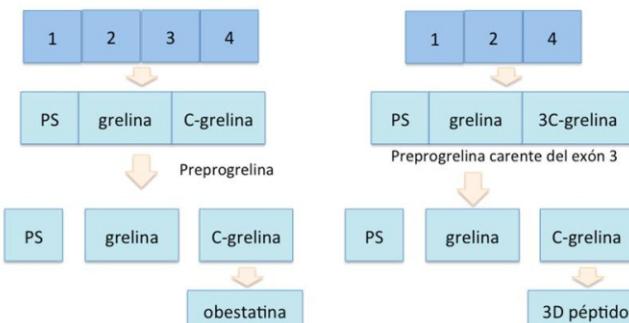


Figura 3. Isoformas codificadas por el gen *GHRL*. A la izquierda, la variante que se codifica por los exones 1 al 4 y produce un péptido C-grelina. A la derecha, la variante que se codifica por los exones 1, 2 y 4.

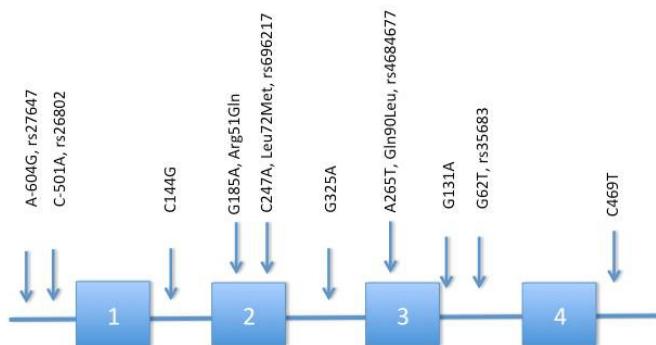


Figura 4. Polimorfismos identificados en la secuencia del gen *GHRL*, en la primera y la última letra representan la sustitución de las bases y el número, la posición de la base; la segunda nomenclatura representa el cambio de aminoácido y el codón que se encuentra (en el caso de exones codificantes) o el número rs.

este péptido y al parecer no modifica la afinidad de la grelina por su receptor (*GHSR1a*).⁸ La otra variante del gen *GHRL* carece del exón 3 y codifica un péptido de 91 aminoácidos. Esta variante produce a la grelina madura y funcional y un péptido C-terminal (3-C-grelina) de 16 aminoácidos, el cual carece de la región que codifica a la obestatina. Esto sugiere que la proporción fisiológica entre la grelina y la obestatina puede estar regulada por medio del *splicing* alternativo.⁷ Hasta ahora, la variante des-Gln¹⁴-grelina y la preprogrelina carente del exón 3 son los únicos péptidos probados experimentalmente que se traducen por *splicing* alternativo del gen *GHRL*.⁸

Adicionalmente, estudios realizados por el Seim I y colaboradores han reportado otras variantes de los transcriptos de la C-grelina, los cuales contienen un péptido señal putativo de secreción, codificado por el exón anteriormente mencionado como -1, todas estas variantes omiten el exón 1 de la preprogrelina. Este péptido señal putativo es seguido de las siguientes secuencias: la secuencia codificante de la C-grelina (carente del exón 1; Δex1 Progrelina así como esta misma variante Δex1 des-Gln²⁴-Progrelina), la secuencia que contiene exón 3 y 4 (Δex1-2 Progrelina), y la secuencia que contiene el exón 4 (Δex1-3 Progrelina)⁷ (Figura 3). La biosíntesis, el procesamiento y la secreción de los péptidos derivados de la preprogrelina no son totalmente conocidos aún; sin embargo, se hipotetiza que estos péptidos tienen diferentes funciones que la grelina. La expresión de estos transcriptos puede indicar que la obestatina, la C-grelina y los péptidos carentes del exón 3 así como otros péptidos derivados de las variantes de la C-grelina son bioactivos. Sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar sus funciones, distribución en los tejidos, abundancia, así como la significancia fisiológica que estos transcriptos poseen.

El gen *GHRL* presenta otras variantes de transcriptos que incluyen los que contienen regiones 5' no traducidas (5' UTR) de la preprogrelina y transcriptos antisentido.⁷ Existe evidencia de que el gen de la preprogrelina contiene promotores alternativos y variantes exónicas 5' en su mRNA que proveen mecanismos adicionales para controlar la síntesis de grelina.^{9,10} Los promotores alternativos y el *splicing* alternativo pudieran regular el gen *GHRL* a nivel transcripcional y postranscripcional que producen isoformas de grelina con eficiencias traduccionales reducidas.⁷ El grupo

de investigación de Seim I, se ha dedicado a investigar al gen *GHRL*, sus características y sus productos. Este grupo, en el 2009, identificó nuevos transcritos antisentido naturales (NAT's, por sus siglas en inglés *Natural Antisense Transcripts*) que derivan del gen de la grelina antisentido (*GHRLOS*, por sus siglas en inglés *Ghrelin Opposite Strand*). Los transcritos de este gen, tienen características típicas de genes no codificantes entre las que se incluyen: caperuza 5', poliadenilación, *splicing* extensivo y marcos cortos de lectura. El gen *GHRLOS* tiene baja expresión en el estómago y alta en órganos regulados mediante el desarrollo como el cerebro, testículos y timo que son lugares principales de expresión de RNA no codificante. Esto sugiere que el gen *GHRLOS* pudiera regular al gen de la grelina o pudiera, incluso, regular a otros genes no relacionados con la grelina.^{6,7,11}

Polimorfismos del gen *GHRL*

Dentro de la secuencia que codifica para la grelina y la obestatina se han encontrado diferentes polimorfismos, y posteriormente algunos se han relacionado con enfermedades tales como la obesidad, la DM2 y padecimientos como la resistencia a la insulina, por lo que el gen *GHRL* se ha convertido en objeto de estudio de múltiples investigaciones.

Hay diversos polimorfismos encontrados en las regiones codificantes y no codificantes del gen *GHRL*, se muestran en la figura 4.

Entre los polimorfismos estudiados en las diferentes regiones del gen *GHRL* están: A-604G (rs27647), C-501A (rs26802), G185A (Arg51Gln), C247A (rs696217, Leu72Met), A265T (rs4684677, Gln90Leu). Los primeros dos polimorfismos se encuentran en región promotora, el polimorfismo A-604G es un cambio de base, A por G en la posición -604 y rs26802 que cambia C por A en la posición -501, estos polimorfismos se han relacionado con el desarrollo de obesidad, y particularmente, el polimorfismo A-604G a su vez también, con la resistencia a la insulina. En el exón 2, se encuentran el polimorfismo Arg51Gln (G185A), un cambio de G por A en la posición 186 que se asocia con concentraciones menores de grelina y factor de crecimiento similar a la insulina¹² y el polimorfismo Leu72Met que tiene relación con el desarrollo de la obesidad y que ha sido muy controversial entre los diferentes estudios^{13,14}. Este polimorfismo se asocia con fenotipos de obesidad¹³ y desarrollo temprano de la misma.¹⁴ El polimorfismo Gln90Leu (rs4684677) en el exón 3, ha sido asociado con desarrollo de obesidad,¹⁴ otro polimorfismo que se encuentra en región intrónica, rs3568 lleva a cabo un cambio de la base G por T en la posición 62 sin posteriores relaciones.

Los polimorfismos A-604G (rs27647), Leu72Met (rs696217), Arg51Gln (G185A) y Gln90Leu (rs4684677) son los más estudiados debido a su relación con obesidad y DM2.

El grupo de investigadores de Yaneva y colaboradores, al estudiar al polimorfismo A-604G (rs27647) sugieren que este polimorfismo es capaz de tener influencia sobre la frecuencia de transcripción de la progreolina y sobre la capacidad de unión de la maquinaria de transcripción al gen *GHRL*.¹⁵ En un estudio realizado en pacientes con esquizofrenia, se encontró que la presencia de este polimorfismo se relacionó con mayor

peso corporal e IMC durante el tratamiento con antipsicóticos atípicos.¹⁶ En otro estudio realizado en personas con intolerancia a la glucosa se encontró asociación del mismo con menor presión arterial sistólica y diastólica.¹⁷ El genotipo más frecuente en chinos es de GG y en europeos G.^{16,18,19,20}

El cambio que produce el polimorfismo Arg51Gln en el péptido maduro de la grelina puede afectar su función. Muchos estudios muestran que esta variante está asociada con menores niveles de grelina en plasma^{13,22} y con obesidad.²¹ Un estudio realizado por Krzyzanowska-Swiniarska y colaboradores en 2005, demuestra que los portadores del alelo 51Gln tienen mayor prevalencia de DM2 e hipertensión que quienes no lo portan,²³ sin embargo en otro estudio realizado en población china no hubo tal resultado puesto que todos los sujetos de estudio tuvieron los alelos Arg51Arg lo que sugiere que existen diferencias étnicas, y se implica que hay menor frecuencia de Arg51Gln en algunas poblaciones.²⁴

El polimorfismo Leu72Met (rs696217), se encuentra localizado entre el péptido de grelina y obestatina, las consecuencias funcionales de esta variante aún son desconocidas; y aunque el cambio de base (C por A) no produce modificación en la secuencia de la grelina madura, se cree que el RNAm alterado puede presentar cambios en su estabilidad y en el procesamiento de la proteína que pudiera modificar la secreción y/o actividad de la misma, como lo reportado para la insulina.²⁵ Hassouna y colaboradores sugieren que el cambio de aminoácido es posible que afecte el procesamiento del péptido preprogreolina a la grelina madura y potencialmente a la obestatina. El estudio de este polimorfismo ha arrojado resultados controversiales, Liu en 2011 en un estudio en niños obesos encontró asociación entre la presencia del polimorfismo Leu72Met con IMC elevado y desarrollo temprano de obesidad,¹² pero sus resultados no han tenido consistencia con otros estudios. Ukkola y colaboradores encontraron asociación del alelo 72Met con mayor tiempo de desarrollo de obesidad. En otro estudio, Ukkola estudió en pacientes no obesos el polimorfismo Leu72Met con protección contra características relativas de la obesidad, ya que se asoció con menores valores de IMC y grasa visceral.²¹ En población Italiana, se ha estudiado también esta variante y, en adolescentes, el alelo 72Met se asoció con mayor tasa de historia de obesidad familiar y quienes tenían el alelo 72Leu tenían menores valores de IMC.²⁶ En población Japonesa, se asoció la presencia del alelo 72Met con mayores cambios en el peso corporal e ICC, a partir de los 18 años en población adulta y en otro estudio también en población Japonesa, se relacionó el genotipo homocigoto 72Met con niveles bajos de leptina, concentraciones disminuidas de LDL y HDL, además de valores aumentados de grasa visceral.²⁷ Kilpeläinen y colaboradores con datos del estudio DPS (del inglés *Finnish Diabetes Prevention Study*) donde evaluaban actividad física, observaron que personas que portaron el alelo 72Met perdieron peso y disminuyeron su circunferencia de cintura al realizar actividad física, comparados con quienes hacían menos actividad física a diferencia de los homocigotos 72Leu quienes perdían peso independientemente del nivel de actividad física. Todo esto mostrando una discrepancia de

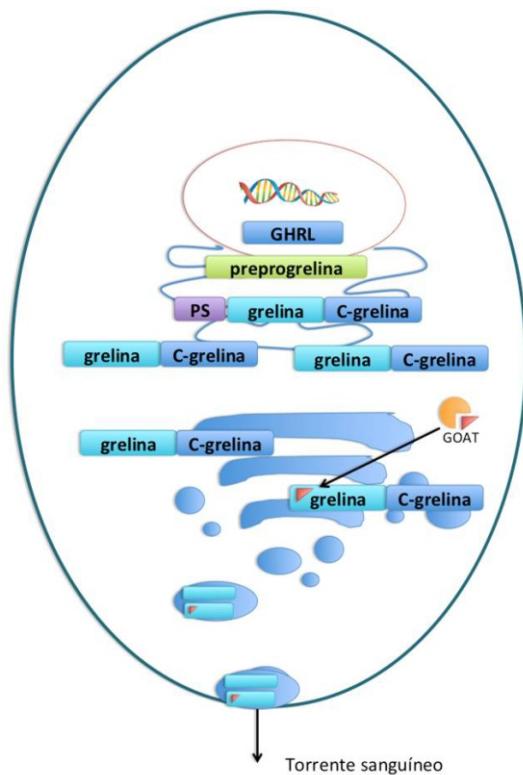


Figura 5. Secrección de grelina y obestatina. La grelina y obestatina se codifican por parte del gen *GHRL*, inicialmente como prepropéptido y posteriormente cortado para producir grelina y el péptido C-grelina donde se origina la obestatina, la enzima GOAT cataliza la octanoilación que provocará afinidad con el receptor, finalmente son secretados hacia la circulación. Fuente: Tomado y modificado de Benso A, 2013³⁴

efecto relacionado con el metabolismo para esta variante en diferentes poblaciones estudiadas.²⁸ El genotipo más frecuente en japoneses y caucásicos es el CC.^{20,27,29}

El polimorfismo Gln90Leu provoca cambio de un aminoácido en el péptido de obestatina, y las posibles consecuencias de este polimorfismo se desconocen.²⁵ Estudios como el de Hassouna R y colaboradores, en donde estudiaron el impacto de este polimorfismo en la función de la obestatina, encontraron que el polimorfismo Gln90Leu mantiene la función característica de la obestatina de reducir los efectos de la grelina en cuanto a la ingestión de alimentos y a la secreción de la hormona de crecimiento. Sin embargo; la presencia de ésta variante polimórfica, al producir el cambio de aminoácido produce un efecto más fuerte que la forma no polimórfica de la obestatina, por medio de la reducción de la acción del NPY sobre la generación de apetito mediada por la grelina, de la misma manera, la obestatina polimórfica produjo un menor consumo de alimentos en ratones.³⁰ Por lo tanto, la presencia de éste polimorfismo sugiere la función potenciada de la obestatina, estudios relacionan la presencia de este polimorfismo con menor IMC.³¹ Otro estudio realizado en población europea, se ha relacionado con obesidad.^{32,33} El genotipo reportado como más frecuente para este polimorfismo en población caucásica es AA.²⁰

Grelina

Descubrimiento de la grelina

La grelina fue descubierta en 1999, en la mucosa del

estómago de rata, por Kojima y colaboradores.³ En el 2000, Tomasetto y cols la identificaron como una molécula homóloga a la motilina o como el “polipéptido relacionado con motilina”.³⁴

Regulación enzimática de la actividad de la grelina

La grelina, para lograr su función biológica debe ser primeramente activada, acción que es llevada a cabo por medio de la enzima O-acetyltransferasa de grelina (GOAT, por sus siglas en inglés *Ghrelin O-Acetyl Transferase*) que ha sido identificada como miembro específico de la familia de aciltransferasas de grelina de unión a membrana del retículo endoplásmico.³⁵ Esta enzima, produce una octanoilación-adición de un ácido octanoico, C₇H₁₅CO- de la serina en la posición 3 de la proteína madura, produciéndose entonces la grelina acilada (GA)³⁶ y por lo tanto, funcionando así como el ligando endógeno del GHS-R.³ Se cree que la adición de esta cadena lipídica permite la traslocación de la grelina, derivada del estómago, hacia la barrera hematoencefálica, facilitando la interacción con su receptor hipotalámico para liberar la hormona del crecimiento (GH, por sus siglas en inglés *Growth Hormone*).³⁷ La porción no acilada de la grelina (UAG por sus siglas en inglés *Unacylated Ghrelin*) también se identifica en la circulación incluso en concentración plasmática mayor que la GA (de 8 a 9 veces más).³⁸ Akamisu y cols reportaron que la concentración de GA es mayor en mujeres que en hombres, aún cuando se ajusta por IMC.³⁹

Estructura, síntesis y funciones de la grelina

La estructura primaria de la grelina consiste de una cadena de 28 aminoácidos con la siguiente secuencia: GSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR,⁴⁰ ha sido descrita como el ligando del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHS-R, del inglés *Growth Hormone Secretagogue Receptor*).³ La grelina es sintetizada (Figura 5) y secretada por la mayoría de los tejidos periféricos y tipos celulares.⁴¹ Sin embargo, las principales células productoras de grelina son las células oxínticas de la mucosa gástrica⁴² y más específicamente las células X/A like en ratas o P/D, en humanos.³⁷ La letra X de estas células representa su función desconocida y la letra A debido a su parecido con las células alfa del páncreas.⁴³ Estas células constituyen del 20 al 30% de las células endocrinas oxínticas y además representan el segundo tipo celular endocrino más abundante de la mucosa gástrica.⁴⁴ Hasta la fecha, la grelina es la única hormona de secreción periférica con acción orexigénica a nivel central actúa en el sistema nervioso central (SNC) modulando la homeostasis energética del cuerpo³⁷ y presenta varias funciones fisiológicas mediadas por GHS-R.⁴⁵

A parte de la principal acción de la grelina sobre la secreción de la hormona de crecimiento, estimulación del apetito e ingestión de alimentos,⁴⁰ otras funciones son fomentar la secreción de ácido gástrico, aumento de la motilidad intestinal, regulación de la proliferación celular, regulación del peso corporal, el metabolismo de glucosa y lípidos, inhibición de apoptosis, y represión de la inflamación.^{46,47,48,49} Su función como hormona orexigénica es independiente de los efectos estimulantes de la secreción de GH.⁵⁰ La grelina es

capaz de transmitir señales vía nervio vago, pues las neuronas que expresan grelina mandan impulsos eferentes a neuronas del núcleo arcuato las cuales producen Neuropéptido Y y AgRP y así se estimula la sensación de apetito e inhibe la actividad de la POMC; con lo que se induce el apetito y por lo tanto el consumo de alimentos. El nervio vago expresa el receptor GHS-1a por lo que es muy probable que se encuentre involucrado en la señal de transmisión del estómago al cerebro inducida por grelina.⁴⁰ La grelina puede también inducir el apetito a través de su acción en hipotálamo: al unirse con su receptor, la grelina induce la activación de la fosfolipasa C e inositol trifosfato. Esto impulsa la vía intracelular de calcio y activa la calmodulina cinasa cinasa 2 (CaMKK2) generando mediante esta vía, activación de factores de transcripción FoxO1 pFoxO1, CREB pCREB y BSX los cuales promueven la síntesis de NPY y AGRP e inducen a la ingestión de alimento.⁴⁰ Por otro lado, se ha visto que la interacción de la grelina con su receptor, activa la sirtuina 1 hipotalámica que trabaja junto con la proteína supresora de tumores p53. Estas dos últimas son necesarias para la activación de AMPK y su consecuente acción orexigénica. En estudios en ratones, se observó que la administración exógena de grelina, estimula la ingestión de alimentos y la ganancia de peso, incrementa la motilidad del estómago y la secreción de ácido y que además disminuye la oxidación de lípidos.^{3,37,46,51} Asimismo, al administrar una infusión continua de grelina dentro de los ventrículos cerebrales, se observó un incremento en la ingestión de alimentos, la masa grasa y ganancia de peso.⁴⁶ Modelos animales han demostrado mejoría en el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina en ratones knockout para grelina o para su receptor.⁵² Por otra parte, a pesar de que la UAG se consideró como un producto inactivo de la secreción de grelina y forma de degradación, varios estudios han reportado que esta forma actúa en tejidos periféricos y en cerebro regulando acciones biológicas tales como el control del apetito, temperatura corporal, atrofia muscular, secreción de insulina estimulada por glucosa y metabolismo lipídico, acciones independientes del receptor GHS-1a pero sus efectos aún se encuentran en estudio.⁵³ Todas las funciones hasta ahora conocidas de la grelina, sobre la regulación del peso y del apetito la han relacionado con enfermedades como obesidad y DM2.

Variaciones en los niveles plasmáticos de la grelina

La mayoría de los estudios han reportado niveles plasmáticos de grelina total entre 300 y 800 pg/mL⁵⁴ y niveles bajos de la misma se relacionan con resistencia a la insulina (RI), hipertensión (HT) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2).⁵⁵ El incremento del nivel de grelina se da principalmente antes de consumir alimento y es similar al incremento de ácido gástrico que ocurre en la fase cefálica. Asimismo, el nivel de grelina decrece al momento en que inicia la alimentación,⁵⁶ recuperando su nivel basal hasta 30 minutos después de comenzar la ingestión de alimento. Este retardo sugiere que el mecanismo para la inhibición inmediata de liberación intragástrica de grelina no está presente en el estómago, si no que depende de la inhibición por retroalimentación ya sea a través de la secreción de una hormona intestinal o por la liberación de insulina en conjunto con la ingestión de

alimento.⁵⁷

Receptores de grelina: estructura y funciones

El GHS-R es un receptor acoplado a proteínas G y es miembro de la familia de receptores de grelina la cual incluye receptores de neuropeptida Y, motilina, neuromedina así como el receptor GPR39 (GPR, por sus siglas en inglés *G protein-coupled receptor 39*).⁵⁸ Se han identificado dos isoformas del receptor GHS-R: el tipo 1a la cual es completamente funcional y consta de siete dominios transmembrana y la forma inactiva 1b que se trata del receptor 1a truncado, pues sólo contiene 5 dominios transmembrana, esta isoforma se produce por la traducción del mRNA que contiene el exón 1 del gen GHSR y un intrón que contiene un codón de paro que codifican para un receptor GHS truncado.^{59,60} La interacción entre la grelina y la isoforma 1a es la responsable de la liberación de la hormona del crecimiento así como otras acciones endocrinológicas de la grelina.⁶¹ La forma desacilada de la grelina no se une con la isoforma GHS-1a pero comparte actividades biológicas como efectos adipogénicos y antiproliferativos y cardiovasculares con la grelina acilada.⁶¹ La grelina tiene efectos pleiotrópicos puesto que el mRNA del receptor de grelina se encuentra expresado en la unidad hipotálamo-pituitaria, así como, en diversos tejidos periféricos.⁶²

Asociación de la grelina con enfermedades

Obesidad. Diversas acciones de la grelina la relacionan con la fisiopatología de la obesidad. La grelina se considera la primera hormona periférica con acción estimulante del apetito mediada por vías hipotalámicas.⁵⁰ Para producir su efecto orexigénico, la grelina activa las neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo a través del receptor GHS-R1a. Esta acción aumenta la síntesis y secreción de NPY y la AgRP, ambos potentes orexigénicos. Además, la grelina suprime la actividad de las neuronas productoras de POMC, un estimulante de la saciedad.^{63,64} Chen y colaboradores observaron que los ratones knockout para los genes *NPY/AgRP* carecían completamente de la acción de la grelina, confirmando así que estos neuropéptidos son quienes median el efecto orexigénico de esta hormona.⁶⁵ Parte de la acción orexigénica de la grelina depende de la acción de la proteína cinasa dependiente de AMPK (AMPK) en el hipotálamo. La AMPK es un regulador de la homeostasis energética celular y sistémica, actúa como sensor del estado energético⁶⁶ y cuando se activa, se inhiben las vías anabólicas y se activan las vías catabólicas con el objetivo de incrementar la producción de ATP para restaurar la homeostasis energética. La AMPK es una cinasa heterotrimérica, conservada, de serina/treonina. Está compuesta por una subunidad alfa, una beta y una gamma (todas con acción catalítica). La AMPK está activa de manera constitutiva en el hipotálamo y es muy importante en la regulación de la ingestión de alimentos. Normalmente, esta cinasa, incrementa la ingestión de alimentos y el peso corporal, mientras que la expresión dominante negativa de AMPK en el hipotálamo es suficiente para reducir la ingestión de alimentos y el peso corporal.^{66,67,68} Kola y colaboradores sugieren a la AMPK del hipotálamo como mediador de efectos orexigénicos de otras hormonas y

neuropéptidos incluidos los cannabinoides y glucocorticoïdes.⁶⁶ Minokoshi en 2004 mostró evidencias de que la actividad del AMPK en el hipotálamo está regulada también por hormonas anorexigénicas como la leptina y la insulina, lo cual demuestra que la AMPK hipotalámica está directamente involucrada con la regulación del apetito.⁶⁷ El efecto orexigénico central de la grelina es dependiente de la AMPK, ya que la administración del compuesto C, que es inhibidor de AMPK, previene completamente las acciones orexigénicas de la grelina. De la misma manera, los adenovirus portadores de las subunidades dominantes negativas alfa1/alfa2 de AMPK fueron capaces de afectar el efecto estimulante de la grelina sobre el apetito.⁶⁸ La vía de señalización de la grelina para ejercer sus acciones orexigénicas en el hipotálamo ha sido dilucidada además con la identificación del sistema endocanabinoide⁷⁰ y la calcio calmodulina cinasa 2 (CaMKK2)⁷¹ como reguladores río arriba de la activación de AMPK. Las vías de ácidos grasos y la proteína desacoplante mitocondrial (UCP2, del inglés *Uncoupled Protein 2*) han sido identificadas como nuevos efectores río abajo. En su conjunto estos datos sugieren una vía más por la cual la grelina ejerce sus acciones orexigénicas. El aumento preprandial y la reducción postprandial de los niveles plasmáticos de grelina soportan la hipótesis de que la grelina actúa como iniciador de la señal para el consumo de alimento en humanos.⁵⁶ El incremento preprandial de grelina inicia el consumo de comida, sin señales relacionadas al tiempo o alimento⁷² mientras que la supresión postprandial de la grelina es proporcional a la carga de calorías ingeridas.⁷³ La grelina ha sido descrita como la contraparte periférica de la insulina y leptina, y la AMPK aparece involucrada en estos efectos metabólicos periféricos.⁷⁰ Los niveles plasmáticos de grelina tienen correlación inversa con el índice de masa corporal (IMC), además, están disminuidos en personas obesas comparadas con personas no obesas. En un estudio realizado por Briggs y colaboradores en el 2010⁷⁴ se muestra evidencia que sugiere que la obesidad inducida por la dieta causa resistencia a grelina mediante la reducción de la respuesta de NPY/AgRP a la grelina y también suprime el eje neuroendocrino de la grelina como intento de limitar la ingestión de alimentos. En cuanto a factores de obesidad, algunos como el porcentaje de grasa, niveles de insulina y leptina se han correlacionado negativamente con los niveles plasmáticos de grelina.⁷⁵ Estudios utilizando resonancia magnética en adultos obesos y no obesos, la grelina correlacionó negativamente con la adiposidad visceral, así como con la insulina en ayuno y HOMA IR, la adiposidad visceral mostró una fuerte correlación inversa con la grelina en comparación con la grasa subcutánea posiblemente por la hiperinsulinemia, pues las correlaciones negativas con la resistencia a la insulina fueron mayores.⁷⁶ Zhu y colaboradores encontraron homeostasis anormal de la glucosa en niños y adolescentes obesos en correlación inversa con los niveles plasmáticos de grelina y fue un determinante independiente de estos.⁷⁷ El bloqueo selectivo de grelina en ratones con obesidad inducida por dieta, reduce la ingestión de comida, disminuye la ganancia de peso y reduce la masa grasa.⁷⁸ Sun y colaboradores en 2008 demostraron que ratones adultos deficientes de grelina, comparados con ratones

silvestres, mostraban menores niveles de glucosa y mejor sensibilidad a la insulina bajo restricción calórica.⁷⁹ Otros estudios observaron que estos ratones están protegidos de la ganancia rápida de peso inducida por la exposición temprana a una dieta alta en grasas.⁵¹ Además ratones que carecían del receptor de grelina resistieron el desarrollo de obesidad inducida por dieta.⁸⁰ Asakawa en 2003 mostró que los antagonistas del receptor de la grelina reducían la ingestión de alimentos y la ganancia de peso,⁸¹ por lo que, la disminución de la actividad de la grelina en personas obesas, en comparación con personas no obesas, podría conferir protección contra la ganancia de peso.¹ Sin embargo, las personas obesas muestran menor reducción postprandial en los niveles séricos de grelina, lo que posiblemente conduce a menor sensación de saciedad. La pérdida de peso se ha asociado con el incremento simultáneo de los niveles de grelina en plasma lo cual puede hacer difícil el mantenimiento de la pérdida de peso.¹

Diabetes Mellitus tipo 2. En personas con DM2, los obesos tienen menores niveles plasmáticos en ayuno de grelina, mientras que los que tenían mayor masa muscular tienen niveles mayores de la misma, ambos grupos comparados con personas de peso normal. Finalmente, la grelina plasmática en ayuno muestra correlación inversa con el IMC tanto en personas con DM2 como en sanos.⁸² En un estudio controlado doble ciego administrando grelina en pacientes con DM2 mostró un incremento en el vaciamiento gástrico en pacientes que presentaban gastroparesia diabética y a su vez mejoraba los síntomas relacionados con la ingestión de alimentos en esta condición.⁸³

Anorexia nerviosa. En las personas que presentan anorexia nerviosa, los niveles de grelina se ven incrementados en comparación con personas sanas, reflejando de esta manera, el balance energético negativo que esta condición provoca. Cuando se les administra grelina a pacientes con anorexia nerviosa en una sola ocasión vía intravenosa en total de 5 pmol/kg, no produce la activación de la sensación de apetito; sin embargo, cuando se administra 1 µg/kg, produce sensación de hambre como lo menciona el estudio de Milijic y colaboradores.⁸⁴

Enfermedades renales. En un modelo de ratas con enfermedad renal, la administración de grelina incrementó la ingestión de alimentos y la masa magra, asimismo disminuyeron niveles circulantes de citocinas inflamatorias.⁸⁵ En otro estudio doble ciego, se administró grelina de manera subcutánea durante una semana a pacientes con desnutrición en diálisis y observaron que su ingestión de alimentos fue mayor y la presión arterial disminuyó.⁸⁶

Sistema cardiovascular. La grelina ha mostrado efectos sobre la presión arterial. En un estudio realizado por Kangawa y colaboradores se observó que al inyectar grelina la presión arterial disminuía de manera significativa.⁸⁷ Otros estudios han encontrado que la grelina presenta efectos inhibitorios en la liberación de citocinas, y activa el factor-κβ en cultivos celulares. También se han encontrado que linfocitos T expresan tanto grelina como el receptor GHS, y la secreción de grelina se muestra incrementada cuando los linfocitos T se activan, sugiriendo un rol modulatorio sobre el sistema inmune.⁸⁸ En un estudio realizado por Nagaya,⁸⁹ en donde una

administración crónica de grelina en ratas mostró mejoría en la función ventricular y atenuación en el remodelamiento del ventrículo izquierdo en ratas con caquexia y falla cardiaca crónica, con estos resultados, es posible considerar que el tratamiento con grelina puede disminuir la pérdida muscular asociada con la falla cardiaca crónica, sin embargo las propiedades anti-inflamatorias no están del todo estudiadas. La grelina directamente inhibe la apoptosis de los cardiomiositos en las células endoteliales vía activación de señales extracelulares de cinasa-1/2 y Akt serina cinasas.⁹⁰

Reproducción. Se tienen evidencias que la grelina participa en el control de la pubertad, se ha sugerido en estudios recientes que la grelina tiene acciones sobre la reproducción principalmente inhibitorias, sugiriéndose entonces que esta hormona puede contribuir a la supresión de la función reproductiva cuando el balance energético es negativo.⁹¹

Obestatina

Descubrimiento de la obestatina

La obestatina es un péptido constituido por 23 aminoácidos, se deriva del mismo gen precursor de la grelina, originalmente fue obtenido a partir del estómago de una rata. Se nombró obestatina debido a la contracción de obeso del latín “obedere” que significa devorar y estatina, la cual denota una supresión.^{2,92-94} En el 2005 Zhang identificó una región en el gen *GHRL*, altamente prevalente en más de 11 especies diferentes de mamíferos, que codificaba un supuesto péptido de 23 aminoácidos, con un residuo conservado de glicina en la C-terminal, denominándolo obestatina. La obestatina es un polipéptido que abarca el segmento 76-98 de la progrelinina.^{2,94}

Estructura, síntesis y funciones de la obestatina

La secuencia de aminoácidos de la obestatina es FNAPFDVGIGKLSGAQYQQHGRAL,⁹⁴ y requiere amidación para que sea biológicamente activa.⁹⁵⁻⁹⁷ Las acciones biológicas de la obestatina se oponen a las de la grelina, suprime la ingesta de alimentos, y agua, también disminuye el peso corporal, promueve el sueño en ratas y disminuye la fuerza de contractibilidad de las fibras musculares del yeyuno.⁹⁶⁻⁹⁸ La obestatina se encuentra distribuida en distintos lugares, en las células de la mucosa gástrica, yeyuno, colon, bazo, glándulas mamarias, saliva, fibras del plexo mientérico, células de Leydig en los testículos, corteza cerebral y plasma.^{93,94,98} Zhang y colaboradores demostraron que la obestatina se localiza junto con la grelina en la región periférica de los islotes pancreáticos, con una distribución distinta a las de las células alfa productoras de glucagón, o a las de las células beta productoras de insulina.^{2,97} Se cree, puesto que no hay estudios confirmatorios, que la obestatina realiza sus acciones por medio de la proteína acoplada al receptor huérfano 39 (GPR-39) que pertenece a la subfamilia de receptores de la grelina. Se ha descrito que el GPR-39 se encuentra expresado en diversos órganos periféricos, tales como el tracto gastrointestinal, páncreas, hígado y en cantidades regulares en varias regiones del cerebro, como en la glándula pituitaria, corteza cerebral e hipotálamo.⁹⁶⁻⁹⁸ Existe controversia con respecto a si GPR-39 es el verdadero receptor de la obestatina, ya que Holst y

colaboradores, mostraron que el GPR-39 no era estimulado por la obestatina, y que más bien era estimulado por los iones de zinc.⁹⁷ Estudios posteriores, aún no han confirmado la unión de la obestatina al GPR-39. Zhang intentó confirmar esta teoría, pero fue incapaz de reproducir la unión de la obestatina con el GPR-39.⁹⁴ También existe controversia con respecto a si la obestatina cruza o no la barrera hematoencefálica, algunos autores han reportado que la obestatina no puede atravesar la barrera hematoencefálica.^{95,99} Sin embargo, otros han sugerido que la obestatina la atraviesa fácilmente, pero que se degrada rápidamente.⁹⁶ Como se ha mencionado anteriormente, la obestatina parece realizar acciones contrarias a las de la grelina.

Actividades de la obestatina en el sistema endocrino. La obestatina promueve la expresión de los genes que regulan la supervivencia de las células beta, la biosíntesis de insulina y la sensibilidad de glucosa.⁹³ Se encontró que la obestatina no influye los niveles plasmáticos de GH, prolactina (PRL), hormona adrenocorticotropina (ACTH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y leptina. Esto se comprobó mediante la administración de obestatina intravenosa (i.v.) y dentro de los ventrículos cerebrales (i.c.v.).^{93,96,99} Se ha estudiado *in vitro* e *in vivo* en roedores, la relación que guarda la obestatina en cuanto a la secreción de hormonas. *In vivo* la obestatina no altera la secreción de la GH ni de corticosterona. La obestatina no antagonizó los efectos de la hexareolina, un secretagogo de GH, en ratas. En estudios *in vivo* e *in vitro* administrando obestatina se observó que la obestatina no modifica los niveles basales de la GH en ratas.⁹⁴ En animales que se mantenían en ayuno, la obestatina no alteraba la glucemia o la insulinemia tanto en condiciones basales o después de una carga de glucosa intraperitoneal (i.p.).⁹⁷

La obestatina en el sistema cardiovascular. Existen niveles elevados de obestatina en pacientes caquéxicos con insuficiencia cardiaca, también se han encontrado distintos sitios de unión para la obestatina en el corazón. En experimentos en corazones de sapos se ha visto que la obestatina incrementa la fuerza de contracción probablemente por su interacción con los receptores beta adrenérgicos de las células musculares cardíacas. El hecho de que los beta bloqueadores y los inhibidores de la proteína quinasa A, inhiben la acción de la obestatina fortalece la hipótesis de la interacción obestatina y receptores beta adrenérgicos. Además, la obestatina tiene papel protector de las células miocárdicas y participa en la regulación de la presión arterial, ya que los niveles de obestatina en ayuno muestran correlación inversa con la presión arterial sistólica. Algunos autores la relacionan con inducción de hipertensión en el embarazo.^{93,100}

La obestatina en la regulación del sueño y en la memoria. En el año del 2007 se investigaron los posibles efectos de la obestatina sobre la memoria y la ansiedad. La administración de obestatina i.c.v. mejora la memoria, y tiene acción ansiolítica.^{93,94}

En ratas, se ha visto que en la primera hora posterior a la administración i.c.v. de obestatina se provoca aumento en el sueño sin movimientos oculares rápidos (no MOR).⁹³ Los resultados indicaron que la obestatina tenía efectos

Tabla 1. Funciones de la obestatina y grelina en el organismo

Aparato/sistema	Funciones	Obestatina	Acil-grelina
		Receptor	GPR39
Aparato gastrointestinal	Hambre	↓ -	↑
	Motilidad intestinal	↓ -	↑
	Vaciado gástrico	↓	↑
	Peso corporal	↓ -	↑
	Polipéptido pancreático	↓	↓
	Secreción de insulina	↑ ↓ -	↑ ↓
	Secreción ácida del estómago	- ???	↑
Sistema endocrino	Liberación de GH	↓ -	↑
	Liberación de prolactina, cortisol??ACTH y TSH	-	↑
	Vasopresina	↓	- ???
	Glucagón	↑	↑
	Somatostatina	↑	↓
Sistema nervioso central	Aprendizaje y memoria	↑	↑
	Ansiedad	↑	↑
	Sueño	↓	↑
	Sed	↓ -	↓
	Activación de neuronas sensibles al NPY	-	↑
Sistema cardiovascular	Gasto cardiaco	-	↑
	Presión arterial	↓ - ???	↓
	Diferenciación osteoblástica	-	↑
	Proliferación celular	↑	↑ ↓
	Estímulo aferente vagal	?	↓ ???
	Islotes pancreáticos	↑	↑
Tejido adiposo	Adiposidad	↓ - ???	↑
	Triglicéridos	↓ - ???	↑

Estimula ↑; Inhibe ↓; No influye -

funcionales que se oponían al de la grelina, en la ansiedad, hambre, y la memoria.⁹⁴ La administración de 16 microgramos i.p. o i.c.v. de obestatina, provocó aumento en el episodio del sueño de No MOR y reducción de las ondas

lentas en el electroencefalograma.⁹⁴

Relación de la obestatina con la ingestión de alimentos. La ingestión de alimentos es regulada por el hipotálamo, el cual es influenciado por péptidos que responden de acuerdo a la

composición nutricional del cuerpo.⁹⁴ Zhang reportó que la obestatina reduce la ingesta de alimentos, el tiempo del tránsito intestinal y la ganancia del peso corporal.² Bresciani y colaboradores, reportaron que la administración i.c.v. de obestatina provoca disminución significativa en la ganancia del peso corporal. Sin embargo, un experimento realizado en ratas alimentadas con una dieta estilo cafetería, no mostró modificación alguna en la ganancia del peso corporal.^{93,101} Green y colaboradores demostraron que la inyección i.p. de obestatina, reducía la glucemia y también disminuía la respuesta a la insulina en ratones mientras se alimentaban. Este efecto iba acompañado de una reducción en la ingesta de alimentos.⁹⁷ Zhang descubrió que mediante la administración de obestatina i.p. e i.c.v. suprimía la ingesta de alimentos, y retardaba el vaciamiento gástrico, *in vivo*.² Mediante la administración periférica de obestatina, se vio que reducía el peso corporal *in vivo* y que también suprimía la actividad contráctil del yeyuno.⁹⁴ Zhang y colaboradores, examinaron los efectos que causa la obestatina en el humano en cuanto a la reducción del peso corporal y a la disminución de la ingesta de alimentos. La administración de obestatina i.p. e i.c.v. suprimía la ingesta de alimentos de una manera dependiente/independiente de la dosis, respectivamente. También observaron que la administración de obestatina no amidada, suprimía en menor proporción la ingesta de alimentos.⁹⁴ En ratones, después de 24 horas de ayuno los niveles de obestatina se ven significativamente disminuidos.^{93,96}

Obestatina y mecanismo de la sed. La administración i.c.v. de obestatina inhibe la ingesta de agua, atenua la liberación de vasopresina inducida por la administración central de angiotensina II, que conduce a una liberación exagerada de vasopresina en ratas.⁹³ Samson y colaboradores intentaron descubrir los efectos de la obestatina en cuanto a la sed, hicieron estudios *in vivo* e *in vitro* administrando obestatina i.c.v. en ratones que permanecían privados de agua y en ratones no privados de agua, demostrando que *in vivo* la obestatina inhibe el mecanismo de la sed. Por otra parte parece ser que la obestatina puede inhibir la angiotensina II inducida cuando las ratas tomaban agua, lo que no sucedía en las ratas que no estuvieron privadas del agua.⁹⁴

Obestatina y la motilidad intestinal. Zhang y colaboradores demostraron que la obestatina disminuye la actividad contráctil de las fibras musculares del yeyuno, esto provoca que se desencadene una señal aferente del nervio vago para inducir una respuesta central de saciedad.⁹³ Con el tratamiento *in vivo* de obestatina, se ha podido llevar a una supresión continua del vaciado gástrico, y en un estudio *in vitro* haciendo mediciones isométricas, se observó que la obestatina disminuye la actividad contráctil de las fibras musculares del yeyuno antagonizando los efectos de la grelina, el efecto significativo se encontró dentro de las dosis 1 a 5 nM.⁹⁴

La obestatina en la regulación de la homeostasis energética. Varios estudios han intentado averiguar la función de la obestatina en relación con la regulación de la energía, pero aún no se han obtenido resultados satisfactorios, ya que según un estudio realizado por Sibilia y colaboradores, no se pudo encontrar ningún efecto de la obestatina en el cociente respiratorio,

ingesta de alimentos y actividad locomotora.⁹⁴

Obestatina y proliferación celular. En un experimento realizado por Camina y colaboradores, en un intento de averiguar la actividad de la obestatina en cuanto a la proliferación celular, se percataron de que la obestatina no modificaba el ciclo celular, ni tampoco influía en la supervivencia de las células de los cardiomiositos HL-1 de la línea celular murina y tampoco inhibía la apoptosis en cardiomiositos HL-1 inducida por el citotóxico arabinósido de citosina.⁹⁴ Sin embargo, Mészárosová investigó los efectos directos de la obestatina en cuanto al ciclo celular ovárico en cerdos. Este investigador cultivó células de la granulosa, en presencia de obestatina (0, 1, 10 y 100 ng/ml) y demostró que la obestatina podía influir en la estimulación de la proliferación, apoptosis y la secreción de la progesterona.

Asociación de la obestatina con enfermedades

Obesidad. Hasta el momento, la única observación reportada que asocia la obesidad con la obestatina; ha sido que en sujetos obesos y con DM2, los niveles plasmáticos de esta hormona se han observado disminuidos.¹⁰²

Diabetes Mellitus tipo 2. En un modelo murino de diabetes, se observó que la grelina preserva la masa de los islotes pancreáticos y previene el desarrollo de la enfermedad. Además, redujo la glucosa plasmática, incrementó los niveles plasmáticos y pancreáticos de insulina, incrementó el área y número de células beta e islotes y aumentó la expresión de PDX1 y de la proteína BCL2.¹⁰³

En la tabla 1 se observan las funciones de la grelina y la obestatina en el organismo.

Conclusiones

El descubrimiento de moléculas relacionadas con la regulación de la ingestión de alimentos, genera mejor entendimiento sobre los mecanismos de la modulación metabólica. Particularmente, la grelina y la obestatina, tienen participación directa sobre la sensación de hambre y saciedad. Posteriormente las investigaciones las relacionan también con otras funciones, la grelina además de inducir apetito, tiene acciones positivas sobre la presión arterial y el sistema cardiovascular y la obestatina presenta acciones contrarias a la grelina en la inducción de apetito y motilidad intestinal y a su vez participa favoreciendo la supervivencia de las células beta del páncreas y por lo tanto la sensibilidad a la insulina. Por las funciones hasta ahora conocidas de estas dos moléculas, se les atribuye asociación con enfermedades metabólicas muy prevalentes como la obesidad y la DM2, en las que se ha observado niveles alterados de estas hormonas en comparación con personas sanas. La grelina y obestatina son codificadas por el gen *GHRL*, y dentro de su secuencia, algunas variantes polimórficas se han visto asociadas con la presencia de enfermedades metabólicas principalmente la obesidad. Estos mecanismos y variantes siguen en estudio debido a que algunos grupos de investigación confieren potencial terapéutico a la grelina y la obestatina para diversas condiciones.

Referencias bibliográficas

1. Scerif M, Goldstone AP, Korbonits M. Ghrelin in obesity and endocrine diseases. *Mol Cell Endocrinol.* 2011 Jun 20;340(1):15-25.
2. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, et al. Obestatin peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science.* 2005 Nov 11;310(5750):996-9.
3. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999 Dec 9;402(6762):656-60.
4. Wajnrajch MP. Genetic disorders of human growth. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002 May; 15 Suppl 2:701-14.
5. Seim I, Collet C, Herington AC, Chopin LK. Revised genomic structure of the human ghrelin gene and identification of novel exons, alternative splice variants and natural antisense transcripts. *BMC Genomics.* 2007 Aug 30;8:298.
6. Seim I, Amorim L, Walpole C, Carter S, Chopin LK, Herington AC. Ghrelin gene-related peptides: multifunctional endocrine/autocrine modulators in health and disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010 Jan;37(1):125-31.
7. Seim I, Herington AC, Chopin LK. New insights into the molecular complexity of the ghrelin gene locus. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009 Aug;20(4):297-304.
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 Jan 3;278(1):64-70.
9. Kanamoto N, Akamizu T, Tagami T, Hataya Y, Moriyama K, Takaya K, et al. Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene. *Endocrinology.* 2004 Sep;145(9):4144-53.
10. Hughes TA. Regulation of gene expression by alternative untranslated regions. *Trends Genet.* 2006 Mar;22(3):119-22.
11. Seim I, Carter SL, Herington AC, Chopin LK. Complex organisation and structure of the ghrelin antisense strand gene GHRLOS, a candidate non-coding RNA gene. *BMC Mol Biol.* 2008 Oct 28;9:95.
12. Futagami S, Shimpuku M, Kawagoe T, Izumi N, Ohishi N, Yamawaki H. The preproghrelin 3056 TT genotype is associated with the feeling of hunger and low acylated ghrelin levels in Japanese patients with Helicobacter pylori, negative functional dispepsia. *Intern Med.* 2013;52(11):1155-63.
13. Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Pérusse L, Rankinen T, Tscöp M, et al. Role of ghrelin polymorphisms in obesity base don three different studies. *Obes Res.* 2002 Aug;10(8):782-91.
14. Liu B, García EA, Korbonits M. Genetic studies on the ghrelin, growth hormone secretagogue receptor (GHSR) and ghrelin O-acyl transferase (GOAT) genes. *Peptides.* 2011 Nov;32(11):2191-207.
15. Yaneva M, Kippenberger S, Wang N, Su Q, McGarvey M, Nazarian A. PU.1 and a TTTAAA element in the myeloid defensin-1 promoter create an operational TATA box that can impose cell specificity onto TFIID function. *J Immunol.* 2006 Jun 1;176(11):6906-17.
16. Yang Y, Li W, Zhao J, Zhang H, Song X, Xiao B, et al. Association between ghrelin gene (GHRL) polymorphisms and clinical response to atypical antipsychotic drugs in Han Chinese schizophrenia patients. *Behav Brain Funct.* 2012 Feb 28;8:11.
17. Mager U, Kolehmainen M, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Härmäläinen H, et al. Association between ghrelin gene variations and blood pressure in subjects with impaired glucose tolerance. *Am J Hypertens.* 2006 Sep;19(9):920-6.
18. Campa D, Pardini B, Naccarati A, Vodickova L, Novotny J, Steinke V, et al. Polymorphisms of genes coding for ghrelin and its receptor in relation to colorectal cancer risk: a two-step gene-wide case-control study. *BMC Gastroenterol.* 2010 Sep 28;10:112.
19. Berthold HK, Giannakidou E, Krone W, Mantzoros CS, Gouni-Berthold I. The Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene is associated with a decreased risk for type 2 diabetes. *Clin Chim Acta.* 2009 Jan;399(1-2):112-6.
20. Berthold HK, Giannakidou E, Krone W, Trégoüët DA, Gouni-Berthold I. Influence of ghrelin gene polymorphisms on hypertension and atherosclerotic disease. *Hypertens Res.* 2010 Feb;33(2):155-60.
21. Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Snyder EE, Chagnon M, Sjöström L, Bouchard C. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Aug;146(8):3996-9.
22. Pöykö SM1, Kellokoski E, Höökö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003 Oct;52(10):2546-53.
23. Krzyzanowska-Swinarska B, Kempa A, Robaczky M. Preproghrelin gene, ghrelin receptor and metabolic syndrome. *Przegl Lek.* 2005;62(4):230-3.
24. Wang K, Wang L, Zhao Y, Shi Y, Wang L, Chen ZJ. No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene and polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2009 Feb;24(2):485-90.
25. Zavarella S, Petrone A, Zampetti S, Gueorgiev M, Spoletini M, Mein CA, et al. A new variation in the promoter region, the -604C>T, and the Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene are associated with protection to insulin resistance. *Int J Obes (Lond).* 2008 Apr;32(4):663-8.
26. Miraglia del Giudice E, Santoro N, Cirillo G, Raimondo P, Grandone A, D'Aniello A. Molecular screening of the ghrelin gene in Italian obese children: the Leu72Met variant is associated with an earlier onset of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004 Mar;28(3):447-50.
27. Takezawa J, Yamada K, Miyachi M, Morita A, Aiba N, Sasaki S, et al. Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese women. Minor homozygotes are light eaters, do not prefer protein or fat, and apparently have a poor appetite. *Appetite.* 2013 Apr;63:105-11.
28. Kilpeläinen TO, Lakka TA, Laaksonen DE, Mager U, Salopuro T, Kubaszek A, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group. Interaction of single nucleotide polymorphisms in ADRB2, ADRB3, TNF, IL6, IGF1R, LIPC, LEPR, and GHRL with physical activity on the risk of type 2 diabetes mellitus and changes in characteristics of the metabolic syndrome: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Metabolism.* 2008 Mar;57(3):428-36.
29. Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H. Preproghrelin Leu72Met variant contributes to overweight in middle-aged men of a Japanese large cohort. *Int J Obes (Lond).* 2006 Nov;30(11):1609-14.
30. Hassouna R, Zizzari P, Viltart O, Yang SK, Gardette R, Videau C, et al. A natural variant of obestatin, Q90L, inhibits ghrelin's action on food intake and GH secretion and targets NPY and GHRH neurons in mice. *PLoS One.* 2012;7(12):e51135.
31. Dardennes RM, Zizzari P, Tolle V, Foulon C, Kipman A, Romo L, et al. Family trios analysis of common polymorphisms in the obestatin/ghrelin, BDNF and AGRP genes in patients with Anorexia nervosa: association with subtype, body-mass index, severity and age of onset. *Psychoneuroendocrinology.* 2007 Feb;32(2):106-13.
32. Gueorgiev M, Lecoer C, Meyre D, Benzinou M, Mein CA, Hinney A, et al. Association studies on ghrelin and ghrelin receptor gene polymorphisms with obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2009 Apr;17(4):745-54.
33. Bing C, Ambye L, Fenger M, Jorgensen T, Borch-Johnsen K, Madsbad S, et al. Large-scale studies of the Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene on relation to the metabolic syndrome and associated quantitative traits. *Dianet Med.* 2005 Sep;22(9):1157-60.
34. Tomasetto C, Karam SM, Ribieras S, Masson R, Lefèvre O, Staub A, et al. Identification and characterization of a novel gastric peptide hormone: the motilin-related peptide. *Gastroenterology.* 2000 Aug;119(2):395-405.
35. Gutierrez JA, Solenberg PJ, Perkins DR, Willency JA, Krieger MD, Jin Z, et al. Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008 Apr 29;105(17):6320-5.
36. Yang J, Zhao TJ, Golstein JL, Brown MS. Inhibition of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) by octanoylated pentapeptides. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008 Aug 5;105(31):10750-5.
37. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology.* 2000 Nov;141(11):4255-61.
38. Patterson M, Murphy KG, le Roux CW, Chatei MA, Bloom SR. Characterization of ghrelin-like immunoreactivity in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Apr;90(4):2205-11.
39. Akamizu T, Shinomiya T, Irako T, Fukunaga M, Nakai Y, Kangawa K. Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jan;90(1):6-9.
40. Delporte C. Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo).* 2013;2013:518909.
41. Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today.* 2007 Apr;12(7-8):276-88.
42. Yoh J, Nishi Y, Hosoda H, Tajiri Y, Yamada K, Yanase T, et al. Plasma levels of n-decanoyl ghrelin, another acyl- and active-form of ghrelin, in human subjects and the effect of glucose- or meal-ingestion on its dynamics. *Regul Pept.* 2011 Feb 25;167(1):140-8.
43. Rindi G, Leiter AB, Kopin AS, Bordi C, Solcia E. The "normal" endocrine cell of the gut: changing concepts and new evidences. *Ann NY Acad Sci.* 2004 Apr;1014:1-12.
44. Stengel A, Taché Y, Yin and Yang – the Gastric X/A-like Cell as Possible Dual Regulator of Food Intake. *J Neurogastroenterol Motil.* 2012 Apr;18(2):138-49.
45. 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 Mar;106(3):663-7.
46. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature.* 2000 Oct 19;407(6806):908-13.
47. Higgins SC, Gueorgiev M, Korbonits M. Ghrelin, the peripheral hunger hormone. *Ann Med.* 2007;39(2):116-36.
48. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev.* 2005 Apr;85(2):495-522.
49. Cummings DE. Ghrelin and the short-and long-term regulation of appetite and body weight.

- Physiol Behav. 2006 Aug 30;89(1):71-84.
- 50.Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*. 2001 Jan 11;409(6817):194-8.
- 51.Wortley KE, del Rincon JP, Murray JD, Garcia K, Iidia K, Thorner MO, et al. Absence of ghrelin protects against early-onset obesity. *J Clin Invest*. 2005 Dec; 115(12):3573-8.
- 52.Sun Y, Butte NF, Garcia JM, Smith RG. Characterization of adult ghrelin and ghrelin receptor knockout mice under positive and negative energy balance. *Endocrinology*. 2008 Feb;149(2):843-50.
- 53.Heppner KM, Tong J. Mechanisms in endocrinology: regulation of glucose metabolism by the ghrelin system: multiple players and multiple actions. *Eur J Endocrinol*. 2014 Jul; 171(1):R21-32.
- 54.Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001 Jan 26;280(3):904-7.
- 55.Pöykö SM, Kellokoski E, Hökkö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003 Oct;52(10):2546-53.
- 56.Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisen BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*. 2001 Aug;50(8):1714-9.
- 57.Schmidt PT, Degerblad M, Lindström E, Sundqvist M, Näslund E, Gillberg PG, et al. Circulating ghrelin levels after food intake during different phases of the migrating motor complex in man. *Eur J Clin Invest*. 2006 Jul;36(7):503-8.
- 58.Holst B, Holliday ND, Bach A, Elling CE, Cox HM, Schwartz TW. Common structural basis for constitutive activity of the ghrelin receptor family. *J Biol Chem*. 2004 Dec 17;279(51):53806-17.
- 59.Petersenn S, Rasch AC, Penshom M, Beil FU, Schulte HM. Genomic structure and transcriptional regulation of the human growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology*. 2001 Jun;142(6):2649-59.
- 60.Ghigo E, Broglia F, Arvat E, Maccario M, Papotti M, Muccioli G. Ghrelin: more tan a natural GH secretagogue and/or a orexigenic factor. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Jan;62(1):1-17.
- 61.Sibila V, Muccioli G, Deghenghi R, Pagani F, De Luca V, Rapetti D, et al. Evidence for a role of the GHS-R1a receptors in ghrelin inhibition of gastric acid secretion in the rat. *J Neuroendocrinol*. 2006 Feb;18(2):122-8.
- 62.van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev*. 2004 Jun;25(3):426-57.
- 63.Seoane LM, Al-Massadi O, Lage M, Dieguez C, Casanueva FF. Ghrelin: from a GH-secretagogue to the regulation of food intake, sleep and anxiety. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2004 Aug;1 Suppl 3:432-7.
- 64.Egecioglu E, Stenström B, Pinnock SB, Tung LY, Dornonville de la Cour C, Lindqvist A, et al. Hypothalamic gene expression following ghrelin therapy to gastrectomized rodents. *Regul Pept*. 2008 Feb 7;146(1-3):176-82.
- 65.Chen CY, Asakawa A, Fujimiya M, Lee SD, Inui A. Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut motility. *Pharmacol Rev*. 2009 Dec;61(4):430-81.
- 66.Kola B, Boscaro M, Rutter GA, Grossman AB, Korbonits M. Expanding role of AMPK in endocrinology. *Trends Endocrinol Metab*. 2006 Jul;17(5):205-15.
- 67.Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim YB, Lee A, Xue B, et al. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*. 2004 Apr 1;428(6982):569-74.
- 68.Lim CT, Kola B, Korbonits M. AMPK as a mediator of hormonal signalling. *J Mol Endocrinol*. 2010 Feb;44(2):87-97.
- 69.López M, Lage R, Saha AK, Pérez-Tilve D, Vázquez MJ, Varela L, et al. Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell Metab*. 2008 May;7(5):389-99.
- 70.Kola B, Hubina E, Tucci SA, Kirkham TC, Garcia EA, Mitchell SE, et al. Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 2005 Jul 1;280(26):25196-201.
- 71.Anderson KA, Ribar TJ, Lin F, Noeldner PK, Green MF, Muehlbauer MJ, et al. Hypothalamic CaMKK2 contributes to the regulation of energy balance. *Cell Metab*. 2008 May;7(5):377-88.
- 72.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 Aug;287(2):E297-304.
- 73.Callahan HS, Cummings DE, Pepe MS, Breen PA, Matthys CC, Weigle DS. Postprandial suppression of plasma ghrelin levels proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Mar;89(3):1319-24.
- 74.Briggs DL, Enriori PJ, Lemus MB, Cowley MA, Andrews ZB. Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. *Endocrinology*. 2010 Oct;151(10):4745-55.
- 75.Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayanan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 2001 Apr;50(4):707-9.
- 76.Goldstone AP, Thomas EL, Brynes AE, Castroman G, Edwards R, Ghatei MA, 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 Apr;89(4):1718-26.
- 77.Zhu JF, Liang L, Zou CC, Fu JF. Plasma ghrelin levels and polymorphisms of ghrelin gene in Chinese obese children and adolescents. *Int J Med Sci*. 2010 Sep;17(3):345-9.
- 78.Shearnan LP, Wang SP, Helmling S, Stribling DS, Mazur P, Ge L, et al. Ghrelin neutralization by a ribonucleic acid-SPM ameliorates obesity in diet-induced obese mice. *Endocrinology*. 2006 Mar;147(3):1517-26.
- 79.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 Mar 30;101(13):4679-84.
- 80.Zigman JM, Nakano Y, Coppari R, Balthasar N, Marcus JN, Lee CE, et al. Mice lacking ghrelin receptors resist the development of diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 2005 Dec; 115(12):3564-72.
- 81.Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, et al. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut*. 2003 Jul;52(7):947-52.
- 82.Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jan;87(1):240-4.
- 83.Tack J, Depoortere I, Bisschops R, et al. Influence of ghrelin on gastric emptying and meal-related symptoms in idiopathic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Nov 1;22(9):847-53.
- 84.Milicic 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 Apr;91(4):1491-5.
- 85.Deboer MD, Zhu X, Lebasseur PR, Inui A, Hu Z, Han G, et al. Ghrelin treatment of chronic kidney disease: improvements in lean body mass and cytokine profile. *Endocrinology*. 2008 Feb;149(2):827-35.
- 86.Ashby DR, For HE, Wynne KJ, Wren AM, Murphy KG, Busbridge M, et al. Sustained appetite improvement in malnourished dialysis patients by daily ghrelin treatment. *Kidney Int*. 2009 Jul;76(2):199-206.
- 87.Kangawa K. Challenge for novel peptide hormones: from discovery to therapeutic application. *Endocr J*. 2009;56(9): 1031-2.
- 88.Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collings GD, Sakthivel SK, Palaniappan R, et al. Ghrelin inhibits leptin-and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest*. 2004 Jul;114(1):57-66.
- 89.Nagaya N, Miyatake K, Uematsu M, Oya H, Shimizu W, Hosoda H, et al. Hemodynamic, renal, and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Dec;86(12):5854-9.
- 90.Baldanza G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonissone S, Fubini A, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol*. 2002 Dec 23;159(6):1029-37.
- 91.Tena-Sempere M. Ghrelin, the gonadal axis and the onset of puberty. *Endocr Dev*. 2013;25:69-82.
- 92.Dun SL, Brailoiu GC, Brailoiu E, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Distribution and biological activity of obestatin in the rat. *J Endocrinol*. 2006 Nov;191(2):481-9.
- 93.Li JB, Asakawa A, Cheng K, Li Y, Chaolu H, Tsai M, Inui A. Biological effects of obestatin. *Endocrine*. 2011 Jun;39(3):205-11.
- 94.Tang SQ, Jiang QY, Zhang YL, Zhu XT, Shu G, Gao P, et al. Obestatin: its physicochemical characteristics and physiological functions. *Peptides*. 2008 Apr;29(4):639-45.
- 95.Green BD, Irwin N, Flatt PR. Direct and indirect effects of obestatin peptides on food intake and the regulation of glucose homeostasis and insulin secretion in mice. *Peptides*. 2007 May;28(5):981-7.
- 96.Nogueiras R, Pfluger P, Tovar S, Arnold M, Mitchell S, Morris A, et al. Effects of obestatin on energy balance and growth hormone secretion in rodents. *Endocrinology*. 2007 Jan;148(1):21-6.
- 97.Egidio EM, Hernández R, Marco J, Silvestre RA. Effect of obestatin on insulin, glucagon and somatostatin secretion in the perfused rat pancreas. *Regul Pept*. 2009 Jan 8; 152(1-3):61-6.
- 98.Dun SL, Brailoiu GC, Brailoiu E, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Distribution and biological activity of obestatin in the rat. *J Endocrinol*. 2006 Nov;191(2):481-9.
- 99.Garg A. The ongoing saga of obestatin: is it a hormone? *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Sep;92(9):3396-8.
- 100.Seim I, Joshi P, Cunningham P, Herington A, Chopin L. Ghrelin axis genes, peptides and receptors: recent findings and future challenges. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Jun 20;340(1):3-9.
- 101.Bresciani E, Rapetti D, et al. Obestatin inhibits feeding but does not modulate GH and corticosterone secretion in the rat. *J Endocrinol Invest*. 2006 Sep;29(8):RC16-8.
- 102.Zamrazilová H, et al. *Physiol Res*. 2008;57 Suppl 1:S49-55.
- 103.Granata R, Volante M, et al. Unacylated ghrelin and obestatin increase islet cell mass and prevent diabetes in streptozotocin-treated newborn rats. *J Mol Endocrinol*. 2010 Jul;45(1):9-17.
- 104.Benso A, Casanueva FF, Ghigo E, Granata A. The Ghrelin System. *Endocr Dev Basel, Karger*, 2013, vol 25, pp 16-24.