



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Implicaciones de la hormona de crecimiento,
hormonas gastrointestinales, irisina y
microARNs en la obesidad.

Trabajo para la obtención del grado de doctor presentado por:

M^a Lara Pena Bello

Directores:

Dr. Fernando Cordido Carballido

Dra. Susana Sangiao Alvarellos

A Coruña, 2015

D. Fernando Cordido Carballido, Catedrático de Universidad de Fisiología del Departamento de Medicina de la Universidad de A Coruña y Facultativo Especialista de Área de Endocrinología y Nutrición del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña.

Dña. Susana Sangiao Alvarellos, profesora contratada Doctora del Área de Fisiología, Departamento de Medicina en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de A Coruña

Certifican:

Que la presente tesis doctoral, titulada: "Implicaciones de la hormona de crecimiento, hormonas gastrointestinales, irisina y *microARNs* en la obesidad.", elaborada por M^a Lara Pena Bello, ha sido realizada bajo su dirección en la Universidad de A Coruña; estimando que se encuentra concluida y en condiciones de ser presentada para optar al grado de doctor.

Y para que conste, firman la presente autorización en A Coruña,

Fdo.: Fernando Cordido Carballido

Fdo.: Susana Sangiao Alvarellos

Fdo.: M^a Lara Pena Bello

A Coruña, 2015

Parte de los estudios que se presentan en esta tesis han sido financiados por:

FIS del Instituto de Salud Carlos III (cofinanciado por programa FEDER de la Unión Europea)

-Proyecto: "Secreción prolongada de hormonas gastrointestinales tras la ingesta, influencia de los niveles de hormona de crecimiento, la obesidad y el género". PI10/00088. Concedido al Dr. Fernando Cordido Carballido.

-Proyecto: "Evolución de las hormonas gastrointestinales tras la disminución de la adiposidad y la modificación de los niveles de GH. El eje cerebro-intestino". PI13/00322. Concedido al Dr. Fernando Cordido Carballido.

Xunta de Galicia

-Proyecto: "*MicroARNs*, obesidade e saúde metabólica: estudos mecanísticos e traslacionais (EM2013/011)". Concedido a la Dra. Susana Sangiao Alvarellos.

A MI PADRE

AGRADECIMIENTOS:

En primer lugar, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mis directores por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Les agradezco su confianza en mí y haber hecho siempre todo lo posible por conseguir lo necesario para llevar a cabo esta tesis.

Expresar mi agradecimiento a Ramón Pensado Boo e Iría Brandón Sanda sin cuyo trabajo, colaboración y paciencia esta tesis no hubiera sido posible, también a todo el personal facultativo y no facultativo de los Servicios de Endocrinología y Nutrición del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña y del INIBIC por su colaboración y su apoyo durante estos años.

Por último agradecer a mi familia, marido, hijos, madre, hermano, cuñada, ahijado.....por su paciencia y apoyo incondicional. Gracias a todos por aguantarme.

ABREVIATURAS

aa= aminoácidos

ACTH= hormona adrenocorticotropa

ADH= hormona anti diurética

AEBSF= 4- (2-aminoetil) bencenosulfonilo de hidrocloreuro de fluoruro

AG= ácidos grasos

AGL= ácidos grasos libres

AGRP= proteína agouti

AKT= proteína quinasa B

APO a= apolipoproteína a

APO b= apolipoproteína b

ART= proteína relacionada con agouti

ATP= adenosín trifosfato

ATP-III= Adult Treatment Panel III

AUC= área bajo la curva

AUG= ghrelina desacilada

BDNF= factor neurotrófico derivado del cerebro

CART= regulador de la transcripción de la cocaína y la anfetamina

CCK= colecistoquinina

CEH= técnica del pinzamiento euglucémico hiperinsulinémico

CNTF= factor neurotrófico ciliar

CR= restricción calórica

CREB= proteína que responde al elemento que se une al AMPc

CRH= hormona liberadora de corticotropina

CRH= hormona liberadora de corticotropina

DIO= dieta inducida por la obesidad

DM2= diabetes mellitus tipo 2

DPP4= dipeptidil peptidasa IV

EDTA= ácido etildiaminotetraacético

FFA= ácidos grasos libres

FNDC5= fibronectin type III domain containing

FSH= hormona foliculoestimulante

GA= ghrelina acilada

GABA= ácido gamma-aminobutírico

GH= hormona de crecimiento

GHP= proteína unión a la GH

GHR= receptor de membrana de GH

GHRH= hormona liberadora de GH

GHL= pre-proghrelina

GHRPs= péptidos liberadores de GH

GHS-R= receptor de secretagogos de GH

GLP-1= péptido 1 análogo al glucagón

GOAT= ghrelina O-acetiltransferasa

HDL= lipoproteínas de alta densidad

HFD= dieta alta en grasa

HOMA= modelo de ensayo de la homeostasis

IGFBP= proteínas transportadoras de IGF-I

IGF-I= factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

IL-6= interleuquina 6

IMC= índice de Masa Corporal

In1= intrón 1

In2= intrón2

INS= gen de la insulina

IR= receptor de la insulina

IRA= gen insulina isoforma A

IRB= gen insulina isoforma B

IV= intravenoso

IVGTT= test de tolerancia a la glucosa intravenosa

JAK= Janus quinasa

KO= knock-out

LH= hormona luteinizante

MBOAT= membrane bound O-acyl transferase

MCR= metabolic clearance rate

miARNs= microARNs

MMg= modelo mínimo del metabolismo de la glucosa

NA= noradrenalina

ND= dieta normal

NO= óxido nítrico

NPY= neuropéptido Y

OGIS= índice de sensibilidad de la insulina a la glucosa oral

OMS= Organización Mundial de la salud

PC1/3= convertasa prohormona 1/3

PCR= reacción en cadena de la polimerasa

PGC-1 α = receptor activado por el proliferador de peroxisoma gamma y el coactivador 1 alfa

POMC= proopiomelanocortina

PP= polipéptido pancreático

PPAR- γ = receptor del peroxisoma gamma activado por el proliferador

PYY= péptido YY

RE= retículo endoplasmático

rhIGF1= factor recombinante de crecimiento humano similar a la insulina tipo 1

RI= resistencia a la insulina

RMN= resonancia magnética nuclear

ROS= especies reactivas del oxígeno

RRI= receptor huérfano relacionado con el receptor de la insulina

SAT= signal transducing activators of transcription

SEEDO= Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad

Ser= serina

SM= síndrome metabólico

SNC= sistema nervioso central

SOCS3= supresor de citoquinas 3

SOG= sobrecarga oral de glucosa

SST= somatostatina

STZ= estreptozotocina

TAC= tomografía axial computarizada

TAP= tejido adiposo pardo

TAS= tejido adiposo subcutáneo

TAVg= tejido adiposo subcutáneo gluteal

TG= triglicéridos

TNF α = factor de necrosis tumoral alfa

TRH= hormona liberadora de tirotropina

TSH= hormona estimulante de la tiroides

TTOG= test de tolerancia oral a la glucosa

UAG= ghrelina desacilada

UCP1= proteína desacopladora tipo 1

VHDL= lipoproteínas de muy alta densidad

VIP= péptido intestinal vasoactivo

WAT= tejido adiposo blanco

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	21
1.1 OBESIDAD	21
1.1.1-DEFINICIÓN.....	21
1.1.2-DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN	21
1.1.3-ETIOPATOGENIA.....	24
1.1.3.1 Factores ambientales o del estilo de vida.....	24
1.1.3.2 Factores genéticos	25
1.1.3.3 Síndrome metabólico.....	25
1.1.4 BALANCE ENERGÉTICO	26
1.1.5 BASES DEL CONTROL DE LA INGESTA.....	27
1.1.5.1 Sistema de regulación a largo plazo	27
1.1.5.2 Sistema de regulación a corto plazo.....	29
1.2 GH.....	31
1.2.1 BIOQUÍMICA	31
1.2.1.1 Síntesis y secreción de GH: ritmo circadiano.....	32
1.2.2 HORMONA LIBERADORA DE GH (GHRH).....	33
1.2.3 SOMATOSTATINA (SST)	34
1.2.4 RECEPTOR DE GH Y PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE GH (GHBPs).....	35
1.2.5 FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LA GH	35
1.2.6 GH Y OBESIDAD	37
1.2.7 HIPOPITUITARISMO	39
1.2.7.1 Síntomas y causas	40
1.2.7.2 Déficit de GH	42
1.2.7.3 Déficit de ACTH	42
1.2.7.4 Déficit de TSH.....	43
1.2.7.5 Déficit de gonadotropinas (FSH/LH)	43
1.2.7.6 Déficit de prolactina.....	43
1.2.7.7 Déficit de hormona antidiurética (ADH) o diabetes insípida.....	43
1.2.7.8 Otras manifestaciones clínicas.....	43
1.2.8 ACROMEGALIA.....	44
1.2.8.1 Síntomas.....	45

1.2.8.2 Pruebas y exámenes	45
1.2.8.3 Tratamiento	46
1.3 INSULINA	47
1.3.1. SÍNTESIS INSULINA.....	47
1.3.2. ACCIONES DE LA INSULINA.....	47
1.3.3. EL RECEPTOR DE LA INSULINA.....	48
1.3.4 SECRECIÓN.....	49
1.3.5. RESISTENCIA A LA INSULINA.....	49
1.3.6. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA	53
1.4 HORMONAS GASTROINTESTINALES.....	59
1.4.1 GHRELINA	59
1.4.1.1 Estructura y síntesis	59
1.4.1.2 Ghrelina O-Acetiltransferasa (GOAT).....	60
1.4.1.3 Componentes del sistema y regulación de la ghrelina	61
1.4.1.4 Acciones biológicas	64
1.4.1.5 Papel de la ghrelina en la obesidad y diabetes.....	67
1.4.2 PYY	69
1.4.2.1 Estructura, síntesis y secreción.....	69
1.4.2.2 Mecanismo de acción	70
1.4.2.3. Efectos de la hormona	71
1.5 IRISINA.....	72
1.5.1 INTRODUCCIÓN Y SÍNTESIS.....	72
1.5.2 EL TEJIDO ADIPOSO	74
1.5.3 LA PROTEÍNA PGC-1 α	75
1.5.4 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA IRISINA.....	76
1.6 MICRO ARNs.....	81
2. OBJETIVOS	87
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	91
3.2. PROTOCOLO GENERAL DE ESTUDIO CON PACIENTES	92
3.3 ÍNDICES DE SENSIBILIDAD Y SECRECIÓN INSULÍNICA	93
3.4 REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS	94
3.5 TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	95

3.6 PROTOCOLO DE ESTUDIO DE <i>microARNs</i>	96
3.6.1- MODELOS EXPERIMENTALES	96
3.6.1.1-Tratamientos con dietas.....	96
3.6.1.1.1-Experimentos a largo plazo:.....	96
3.6.1.1.2-Experimentos a corto plazo:	96
3.6.1.1.3-Experimentos a medio plazo:.....	97
3.6.1.2 Tratamientos con leptina.....	97
3.6.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS	97
3.6.2.1 Análisis plasmáticos	97
3.6.2.2 Extracción de ARNs y realización de <i>arrays</i>	97
3.6.2.3 Análisis bioinformáticos.....	98
3.6.2.4 Retrotranscripción y PCR cuantitativa en tiempo real para <i>miARNs</i> individuales.....	99
3.6.2.5 Medición grasa corporal	99
3.7 ESTADÍSTICA.....	100
4. RESULTADOS.....	103
4.1 DATOS EN PACIENTES OBESOS Y CONTROLES (HOMBRES Y MUJERES).....	103
4.2 DATOS EN MUJERES OBESAS Y CONTROLES.....	121
4.3 DATOS EN HOMBRES OBESOS Y CONTROLES.....	141
4.4 DATOS EN PACIENTES HIPOPITUITARIOS, COMPARADOS CON GRUPO CONTROL Y PACIENTES OBESOS (HOMBRES Y MUJERES).....	157
4.5 DATOS DE LA CONCENTRACIÓN DE IRISINA EN UN GRUPO DE PACIENTES OBESOS, HIPOPITUITARIOS, ACROMEGÁLICOS Y CONTROLES (HOMBRES Y MUJERES)	174
4.6 ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN DE <i>MICROARNs</i> EN LA OBESIDAD	179
5. DISCUSIÓN	209
6. CONCLUSIONES.....	219
7. ARTÍCULOS PRODUCTO DE ESTA TESIS.....	223
8. BIBLIOGRAFIA	227

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 OBESIDAD

1.1.1-DEFINICIÓN

La obesidad se define como la acumulación excesiva de grasa corporal, causada por la alteración del balance energético, que se produce cuando la ingesta supera al gasto energético (Hee Park, Zaichenko et al. 2013). El problema de la obesidad es complejo, pues intervienen múltiples factores en su desarrollo, además tiene una influencia en la cantidad y calidad de vida, es decir, presenta múltiples complicaciones que son en buena parte responsables de una mayor morbilidad y mortalidad. Está considerada como un serio problema de salud en el que se encuentran implicados numerosos tejidos, como el tejido adiposo, hígado, músculo, páncreas y cerebro. La obesidad presenta una estrecha relación con el aumento en la prevalencia de enfermedades cardiovasculares, con las hiperlipemias y con la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Hill 2006, Nogueiras, Williams et al. 2010).

Las complicaciones de la obesidad la han convertido en la segunda causa de mortalidad prematura y evitable después del tabaco (Salas-Salvado, Rubio et al. 2007).

1.1.2-DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN

La obesidad está definida en la práctica clínica por el Índice de Masa Corporal (IMC). El IMC se calcula según la fórmula, $IMC = \text{peso}[\text{kg}] / \text{altura}[\text{m}]^2$. Siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la salud (OMS), se acepta la clasificación de los diferentes grados de la obesidad según el valor del índice de masa corporal, en donde se define un IMC mayor de 25 kg/m² como sobrepeso y un IMC mayor de 30 kg/m² como obesidad. En España, la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) ofrece una clasificación más detallada donde se introducen algunas modificaciones: se rebaja el límite inferior del peso normal a 18,5 kg/m², se subdivide la gama de sobrepeso en dos categorías y se introduce un grado adicional de obesidad para los pacientes con IMC de 50 kg/m² o superior, que son tributarios de indicaciones especiales en la elección del procedimiento de cirugía bariátrica (tabla 1.1). Actualmente tiende a aceptarse como obesidad un valor de IMC mayor o igual a 30 kg/m², que es precisamente el punto de corte para definir obesidad propuesto por la OMS en su clasificación del peso corporal (tabla 1.2) (Haslam and James, Haslam, Sattar et al. 2006). Se estima que en la actualidad al menos mil cien millones de adultos tienen sobrepeso, incluyendo 312 millones que están obesos (Haslam, Sattar et al. 2006).

En los últimos años se ha observado un incremento de la prevalencia de obesidad mórbida en España que ha pasado de 1,8 a 6,1/1.000 habitantes, con una prevalencia superior en mujeres (Basterra-Gortari, Beunza et al. 2011).

Grados	IMC (kg/m ²)
Peso insuficiente	< 18,5
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso grado 1	25-26,9
Sobrepeso grado 2 (preobesidad)	27-29,9
Obesidad grado 1	30-34,9
Obesidad grado 2	35-39,9
Obesidad grado 3 (mórbida)	40-49,9
Obesidad grado 4 (extrema)	≥ 50

Tabla 1.1. Clasificación del IMC según los criterios de definición de la SEEDO (2000).

Clasificación del peso corporal	Valores límites del IMC (kg/m ²)
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso	25-29,9
Obesidad grado 1	30-34,9
Obesidad grado 2	35-39,9
Obesidad grado 3	≥ 40

Tabla 1.2. Criterios de la OMS para definir la obesidad en grados según el índice de masa corporal (IMC).

Si tenemos en cuenta el porcentaje de grasa corporal se definen como obesos aquellos sujetos con un porcentaje de grasa corporal superior al 25% en el caso de los varones y superior al 33% en el caso de las mujeres; considerándose limitrofes porcentajes entre 22 y 25% en varones y entre 31 y 33% en mujeres (Dickey, Bartuska et al. 1998).

Múltiples estudios han demostrado la existencia de una correlación aceptable entre el IMC y el porcentaje de grasa corporal; además el cálculo del IMC es más exacto que la medida aislada del peso en la estimación de la grasa corporal total (Hubbard 2000).

El IMC presenta limitaciones como: la sobrestimación del porcentaje de grasa en individuos musculosos (deportistas), la infravaloración en sujetos con baja masa grasa (ancianos) o el hecho de que la relación entre IMC y grasa corporal no es la misma en las distintas poblaciones; sin embargo debe señalarse que los estudios epidemiológicos que han demostrado la relación entre obesidad y sus complicaciones han utilizado fundamentalmente el IMC como medida de obesidad (Aranceta-Bartrina, Serra-Majem et al. 2005).

Los riesgos para la salud asociados con la obesidad no sólo dependen de la adiposidad total sino también de su distribución; por ello aunque no forma parte de la definición de obesidad, en la evaluación del paciente obeso se recomienda la valoración de la distribución de la grasa corporal. Existen diferentes métodos de evaluación de la grasa corporal que se pueden agrupar fundamentalmente en las técnicas de medición antropométrica y en otros sistemas como el análisis de la composición corporal o como las técnicas de imagen, pero por su complejidad técnica o por su coste económico, algunos sólo suelen utilizarse en trabajos de investigación (Montague and O'Rahilly 2000).

Los comités internacionales de expertos y los consensos recomiendan el empleo de datos antropométricos para la clasificación del peso corporal. La antropometría (peso, pliegues cutáneos, perímetro de cintura) es el método más utilizado tanto en la práctica clínica como en la investigación epidemiológica por ser un método sencillo y fiable ((Lohman, Roche et al.

Medida	Límite superior de normalidad	
	Varones	Mujeres
Índice cintura-cadera	1	0,9
Circunferencia de cintura (cm)	102	88
Diámetro sagital (cm)	25	25

Tabla 1.3. Datos antropométricos para la evaluación de la distribución de la grasa corporal.

1.1.3-ETIOPATOGENIA

La obesidad es una enfermedad multifactorial de etiología diversa y en muchas ocasiones desconocida, que está influenciada por factores ambientales y genéticos. En el desarrollo de la enfermedad tienen un papel importante las distintas situaciones socioculturales, ambientales, demográficas, socioeconómicas y psicológicas. Es evidente que existe agregación familiar al compartir los mismos genes y los mismos hábitos de vida, es decir, con la misma actividad metabólica (Perusse, Tremblay et al. 1988). Las causas principales de la epidemia de obesidad en las últimas décadas hay que buscarlas en cambios de las conductas que están determinadas socialmente. Por lo tanto, se define la obesidad como una enfermedad crónica, compleja, multifactorial, que se desarrolla por una interacción entre los genes y el ambiente. Fundamentalmente, la obesidad se atribuye al excesivo aporte calórico por los alimentos respecto a la disminución del gasto energético, de forma crónica. Parece que el cambio sufrido por la sociedad en los últimos años en cuanto al estilo de vida, incluyendo distintos hábitos de comida y un mayor sedentarismo, tiene un gran impacto sobre el desarrollo y la extensión de esta enfermedad (Rolls 2007). El aumento rápido de la prevalencia de sobrepeso y obesidad de las tres últimas décadas no puede ser atribuido a cambios en el genoma humano, pues los cambios genéticos no se desarrollan en un período tan corto de tiempo (Martí, Moreno-Aliaga et al. 2004).

1.1.3.1 Factores ambientales o del estilo de vida

Los cambios producidos que justifican el aumento de peso en la población en los últimos años, son debidos a los cambios del estilo de vida durante el proceso de modernización, como las nuevas tecnologías, la reestructuración económica y el ocio pasivo, que han modificado los modelos dietéticos y de actividad física (Martinez-Gonzalez, Alfredo Martinez et al. 1999). El aumento de peso es debido al superávit calórico, consecuencia del descenso de actividad física y al aumento del ingreso calórico por los cambios en los hábitos alimentarios. El comportamiento alimentario depende de muchos factores (religiosos, olfatorio, visual, emocional, etc.), puesto que el individuo no ve en el alimento solamente un objeto nutritivo sino también algo que posee una significación simbólica que le confiere su cultura (Ortega, López-Sobaler et al. 1997). La falta de ejercicio o sedentarismo es un factor cada vez de mayor importancia al ir ligado al desarrollo de las nuevas tecnologías, asociado a la evolución de la sociedad en busca de la comodidad y del mínimo esfuerzo físico, al ser sustituido éste por el trabajo de las máquinas o aparatos de la sociedad del bienestar (Wee, McCarthy et al. 1999).

El acto de comer adquiere un sentido y valor de gratificación emocional. Cuando nos sentimos bien, ante una celebración o ante un resultado positivo, lo festejamos comiendo o bebiendo, incluso sin tener apetito. Hoy en día, el principal cambio en el comportamiento

alimentario se debe, por una parte, a la enorme disponibilidad de alimentos de alto contenido calórico, así como a otros cambios del patrón nutricional como comer fuera de casa o el gran aumento del consumo de alimentos precocinados (Gutiérrez-Fisac, Regidor et al. 2005).

1.1.3.2 Factores genéticos

En las últimas décadas, el estudio de los factores genéticos relacionando diversas enfermedades ha aumentado. Con respecto a la etiología de la obesidad, existen diversos trabajos que intentan estudiar la heredabilidad de esta enfermedad (O'Rahilly and Farooqi 2006).

Han sido relacionados con la obesidad en humanos más de 250 genes (Rankinen, Zuberi et al. 2006). En la actualidad se considera que entre un 40-70% de la variación en el IMC puede atribuirse a factores genéticos (Kagawa, Yanagisawa et al. 2002), se ha determinado que el riesgo de obesidad extrema ($IMC \geq 45 \text{ kg/m}^2$) es 7-8 veces mayor en familias con algún pariente con dicho grado de obesidad (Lee, Reed et al. 1997). Los individuos están genéticamente programados para el almacenamiento de grasa según un patrón particular, y esa programación es difícilmente superable, si bien la interacción de los factores ambientales y los genéticos modulan su expresión (Redman, Heilbronn et al. 2007).

1.1.3.3 Síndrome metabólico

La obesidad es una enfermedad crónica que viene acompañada de alteraciones metabólicas, que predisponen a la presentación de trastornos que deterioran el estado de salud, asociada en la mayoría de los casos con patología endocrina, cardiovascular y osteoarticular, relacionada principalmente con factores biológicos, socioculturales y psicológicos. Es un importante problema de salud pública que contribuye de manera significativa a las principales causas de muerte, enfermedad cardiovascular y cáncer.

Muchas de las comorbilidades de la obesidad son reflejadas en el llamado síndrome metabólico, definido originalmente por la OMS sobre la base de la resistencia a la insulina. El síndrome metabólico es la asociación de un conjunto de factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardíaca y DM2. Estos factores de riesgo son:

- Hipertensión arterial
- Aumento de los niveles de glucemia
- Niveles sanguíneos elevados de triglicéridos
- Bajos niveles sanguíneos de HDL- colesterol
- Exceso de grasa alrededor de la cintura

En la actualidad, hasta un 30% de las personas de mediana edad en más los países más desarrollados tienen varias características del síndrome metabólico (Haslam, Sattar et al. 2006).

1.1.4 BALANCE ENERGÉTICO

Clásicamente, el tejido adiposo se ha considerado como un reservorio de energía, pero no sólo actúa como almacén de moléculas grasas, además de esta función metabólica, sintetiza y libera diversas hormonas relacionadas con el metabolismo y la regulación de la ingesta, es por tanto un órgano endocrino (Frühbeck, Gómez-Ambrosi et al. 2001).

El gasto energético total se compone de gasto energético en reposo (energía consumida para el funcionamiento normal de células y órganos en el estado postabsortivo y en reposo), el efecto térmico de la comida (aumento en el gasto energético asociado con la digestión, la absorción y el aumento de la actividad nerviosa simpática tras la ingesta de alimentos) y la energía consumida con la actividad física (gasto energético derivado de la actividad mecánica voluntaria y no voluntaria). El gasto energético basal representa el 70% del total y está enmarcado en el control neuronal y hormonal que controla el balance energético. Tanto el control de la ingesta como el gasto energético total están bajo la influencia de factores genéticos y ambientales (Schwartz, Woods et al. 2000, Bessesen 2008).

La percepción del hambre y la decisión de iniciar una comida implica complejas y poco entendidas interacciones entre factores genéticos, sociales, el entorno, señales mentales, ritmos circadianos, y humorales (figura 1.1) (Woods, Seeley et al. 1998, Cummings, Purnell et al. 2001). Como tal, el proceso es variable y aunque varios péptidos endógenos han sido identificados con la capacidad de estimular la alimentación, la explicación para la decisión de comenzar a comer aún no está clara (Guyenet and Schwartz 2012).

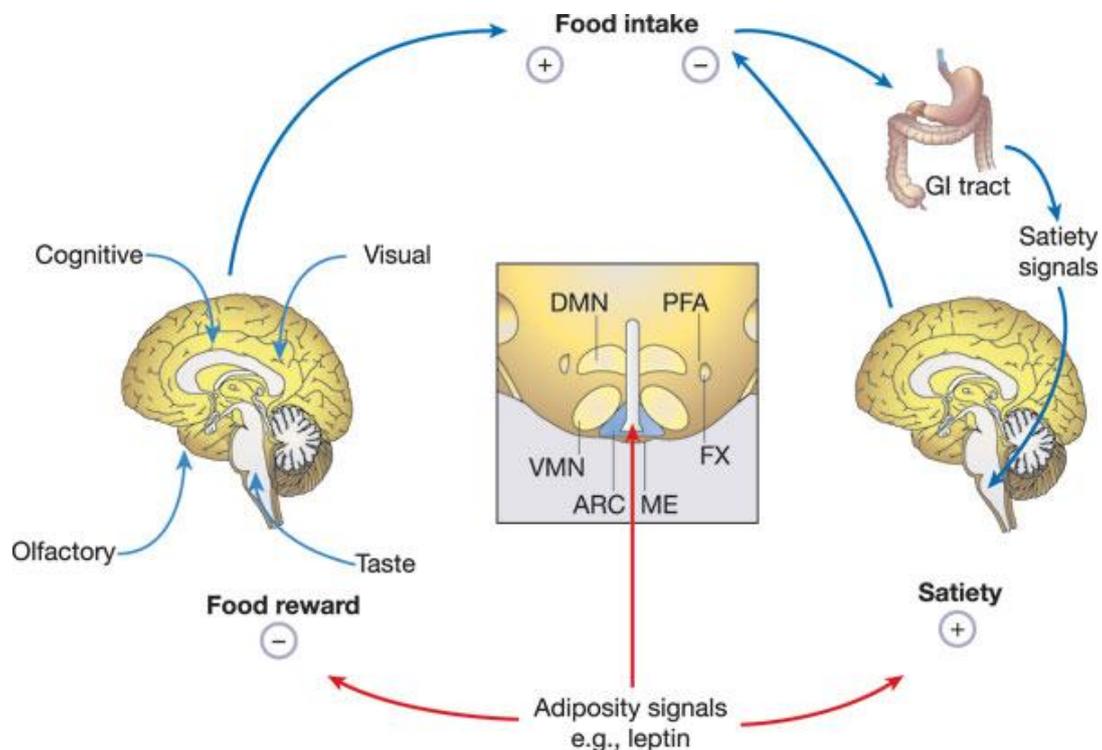


Figura 1.1. Modelo para la regulación de retroalimentación negativa de la ingesta de alimentos en respuesta a cambios en el contenido de grasa corporal (Morton, Cummings et al. 2006).

La etiología de la obesidad es un desequilibrio entre la energía que se obtiene con la ingesta y la que se consume. El exceso de energía se almacena en forma de grasa corporal en los adipocitos que crecen y/o aumentan en número. Esta hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos es la lesión patológica característica de la obesidad. El aumento en el tejido adiposo produce los problemas clínicos asociados con la obesidad, bien por el peso de la masa de la grasa extra o bien por el aumento de secreción de ácidos grasos libres, numerosos péptidos y otras adipoquinas por los adipocitos hipertrofiados (Álvarez-Castro, Sangiao-Alvarellos et al. 2011).

Aunque hay numerosos factores que se relacionan con la aparición de la obesidad, la comprensión endocrinológica de la misma y su comorbilidad, se ha ampliado notablemente con el descubrimiento de adipoquinas, secretadas por la grasa y enteroquinas secretadas por el intestino (Kahn, Hull et al. 2006).

1.1.5 BASES DEL CONTROL DE LA INGESTA

El ritmo de alimentación o el número de comidas diarias varía según la disponibilidad de los alimentos, la situación socio-económica, la oportunidad, el nivel cultural, y otros factores relacionados con el estilo de vida; pero la mayoría de las personas mantienen estable su peso corporal a lo largo de su vida. En el control de la ingesta pueden diferenciarse dos sistemas de regulación, uno a corto plazo y otro a largo plazo.

1.1.5.1 Sistema de regulación a largo plazo

El sistema de regulación de la ingesta a largo plazo (figura 1.2) se basa en las señales de adiposidad, las cuales son proporcionales al tamaño de las reservas energéticas en forma de grasa. Destacan tres moléculas o señales de adiposidad en este sistema: la insulina, la leptina y la ghrelina.

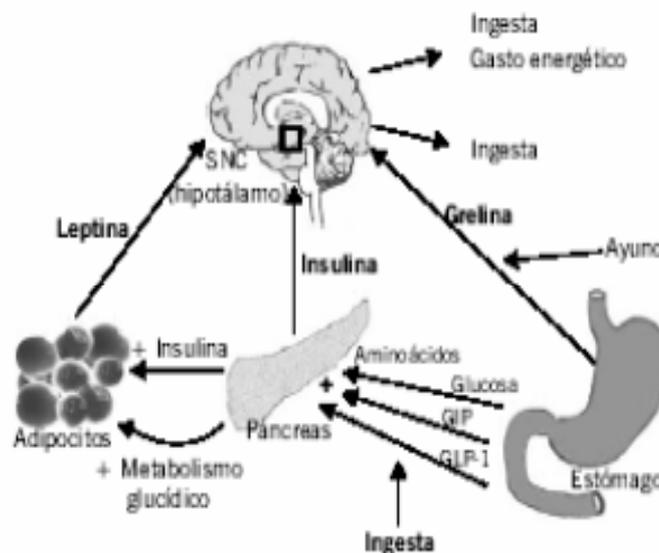


Figura 1.2. Vías de la regulación central de la ingesta a largo plazo (Palou, Bonet et al. 2004).

• Insulina

La insulina es secretada a nivel pancreático en respuesta a los nutrientes circulantes (glucosa y aminoácidos) y a otras hormonas: incretinas. Es un regulador a largo plazo de la ingesta, del balance energético y de la adiposidad corporal (Woods, Decker et al. 1974). Ante una misma cantidad de glucosa, los obesos suelen presentar una secreción de insulina más elevada que los individuos con normopeso, por lo que los niveles plasmáticos de insulina serán proporcionales a la ingesta reciente y a la grasa corporal (Havel, Townsend et al. 1999). Esta molécula tiene un efecto inhibitorio de la ingesta, y además aumenta la actividad simpática central y el gasto energético (Schwartz, Woods et al. 2000). Por lo tanto, a largo plazo controla a la baja el tamaño de la ingesta y tiene un efecto anabólico a nivel periférico, incrementa la síntesis de lípidos y su almacenamiento (Palou, Picó et al. 2004).

• Leptina

La leptina es una hormona producida sobre todo por el tejido adiposo, que regula la ingesta a corto y largo plazo, suprimiendo la ingesta de comida y con ello favorece la pérdida de peso. Sus niveles plasmáticos son proporcionales al tamaño de las reservas de grasa, observándose niveles elevados de leptina y resistencia a esta hormona en obesos (Klok, Jakobsdottir et al. 2007). Atraviesa la barrera hematoencefálica a través de un sistema saturable, teniendo un efecto central, mayoritariamente en las neuronas hipotalámicas, de inhibición de la ingesta y de incremento del gasto energético (Zhang, Proenca et al. 1994, Tartaglia, Dembski et al. 1995, Blundell, Goodson et al. 2001). Los animales con déficit de leptina, o productores de una hormona no funcional, o aquellos con defectos en su receptor, se caracterizan por hiperfagia, obesidad, diabetes, hipotermia e infertilidad (Zhang, Proenca et al. 1994, Montague, Farooqi et al. 1997, Strobel, Issad et al. 1998). La leptina actúa como regulador de la ingesta a largo plazo (figura 1.3) en las situaciones de déficit energético y como señal ante una situación de ayuno (Ahima and Flier 2000). Los niveles de leptina son mayores en las mujeres, en obesos, y ante estímulos como la glucosa, la insulina, la sobreingesta o por los niveles de estradiol; mientras que son menores en los varones, ante los cortos períodos de ayuno o ante las restricciones dietéticas, es inhibida por la testosterona, y con el consumo de dietas ricas en grasas, ya que inducen un descenso de insulina (Havel, Kasim-karakas et al. 1996, Havel 1997, Saad, Khan et al. 1998, Baumgartner, Waters et al. 1999, Isidori, Strollo et al. 2000).

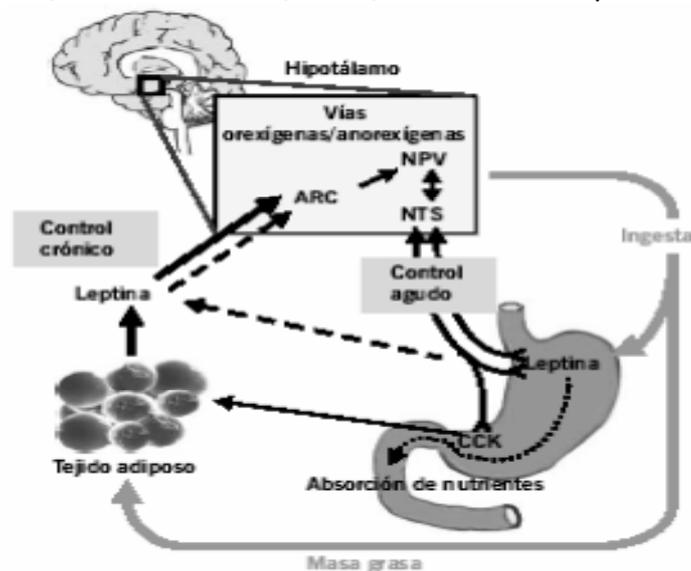


Figura 1.3. Esquema de la acción central y periférica de la leptina (Palou, Bonet et al. 2004).

- Ghrelina

La ghrelina, al igual que la leptina, ha sido implicada directamente en el control a corto y largo plazo de la ingesta (Wang, Lee et al. 2002). Se produce en las células endocrinas gástricas, y su paso a la circulación aumenta la ingesta a corto plazo y el peso corporal (Wren, Seal et al. 2001). Además, es estimuladora de otros péptidos orexígenos como el neuropéptido Y (NPY) y la proteína agouti (AGRP) y podría ejercer un papel en la regulación del comportamiento alimentario en el momento de inicio de la ingesta (Cummings, Purnell et al. 2001, Hinney, Hoch et al. 2002). Los niveles plasmáticos de ghrelina están elevados en situaciones de ayuno, ante la pérdida de peso y en la anorexia, mientras que disminuyen tras la ingesta y en individuos obesos (Otto, Cuntz et al. 2001, Palou, Picó et al. 2004).

1.1.5.2 Sistema de regulación a corto plazo

El sistema de regulación de la ingesta a corto plazo (figura 1.4) actúa modulando las señales de saciedad que se generan tras la entrada de alimento en el tracto digestivo, dichas señales regulan la cantidad de comida y la duración de la ingesta en un corto período de tiempo. Podemos diferenciarlas en:

- Señales mecánicas debidas a la distensión gástrica transmitidas a través de las vías aferentes del nervio vago.
- Señales químicas derivadas de los nutrientes y de los osmosensores del intestino delgado y del hígado, transmitidas también a través de las fibras vagales aferentes. El tracto gastrointestinal en respuesta al alimento secreta una gran variedad de péptidos, como la colecistoquinina (CCK) o el péptido 1 análogo al glucagón (GLP-1) que inhiben la ingesta en un corto espacio de tiempo. Los nutrientes también regulan la ingesta a corto plazo dependiendo de la composición, así como de las propiedades físicas del alimento (textura, aroma, sabor, volumen y peso), por lo que pueden afectar a la intensidad y duración de la sensación de saciedad (Palou, Picó et al. 2004).

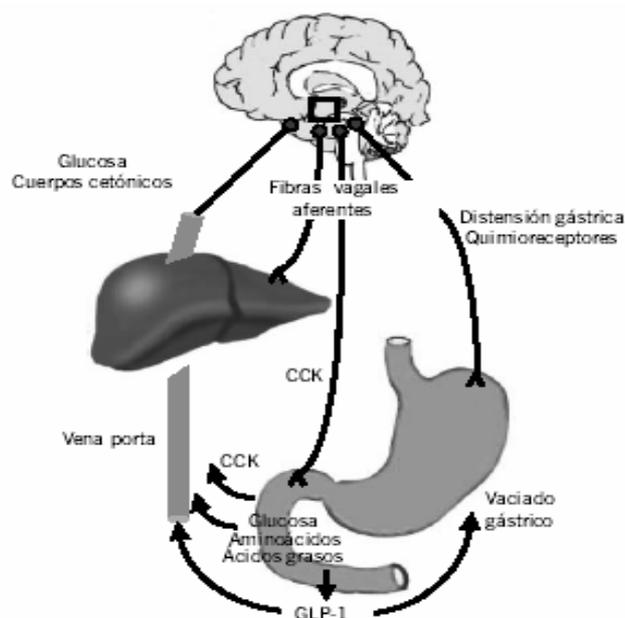


Figura 1.4. Señales en la regulación de la ingesta a corto plazo (Palou, Bonet et al. 2004).

Se diferencian sus efectos según el tipo de macronutriente predominante en el alimento:

- Las proteínas son los macronutrientes con mayor poder saciante debido a la inducción en la secreción de CCK, o por la acción directa de los aminoácidos en el sistema nervioso central (SNC) o en receptores hepáticos y vena porta, o por efecto saciante por sí mismos (fenilalanina, triptófano, caseína), o porque algunos aminoácidos son precursores de neurotransmisores implicados en el control central de la ingesta como el triptófano, precursor de la serotonina (Rogers and Blundell 1994, Nijima and Meguid 1995, Blundell 2006).
- Los hidratos de carbono tiene una capacidad saciante similar a las proteínas. Su acción se debe a la secreción de péptidos saciantes (GLP-1 y amilina) al contactar con los receptores de la mucosa del intestino delgado, y al retraso del vaciamiento gástrico y del tránsito intestinal (Feinle, O'Donovan et al. 2002).
- Las grasas son el nutriente con menor capacidad saciante, y tras un desayuno rico en grasas suele haber una comida posterior más abundante (Blundell, Burley et al. 1993, Blundell, Lawton et al. 1996). Según el tipo de ácidos grasos podemos encontrar diferencias de saciedad, siendo los de cadena corta y las grasas poliinsaturadas las más saciantes (Alfenas and Mattes 2003).

1.2 GH

1.2.1 BIOQUÍMICA

La hormona de crecimiento (GH) es un péptido de 191 aminoácidos (aa) con un peso molecular de 22 kDa, está formado por una cadena sencilla que posee dos puentes disulfuro entre las cisteínas que ocupan los lugares 53-165 y 182-189 (figura 1.5). Comparte una marcada homología estructural con el lactógeno placentario humano y prolactina (Kopchick (Kopchick and Andry 2000). El gen codificante de esta hormona en humanos está localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q23). Este gen contiene 5 exones codificantes para una proteína precursora de 217 aa. La separación de una secuencia de 26 aa da lugar a la proteína madura. Aproximadamente el 85% de la GH circulante se corresponde con esta forma de la proteína (191 aa) (Salvatori 2004). Aparte de esta forma de 22 kDa, se ha identificado otra forma con un peso molecular de 20 kDa, la cual procede del mismo gen que la variante de 22 kDa, pero de un ARNm diferente. Difiere de la forma de 22 kDa en que presenta la pérdida de una serie de residuos aminoacídicos. El péptido 22kDa conserva la actividad de promoción del crecimiento pero carece de efectos diabetógenos, que son más intensos en la forma 20kDa (Baumann 1991).

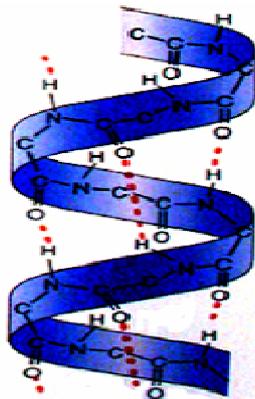


Figura 1.5. Estructura de la hormona GH.

Existen cinco genes distintos que expresan GH, todos ellos derivan de un precursor común, son el hGH-N; hCS-A; hCS-B; hCS-L; hGH-V. Entre ellos el GH-N es el único que se expresa únicamente en la hipófisis y es el que regula la síntesis de la GH, concretamente la forma 22 kDa. Los otros cuatro genes se expresan también en la placenta (Cooke, Ray et al. 1988).

La regulación del gen hipofisario GH-N es compleja (Kopchick and Andry 2000, Ho, Liebhaber et al. 2004). El desarrollo tisular específico de los somatotropos y la expresión de GH parece estar determinado fundamentalmente por el gen Prop-1 y el factor de transcripción Pit-19. Existen mutaciones raras en el gen de GH que se asocian a déficit aislado de GH. Existen también mutaciones en el gen Prop-1 y en el Pit-1 igualmente raras y que inducirían un déficit de GH y de otras hormonas hipofisarias (Procter, Phillips III et al. 1998).

1.2.1.1 Síntesis y secreción de GH: ritmo circadiano

La síntesis de GH se produce en el retículo endoplasmático rugoso de las células somatotropas (células acidófilas) presentes en la hipófisis. Tras su paso por el aparato Golgi, es empaquetada dentro de gránulos secretores. Finalmente, la GH es secretada al espacio perivascular por exocitosis. Es importante destacar la existencia de células acidófilas mixtas que secretan tanto GH como prolactina, denominadas mammosomatotropas (Neill and Frawley 1983, Frawley, Boockfor et al. 1985).

La secreción de GH se realiza en forma de pulsos, con aproximadamente 10 pulsos intermitentes de secreción que duran aproximadamente 90 minutos, siendo más frecuentes por la noche. La secreción está regulada por un complejo sistema de control neuroendocrino, en el que interviene dos neuropéptidos hipotalámicos, somatostatina u hormona liberadora de GH (GHRH), y somatostatina (SST). GHRH ejerce efectos estimuladores de la secreción de GH sobre las células somatotropas, mientras que el efecto de SST es inhibitorio (figura 1.6). Ambos péptidos son los últimos mediadores de las influencias metabólicas, endocrinas, neurales e inmunológicas sobre la secreción de GH por la hipófisis (Müller, Locatelli et al. 1999). Existe otro tipo de moléculas sintéticas denominadas péptidos liberadores de GH (GHRPs) capaces de estimular la liberación de GH. Estas moléculas estimulan la secreción de GH a través de la activación del receptor de secretagogos de GH (GHS-R) (Kopchick and Andry 2000), al cual se une la hormona ghrelina. Es por tanto la ghrelina el ligando endógeno del GHS-R (Kojima, Hosoda et al. 1999).

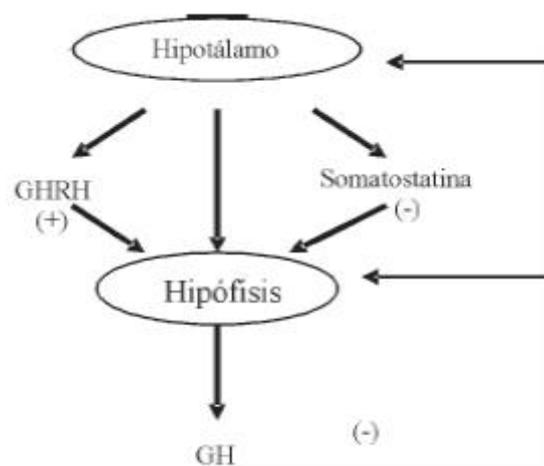


Figura 1.6. Regulación de la secreción de GH por el eje Hipotálamo/Hipofisario.

La secreción de GH es pulsátil en todas las especies estudiadas, es decir, con fases de secreción brusca, separadas entre sí por períodos largos (horas) en los que no existe apenas secreción de la hormona (Tannenbaum and Martin 1976, Müller, Locatelli et al. 1999). Se diferencia del patrón pulsátil de la prolactina en que los lapsos temporales son más cortos. Esta secreción pulsátil de GH se origina por la secreción rítmica y alternante de GHRH y de SST a la circulación portal (Plotsky and Vale 1985), de forma que cada pico de secreción de la GH se corresponde con un aumento de la secreción de GHRH y una disminución de la secreción de SST (Tannenbaum and Ling 1984, Plotsky and Vale 1985). En condiciones normales, los picos secretores máximos de GH se producen durante el sueño, principalmente asociados a la

primera fase del sueño lento, con picos de menor amplitud en fases tardías de esta etapa del sueño (Holl, Hartman et al. 1991).

Los niveles plasmáticos medidos en situaciones basales y en adultos sanos son habitualmente indetectables durante la mayor parte del día, siendo los niveles basales nocturnos de $1 \pm 0,2$ $\mu\text{g/l}$ y los diurnos de $0,6 \pm 0,1$ $\mu\text{g/l}$. Los niveles de GH durante un pulso secretorio son habitualmente de $4,3 \pm 0,7$ $\mu\text{g/l}$ durante la noche y $2,7 \pm 0,5$ $\mu\text{g/l}$ durante el día aunque puede alcanzar niveles de hasta 40 $\mu\text{g/l}$ durante un pulso secretorio (Toogood, Nass et al. 1997). La secreción en el hombre suele ser más pulsátil y en la mujer más continua aunque existen diferencias detectables en la amplitud de los pulsos en función del sexo (Veldhuis, Liem et al. 1995). La vida media de la GH es de 20-25 minutos y se metaboliza fundamentalmente en el hígado y en menor grado en el riñón (Parker, Utiger et al. 1962).

1.2.2 HORMONA LIBERADORA DE GH (GHRH)

La GHRH es una hormona peptídica de 44 aa. Su estructura se identificó en 1982, cuando fue aislada en dos pacientes con tumores pancreáticos que producían acromegalia. Se aislaron 3 péptidos de 44, 40 y 37 aa, siendo el que se encontró con mayor concentración el de 40 aa (Guillemin, Brazeau et al. 1982, Rivier, Spiess et al. 1982).

El gen del GHRH humano se ha caracterizado y localizado en el cromosoma 20. La actividad biológica reside en los aminoácidos 1-29 y su secuencia indica que forma parte de la familia de péptidos homólogos que incluyen secretina, glucagón, GLP1 y péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Bell 1986, Christophe, Svoboda et al. 1989, Campbell, Lee et al. 1991, Campbell and Scanes 1992).

La hormona hipotalámica GHRH es sintetizada por neuronas situadas en el núcleo arcuato cuyas terminaciones nerviosas proyectan a la eminencia media. La GHRH alcanza la adenohipófisis a través del sistema porta hipofisario (Bloch, Gaillard et al. 1984), donde se une a receptores específicos localizados en la membrana de las células somatotropas. La GHRH induce la secreción de GH y estimula la proliferación de las células somatotropas (Theill and Karin 1993, Mayo, Godfrey et al. 1994).

Neurotransmisores, neuropéptidos, neuromoduladores o señales metabólicas modifican la actividad de las neuronas del núcleo arcuato. Así, estudios *in vitro* realizados en hipotálamo han demostrado que la secreción de GHRH aumenta en respuesta a una bajada de glucosa (Baes and Vale 1990) o a estímulos α_2 -adrenérgicos (Kabayama, Kato et al. 1986). Sin embargo, la actividad de estas neuronas disminuye por un efecto del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I) (Shibasaki, Yamauchi et al. 1986), de SST (Liposits, Merchenthaler et al. 1988, Yamauchi, Shibasaki et al. 1991), por la activación del sistema GABAérgico (Baes and Vale 1989) o por el aumento de los niveles circulantes de GH (Ganzetti, De Gennaro et al. 1986, Müller, Locatelli et al. 1999).

Se ha descrito que los glucocorticoides amplifican la respuesta y la sensibilidad de las células somatotropas a la GHRH (Seifert, Perrin et al. 1985, Tamaki, Sato et al. 1996), mientras que disminuyen el efecto inhibitor de SST (Schonbrunn 1982). Además, favorecen la diferenciación a este tipo de células (Boockfor, Hoeffler et al. 1985), y estimulan la síntesis y secreción de GH (Thakore and Dinan 1994).

1.2.3 SOMATOSTATINA (SST)

En 1973 el grupo de Guillemin y colaboradores publican en *Science* el aislamiento y caracterización de la SST a partir de hipotálamo ovino. Su estructura mostró que se trataba de un tetradecapéptido cíclico que se identifica como inhibidor fisiológico de la secreción de GH y la hormona estimulante de la tiroides (TSH). La molécula principal es la SST-14 si bien existen otras formas moleculares como la SST-28 que se cree que también tienen importancia biológica. Su prohormona está constituida por 116 aa (Brazeau, Vale et al. 1973).

La SST inhibe selectivamente la secreción de GH mediante la unión a un receptor específico que se encuentra acoplado negativamente al sistema adenilatociclasa y al flujo de calcio intracelular mediante una proteína G inhibitoria. Actúa uniéndose a receptores específicos de membrana en las células somatotropas (Giustina and Veldhuis 1998).

En el hipotálamo, la mayor parte de las neuronas que secretan somatostatina se encuentran en el núcleo periventricular anterior (Fishman and Peake 1970). Estas neuronas proyectan sus axones principalmente hacia la eminencia media donde forman una banda compacta en la zona externa, aunque una pequeña porción de estas fibras se dirige hacia la neurohipófisis donde modulan la secreción de oxitocina y vasopresina. Otras neuronas del núcleo periventricular anterior proyectan sus axones a otras áreas fuera del hipotálamo como el sistema límbico, o conectan con otros núcleos hipotalámicos como el arcuato, donde modula la secreción de GHRH, o los núcleos supraquiasmáticos, generadores de ritmicidad (Müller, Locatelli et al. 1999).

El control de la secreción de somatostatina hipotalámica depende principalmente de la tasa de noradrenalina (NA) en el espacio sináptico. Así, cuando la concentración de NA aumenta, se activan los receptores α_2 -adrenérgicos en la neurona postsináptica y se inhibe la secreción de la SST. Sin embargo, cuando el contenido en NA disminuye en el espacio sináptico se activan los receptores β -adrenérgicos postsinápticos y se estimula la secreción de SST (Negro-Vilar, Ojeda et al. 1979, Maeda and Frohman 1980).

Además de la NA se conocen otros factores inhibidores de la secreción de SST, como la acetilcolina (Devesa, Lima et al. 1992), o el ácido gamma-aminobutírico (GABA) (Gamse, Vaccaro et al. 1980), que ejerce su acción en el hipotálamo (García-Segura, Perez et al. 1991) e inhibe la secreción de SST (Takahara, Yunoki et al. 1980). Otros neuromoduladores ejercen efectos estimuladores sobre la secreción de SST. Es el caso de la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), la GHRH (Katakami, Arimura et al. 1985), la GH (Sheppard, Kronheim et al. 1978), los glucocorticoides (Nakagawa, Ishizuka et al. 1987, Fernández-Vázquez, Cacicado et al. 1995) y la taurina (Aguila and McCann 1985).

Es importante destacar que tanto las variaciones en los niveles circulantes de glucosa como la ingesta de dietas enriquecidas en proteínas modulan la síntesis y secreción de SST en el hipotálamo (Berelowitz, Dudlak et al. 1982, Alba-Roth, Müller et al. 1988).

La SST es un potente inhibidor de la secreción de GH "*in vivo*" e "*in vitro*" tanto en animales como en el hombre. Suprime la secreción de GH en respuesta a diferentes estímulos como hipoglucemia insulínica, L-dopa, sueño, arginina. También es efectiva para disminuir los niveles de GH en acromegalia, diabetes, insuficiencia renal y hepática (Hall, Schally et al. 1973, Pimstone, Becker et al. 1975, Gómez-Pan and Rodríguez-Aranao 1983, Reichlin 1983). Inhibe la respuesta de TSH a TRH (Hall, Schally et al. 1973) y la secreción de prolactina sin tener efecto en el resto de las hormonas adenohipofisarias (Tyrrell, Lorenzi et al. 1975, Lamberts 1988).

1.2.4 RECEPTOR DE GH Y PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE GH (GHBPs)

La GH se une con alta afinidad y especificidad a dos proteínas, el receptor de GH (GHR) y la proteína de unión a la GH (GHBP). El receptor está presente en la membrana celular de los tejidos diana de la hormona, donde ésta ejercerá sus efectos somatogénicos y metabólicos (Edens and Talamantes 1998). El receptor de GH pertenece a la superfamilia de receptores de citoquinas de clase 1, entre los que también están el receptor de prolactina, factor neurotrófico ciliar (CNTF), leptina, etc. Por su parte, la GHBP se encuentra circulando en suero y es capaz de formar complejos con la GH circulante (Zhu, Goh et al. 2001).

El receptor de GH es una proteína con un dominio transmembrana de unos 620 aa, dependiendo de la especie. La estructura del GHR consiste en un dominio extracelular de unión a la hormona en el extremo N-terminal. Este dominio comprende unos 245 aa, según la especie. Presenta también un dominio hidrofóbico transmembrana de 24 aa, y un dominio de señalización intracelular de unos 350 aa. El peso molecular esperado para el receptor oscila entre 100-130 kDa, aunque también se han encontrado tamaños mayores y menores (Edens and Talamantes 1998).

La expresión del receptor de GH se determinó en un principio en el hígado, lo que hizo pensar que era específico de este tejido. Posteriormente, se comprobó que también se expresa en otros tejidos, como es el caso de músculo, tejido adiposo, glándula mamaria, hueso, riñón y células embrionarias (Kelly, Djiane et al. 1991). El receptor de GH activa a nivel intracelular una cascada de fosforilación en la que participa la vía JAK/STAT (*Janus kinase/signal transducing activators of transcription*), su acción predominante es estimular la síntesis y secreción hepática de IGF-1, un potente factor de crecimiento y diferenciación (Herrington and Carter-Su 2001). Las mutaciones en el gen del receptor de la GH se asocian con insensibilidad completa o parcial a GH y talla baja (Savage, Blair et al. 2002).

Parece que la función principal de las proteínas de unión a la GH es la de formar complejos con la GH, uniendo el 50% de la GH circulante. De esta forma las GHBP estarían regulando los niveles de GH libre que circula en la sangre, ya que el complejo que forman con la GH constituiría un reservorio de la hormona. Este hecho permite prolongar la vida media de la GH en plasma. También, mediante la formación de los complejos, estarían modulando la acción de la GH a nivel celular (Baumann 2001).

1.2.5 FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LA GH

La GH, controla el crecimiento corporal armónico y la consecución de una talla adulta normal a través de una acción directa sobre el tejido óseo e indirecta, a través de la síntesis de IGF-1, fundamentalmente a nivel hepático y óseo (Devesa 1990). Sin embargo, también ejerce efectos biológicos muy importantes sobre el metabolismo intermediario, a través de sus acciones lipolítica y diabetogénica, (Tresguerres, Aguilar et al. 2000). Además, datos de la literatura muestran otros efectos de la hormona sobre el sistema inmunitario (Esquifino, Castrillón et al. 1999, Esquifino, Selgas et al. 1999), el sistema cardiovascular (Sacca, Cittadini et al. 1994), la hematopoyesis (Strobl and Thomas 1994, Devesa, Barros et al. 1996), las gónadas (Rice, Kroning et al. 1976, Kaiser, Sinowatz et al. 2001), la glándula mamaria (Caron, Jahn et al. 1994) y determinados procesos cognitivos (Hartford and Bosmann 1987). Por otro lado, se ha descrito la existencia de síntesis de una GH idéntica a la hipofisaria en diversos tejidos extrahipotalámicos como el sistema inmunitario, cuyo significado fisiológico no está

perfectamente establecido (Weigent, Baxter et al. 1988, Mol, van Garderen et al. 1995, Costoya, Vidal et al. 1996).

Como se ha mencionado anteriormente la GH ejerce la mayoría de sus acciones fisiológicas a través del IGF-1 (figura 1.7). El IGF-1 es un factor de crecimiento con estructura similar a la proinsulina. Está formado por una cadena de 70 aa, se sintetiza fundamentalmente en el hígado y su síntesis depende de los niveles circulantes de GH. Actúa localmente y de forma sistémica regulando el crecimiento y la diferenciación celular. El IGF-1 ejerce una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis, inhibiendo la secreción de GH. El IGF-1 circula en su mayor parte unido a proteínas transportadoras, denominadas IGFBP, destaca entre ellas la IGFBP3 por ser el transportador más importante de IGF-1. El IGFBP1 se dice que inhibe la acción del IGF-1 ya que modula su fracción libre que es la metabólicamente activa (Bereket, Lang et al. 1995, Strasser-Vogel, Blum et al. 1995). Los niveles de IGFBP1 se correlacionan negativamente con los niveles de insulina, tanto en diabéticos como en personas normales (Strasser-Vogel, Blum et al. 1995). La vida media en suero de IGF-1 es más larga que la de GH por lo que IGF-1 facilita el crecimiento de tejidos en colaboración con GH y otros factores de crecimiento (Volterrani, Manelli et al. 2000).

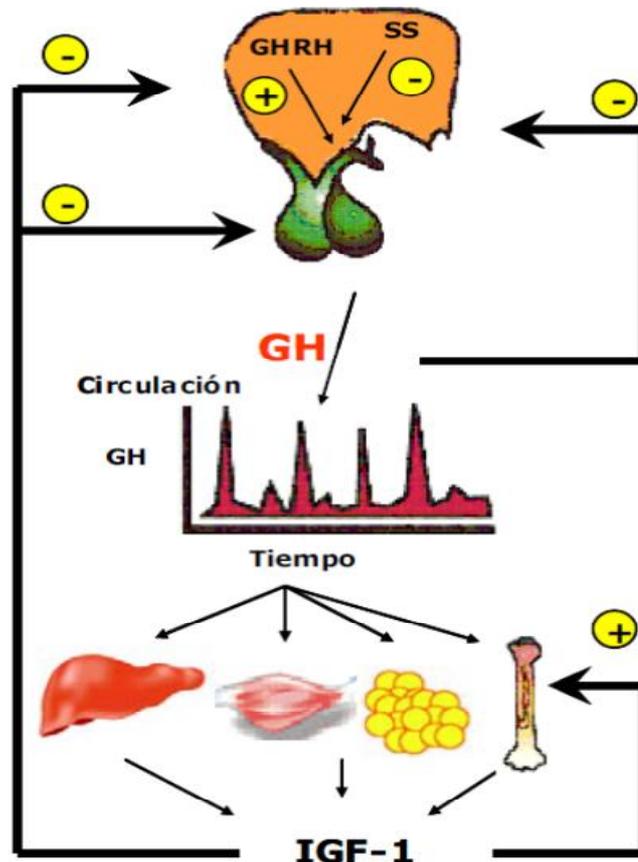


Figura 1.7. Acciones generales del eje GH/IGF1. La liberación pulsátil a la circulación de GH induce la producción de IGF-1, mediador de los efectos promotores del crecimiento de GH (Volterrani, Manelli et al. 2000).

El principal efecto de la GH es promover el crecimiento postnatal longitudinal. Esta acción promotora se debe en gran medida a efectos pleiotrópicos de la hormona sobre el metabolismo y la diferenciación celular. Así, la GH regula el metabolismo de lípidos, carbohidratos, nitrógeno y minerales dentro de la célula (Kopchick and Andry 2000). La GH

ejerce dos acciones opuestas sobre el metabolismo de carbohidratos. En primer lugar ejerce efectos similares a los de la insulina que incluyen lipogénesis y estimulación del metabolismo de glucosa y aminoácidos (Casanueva 1992). En segundo lugar presenta efectos anti-insulina, incluyendo lipólisis, hiperglucemia, e hiperinsulinemia. Los efectos anabólicos de la GH conducen a un aumento en la síntesis proteica y por tanto de la masa muscular (Corpas, Harman et al. 1993). En cuanto a los efectos de la GH sobre la diferenciación celular, se ha visto que la hormona estimula la diferenciación de preadipocitos 3T3-L1 a adipocitos maduros (Morikawa, Nixon et al. 1982), y que participa en el desarrollo y diferenciación de diversos tejidos como músculo, sistema nervioso, próstata y glándula mamaria (Sanders and Harvey 2004) (tabla 1.4).

Efectos generales de la GH
Crecimiento postnatal longitudinal
Mantenimiento del sistema inmune
Efectos positivos a nivel corporal:
Resistencia muscular
Capacidad reproductiva
Propiedades de la piel
Efectos sobre el metabolismo celular:
Lípidos
Carbohidratos
Nitrógeno
Minerales
Viabilidad celular
Diferenciación celular

Tabla 1.4. Principales acciones orgánicas de la GH.

Por otro lado, también se ha comprobado que la GH juega un papel importante en el mantenimiento del sistema inmune (Kopchick and Andry 2000). Además, también tiene efectos positivos a nivel corporal en la resistencia muscular, capacidad reproductiva, propiedades de la piel, y funciones metabólicas (De Boer, Blok et al. 1995).

1.2.6 GH Y OBESIDAD

En la obesidad existe una alteración en la secreción de GH, tanto en adultos como niños, a mayor índice de masa corporal menor es la respuesta de GH a estímulos secretores (Cordido, Peñalva et al. 1992, Kanaley, Weatherup-Dentes et al. 1999) incluyendo la respuesta a GHRH (Cordido, Casanueva et al. 1989). Se ha visto que un aumento del aclaramiento de la GH puede ser un factor importante en la disminución de la respuesta a GH (Veldhuis, Iranmanesh et al. 1991) aunque el principal mecanismo en la obesidad es una alteración en la secreción de GH tanto espontánea como estimulada (Cordido, Dieguez et al. 1990, Dieguez and Casanueva 1995). Existen diversos estudios que han demostrado la existencia de esta disminución, así los niveles de GH guardan una relación inversamente proporcional con el índice de masa corporal (Veldhuis, Iranmanesh et al. 1991, Rasmussen, Hvidberg et al. 1995, Veldhuis, Roelfsema et al.

2011). El exceso de masa grasa actúa disminuyendo la frecuencia y amplitud de los pulsos de GH, incrementando su aclaramiento y disminuyendo su vida media. Aunque los pulsos de secreción de GH son menos frecuentes y de menor amplitud se mantiene el ritmo circadiano (Iranmanesh, Lizarralde et al. 1991, Lichanska and Waters 2008).

La alteración de la función de las células somatotropas en la obesidad no es permanente y se puede revertir con la recuperación de un peso normal (Williams, Berelowitz et al. 1984, Rasmussen, Hvidberg et al. 1995) o con una restricción calórica temporal (Kelijman and Frohman 1988).

La causa principal de la alteración en la secreción de GH en la obesidad puede ser una alteración en el hipotálamo, una función hipofisaria anormal o una perturbación en las señales periféricas que actúan a nivel hipofisario o hipotalámico. En las personas obesas, la secreción de GH inducida por la administración exógena de GHRH o GHRP-6 está bloqueada, descartando un déficit secretor de GHRH endógenos o del ligando natural del receptor de secretagogos de GH como factores causantes (Howard, Feighner et al. 1996, Kojima, Hosoda et al. 1999).

Existen muchos datos que sugieren que un estado crónico de hipersecreción de SST resulta en una inhibición de la liberación de GH; el aumento de los ácidos grasos libres probablemente contribuye a esta alteración, así como un déficit en la secreción de ghrelina (Álvarez-Castro, Sangiao-Alvarellos et al. 2011).

La GH ejerce sus efectos a través de IGF-1 cuyos niveles dependen del índice de masa corporal, con el que se relaciona siguiendo una distribución en campana de Gauss que alcanza los niveles máximos en individuos con un índice de masa corporal entre 30 y 35 kg/m². En la obesidad los niveles de IGF-1 se han encontrado dentro de los límites de normalidad, disminuidos y elevados, pero las concentraciones de IGF-1 libre están elevadas. Si tenemos en cuenta que la producción de IGF-1 está estimulada por los elevados niveles de insulina que con frecuencia se observan en los sujetos obesos, esto explicaría la discrepancia característica de la obesidad entre el incremento de IGF-1 y la disminución de GH (Schneider, Saller et al. 2006).

IGF-1 junto con insulina juegan un papel fundamental en el equilibrio energético a través de sus efectos reguladores sobre la lipólisis, la proteólisis y la sensibilidad insulínica; si además tenemos en cuenta que el tratamiento con GH en situaciones de déficit tiene una acción lipolítica esencialmente a nivel visceral podemos concluir que la secreción de GH es un elemento esencial en el balance energético del individuo. Considerando la obesidad como una situación de déficit de GH y teniendo en cuenta que dicho déficit contribuye a la aparición y el mantenimiento de la obesidad, se ha empleado el tratamiento con GH en individuos obesos evidenciándose una disminución de masa grasa, un incremento de masa magra y una mejoría del perfil lipídico (Mekala and Tritos 2009).

Se ha encontrado que la administración de una dosis baja de rhIGF1 (factor recombinante de crecimiento humano similar a la insulina tipo 1) inhibe la respuesta de las células somatotropas a la GHRH tanto en obesos como en sujetos normales indicando que la sensibilidad de las células somatotropas al efecto inhibitorio del rhIGF1 se encuentra intacto en la obesidad, esto hace menos probable que la hiposecreción de GH de la obesidad sea debida a una inhibición de las somatotropas mayor de lo normal inducida por IGF-1 circulante (Maccario, Tassone et al. 2001). En un estudio reciente se observa que los niveles circulantes de IGF-1 en pacientes obesos severas estaban disminuidos, esta disminución sin embargo es transitoria ya que los niveles se recuperan con la pérdida de peso (Rasmussen, Juul et al. 2007).

La reducción de los ácidos grasos libres (FFA) con acipimox, un fármaco que disminuye los lípidos con mínimos efectos secundarios, aumenta de manera notable la secreción de GH inducida por piridostigmina (un fármaco que reduce el tono somatostatinérgico) (Massara, Ghigo et al. 1986, Penalva, Muruais et al. 1990), GHRH y GHRH + GHRP-6, restaurando el nivel de ésta secreción a un 50-70% del normal (Cordido, Peino et al. 1996). Éstos y otros resultados nos indican que los niveles elevados de FFA juegan un papel importante en la disminución de GH en la obesidad y sugieren que el tratamiento con inhibidores de la lipólisis podría ser útil para restaurar la función somatotropa (Andreotti, Lanzi et al. 1994, Maccario, Procopio et al. 1996, Nam, Lee et al. 1996, Cordido, Fernandez et al. 1998). Por otro lado, la piridostigmina (Massara, Ghigo et al. 1986, Penalva, Muruais et al. 1990) aumenta la secreción de GH inducida por GHRH en sujetos obesos (Cordido, Casanueva et al. 1989, Loche, Pintor et al. 1989). Esto unido a la casi normal secreción de GH en respuesta a hipoglucemia en obesos sugiere que un aumento del tono somatostatinérgico puede parcialmente explicar la alteración en la función de las somatotropas en la obesidad (Cordido, Dieguez et al. 1990). Este déficit relativo de GH en la obesidad puede contribuir al mantenimiento de la misma (Stein and Colditz 2004) y se ha empleado la GH como tratamiento de la obesidad en pacientes sin déficit orgánico de GH (Attallah, Friedlander et al. 2006, Franco, Andersson et al. 2007, Pasarica, Zachwieja et al. 2007).

Numerosos estudios han demostrado que el déficit de GH del adulto se asocia con anomalías en la composición corporal, alteraciones metabólicas y alteraciones en la calidad de vida (De Boer, Blok et al. 1995, Stavrou and Kleinberg 2001). La obesidad es probablemente el mayor factor de confusión para el diagnóstico del déficit de GH del adulto, se sabe que la alteración de la secreción de GH en la obesidad es paralela a las alteraciones en la composición corporal como aumento de la grasa visceral, disminución de masa magra y de densidad mineral ósea (Savastano, Di Somma et al. 2006). Los síntomas del déficit de GH son inespecíficos y consisten en falta de energía, fatiga, aislamiento social, mala capacidad de concentración y pérdida de memoria (Newman and Kleinberg 1998). Los signos son un aumento de la masa grasa, especialmente de abdomen y vísceras (Rosen, Bosaeus et al. 1993), así como disminución de la masa magra, del contenido de agua y de la densidad mineral ósea (Salomon, Cuneo et al. 1989, Colao, Di Somma et al. 1999) especialmente en los pacientes con déficit grave o de evolución prolongada. Otras manifestaciones son la hiperlipemia (Attanasio, Lamberts et al. 1997, Sesmilo, Biller et al. 2000), disminución de la capacidad de realizar ejercicio físico, aumento de los factores de riesgo cardiovascular (Bülow, Hagmar et al. 2000), la adiposidad abdominal, resistencia a la insulina (Christopher, Hew et al. 1998) y aumento del grosor de la capa íntima de la carótida (Borson-Chazot, Serusclat et al. 1999).

1.2.7 HIPOPITUITARISMO

El hipopituitarismo es el síndrome clínico resultante de la pérdida de la función hormonal hipofisaria (Toogood and Stewart 2008), ya sea parcial o total en cuyo caso se conoce como panhipopituitarismo. Puede ser de origen primario, por un fallo en la secreción hormonal originado en la propia glándula o secundario cuando es debido a ausencia de estimulación de los factores hipotalámicos sobre la hipófisis, bien sea por alteración del propio hipotálamo o del tallo hipofisario.

Los primeros estudios epidemiológicos de hipopituitarismo proceden de la década de los 90 (Rosen and Bengtsson 1990, Bates, Van't Hoff et al. 1996), fueron diseñados para evaluar la esperanza de vida y la mortalidad achacable al déficit hormonal y por tanto excluyeron a

aquellos pacientes con otra patología como la acromegalia o la enfermedad de Cushing. En el año 2001 se publicó el primer estudio epidemiológico poblacional de hipopituitarismo de cualquier causa en pacientes adultos. La prevalencia descrita fue de 45,5 casos por cada cien mil habitantes y la incidencia media anual fue de 4,21 casos por cada cien mil habitantes, manteniéndose constante a lo largo de los 7 años del periodo de estudio (Regal, Paramo et al. 2001).

La pérdida de función hipofisaria puede ser consecuencia de factores genéticos hereditarios o bien de lesiones adquiridas como neoplasias, procesos inflamatorios o lesiones vasculares. Los tumores hipofisarios y/o su tratamiento mediante cirugía y/o radioterapia hipofisaria, son los responsables del hipopituitarismo hasta en el 60% de los casos (Rosen and Bengtsson 1990, Tomlinson, Holden et al. 2001). Recientemente han ido ganando más peso otras causas de hipopituitarismo en los adultos, como el traumatismo craneoencefálico y la hemorragia subaracnoidea (Schneider, Kreitschmann-Andermahr et al. 2007).

1.2.7.1 Síntomas y causas

La mayoría de los tumores hipofisarios son adenomas monoclonales benignos, si bien pueden tener un carácter agresivo con compresión local e invasión de estructuras vecinas, hasta en un 40% de los casos. Su repercusión clínica depende de su tamaño (macro o microadenomas) y de su capacidad secretora de hormonas (tumores funcionantes o no funcionantes) (Sautner and Saeger 1991). El 60% de los casos de hipopituitarismo en la edad adulta son consecuencia de un adenoma hipofisario, en la mayoría de las ocasiones no funcionante (Rosen and Bengtsson 1990, Tomlinson, Holden et al. 2001). Los mecanismos por los que los adenomas hipofisarios pueden originar hipopituitarismo incluyen (Arafah 1986):

- 1) compresión mecánica, desestructuración y/o destrucción de las células hipofisarias por la masa tumoral.
- 2) compresión mecánica de la vascularización hipofisaria con necrosis isquémica de la hipófisis.
- 3) aumento de la presión intraselar con deterioro del flujo sanguíneo portal y alteración de la regulación hipotalámica sobre la hipófisis.

Los microadenomas hipofisarios no suelen producir clínica local ni hipopituitarismo (Arafah, Prunty et al. 2000). Por el contrario los macroadenomas suelen presentar síntomas compresivos, fundamentalmente déficit visual, y se asocian con déficit de al menos un eje hormonal en el 30% de los casos (Vance 1994). Los ejes hormonales más frecuentemente afectados son el eje somatotropo, seguido del gonadotropo, del tirotrópico y por último el corticotropo. Junto a los síntomas dependientes del tamaño del adenoma, aquellos casos que presenten hipersecreción hormonal cursarán con los síntomas y signos correspondientes. En estos casos, pueden existir déficits hormonales funcionales provocados por la hormona segregada en exceso. Este es el caso del hipogonadismo hipogonadotropo que acompaña a la hiperprolactinemia (Demura, Ono et al. 1982) o el déficit de GH en el síndrome de Cushing (Giustina, Bresciani et al. 1994, Leal-Cerro, Soto et al. 2002).

Dentro de las neoplasias paraselares, el craneofaringioma es la más frecuente, representando aproximadamente el 3% de las neoplasias intracraneales y el 10% en el caso de

los niños. La mayoría de los craneofaringiomas son extraselares, de gran tamaño e invasivos presentando sintomatología compresiva local desde el momento del diagnóstico. El 90% de los casos se asocian al menos a un déficit hormonal hipofisario, el más frecuente y precoz es el de la hormona anti diurética (ADH) (Weiner, Wisoff et al. 1994, Karavitaki, Brufani et al. 2005).

Déficit hormonal		Síntomas	Signos clínicos/laboratorio
ACTH	Agudo	Debilidad, mareo, cefalea, fiebre, shock, náuseas, vómitos	Hipoglucemia, hipotensión, hiponatremia, anemia normocítica, linfocitosis, eosinofilia.
	Crónico	Fatiga, pérdida de peso, anorexia	
	Niños	Retraso de crecimiento, pubertad retrasada	
TSH	Adultos	Cansancio, intolerancia al frío, caída de pelo, piel seca, pérdida de atención, hinchazón	Ganancia de peso, bradicardia, hipotensión, hiperreflexia, hiponatremia
	Niños	retraso de crecimiento	
FSH/LH	Mujeres	Amenorrea, dispareunia, pérdida de libido, infertilidad	Osteoporosis
	Hombres	Pérdida de libido, cambio de humor, impotencia, atrofia testicular	Pérdida de masa muscular, osteoporosis, anemia
	Niños	Retraso puberal	
GH	Adultos	Pérdida de masa muscular y fuerza, obesidad visceral, fatiga, pérdida de atención	Dislipidemia, aterosclerosis prematura, hipoglucemia.
	Niños	Retraso de crecimiento	
ADH		Poliuria, polidipsia	Hiposmolaridad urinaria, hipernatremia, poliuria

Tabla 1.5. Síntomas y signos asociados a cada déficit hormonal hipofisario (Schneider, Aimaretti et al. 2007).

Los tratamientos de los adenomas hipofisarios pueden ser causa de hipopituitarismo. La cirugía hipofisaria puede empeorar o mejorar la funcionalidad hipofisaria dependiendo del tamaño tumoral, el tiempo de evolución de la lesión y de la destreza del neurocirujano (Arafah 1986, Webb, Rigla et al. 1999, Barker, Klibanski et al. 2003). En aproximadamente un 5% de los pacientes intervenidos se pierde función hipofisaria, siendo este hecho más frecuente cuanto mayor es el tamaño del tumor (Fatemi, Dusick et al. 2008). La prevalencia de diabetes insípida postquirúrgica permanente oscila entre un 8,6% y un 32% y la prevalencia de hipopituitarismo anterior entre un 3,5 y 12% (Drange, Fram et al. 2000, Cury, Fernandes et al. 2009). Por el contrario, se ha descrito recuperación de la función hipofisaria en hasta un 50% de los casos, siendo más frecuente cuanto más joven es el paciente y en ausencia de complicaciones intraoperatorias (Fatemi, Dusick et al. 2008).

La clínica del hipopituitarismo depende de su causa, de la rapidez de instauración, la magnitud del déficit hormonal y la edad de aparición del mismo, siendo por lo general más graves los cuadros que debutan a edades más precoces. Los síntomas suelen desarrollarse de forma insidiosa, incluso varios años antes del diagnóstico, ya que el hipopituitarismo completo

requiere de la destrucción de al menos el 90% de la hipófisis. Los síntomas suelen ser inespecíficos: sensación de malestar, cansancio, letargia, sensación de frío, pérdida de apetito y peso variables, en función de las hormonas deficitarias. En las causas adquiridas por destrucción del tejido hipofisario el hipopituitarismo suele instaurarse con una cronología característica: el primer déficit suele ser el de GH, seguido del déficit de hormona foliculoestimulante (FSH) / hormona luteinizante (LH), en tercer lugar del déficit de TSH y finalmente del déficit de hormona adrenocorticotropa (ACTH) (Arlt and Allolio 2003)(Tabla 1.5).

1.2.7.2 Déficit de GH

En el déficit de GH en los adultos no existe un único síntoma o signo patognomónico, puede dar lugar a una alteración de la composición corporal con aumento de la masa grasa (un 7-10% superior al esperado por la edad, sexo y altura), especialmente de la grasa visceral; disminución de la masa libre de grasa o la masa muscular (De Boer, Blok et al. 1992) y reducción del agua corporal total, probablemente por reducción del volumen extracelular, plasmático y de sangre total. También puede disminuir la densidad mineral ósea y aumentar la incidencia de fracturas (Rosén, Wilhelmsen et al. 1997). Este déficit se acompaña de cambios metabólicos, como resistencia a la insulina e incremento del nivel de insulina en ayunas y tolerancia anormal a la glucosa (Beshyah, Gelding et al. 1995). Los parámetros lipídicos presentan un perfil desfavorable, con aumento de colesterol total, colesterol LDL y apoproteína B (De Boer, Blok et al. 1994). El déficit de GH en el adulto se asocia a enfermedad cardiovascular con arterioesclerosis prematura (Markussis, Beshyah et al. 1992), aumento en el grosor de la capa íntima de las arterias carótidas y alteraciones estructurales a nivel cardíaco con reducción del grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo y del septo interventricular así como alteración de la función ventricular (Merola, Cittadini et al. 1993). Con frecuencia los adultos deficitarios de GH presentan síntomas inespecíficos con fatiga, falta de energía, aislamiento social y dificultad para la concentración (Cuneo, Salomon et al. 1992). Es frecuente la existencia de una disminución de su capacidad de esfuerzo al asociar debilidad muscular y fatiga así como una afectación global de su calidad de vida con disminución del bienestar psicológico, falta de concentración, pérdida de memoria, mayor labilidad emocional y deterioro de las relaciones físicas, sociales y sexuales en comparación con la población general (Rosén, Wirén et al. 1994). La mayoría de los estudios demuestran que el tratamiento con GH consigue revertir, al menos en parte, esta afectación de la calidad de vida (McGauley 1989, Burman, Broman et al. 1995).

1.2.7.3 Déficit de ACTH

Los síntomas y signos del déficit de ACTH pueden ser graves y amenazar la vida del paciente. En los casos de insuficiencia suprarrenal aguda, los pacientes pueden presentar náuseas, vómitos, dolor abdominal, cefalea, fatiga intensa, hipotensión ortostática, hipoglucemia, hiponatremia dilucional y shock. Por el contrario, cuando el déficit se establece de una manera más gradual, las manifestaciones clínicas son más insidiosas, incluyendo pérdida de peso, astenia, debilidad, fatiga, náuseas e hiponatremia. En los casos de insuficiencia adrenal secundaria a un déficit de ACTH es característica la falta de hiperpigmentación, típica del fallo adrenal primario, y la presencia de normopotasemia, ya que la regulación del eje renina – angiotensina- aldosterona es independiente de la ACTH (Arlt and Allolio 2003).

1.2.7.4 Déficit de TSH

Dada la larga vida media de la hormona tiroidea, sus síntomas no son evidentes hasta varias semanas después de establecido el déficit de TSH. La severidad del cuadro clínico es variable y suele cursar con astenia, debilidad, intolerancia al frío, ganancia ponderal no intencionada, estreñimiento, y sequedad cutánea. En los niños el hipotiroidismo central no diagnosticado puede asociarse con retraso de crecimiento, retraso mental y de la maduración ósea. En la exploración física podemos detectar bradicardia, hiporreflexia y edema palpebral, en los casos más evolucionados. Suele acompañarse de hiponatremia y anemia normocítica y normocrómica (Murase, Mukoyama et al. 1973, Finzi, Catamo et al. 1990).

1.2.7.5 Déficit de gonadotropinas (FSH/LH)

En la infancia y adolescencia el déficit de FSH/LH se caracteriza por ausencia de desarrollo puberal o por una alteración en la progresión normal del mismo. Entre los adultos, en la mujer premenopáusicas produce alteraciones menstruales (desde ciclos anovulatorios hasta oligomenorrea o amenorrea), sofocos e hipoestrogenismo. En los varones produce disminución de la libido e impotencia, disminución de la frecuencia de afeitado, disminución de vello corporal y ginecomastia. En ambos sexos, el déficit de FSH/LH condiciona una infertilidad (Ferretti, Persani et al. 1999, Westwood, Butler et al. 2000, Mehta, Hindmarsh et al. 2003).

1.2.7.6 Déficit de prolactina

Se caracteriza por imposibilidad para la lactancia (Drange, Fram et al. 2000, Webb 2008).

1.2.7.7 Déficit de hormona anti diurética (ADH) o diabetes insípida

La función principal de la ADH es la de mantener la osmolaridad plasmática, que se logra debido al equilibrio en la liberación de la hormona y la estimulación de la sed. La alteración en la liberación de ADH produce cambios en el balance de líquidos y la concentración de sodio. El déficit de ADH se caracteriza por sed y polidipsia, poliuria superior a 3 litros/día y nicturia. La orina es hipotónica y la osmolaridad de plasma y las cifras plasmáticas de sodio están aumentadas (Moore, Thompson et al. 2003).

1.2.7.8 Otras manifestaciones clínicas

En ocasiones, acompañando a los síntomas de hipopituitarismo, existen síntomas derivados de la causa subyacente. Este es el caso de los tumores hipofisarios que pueden presentarse con síntomas visuales como defectos campimétricos (por compresión quiasmática) o diplopía (por invasión del seno cavernoso y afectación de pares craneales) o bien con cefalea, rinoliquorrea y en casos más graves incluso crisis uncinadas por afectación del lóbulo temporal.

Además en el caso de tumores hipofisarios funcionantes, pueden coexistir síntomas derivados de la hiperfunción hormonal, variables según la hormona que sea producida en exceso (Schneider, Aimaretti et al. 2007).

1.2.8 ACROMEGALIA

La palabra acromegalia proviene del griego, formado por akros (extremo) y megalo (grande), se refiere al desarrollo exagerado de las extremidades, lo cual refleja uno de los síntomas más comunes de la enfermedad. La afección fue descrita por primera vez en 1885 por el biólogo francés Pierre Marie (1853-1940). El origen pituitario del síndrome fue confirmado por Cushing en 1909, quién postuló que éste síndrome era causado por la excesiva secreción de la hormona promotora del crecimiento debido a una hiperfuncionalidad de la glándula pituitaria (Cushing 1909).

La acromegalia es una enfermedad crónica debilitante causada por la activación anormalmente mantenida del eje hormonal del crecimiento GH-IGF-I (Craig, 1994). En la mayoría de los casos, este síndrome está causado por un adenoma hipofisario benigno secretor de GH que provoca una serie de signos y síntomas característicos de esta enfermedad como son el crecimiento de las partes acras, organomegalias, artropatía, etc. (Sanno, Teramoto et al. 2003). Con mucha menor frecuencia, la acromegalia está causada por la secreción ectópica de la GHRH desde un carcinoide u otro tipo de tumor neuroendocrino, produciendo una hiperplasia hipofisaria y una hipersecreción de GH. Excepcionalmente, la acromegalia tiene su origen en gangliocitomas hipotalámicos y/o hipofisarios productores de la GHRH, adenomas productores de GH originados en una glándula pituitaria ectópica o por tumores ectópicos productores de GH de origen no pituitario. Se ha publicado una causa infrecuente de acromegalia, un gangliocitoma intracraneal asociado a silla turca parcialmente vacía (Isidro, Diaz et al. 2005). Con tratamiento eficaz mejoran estas anomalías, sobre todo en tejidos blandos. En cambio otros rasgos son irreversibles, sobre todo en huesos y cartílagos (Melmed 1990).

Al diagnóstico, los pacientes suelen reconocer retrospectivamente una historia de 7-10 años de síntomas, que han pasado desapercibidos o que no se han relacionado con la acromegalia (cambios faciales, agrandamiento de manos y pies, cansancio fácil, engrosamiento cutáneo, así como problemas articulares y síntomas cardiovasculares), que tienen gran impacto sobre la calidad de vida relacionada con la salud (Rajasoorya, Holdaway et al. 1994). La enfermedad, puede afectar la apariencia física y la salud general de la persona que la padece, algunos de los síntomas que aparecen tempranamente pueden confundirse con envejecimiento o con síntomas de otras enfermedades, suele diagnosticarse entre los 40 y 60 años de edad, afectando más a los hombres que a las mujeres. Con frecuencia existe un período de tiempo considerable, de unos 6-8 años, entre la aparición de los síntomas y el diagnóstico, que muchas veces se realiza de forma casual, la tasa de mortalidad en los pacientes con acromegalia es aproximadamente 2-4 veces mayor que en el conjunto de la población, generalmente debido a enfermedad cardiovascular. La hipertensión arterial y la diabetes contribuyen al mayor riesgo vital del paciente (Chanson, Timsit et al. 1990, Giustina, Boni et al. 1995, Holdaway, Rajasoorya et al. 2004).

La GH en los individuos normales se secreta de forma pulsátil y los niveles basales se encuentran por debajo de 1ng/ml o de 0.2 ng/ml (según la técnica de valoración utilizada). La frecuencia de los pulsos secretores de la GH oscila entre 3 o 4 horas y se pueden alcanzar niveles de GH de 20 a 30 ng/ml. En el paciente acromegálico los valores basales y las

amplitudes de los pulsos secretores de la GH se encuentran elevados respecto a los valores normales. Por otro lado, el IGF-I se secreta de forma continua tanto en los individuos normales como en los acromegálicos, pero los niveles séricos del IGF-I se encuentran anormalmente elevados en el paciente acromegálico (Lugo, Pena et al. 2012). También la activación del sistema gonadal durante la pubertad está acompañada por el aumento de las concentraciones de GH y IGF-I (Giordano, Lanfranco et al. 2004, Veldhuis, Roemmich et al. 2006).

1.2.8.1 Síntomas

- Olor corporal
- Síndrome del túnel carpiano
- Disminución de la fuerza muscular (debilidad)
- Estatura excesiva (cuando la producción excesiva de hormona del crecimiento comienza en la niñez).
- Sudoración excesiva
- Dolor de cabeza
- Ronquera
- Dolor articular
- Huesos faciales grandes
- Pies grandes
- Manos grandes
- Glándulas en la piel grandes (glándulas sebáceas)
- Agrandamiento de la mandíbula (prognatismo) y de la lengua
- Movimiento articular limitado
- Apnea del sueño
- Inflamación de las áreas óseas alrededor de las articulaciones
- Engrosamiento de la piel, papilomas cutáneos
- Dientes muy espaciados
- Dedos de manos y pies ensanchados debido al crecimiento excesivo de la piel, con hinchazón, enrojecimiento y dolor
- Exceso de vello en las mujeres
- Aumento de peso

1.2.8.2 Pruebas y exámenes

- Nivel alto de GH.
- Nivel alto de IGF-1.
- Una radiografía de la columna vertebral muestra crecimiento óseo anormal.
- Una resonancia magnética de la hipófisis puede mostrar un tumor hipofisario.
- Una ecocardiografía puede mostrar agrandamiento del corazón, insuficiencia de la válvula mitral o de la válvula aórtica.
- Diabetes o intolerancia hidrogenocarbonada.

El diagnóstico de acromegalia, se debe hacer por la sospecha clínica de signos y síntomas además pueden aparecer diferentes anomalías en exámenes complementarios. El estudio de los niveles circulantes de GH e IGF-I se realiza como un procedimiento sistemático, es el método más directo para descubrir la acromegalia. La prueba clásica para su diagnóstico es la determinación de GH y glucemia tras la administración de glucosa, en presencia de acromegalia los niveles de GH no se suprimen adecuadamente (Kalavalapalli, Reid et al. 2007).

1.2.8.3 Tratamiento

La cirugía para extirpar el tumor hipofisario que causa esta enfermedad corrige la secreción anormal de la hormona del crecimiento en la mayoría de los pacientes. Algunas veces, el tumor es demasiado grande para extirparlo por completo. La irradiación de la hipófisis se emplea para las personas que no responden a la cirugía. Sin embargo, la reducción de los niveles de hormona del crecimiento después de la radiación es muy lenta (Melmed 2009).

Los siguientes medicamentos se pueden emplear para tratar la acromegalia:

- La octreotida (Sandostatin) o la bromocriptina (Parlodel) pueden controlar la secreción de la hormona del crecimiento en algunas personas.
- El pegvisomant (Somavert) bloquea directamente los efectos de la hormona del crecimiento y ha demostrado que mejora los síntomas de la acromegalia.

Estos medicamentos pueden emplearse antes o después de la cirugía o cuando ésta no sea posible.

1.3 INSULINA

1.3.1. SÍNTESIS INSULINA

La insulina es el principal regulador del metabolismo de la glucosa, fue aislada por primera vez en el tejido pancreático por Frederik Banting y Charles Best en 1921 (Banting, Best et al. 1922). El gen de la insulina (INS) que codifica la proinsulina se encuentra localizado en el cromosoma 11p15.5. En los mamíferos la síntesis, el almacenamiento y la secreción de la insulina está limitada a las células β del páncreas (Orci 1985).

La insulina humana es un monómero que consta de una cadena α con 21 aa y una cadena β con 30 aa y están unidas por dos puentes disulfuros en los residuos de cisteína en la posición Cys α 7-Cys β 7 y Cys α 20-Cys β 19, un puente disulfuro adicional intracatenario conecta la cisteína α 6 y α 11. La síntesis se inicia con un precursor proteico, la pre proinsulina, donde los primeros 24 aa forman un péptido señal que en el retículo endoplasmático (RE) es separado por una peptidasa y da lugar a la proinsulina intacta (Patzelt, Labrecque et al. 1978). La proinsulina sufre un plegamiento donde se alinean los puentes disulfuros entre las cadenas α y β de la insulina y son transportados al aparato de Golgi, pasos que requieren la utilización de adenosín trifosfato (ATP). La proinsulina es almacenada en gránulos de secreción inmaduros que están revestidos de una proteína denominada clatrina (Orci, Ravazzola et al. 1985). La maduración del gránulo comprende diferentes pasos que se desarrollan en paralelo y son la pérdida de la proteína clatrina, la acidificación progresiva y la conversión de la proinsulina en insulina y péptido C, que se almacenan en gránulos de secreción maduros hasta su liberación por exocitosis (Orci 1985, Bonner-Weir 1988) o la fusión de los gránulos con el lisosoma (Orci, Ravazzola et al. 1984).

1.3.2. ACCIONES DE LA INSULINA

La insulina directa o indirectamente afecta virtualmente a la función de todos los tejidos del cuerpo y sus efectos metabólicos están presente en los tres tejidos responsables del almacenamiento de la mayor parte de la energía como son el hígado, músculo y tejido adiposo. En el metabolismo de los hidratos de carbono, la insulina inhibe la glucogenolisis a través de la inhibición de la enzima responsable, la glucógeno fosforilasa. Estimula el transporte de glucosa que está mediado por el transportador GLUT-4 a nivel muscular y del tejido graso (Kahn 1996), incrementa la glucólisis en ambos tejidos por medio de dos enzimas claves de la vía glucolítica, la hexoquinasa y la 6-fosfofructoquinasa, estimula la síntesis de glucógeno en el hígado, músculo y tejido adiposo. Dicho estímulo se produce incrementando la enzima glucógeno sintasa y por medio de la inhibición de la enzima glucógeno fosforilasa (Mandarino, Printz et al. 1995).

A nivel del metabolismo de los lípidos la insulina aumenta el aclaramiento de triglicéridos de los quilomicrones de la circulación, por medio de la estimulación de la lipoproteína lipasa, que hidroliza los triglicéridos de las lipoproteínas circulantes en ácidos grasos que pueden ser oxidados o almacenados en el músculo y en el tejido adiposo. Dentro de las células grasas la insulina estimula la reesterificación de los ácidos grasos libres a triglicéridos y el metabolismo de la glucosa para formar glicerol-3-fosfato que es utilizado igualmente para la esterificación de ácidos grasos en triglicéridos. La insulina inhibe la lipólisis de los triglicéridos almacenados por inhibición de la lipasa sensible a hormonas, que es la enzima que cataliza el paso limitante

de la lipólisis (Strålfors, Björgell et al. 1984, Enoksson, Degerman et al. 1998). En conjunto el efecto de la insulina en el almacenamiento de los triglicéridos y la disminución de la lipólisis es disminuir el flujo de ácidos grasos libres. A nivel del metabolismo proteico la insulina facilita el transporte de aminoácidos hacia el hepatocito, músculo esquelético y fibroblastos, incrementa el número y la eficiencia de los ribosoma, disminuye la proteólisis al inhibir la gluconeogénesis y mantiene la disponibilidad de los aminoácidos como sustratos. Es decir la acción de la insulina es fundamentalmente anabólica y aumenta la síntesis proteica por mecanismos directos e indirectos (Bergman 2000).

La insulina además presenta propiedades vasodilatadoras que se ejercen a través de la activación de la producción de óxido nítrico por el endotelio (Steinberg, Brechtel et al. 1994). La acción de la insulina también es crítica para el crecimiento normal por sus efectos anabólicos en el metabolismo de las proteínas y lípidos así como por su interacción con otros factores del crecimiento (factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 y 2) y su receptor. Aunque también hay evidencias que la insulina puede contribuir al desarrollo de varios tipos de cáncer, como el de mama (Del Giudice, Fantus et al. 1998) y el colorectal (Kaaks, Toniolo et al. 2000, Jenab, Riboli et al. 2007).

1.3.3. EL RECEPTOR DE LA INSULINA

El receptor de la insulina (IR) es una glucoproteína que pertenece a la subfamilia de receptores tirosina cinasa, entre los cuales se encuentra el receptor de IGF-1 y un receptor huérfano relacionado con el receptor de la insulina (RRI). El gen que codifica para el receptor transmembrana se encuentra localizado en el cromosoma 19p13.2-13.3 (Ward, Garrett et al. 2001). El receptor de la insulina consta de dos subunidades extracelulares α y dos subunidades transmembranas β , que derivan de un precursor monocatenario o prereceptor, que genera un complejo único entre las subunidades α y β , además los dímeros α y β se unen por un puente disulfuro para formar un tetrámero (Hedo, Kahn et al. 1983, Lane, Ronnett et al. 1984). El receptor de la insulina se comporta como una enzima alostérica clásica, es decir que una subunidad fosforila a la otra produciendo cambios en la conformación que incrementan la actividad del dominio cinasa (Patti and Kahn 1998).

El gen humano del IR contiene 22 exones, pero por *splicing* alternativo del ARNm el exón 11 se traduce en la isoforma B (IRB) y aparece una forma sin el exón 11 (IRA). Las dos isoformas únicamente difieren en 12 aa, que se encuentran cerca del extremo C-terminal de la cadena α del IRB (Seino and Bell 1989). Aunque el IR presenta una estructura común en todos los vertebrados, el *splicing* alternativo del exón 11 es una característica única de mamíferos (Hernández-Sánchez, Mansilla et al. 2008).

En la literatura existe gran controversia sobre el papel de las diferentes isoformas del IR. Se sabe que la distribución de las isoformas varía según el tejido (McClain 1991), siendo el IRA más característico de desarrollo fetal y relacionado con el cáncer (Denley, Wallace et al. 2003) y también expresado en tejidos adultos. No hay consenso sobre la afinidad relativa de las isoformas del IR por la insulina, diferentes trabajos indican una mayor afinidad del IRA por la insulina (McClain 1991, Yamaguchi, Flier et al. 1993, Denley, Bonython et al. 2004), otros indican que es idéntica (Whittaker, Sørensen et al. 2002). Sin embargo no existen discrepancias sobre la mayor afinidad del IRA *versus* IRB por IGF-II, siendo mucho mayor que para IGF-I (Belfiore, Frasca et al. 2009).

1.3.4 SECRECIÓN

La función de la célula β puede valorarse por distintos métodos como la concentración de la insulina en circulación portal o general, en ayuno o tras la administración de secretagogos, la dinámica de la secreción de insulina a la circulación portal y general, y el estudio de los productos de la secreción de la célula β . La secreción de insulina varía en función de la sensibilidad a la misma, y la relación entre ambas, descrita por Bergman, es una hipérbola (el producto entre la secreción y sensibilidad a la insulina en individuos sanos es aproximadamente constante) (Bergman, Phillips et al. 1981, Bergman 1989).

La sensibilidad a la insulina puede definirse como la eficacia de la insulina para reducir la concentración de glucosa en la sangre, tanto por su acción periférica, estimulando la captación de la glucosa por los tejidos periféricos, fundamentalmente por el tejido muscular y adiposo, como por su acción hepática, incrementando el depósito de glucógeno e inhibiendo la producción hepática de glucosa (Trout, Homko et al. 2007).

La tolerancia a la glucosa podemos definirla como la expresión de la eficacia con que los mecanismos homeostáticos restauran la glucemia a los valores basales tras una perturbación. La respuesta homeostática incluye un incremento de los niveles de insulina en respuesta a una elevación de la glucemia. Clínicamente, la forma más habitual de estudiar la tolerancia a la glucosa es la prueba de sobrecarga oral de glucosa (SOG), y si realizamos una determinación de la insulina, es de suponer que tendremos una estimación de la sensibilidad a la insulina (Radziuk 2000). Debido a la acción compensadora, en sujetos con resistencia a la insulina es frecuente encontrar valores elevados de insulina con glucemias similares a las de sujetos sin resistencia a la insulina, por lo que los valores elevados de insulina se han asociado con la resistencia a ésta, aunque en realidad podrían reflejar más bien la capacidad secretora de las células beta, que se sabe que puede variar, y cuando descienden se producen elevaciones de la glucemia. Los valores de glucosa e insulina, que reflejan la secreción y la acción de la insulina, no presentan por tanto una relación lineal, por lo que es necesario elaborar unos índices que lo traduzcan en una medida de la acción de la insulina (Soonthornpun, Setasuban et al. 2003).

Tras la ingestión de glucosa o de alimento, el incremento de la glucemia no depende únicamente de la glucosa ingerida: las hormonas gastrointestinales, los estímulos neurales, la velocidad de vaciamiento gástrico y la composición de la ingesta, entre otros factores, influyen en la glucemia y hacen que no sea un patrón dependiente de forma exclusiva de la glucosa ingerida. Los modelos teóricos en que se basan los índices deben intentar aislar la relación glucosa-insulina de los otros factores (Radziuk 2000).

En ayunas, la producción endógena de glucosa es esencialmente hepática (más del 75%), y la captación de glucosa se produce sobre todo en los tejidos independientes de la insulina; por este motivo, la estimación de la sensibilidad a la insulina en el estado estacionario de ayunas ofrecerá una estimación de la sensibilidad insulínica fundamentalmente hepática, y no periférica (Matsuda and DeFronzo 1999).

1.3.5. RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina se define como la disminución de la capacidad de la insulina para promover la utilización adecuada de la glucosa periférica y la supresión de la producción hepática de glucosa. La etiopatogenia de la resistencia a la insulina con frecuencia es

multifactorial, coexistiendo una predisposición genética con la interacción de algún factor ambiental. Las personas con un mismo IMC pueden presentar diferentes expresiones fenotípicas y metabólicas de resistencia a la insulina, aunque es mucho más frecuente en las personas obesas o con sobrepeso (Ten and Maclaren 2004).

La resistencia a la insulina se expresa por una disminución del transporte de glucosa y de su metabolismo en músculo, tejido adiposo e hígado como órganos principales. El tejido adiposo además de ser un órgano de reserva energética, en forma de triglicéridos (TG) durante la alimentación y liberador de ácidos grasos (AG) durante el ayuno, tiene funciones fisiológicas importantes, secretando numerosas proteínas que participan en la regulación autocrina y paracrina dentro del propio tejido y además tienen efectos en la función de órganos distantes. Estas proteínas, denominadas adipoquinas se hallan implicadas en la regulación del peso corporal, función del sistema inmune, función vascular, función reproductiva y desarrollo de la resistencia a la insulina (Ahima 2006).

En respuesta a un exceso de nutrientes, el adipocito responde de forma rápida y dinámica mediante hipertrofia e hiperplasia. La clave de la insulinoresistencia se encuentra en la función, como órgano secretor, del tejido adiposo agrandado e inflamado. Tanto los adipocitos como las células inmunitarias que infiltran el tejido adiposo modifican el perfil de expresión de citoquinas lo que condicionan insulinoresistencia, aterogénesis e inflamación. De las células que infiltran el tejido adiposo, los macrófagos son de especial importancia por su capacidad de secretar una gran variedad de moléculas pro-inflamatorias que dan lugar a la resistencia insulínica e inducen la lipólisis (Figura 1.8). A más cantidad de tejido adiposo, mayor es el porcentaje de macrófagos que lo infiltran (Weisberg, McCann et al. 2003, Xu, Barnes et al. 2003).

Existen numerosas citoquinas y proteínas del sistema inmune innato afectadas. Entre las adipoquinas más estudiadas se encuentran la adiponectina, el factor de necrosis tumoral (TNF α) y la interleuquina 6 (IL-6).

- **Adiponectina:** Es secretada por los adipocitos y tiene acciones antiaterogénicas, inhibe la expresión de citoquinas inflamatorias y moléculas de adhesión, inhibe la absorción de colesterol, interviene en la vasodilatación dependiente del endotelio, estimula la producción de NO en las células endoteliales, aumenta la sensibilidad a la insulina e inhibe la liberación y activación de los linfocitos T (Matsuzawa, Funahashi et al. 2004, Liu and Liu 2010).
- **Factor de necrosis tumoral (TNF- α):** Es una de las moléculas pro-inflamatorias más potentes. Se sintetiza en macrófagos y en adipocitos. Su aumento estimula la secreción de citoquinas pro-inflamatorias e inhibe la secreción de citoquinas antiinflamatorias (adiponectina) (Wang and Trayhurn 2006). Induce la lipólisis y promueve la resistencia a la insulina en diferentes tejidos. Inhibe la autofosforilación de los residuos de tirosina de la subunidad beta del receptor de la insulina (Hotamisligil, Peraldi et al. 1996, Uysal, Wiesbrock et al. 1997).
- **IL-6:** Es un importante mediador de respuesta inflamatoria. La fuente principal de IL-6 circulante son los macrófagos que infiltran el tejido adiposo. Es el principal estímulo para la síntesis de reactantes de fase aguda en personas obesas sanas (Maachi, Pieroni et al. 2004). Concentraciones elevadas de IL-6 se relacionan con la resistencia a la insulina (Fernandez-Real, Vayreda et al. 2001, Shoelson, Lee et al. 2006).

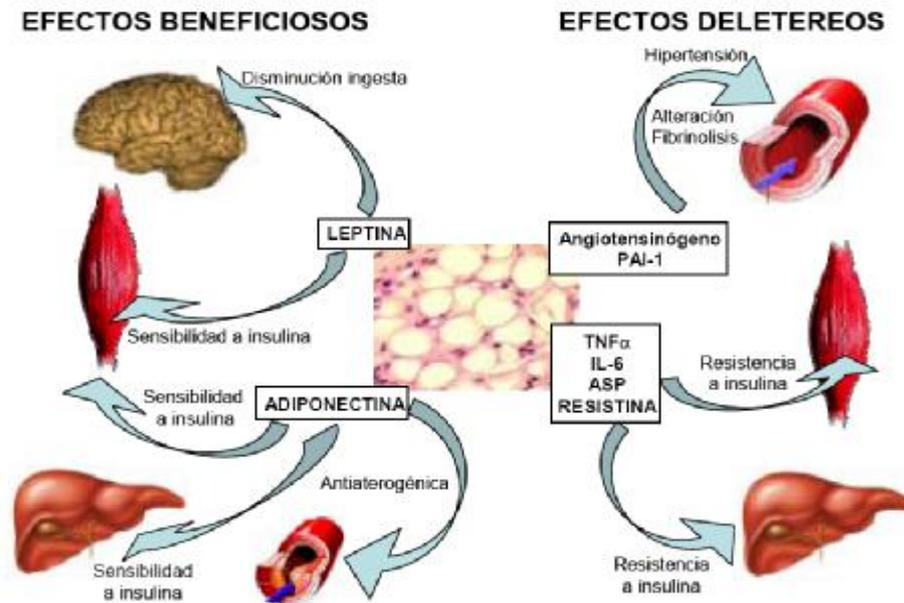


Figura 1.8. Efectos beneficiosos y deletéreos en la secreción de adipocinas.

A nivel hepático, la principal función de la insulina es suprimir la producción de glucosa hepática, inhibiendo la gluconeogénesis y la degradación del glucógeno. La insulinoresistencia se manifiesta con un aumento de la producción hepática de glucosa al no bloquear la insulina la gluconeogénesis durante los períodos postabsortivos (Gerich 1993).

En el músculo esquelético la insulina estimula la captación de glucosa, que se dirige a la síntesis de glucógeno y de aminoácidos para la síntesis proteica. Es la responsable de aproximadamente el 70-80% de la utilización de glucosa tras la ingestión de carbohidratos o la infusión directa de azúcar (Karlsson and Zierath 2007). En sujetos que desarrollan resistencia a la insulina se observa ya en los primeros estadios, una reducción en el músculo esquelético del transportador de la glucosa sensible a insulina, y en la captación de glucosa, y, seguidamente, una disminución del metabolismo no oxidativo de la glucosa y de la síntesis de glucógeno. Estos fenómenos condicionan un estado severo de hiperglucemia (Lizcano and Alessi 2002).

La falta de la acción periférica de la insulina conduce a un aumento de la lipólisis y una disminución del aclaramiento de los AG libres. Los lípidos empiezan a acumularse en otros tejidos y aumentan la concentración de AG circulantes (Savage, Petersen et al. 2007). Los AG libres secretados por el tejido adiposo interfieren con los procesos de captación, transporte y utilización de glucosa inducidos por la insulina en el músculo esquelético y cardíaco (Roden 2004, Williams, Baylin et al. 2007) así como en el hígado (Nakamura, Takamura et al. 2009) y en la célula β pancreática (Salgin, Ong et al. 2012).

Himsworth, en 1936, introdujo el concepto de "resistencia a la insulina" (RI) al encontrar cierta variabilidad individual en el efecto hipoglucemiante de una dosis determinada de insulina (Himsworth 1936). Gerarld Reaven en 1988, ante la coexistencia en un mismo individuo de diferentes factores de riesgo cardiovascular (como la obesidad, diabetes, hipertensión y dislipemia), describió una entidad que denominó "síndrome X" o "síndrome de

resistencia a la insulina” al considerar que la RI era la base fisiopatológica común entre todos estos factores (Reaven 1988). En la actualidad, la nomenclatura más extendida a esta asociación de factores de riesgo cardiovascular es la de “síndrome metabólico ECV” (SM) (Després, Cartier et al. 2008).

El mantenimiento de la homeostasis de la glucosa depende de una adecuada función secretora de la insulina y de una capacidad efectora normal de ésta en los tejidos periféricos. La progresión que se puede objetivar desde un metabolismo normal de los hidratos de carbono a prediabetes y, posteriormente, al desarrollo de DM se asocia a la RI y a la hiperinsulinemia compensatoria (Warram, Martin et al. 1990).

La RI se caracteriza por un déficit de acción de la insulina en los tejidos periféricos generalmente en presencia de concentraciones sanguíneas elevadas (hiperinsulinemia). Las alteraciones fundamentales que caracterizan a la RI se encuentran a nivel del postreceptor. Las consecuencias fisiológicas que ocurren durante el ayuno es que “el déficit funcional” de insulina estimula la síntesis hepática de glucosa, que es la principal causante de la hiperglucemia en ayunas. Esta hiperglucemia es, a su vez, un potente estímulo para las células β pancreáticas, por lo que se segrega una mayor cantidad de insulina. El resultado de toda esta situación es un estado de hiperglucemia e hiperinsulinemia. En las fases postabsortivas, la carga exógena de glucosa no es captada correctamente por los tejidos insulino dependientes (músculo y tejido adiposo, sobre todo) y el principal mecanismo de la hiperglucemia es postprandial. Esta alteración supone, a su vez, un estímulo para la liberación y la síntesis hepática de glucosa a partir de la glucogenolisis y la neoglucogénesis, así como para la secreción pancreática de insulina. Este hiperinsulinismo tiene un efecto tóxico *per se* que induce hipertensión, liberación de ácidos grasos libres (AGL) y lesión endotelial, todos ellos factores predisponentes de la aterosclerosis. *Facchini et al* mostraron que era un indicador independiente de un gran número de enfermedades, entre ellas la DM2 y las enfermedades cardiovasculares (ECV) (Facchini, Hua et al. 2001), además de poder contribuir también al desarrollo de otras enfermedades como el síndrome de ovario poliquístico, hígado graso no alcohólico, apnea obstructiva del sueño (Reaven 2004).

Resistencia a la insulina en los ciclos vitales

Infancia y adolescencia

Los niños con bajo peso al nacer tienen mayor riesgo de padecer DM2 y otros síndromes asociados a RI y, como consecuencia, mayor riesgo cardiovascular (Moran, Jacobs et al. 1999). En la pubertad se produce un estado fisiológico de RI, manifestándose en las niñas en el estadio II de Tanner y en los niños en el estadio III (Barker, Hales et al. 1993, Potau, Ibanez et al. 1997).

Envejecimiento

El envejecimiento junto a la obesidad puede contribuir a un 35% ó más de la RI. Con el aumento de la edad, se produce una disminución de la masa magra y un incremento de la masa grasa, disminuyendo la sensibilidad a la insulina de forma fisiológica (Ferrannini, Vichi et al. 1996).

Embarazo

Se distinguen dos fases durante el embarazo:

En las primeras 20 semanas de gestación, se produce un estado de anabolismo materno, hay una actividad aumentada de la célula β por el estímulo de estrógenos y progesterona, con

hipersecreción insulínica; también aumentan los depósitos de glucógeno hepático y disminuye la liberación hepática de glucosa y, por último, aumentan los depósitos maternos de triglicéridos con disminución de la lipólisis (Serrano Ríos 2002) .

En la segunda mitad de la gestación, se produce una fase de catabolismo lipídico, con incremento de la lipólisis y la hipertrigliceridemia alcanza valores máximos al final de la gestación, porque se utilizan como sustrato por la glándula mamaria (lactogénesis). El aumento de lactógeno placentario desempeña un importante papel en la aparición de la RI, a lo que contribuyen otras hormonas con acción antagonista de la insulina, como el cortisol, la prolactina y la progesterona maternas. Durante la gestación normal, la presencia de RI en la madre es fisiológica y representa un mecanismo adaptativo para asegurar el aporte de glucosa y de otros nutrientes al feto, que los necesita para su crecimiento intrauterino (Serrano Ríos 2002).

1.3.6. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA

Existen diversos métodos para evaluar la sensibilidad periférica a la insulina y estos se dividen en métodos directos o indirectos.

A) Métodos directos:

La técnica del pinzamiento (clamp en terminología anglosajona) euglucémico hiperinsulinémico (CEH) se considera el "patrón" de los métodos que cuantifican la sensibilidad a la insulina in vivo. Esta técnica se basa en la administración por vía intravenosa, de una cantidad constante de insulina (previamente definida) y una cantidad variable de glucosa, con el objetivo de mantener la glucemia del individuo en una cifra prefijada de antemano (euglucemia "pinzada"). La cantidad de glucosa administrada se estima mediante un algoritmo matemático, que tiene en cuenta las concentraciones glucémicas precedentes. La medida básica del CEH es el denominado valor M, que es el promedio de glucosa infundida al sujeto en los últimos 20 minutos de la prueba, una vez alcanzado el estado estacionario. El valor M representa la sensibilidad a la insulina (DeFronzo, Tobin et al. 1979).

Otros métodos directos son la prueba de supresión pancreática que es un procedimiento diseñado para cuantificar la sensibilidad a la insulina que consiste en suprimir la secreción de ésta mediante la administración de fármacos y el modelo mínimo del metabolismo de la glucosa (MMg) que se basa en la ruptura del circuito de retroalimentación (*feed-back*) glucemia/insulinemia, ruptura que no es experimental, sino matemática (Ferrannini and Mari 1998). Este método ideado para permitir la medición de la resistencia a la insulina en la práctica clínica es el modelo mínimo de Bergman donde se realiza un test de tolerancia a la glucosa intravenosa (IVGTT) con múltiples extracciones para determinar la glucosa y la insulina. Posteriormente, por medio de un modelo matemático se puede calcular el índice de sensibilidad a la insulina y los índices de secreción de insulina en las fases temprana y tardía. Igualmente presenta inconvenientes porque necesita de un personal entrenado para su realización, deben tomarse con frecuencia las muestras de sangre (22 veces en el protocolo original) durante períodos de tiempo relativamente largos (4h) y la simplificación del modelo puede introducir sesgos (Ferrannini and Mari 1998).

B) Métodos indirectos:

En la última década se han propuesto varios índices para determinar la sensibilidad de la insulina a partir de un test de tolerancia oral a la glucosa (TTOG) (Cederholm and Wibell 1990, Matsuda and DeFronzo 1999, Mari, Pacini et al. 2001). Su realización es más fácil, aunque son menos sensibles. Se correlacionan con los índices de sensibilidad a la insulina obtenidos en los estudios de clamp de glucosa y el análisis del modelo mínimo (Gutt, Davis et al. 2000).

Ante los inconvenientes de las diferentes pruebas se ha intentado simplificar los análisis bioquímicos y el punto de corte a partir del cual ante la presencia de una hiperinsulinemia, se pueda considerar resistencia a la insulina. Se ha propuesto un valor de insulina en ayunas por encima de 15 $\mu\text{U/ml}$ o un pico de secreción de insulina $> 150 \mu\text{U/ml}$ después de un TTOG y/o de 75 $\mu\text{U/ml}$ a los 120 minutos de un TTOG para considerar la presencia de resistencia a la insulina en la población adulta (Reaven, Chen et al. 1993).

Homeostasis model assessment (HOMA)(Matthews, Hosker et al. 1985).

Entre los distintos métodos indirectos que existen para la estimación de la RI, el homeostasis model assessment (Índice HOMA) es el modelo matemático más ampliamente utilizado. Fue descrito por primera vez en 1985 por *Matthews et al* (Matthews, Hosker et al. 1985) y diseñado por su grupo de trabajo en el Oxford Diabetes Laboratory (HOMA 1). El HOMA tiene una ventaja adicional, ya que, además de estimar la RI (HOMA-IR), permite valorar la funcionalidad de la célula beta (HOMA- β). Está basado en modelos matemáticos denominados "estructurales". El HOMA proporciona una medida semicuantitativa de la sensibilidad a la insulina (y de la función de la célula beta), de manera que un sujeto, delgado y sano tendrá, de promedio, una sensibilidad a la insulina igual a uno y una función de la célula beta del 100% (Matthews, Hosker et al. 1985).

Los resultados proporcionan nomogramas en los que a cada par de valores de glucemia e insulinemia le corresponden otros dos de sensibilidad a la insulina y de funcionamiento de la célula beta. En el HOMA, los valores de glucemia e insulinemia se obtienen después de una noche de ayuno (tres determinaciones consecutivas a intervalos de 5 minutos). Los resultados obtenidos por diversos autores, en comparación con los del CEH, han sido buenos ($r = 0,88$) (Bonora, Moghetti et al. 1989). El HOMA-IR presentaba buena correlación con el clamp euglicémico hiperinsulinémico y con el IVGTT (Bonora, Targher et al. 2000, Lansang, Williams et al. 2001).

Matthews y col. utilizando una población adulta originalmente establecieron un valor de HOMA-IR > 2 a partir del cual se considero que existía resistencia a la insulina. Aunque aún no existe un consenso sobre el punto de corte a partir del cual se considera la presencia de resistencia a la insulina (Matthews, Hosker et al. 1985).

La fórmula matemática para el cálculo del índice es:

$$\text{HOMA-IR} = \text{Glucemia en ayunas (mmol/l)} \times \text{Insulina en ayunas (\mu\text{UI/ml})} / 22,5$$

$$\text{HOMA-}\beta\% = 20 \times \text{insulina en ayunas (\mu\text{UI/ml})} / \text{glucemia en ayunas (mmol/l)} - 3,5$$

En un individuo que estuviese completamente sano, con un IMC normal y sin antecedentes familiares de DM2, se presupone que el Índice HOMA- β se sitúa alrededor del 100 % y el HOMA-IR estaría muy cercano a 1. Valores por encima de 1 representarían un nivel creciente de RI. Sin embargo, cada estudio debe establecer su propio valor de normalidad para el

HOMA-IR en una población de sujetos normoglucémicos, evitando posibles errores cuando se comparan estudios procedentes de diferentes áreas. Este hecho supone una limitación muy importante, y es que, además, aún no se ha establecido un punto de corte común a partir del cual se pueda considerar que un individuo es o no resistente a la insulina. En estos momentos no hay ninguna metodología de laboratorio estandarizada para la medición de las concentraciones de insulina plasmática, es por eso que existe una variabilidad tan grande. Además, es preciso considerar que la RI es una variable continua, por lo que hay que añadir las posibles diferencias que puedan existir entre las poblaciones de estudio, lo que impide comparar, directamente, los valores obtenidos para el índice HOMA entre diferentes estudios poblacionales, hecho, quizás, que ha frenado la investigación (Wallace, Levy et al. 2004).

En la mayoría de los estudios poblacionales se utiliza para la determinación de ser o no resistente a la insulina la definición propuesta por la OMS: cifra de HOMA que supera el cuartil superior del total de los pacientes no diabéticos ni intolerantes a la glucosa (HOMA = 2,9) (Alberti and Zimmet 1998, Consultation 1999, Jones, Abbasi et al. 2000). Ascaso *et al.* utilizaron el HOMA en una población sana muy bien seleccionada y aportaron como valores de referencia de anormalidad en la sensibilidad a la insulina y en la secreción basal de insulina: RI $\geq 3,2$ (percentil 75) o $\geq 3,8$ (percentil 90) e insulinemia en ayunas (promedio de tres determinaciones) $\geq 16,7$ mU/l, valores que podrían ser considerados de referencia para nuestro país (Ascaso 2001). Sin embargo, un estudio publicado por Rojo-Martínez *et al.* proponen como valor medio del HOMA-IR en el sur de España el de $1,7 \pm 1,5$, valores que se incrementan al alterarse la tolerancia a la glucosa (Rojo-Martínez, Esteve et al. 2004). Los valores anteriores presentan un rango similar a los publicados por Haffner *et al.* (3,3 – 4,0) (Haffner, Gonzalez et al. 1996). Otros grupos, han encontrados valores normales de HOMA entre 1,7 y 2,5 (Tripathy, Carlsson et al. 2000).

Recientemente, los mismo autores que propusieron el uso del modelo HOMA como estimación de la RI y la funcionalidad de la célula β , han corregido dichos modelos matemáticos, ya que los creadores del HOMA son conscientes de que las ecuaciones originales del HOMA-IR y HOMA- β pueden sistemáticamente infravalorar la sensibilidad a la insulina y sobreestimar la función de la célula beta. Una de las causas principales por las que se produce este error es que el modelo HOMA fue calibrado con los métodos de análisis de insulina utilizados en 1970, métodos que han cambiado considerablemente en las últimas décadas (Wallace, Levy et al. 2004).

Los nuevos modelos que proponen se alejan de la relación lineal entre glucosa e insulina y ofrecen modelos más complejos elaborados con un programa informático (Wallace, Levy et al. 2004). En estos modelos se han introducido una serie de modificaciones en las suposiciones tenidas en cuenta a la hora de calcular el modelo, como por ejemplo, el incremento de la resistencia hepática, el incremento de la curva de secreción de insulina para concentraciones de glucosa por encima de 180 mg/dl, la contribución de la proinsulina circulante y las pérdidas renales de glucemia. Se daría un valor de sensibilidad a la insulina, en vez de RI (HOMA2-%S, donde el 100 % es el valor normal), y una valoración de la función de la célula beta (% β). Estos cambios introducidos hacen que este nuevo modelo pueda usarse para determinar la sensibilidad a la insulina y la función de las células beta en un rango de 1-300 μ UI/ml para la insulinemia y de 20-450 mg/dl para la glucemia, ajustando así el modelo para su utilización en situaciones de hiperinsulinemia y/o hiperglucemia bastante elevadas (Wallace, Levy et al. 2004). Como es natural, una de las principales comparaciones es la realizada frente al CEH. Los resultados de las comparaciones entre el HOMA-IR y el clamp son discordantes (Bonora, Targher et al. 2000, Ferrannini and Balkau 2002) aunque, en líneas generales, son buenos ($r = 0,88$, $p < 0,0001$; $r = 0,85$, $p < 0,0001$, y $r = 0,73$, $p < 0,0001$ para individuos sanos, con intolerancia a la glucosa y diabéticos, respectivamente) (Bonora, Targher et al. 2000). La

simplicidad y la amplia aplicabilidad del HOMA (es una técnica mucho más sencilla y menos costosa), son los grandes méritos de este índice, por lo que puede ser ampliamente utilizada en los estudios epidemiológicos y clínicos.

Índice de Matsuda, índice compuesto o ISI composite

Matsuda y DeFronzo, en 1999, propusieron un índice con similitudes al basado en el modelo HOMA. La sensibilidad a la insulina durante la sobrecarga oral de glucosa reflejaría aproximadamente y de forma equitativa la supresión de la producción hepática de glucosa y la captación de glucosa por los tejidos periféricos, de modo que cuanto mayor fuera la resistencia a la insulina del hígado y los tejidos periféricos, mayor sería el incremento de glucosa, y la sensibilidad global a la insulina sería inversamente proporcional al producto de las medias de glucosa e insulina en la sobrecarga de glucosa. Así, de una medición de sensibilidad basal como en el modelo HOMA, que sería una el producto de glucemia e insulina basales divididas por una constante, pasaríamos a una fórmula, que incluye no sólo los valores basales, sino también los estimulados. El valor 10.000 representa una constante que permite obtener resultados del índice entre 0 y 12, y la raíz cuadrada corrige la distribución no lineal de los valores, que se produce por la multiplicación de glucosa e insulina basales por los valores medios en la sobrecarga de glucosa. G_0 e I_0 son la glucemia y la insulinemia en ayunas. Los valores de glucemia se expresan en mg/dl y los de insulina en μ U/ml (Matsuda and DeFronzo 1999).

$$ISI_{comp} = 10.000 / \sqrt{(G_0 \times I_0) \times (\text{concentración media de glucosa en la SOG} \times \text{concentración media de insulina en la SOG})}$$

La correlación observada entre este índice y el *clamp* era de 0,73 ($p < 0,0001$), y también era buena en los subgrupos constituidos por los sujetos con tolerancia normal a la glucosa ($r = 0,73$; $p < 0,0001$), con tolerancia alterada ($r = 0,66$; $p < 0,0001$) y con diabetes ($r = 0,54$; $p < 0,0001$).

Estudio de tolerancia oral a la glucosa (TTOG), como el desarrollado por Matsuda *et al.* (Matsuda and DeFronzo 1999)

Este método permite la cuantificación de la sensibilidad a la insulina a partir de un test de tolerancia oral a la glucosa. Consiste en la administración de 75 gramos de glucosa vía oral disueltos en 375 ml de agua. Se realizan determinaciones de glucemia en ayunas y a los 120 minutos para el diagnóstico de intolerancia a la glucosa o DM2; y, posteriormente, extracciones sanguíneas para la determinación de insulinemias a los 30, 60 y 120 minutos para el diagnóstico de RI (Borrás 2008).

Se determinará que un sujeto es resistente a la insulina cuando la insulinemia es $\geq 100 \mu$ U/ml a los 60 minutos y $\geq 62 \mu$ U/ml a los 120 minutos. Esta técnica presenta varios inconvenientes. La restricción dietética que debe tener el sujeto tres días antes de la prueba, evitar situaciones de estrés y la prohibición de la ingesta de fármacos hipoglucemiantes que puedan interferir en la prueba. Su limitación más importante reside en que es un método que aún no está adecuadamente validado, en la medida en que los resultados no se han comparado con CEH (Matsuda and DeFronzo 1999).

Método Stumvoll *et al.* (Stumvoll, Mitrakou *et al.* 2000) permite cuantificar no sólo la sensibilidad a la insulina, sino también el MCR (metabolic clearance rate – tasa de aclaración metabólica) y la secreción de la célula β durante la primera y segunda fase.

Stumvoll *et al.* propusieron una serie de índices (un total de 10), calculados a partir de la glucosa y la insulina plasmáticas. Las fórmulas fueron obtenidas a partir de una regresión lineal múltiple en la que la variable dependiente era la sensibilidad medida con el *clamp* euglicémico hiperinsulinémico, y se incluían también la edad y variables antropométricas. Los mejores ajustes los obtuvieron los índices que se muestran en las fórmulas [1] ($r = 0,79$; $p < 0,001$) y [2] ($r = 0,62$; $p < 0,001$). Las glucemias en este índice se expresan en mmol/l y las insulinemias en pmol/l (el factor de conversión es $\mu\text{U/ml} \times 6 = \text{pmol/l}$) (Stumvoll, Mitrakou *et al.* 2000).

$$\text{ISStumvoll} = 0,222 - 0,00333 \times \text{IMC} - 0,0000779 \times I_{120} - 0,000422 \times \text{Edad} [1]$$

$$\text{ISStumvoll} = 0,156 - 0,0000459 \times I_{120} - 0,000422 - 0,000321 \times I_0 - 0,00541 \times G_{120} [2]$$

Método OGIS (oral glucose insulin sensitivity).

En 2001, Mari *et al.* desarrollaron un índice de sensibilidad insulínica calculado a partir de la SOG, el OGIS, que se basa en una ecuación que predice el aclaramiento de glucosa durante el *clamp* euglicémico-hiperinsulinémico utilizando los valores de la concentración de insulina y glucosa a partir de la SOG. La ecuación deriva de un modelo de relación glucosa-insulina que se sustenta en principios establecidos de la cinética de la glucosa y de la acción de la insulina. El OGIS necesita la concentración de glucosa y de insulina obtenida a partir de la curva de tolerancia oral a la glucosa (SOG) con 75 g de glucosa a los 0, 120 y 180 minutos (SOG de 3 h) o a los 0, 90 y 120 minutos (SOG de 2 h). Mari *et al.* demostraron que, aunque la correlación del OGIS₁₂₀ era ligeramente inferior a la del OGIS₁₈₀, ambos estaban estrechamente relacionados y la diferencia entre ellos no tenía significación estadística (Mari, Pacini *et al.* 2001).

$$\text{OGIS} = 1/2(B + \sqrt{B^2 + 4p_5p_6 (G_{90} - G_{\text{clamp}})}) \text{Cl}_{\text{SOG}}$$

B y Cl_{SOG} (aclaramiento de la glucosa en la sobrecarga de glucosa) se obtienen a partir de las expresiones que incluyen los coeficientes p_1 a p_6 . Estos coeficientes son constantes que dependen de los tiempos de la sobrecarga de glucosa y de las unidades de medida de la glucemia.

El índice QUICKI (Katz, Nambi *et al.* 2000), que es sencillo y para cuyo cálculo sólo son necesarias la insulinemia basal ($\mu\text{U/ml}$) y la glucemia basal (mg/dl) aplicando la fórmula siguiente:

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log_{10} (\text{insulinemia basal en } \mu\text{UI/ml})] + [\log_{10} (\text{glucemia basal en mg/dl})]$$

Este índice valora la sensibilidad a la insulina más que la resistencia. Se obtiene una mejor correlación con la sensibilidad a la insulina obtenida mediante pinzamiento con este modelo ($r = 0,78$) que con el índice HOMA ($r = 0,60$) y la correlación entre ambos modelos es de 0,77. Otros autores confirman estos hallazgos en la diabetes gestacional y en embarazadas normales (Kirwan, Huston-Presley *et al.* 2001). Es idéntico al índice HOMA con la excepción que utiliza una transformación logarítmica en los niveles de insulinemia y glucemia. Se considerará que el sujeto es resistente a la insulina cuando el índice es $\geq 0,33$ (percentil 25) (Hrebicek, Janout *et al.* 2002). El índice de QUICKI-IS originalmente fue descrito en la población adulta y la media en la

población no obesa fue de $0,382 \pm 0,007$, en cambio en los obesos fue de $0,33 \pm 0,01$ y en los diabéticos fue de $0,304 \pm 0,007$.

Insulinemia en ayunas

Varios autores han publicado, tras múltiples estudios epidemiológicos, la importante correlación de la insulinemia en ayunas con el resto de métodos descritos previamente, aceptando su uso en el diagnóstico de la RI (Ascaso 2001, Kim, Abbasi et al. 2004, Kim and Reaven 2008). Ascaso *et al.* (Ascaso 2001) definen la insulinorresistencia como una insulinemia basal > 16 mU/l (percentil 90), (correspondiendo a 12 mU/l en el percentil 75); valores que coinciden con los publicados en el Estudio Prospectivo de París (Eschwege, Richard et al. 1984) y el grupo de trabajo de Reaven (Kim and Reaven 2008).

1.4 HORMONAS GASTROINTESTINALES

1.4.1 GHRELINA

1.4.1.1 Estructura y síntesis

La ghrelina es un péptido de 28 aa que puede estar acilado con un grupo n-octanoilo adherido a la serina (Ser) situada en la tercera posición de su cadena aminoacídica (figura 1.9). La ghrelina es producida fundamentalmente en el estómago, órgano a partir del cual fue aislada por primera vez por Kojima y su grupo, y presente también en el hipotálamo, fue descubierta por su capacidad para estimular la liberación de GH a través del receptor para los secretagogos sintéticos de GH (GHS-R). El péptido purificado fue denominado ghrelina "ghre", la raíz protoindoeuropea de la palabra "growth" (crecimiento) (Kojima, Hosoda et al. 1999).

Su función como secretagogo de GH suponía la existencia de un nuevo péptido implicado en la regulación de esta hormona, modificando lo conocido hasta el momento. Además de GHRH (estimulador) y SST (inhibidor) existía un tercer péptido que, liberado mayoritariamente desde el estómago, podía regular la secreción de GH. Esto, junto con el descubrimiento de su potente efecto orexigénico (Arvat, Di Vito et al. 2000) y que inducía adiposidad en roedores, despertó un gran interés en este péptido: saber cómo se regulaba su síntesis, como era el proceso de acilación en el residuo 3, cómo mediaba sus funciones, si intervenía en más procesos fisiológicos y también su potencial uso como diana terapéutica (Tschöp, Smiley et al. 2000).

De forma similar a la SST, e inmediatamente tras su descubrimiento, se demostró que la ghrelina estaba presente en multitud de órganos y tejidos, y ejercía diferentes acciones en condiciones normales y patológicas, desde la motilidad intestinal, a la función pancreática, y de manera muy importante, en la regulación de la homeostasis metabólica, el apetito y la ingesta (Kojima, Hosoda et al. 1999).

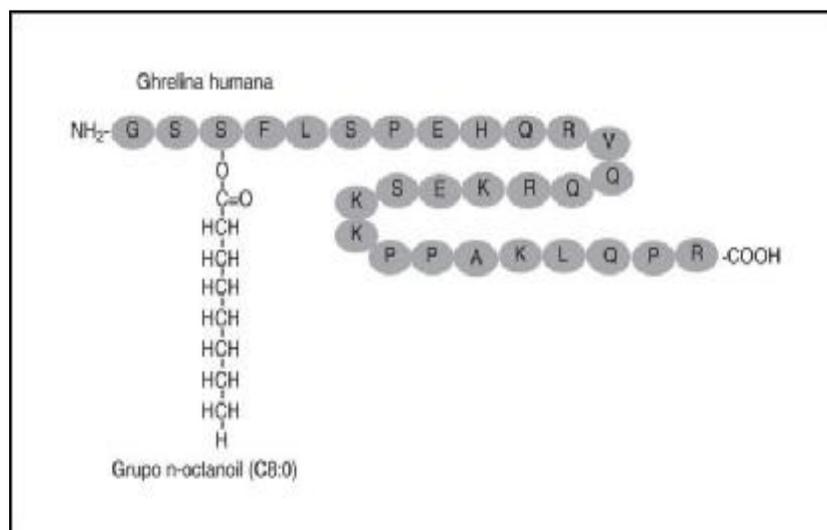


Figura 1.9. Representación de la secuencia aminoacídica de la ghrelina acilada.

La modificación post-translacional ocurre a nivel de la proghrelina, proceso tras el cual actúa la convertasa prohormona 1/3 (PC1/3) que genera la proteína madura (Zhu, Cao et al. 2006). Esto convierte a la ghrelina en la primera hormona conocida hasta el momento con dichas características, y cuya forma acilada (GA) es esencial para su unión al receptor de los secretagogos de la GH (GHS-R) y para desempeñar sus acciones biológicas (Kojima, Hosoda et al. 1999).

Sin embargo, la ghrelina también puede presentarse como una hormona no acilada, denominada ghrelina desacilada (UAG). Esta isoforma sin modificación en la secuencia no es carente de actividad biológica, puesto que desde su descubrimiento se ha comprobado que puede ejercer actividades similares o distintas a la GA, pese a no unirse al mismo receptor (GHS-R), el cual permanece desconocido hasta el momento (Broglio, Gottero et al. 2004, Asakawa, Inui et al. 2005, Gauna, Delhanty et al. 2005). De hecho, ambas formas están presentes en el torrente circulatorio, siendo la UAG la forma más estable y abundante (Broglio, Gottero et al. 2004, Hosoda, Doi et al. 2004, Liu, Prudom et al. 2008).

Una vez en el plasma, la molécula se une a un subtipo de lipoproteínas de alta densidad (HDL), relacionadas con la esterasa plasmática. Es probable que dicha esterasa sea la responsable de desacilar la ghrelina. La rapidez de este proceso hace que, en plasma humano, la proporción de ghrelina no acilada sea muy superior (en torno al 80-90 % del total) a la proporción de la molécula acilada (Beaumont, Skinner et al. 2003).

Su síntesis se produce especialmente en las células X/A-like de la mucosa gastrointestinal; especialmente abundantes en la mucosa oxíntica, y cuya densidad disminuye a medida que la mucosa intestinal se aleja del estómago (Date, Kojima et al. 2000, Sakata, Nakamura et al. 2002). La relevancia de este tipo de células en la síntesis de ghrelina la demuestra el descenso en la concentración plasmática del péptido (aproximadamente un 80 %) que se produce tras la gastrectomía o tras la realización de un *by-pass* gástrico (Cummings, Weigle et al. 2002), mientras que dicha concentración no se modifica tras la cirugía en Y de Roux (Holdstock, Engström et al. 2003).

1.4.1.2 Ghrelina O-Acetiltransferasa (GOAT)

La enzima responsable de esterificar la Ser recibe el nombre de ghrelina O-acetiltransferasa (GOAT) (Gutierrez, Solenberg et al. 2008, Yang, Brown et al. 2008), es una enzima localizada en el retículo endoplasmático que usa los ácidos grasos de la dieta para llevar a cabo su acción (Kojima and Kangawa 2005) y pertenece a la familia de acyltransferasas unidas a membrana (MBOAT- *membrane bound O-acyl transferase*) encargadas de unir ácidos grasos a lípidos o proteínas; de ahí que también se conozca como MBOAT-4. Consta de 8 segmentos transmembrana y su secuencia está altamente conservada en mamíferos y aves, siendo también altamente conservado el posible lugar catalítico asparragina-histamina (Hofmann 2000).

GOAT es el primer miembro de esta familia que transfiere de forma específica un ácido graso de cadena media como el octanoico, ya que lo que se conocía hasta el momento era que añadían ácidos grasos de cadena larga. Actúa, al igual que otras MBOATs, sobre proteínas que se encuentran en la superficie luminal, siendo octanoilado la proghrelina antes de ser transportada al golgi, donde es cortada por la prohormona convertasa 1/3 (PC1/3) para formar la ghrelina madura. El donante es probablemente octanoyl-CoA pero como pasa al RE no está

claro, aunque puede que sea el propio GOAT quien realice esta acción (Yang, Brown et al. 2008).

Teniendo en cuenta que las células de mamíferos casi no sintetizan ácidos grasos de cadena media, es posible pensar que la fuente de ácido octanoico sea la dieta, pero no se puede descartar que se obtenga movilizando los depósitos propios de grasa, o incluso que lo sintetizen células especializadas que coexpresan GOAT y ghrelina. La distribución de GOAT es similar a la de ghrelina, siendo especialmente alta en estómago. Sin embargo, sus niveles son menores que los de ghrelina, reflejando la proporción de ghrelina acilada (20-30 %) y pudiendo tratarse, además, de un mecanismo de regulación entre enzima y sustrato (Nishi, Hiejima et al. 2005).

Una cuestión importante es mediante qué mecanismos y bajo qué situaciones fisiológicas se activa o inhibe GOAT. Se sabe que el ayuno a largo plazo inhibe la acetilación de ghrelina pero no la secreción total, mientras que la ingesta suprime la secreción de ambos, ghrelina acilada y la desacilada (Liu, Prudom et al. 2008). También se ha demostrado en ratas, que la restricción crónica de comida provoca un aumento en la expresión de GOAT en la mucosa gástrica, lo que podría explicar los altos niveles de ghrelina observados en personas con anorexia. Un estudio reciente demostró además que con la administración de leptina periférica a animales sometidos a ayuno se consigue un aumento de expresión de GOAT. Esto sugiere que, al menos en ayuno, la expresión de GOAT está regulada por leptina (González, Vázquez et al. 2008).

El descubrimiento de GOAT abrió nuevas e interesantes vías de estudio:

- Posible diana terapéutica para prevenir y tratar la obesidad bloqueando de forma indirecta el efecto de la ghrelina. Ya que esta es la única hormona conocida que sufre este tipo de modificación postraduccional, la inhibición de GOAT afectaría a la ghrelina de forma directa y exclusiva, evitando posibles efectos secundarios.
- La existencia de un ratón KO (knock-out) para GOAT supuso una posibilidad para conocer mejor la importancia biológica de UAG, del ratio UAG/GA, e incluso posibles efectos de estos dos péptidos derivados del mismo gen. Resultó especialmente útil también en el estudio de la regulación de la secreción de insulina por parte de la ghrelina (Gutierrez, Solenberg et al. 2008).

1.4.1.3 Componentes del sistema y regulación de la ghrelina

Tras los procesos de transcripción y traducción se origina un precursor de 117 aa denominado pre-proghrelina (GHRL) (Kojima, Hosoda et al. 1999). Éste da lugar a la pro-ghrelina y posteriormente a un producto de 28 aa, la ghrelina (figura 1.10). El gen que codifica la GHRL está localizado en el cromosoma 3 (3p25-26) y está compuesto por cuatro exones y tres intrones pesando 5 kd. Además, durante el procesamiento de transcritos a partir de la pre-proghrelina también se generan múltiples variantes. Estas moléculas pueden ser clasificadas en tres grupos principales: ghrelina y análogos, C-ghrelina y obestatina (Seim, Amorim et al. 2010).

La obestatina (figura 1.10), un producto de 23 aa que proviene de la parte C-terminal del precursor (Zhang, Ren et al. 2005), o la des-Glu14-ghrelina, el cual comparte la misma secuencia que la ghrelina excepto por la delección del glutamato en posición 14 de su secuencia (Seim, Amorim et al. 2010).

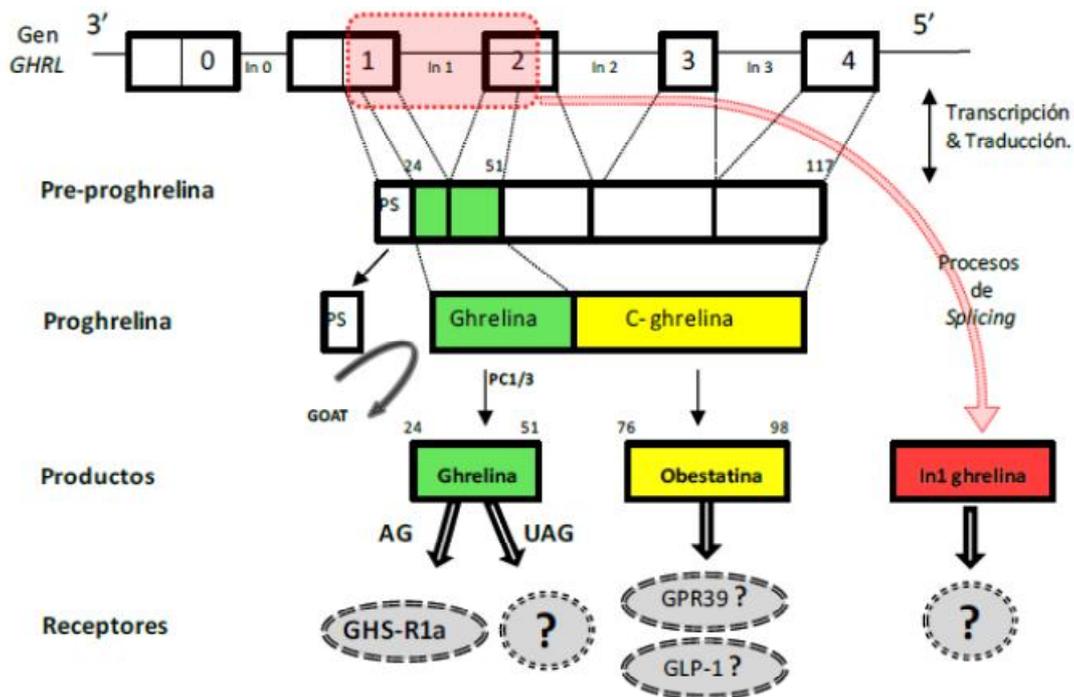


Figura 1.10. Esquema de los productos más relevantes del gen de la ghrelina y de sus receptores propuestos hasta el momento (Zhang, Ren et al. 2005).

La obestatina se encuentra en células de la mucosa gástrica, páncreas perinatal y testículo de ratas (Zhang, Ren et al. 2005, Chanoine, Wong et al. 2006, Dun, Brailoiu et al. 2006). Se ha demostrado que las células inmunorreactivas para pre-proghrelina y obestatina fueron más numerosas que las inmunorreactivas para ghrelina en el estómago de rata, sugiriendo la falta de ghrelina en algunas células X/A. En el páncreas la obestatina está presente en partes periféricas de los islotes, con una distribución distinta de las células productoras de glucagón, insulina y polipéptido pancreático (Zhao, Furnes et al. 2008).

Por otra parte, el gen de la ghrelina puede sufrir procesos de *splicing* alternativo generando nuevas variantes truncadas. Este es el caso de una isoforma de la ghrelina que conserva el exón 1 y el exón 2 de la ghrelina, así como la secuencia íntegra del primer intrón en su transcrito, denominándose por ello In1 ghrelina (representado en rojo en la figura 1.10) (Kineman, Gahete et al. 2007).

La distribución de la ghrelina y UAG parece ser similar. En mamíferos adultos, los tejidos con mayores niveles de ghrelina y UAG son el estómago, seguido de distintas partes del tracto gastrointestinal (duodeno, yeyuno, íleo, ciego y colon)(Hosoda, Kojima et al. 2000). En fetos, sin embargo, el estómago presenta una concentración de ghrelina muy baja aumentando ésta después del nacimiento. Algunos trabajos consideran al páncreas y al pulmón como principales fuentes de ghrelina durante este período (Chanoine and Wong 2004).

En el cambio lactante-destete la concentración de ghrelina total (que incluye UAG y todas las formas aciladas de ghrelina con extremo C terminal) en el estómago murino permanece estable. En el estómago humano, el ratio UAG:ghrelina es 2:1, mientras que entre las formas circulantes la UAG supera el 90 % de la ghrelina total (Hosoda, Kojima et al. 2003, Bang, Soule et al. 2007).

Las cifras de circulación varían de 25 a 2000 pg/ml, la secreción de ghrelina por el estómago depende del estado nutricional. Los niveles de ghrelina aumentan en el estado preprandial y disminuyen en el estado posprandial. Su concentración plasmática sigue un ritmo circadiano, con un nadir en torno a las 9:00 AM, y un cénit sobre la 1:00 AM (figura 1.11) (Cummings, Weigle et al. 2002). Dicha concentración disminuye durante la infancia, a medida que la edad del niño avanza (Bellone, Rapa et al. 2002), pero en el individuo adulto existe una correlación positiva entre la ghrelinemia y la edad (Cummings, Purnell et al. 2001).

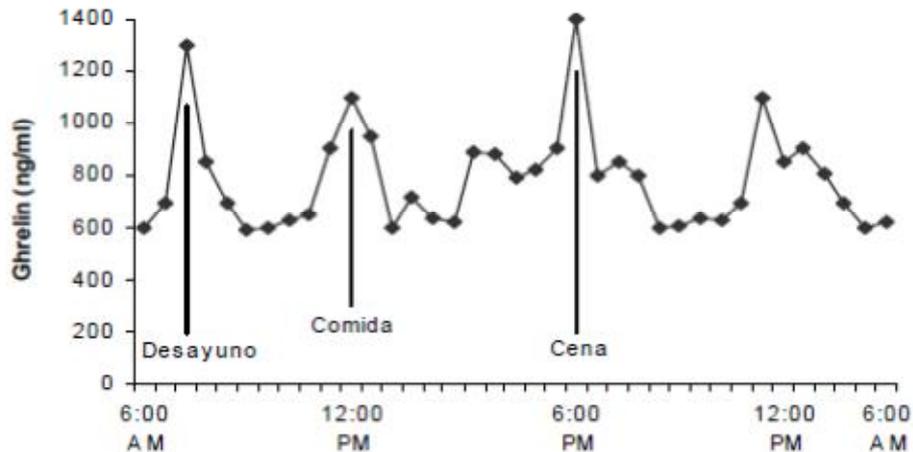


Figura 1.11. Representación de los niveles plasmáticos de ghrelina durante un período de 24 horas. Se puede observar que se producen picos de ghrelina previos a las comidas y disminuyen después de estas (Cummings, Weigle et al. 2002).

La ghrelinemia se correlaciona negativamente con la proporción de grasa corporal, siendo su concentración en ayunas y la magnitud de su descenso postprandial notablemente menores en pacientes obesos que en aquellos con normopeso (Tschöp, Weyer et al. 2001, Shiiya, Nakazato et al. 2002, Le Roux, Neary et al. 2005), con la excepción de la obesidad secundaria al síndrome de Prader-Willi, en la que ocurre lo contrario, esta compleja enfermedad genética está caracterizada por retraso mental moderado, hiperfagia y obesidad, corta estatura (bajos niveles de GH), hipotonía muscular y peculiaridades en el comportamiento. A pesar de ser obesos e hiperleptinémicos, estos sujetos tienen altos niveles de ghrelina plasmático que parecen ser responsables de la hiperfagia observada. Poco se sabe, sin embargo, de cómo se produce ese aumento de ghrelina en estos pacientes (Cummings, Purnell et al. 2001, Nicholls and Knepper 2001) En personas con anorexia los niveles de ghrelina están muy elevados y descienden a valores normales con el aumento de peso. Lo mismo sucede en casos de bulimia (Shiiya, Nakazato et al. 2002, Nedvídková, Krykorková et al. 2003). Sin embargo según estudios recientes en hombres normales, con sobrepeso y obesos la concentración de ghrelina acilada en suero se ve incrementada significativamente en respuesta a la sobrealimentación y ese aumento es independiente del estado de la obesidad (Wadden, Cahill et al. 2012). Por otra parte se ha encontrado una correlación negativa significativa entre la ghrelina acilada y el nivel de insulina circulante y la resistencia a la insulina tanto en hombres como en mujeres, asociándose el alto nivel de ghrelina circulante con una menor resistencia a la insulina (Amini, Wadden et al. 2012).

No existen diferencias de concentración entre ambos sexos (Tschöp, Weyer et al. 2001), excepto durante los períodos de ayuno prolongado, en los que la concentración de ghrelina es

significativamente superior en las mujeres (Østergård, Hansen et al. 2003), y el final de la fase folicular del ciclo menstrual, momento en el que la concentración de ghrelina también aumenta de forma notable (Barkan, Dimaraki et al. 2003).

El ayuno es el principal estímulo para su síntesis y liberación (con incrementos próximos al 80 % en los instantes previos a una comida); y su concentración disminuye en los 60 minutos que siguen al inicio de la ingesta (Cummings, Purnell et al. 2001, Casanueva and Dieguez 2002, Gualillo, Caminos et al. 2002, Seoane, Al-Massadi et al. 2007) de forma proporcional al aporte de carbohidratos en el alimento (Cummings, Weigle et al. 2002, Erdmann, Lippl et al. 2003, Le Roux, Neary et al. 2005). La administración intraperitoneal de glucosa produce un efecto sobre ghrelina similar al de la misma cantidad de azúcar administrada oralmente. La ingesta de líquido acalórico no modifica su concentración plasmática (Tschöp, Smiley et al. 2000).

En obesos, los niveles sanguíneos de hormonas anorexigénicas, como la leptina, están aumentados; mientras que sorpresivamente los niveles de una hormona orexigénica como la ghrelina están disminuidos. Se ha propuesto que estos pacientes son resistentes a la leptina. Por lo tanto, la forma en que ambos sistemas (leptina y ghrelina) contribuyen a mantener o desarrollar la obesidad aún no es clara (Tschöp, Smiley et al. 2000).

1.4.1.4 Acciones biológicas

La ghrelina juega un importante papel en la liberación de la GH, la cual es mediada por la activación del llamado receptor tipo 1 de los GHS (figura 1.12). Este receptor es un potente activador de la liberación de GH, presenta dos tipos que provienen del mismo gen y son los GSH-R1a y GSH-R1b, así mismo presenta efectos sobre el tracto gastrointestinal, las células de activación inmunitaria y las células inflamatorias (Gaytan, Barreiro et al. 2004).

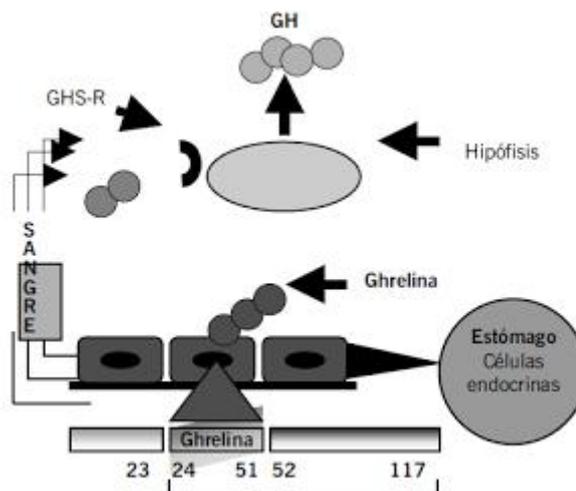


Figura 1.12. La administración de ghrelina estimula la secreción de GH.

Cuando la ghrelina se une a su receptor localizado en el hipotálamo, inhibe el efecto de la leptina, y promueve la liberación de diversas hormonas orexigénicas, promoviendo así la ingesta de alimentos. La ghrelina ejerce una acción estimulante sobre los péptidos orexigénicos NPY, orexina y AGRP e inhibitoria sobre los péptidos anorexigénicos proopiomelanocortina (POMC) y hormona liberadora de corticotropina (CRH) (Cowley, Smith

et al. 2003). Estudios recientes sugieren que la ghrelina es un regulador fisiológico de la secreción de GH después de la administración oral de glucosa, y la disminución de la secreción de ghrelina podría ser uno de los mecanismos responsables de la alteración de la secreción de GH en la obesidad (Outeirino-Blanco, Garcia-Buela et al. 2011).

Hoy en día la ghrelina es considerada una de las hormonas más importantes en el control de la ingesta de alimentos y en el control sobre el metabolismo energético (Wren, Seal et al. 2001, I Briggs and B Andrews 2011). De este modo, ha sido establecido por numerosos autores que los niveles de ghrelina aumentan en el organismo justo antes de las comidas (Cummings, Overduin et al. 2005, Nogueiras, Williams et al. 2010). Además, se ha demostrado que la administración de GA a nivel central o periférico, promueve la ingesta y el comportamiento asociado con ésta, mientras que la forma desacilada parece ejercer el efecto contrario (Hosoda, Kojima et al. 2000, Lawrence, Snape et al. 2002, Dezaki, Sone et al. 2008, Inhoff, Wiedenmann et al. 2009, Lim, Kola et al. 2011). De esta forma, en condiciones fisiológicas normales, los niveles circulantes de ghrelina se encargan de informar a determinadas neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo del estado energético del organismo, activando vías orexigénicas mediante el receptor GHS-R (Lim, Kola et al. 2011). Por ello, puede considerarse a la ghrelina como un péptido fundamental en el estudio de la regulación del peso corporal y de las consecuencias en los trastornos alimenticios (Tschöp, Weyer et al. 2001, Lawrence, Snape et al. 2002, Sun, Wang et al. 2004).

Un par de horas antes de la ingesta aumentan los niveles plasmáticos de ghrelina, actuando como una señal para el inicio de la ingesta, y caen a niveles basales una hora después de ésta (Ariyasu, Takaya et al. 2001). Ese incremento preprandial se produce sin la intervención de ninguna señal relacionada con la comida, mientras que la supresión postprandial de los niveles de ghrelina se produce en proporción a las calorías ingeridas (Callahan, Cummings et al. 2004).

Sin embargo, no está muy claro como se regula la secreción de ghrelina según la ingesta:

- la administración oral de glucosa disminuye los niveles de ghrelina plasmáticos (McCowen, Maykel et al. 2002, Shiiya, Nakazato et al. 2002). La hiperglucemia experimental suprime la saciedad inducida por la comida y altera las respuestas postprandiales de las hormonas gastrointestinales, PYY₃₋₃₆ y ghrelina, en los sujetos sanos con sobrepeso/obesidad. Los niveles hormonales anormales pueden estar mediados por un efecto glucotóxico en las células secretoras de hormonas intestinales, particularmente en las células L que secretan PYY₃₋₃₆ (Knudsen, Karstoft et al. 2014).

- la distensión gástrica mediante la ingesta de agua no cambia los niveles plasmáticos de ghrelina, indicando que la expansión física del estómago no induce liberación de ghrelina (McCowen, Maykel et al. 2002, Shiiya, Nakazato et al. 2002).

- la disminución de los niveles de ghrelina ocurre después de la ingesta de comida rica en grasa, mientras que no cambia si es rica en proteínas (Erdmann, Lippl et al. 2003, Greenman, Golani et al. 2004), pero se incrementan si la dieta es baja en proteínas (Beck, Musse et al. 2002).

- el ayuno prolongado durante 3 días no cambia los niveles de ghrelina comparado con el estado basal (Chan, Bullen et al. 2004).

- en humanos una dieta rica en hidratos de carbono causa una caída en los niveles de ghrelina superior a la observada con dieta alta en grasa, mientras que la administración oral de aminoácidos esenciales o proteínas no causa ningún cambio (Greenman, Golani et al. 2004).

Por otra parte existe una gran controversia entre los distintos autores a cerca de regulación que ejerce de la ghrelina sobre la liberación de insulina, sin embargo cada vez más evidencias constatan que la ghrelina es una hormona inhibidora de la secreción de insulina, así como de la SST pancreática, mientras que ejerce una acción estimuladora de las células alfa productoras de glucagón (figura 1.13). Esta regulación hormonal a nivel pancreático, explica en parte el control que tiene la ghrelina sobre la homeostasis de la glucosa en el organismo, esencial para el correcto funcionamiento de los tejidos (Dezaki, Kakei et al. 2007, Qader, Håkanson et al. 2008, Egido, Hernández et al. 2009, Chuang, Sakata et al. 2011). La ghrelina provoca la disminución de la secreción de insulina sin afectar a la sensibilidad de la misma. Estos hallazgos son consistentes con un papel de la ghrelina endógena en la regulación de la secreción de insulina y sugieren que el antagonismo ghrelina podría mejorar la función de las células β (Tong, Pigeon et al. 2013).

Además de su conocido papel estimulante sobre GH, también a nivel hipofisario ha sido descrita su capacidad de aumentar la liberación de ACTH y PRL en la población de células corticotropas y lactotropas respectivamente (figura 1.13) (Kojima, Hosoda et al. 1999, Van Der Lely, Tschöp et al. 2004, Cordido, Isidro et al. 2009, Kojima and Kangawa 2010).

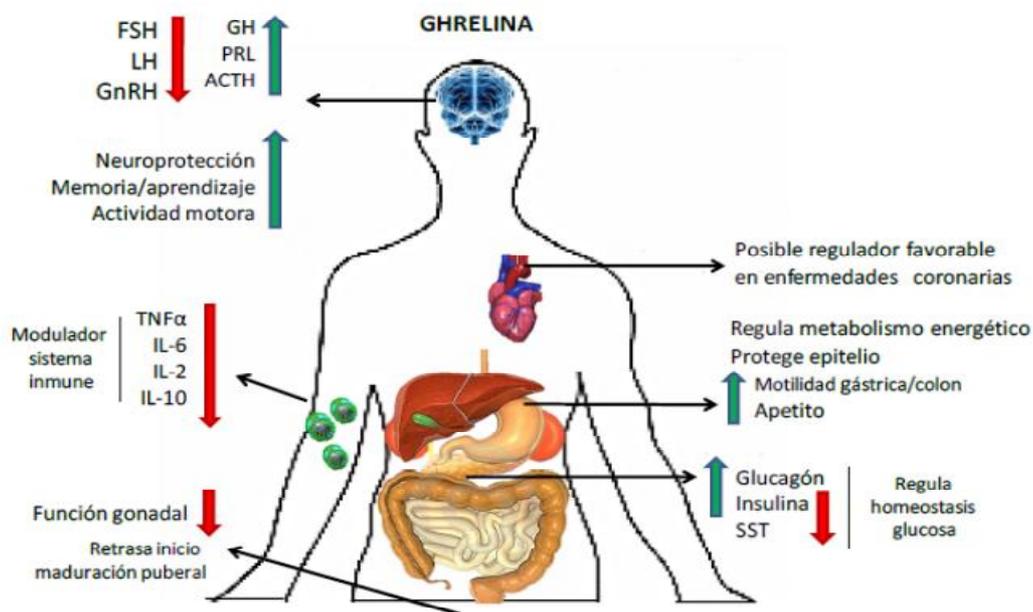


Figura 1.13. Acciones biológicas de la ghrelina.

Por último también cabe destacar la intervención de la ghrelina como regulador favorable de la función cardiovascular y en el control de la fisiología gastroenteropancreática (Masuda, Tanaka et al. 2000), así como neuroprotector, estimulando la actividad de neuronas dopaminérgicas capaces de controlar la actividad locomotora y también participando en procesos como el aprendizaje, la memoria o el sueño y otros ritmos biológicos (figura 1.13)

(Wren, Seal et al. 2001, Broglio, Gottero et al. 2003, Van Der Lely, Tschöp et al. 2004, Tena-Sempere 2005, Baragli, Lanfranco et al. 2011, Granata, Isgaard et al. 2011).

1.4.1.5 Papel de la ghrelina en la obesidad y diabetes

Ha sido ampliamente descrito el papel regulador del sistema ghrelina sobre la liberación de insulina y de la homeostasis de la glucosa. Así, se ha demostrado que el bloqueo de algunos componentes de este sistema modifica la función β pancreática en determinados desórdenes metabólicos, como en la diabetes. En esta enfermedad se produce una disfunción de la célula β pancreática que conduce a una descompensación en la liberación de insulina, conjuntamente con resistencia a la insulina y un aumento en los niveles de glucosa en sangre (Esler, Rudolph et al. 2007). Diversos estudios han confirmado que tanto la ghrelina como otros productos del gen de la ghrelina, ayudan a adecuar los niveles de glucosa, a la vez que protegen y regeneran la masa celular del islote de ratas con diabetes inducida por estreptozotocina (STZ), ofreciendo un potencial terapéutico y preventivo frente a la DM2 (Irako, Akamizu et al. 2006, Granata, Volante et al. 2010).

Por otra parte, la ghrelina además es la única hormona conocida hasta el momento con función estimuladora del apetito, y por tanto, involucrada en el aumento de peso y en la obesidad (Tschöp, Smiley et al. 2000, Wren, Seal et al. 2001, Lawrence, Snape et al. 2002). Se ha demostrado que su administración durante periodos largos de tiempo promueve la ganancia de peso, no sólo por estimular la ingesta, sino también por facilitar la asimilación de la dieta alta en grasas (Shimbara, Mondal et al. 2004). También los niveles circulantes de ghrelina disminuyen la utilización de los depósitos de tejido adiposo blanco (WAT) (Davies, Kotokorpi et al. 2009) y reduce la apoptosis en adipocitos (Kim, Yoon et al. 2004). Los altos niveles de ghrelina en respuesta a la privación de alimentos pueden contribuir a una reducción adecuada de las enzimas glucolíticas y lipogénicas hepáticas y ayudar en la recuperación del peso corporal y las reservas energéticas, una vez que se disponga de los alimentos después de un período de ayuno (Sangiao-Alvarellos, Helmling et al. 2011).

En condiciones metabólicas normales, bajo una situación hipoglucémica la concentración de ghrelina se encuentra elevada. Tras la ingesta de alimento estos niveles disminuyen, mientras el nivel de insulina y glucosa en sangre asciende (Angelidis, Valotassiou et al. 2010). Algunos autores han propuesto que esta disminución en la concentración de ghrelina puede deberse en parte al efecto negativo que ejerce la insulina sobre su producción (Saad, Bernaba et al. 2002, Solomon, Chambers et al. 2008, Chanclón García, Martínez-Fuentes et al. 2012).

En el caso de la obesidad o la diabetes, se ha comprobado que pese a seguir el mismo patrón de comportamiento antes y después de las comidas, los niveles de ghrelina circulante son inferiores a los de los individuos sanos. Esta diferencia podría ser causada por la resistencia a la insulina propia en estas enfermedades y su consecuente aumento en los niveles plasmáticos (Sun, Asnicar et al. 2006, Baragli, Lanfranco et al. 2011). En tales desajustes metabólicos se ha descrito que el bloqueo de algunos productos del gen de la ghrelina provoca la liberación de insulina y mejora la hiperglucemia en ratones (Sun, Asnicar et al. 2006). Además, se ha publicado recientemente que el tratamiento con ghrelina no acilada y obestatina en ratas hace mejorar la tolerancia de la glucosa y reduce la resistencia a la insulina causada por factores diabetogénicos o por la obesidad inducida por dieta alta en grasas (Granata, Baragli et al. 2010, Granata, Settanni et al. 2012).

La anulación del receptor GHS-R en ratones provocó una mayor sensibilidad a la insulina (Gómez, Lago et al. 2009). En otros estudios con antagonistas de GHS-R se ha mostrado una mejora en la pérdida de peso y se ha suprimido el apetito (Zorrilla, Iwasaki et al. 2006), indicando la implicación de este receptor en la desregulación producida en estas enfermedades. La ghrelina inhibe la liberación de insulina mediada por glucosa, de modo que podría plantearse como una vía terapéutica en DM2 e hiperinsulinemia. A nivel del adipocito actúa incrementando la sensibilidad insulínica y favoreciendo la captación de glucosa (Patel, Stanley et al. 2006, Sangiao-Alvarellos and Cordido 2010, Tong, Prigeon et al. 2010).

En otros estudios se ha demostrado que en la obesidad inducida por la dieta, la ausencia del receptor y de la propia ghrelina ha conducido a una disminución del apetito y de la ingesta de comida (Wortley, del Rincon et al. 2005, Schellekens, Dinan et al. 2010, Chanclón García, Martínez-Fuentes et al. 2012). Sin embargo el fenotipo de obesidad no se ha visto modificado por la falta de ghrelina en ratones KO, pese a mejorar la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa (Zigman, Nakano et al. 2005).

La ghrelina desacilada no posee tal capacidad orexigénica (Asakawa, Inui et al. 2005, Inhoff, Mönnikes et al. 2008) ni presenta los mismos cambios en la obesidad abdominal que la isoforma acilada (Davies, Kotokorpi et al. 2009). De hecho, se ha propuesto que el tratamiento con inhibidores de la enzima responsable de su activación, GOAT, podría evitar su acción orexigénica y por lo tanto una posible terapia en la lucha contra la obesidad (Gualillo, Lago et al. 2008, Barnett, Hwang et al. 2010, Chanclón García, Martínez-Fuentes et al. 2012).

El péptido resultante del Intrón 1 (In1), descubierto en 2007 y denominado originalmente Intrón 2 de ghrelina (In2), es una isoforma identificada en hipotálamo e hipófisis de ratón cuando se pretendía estudiar la modulación de la expresión de la ghrelina mediante diversos estados metabólicos (Kineman, Gahete et al. 2007). Pese a la no existencia de estudios que avancen en su posible papel en la obesidad, se ha detectado su expresión en otros tejidos, de un modo dependiente con el mal pronóstico de otras enfermedades como en el caso de los tumores (Gahete, Córdoba-Chacón et al. 2011).

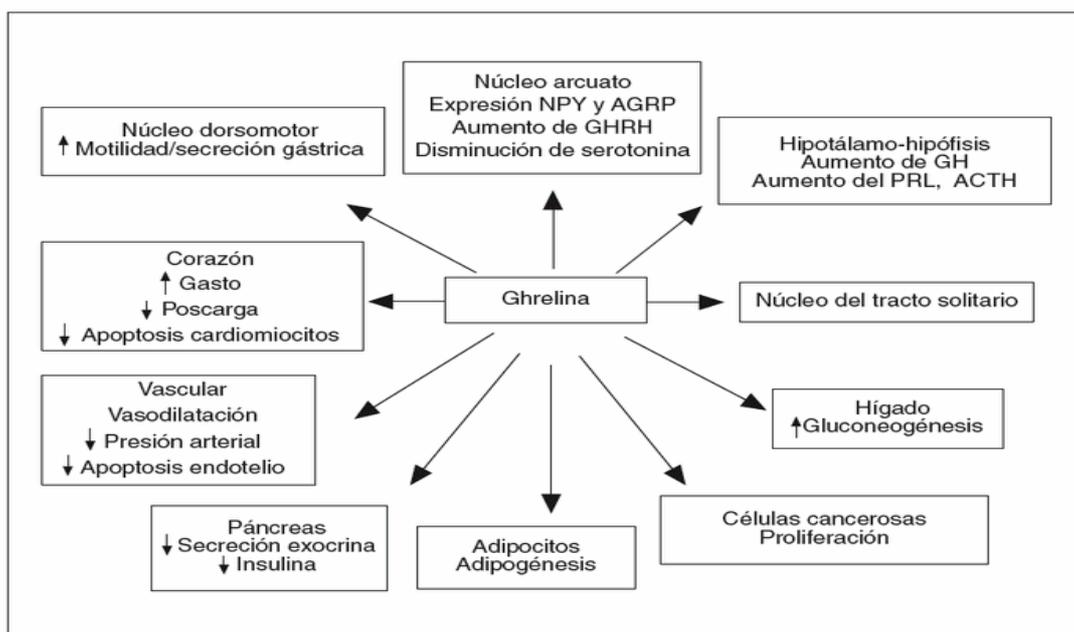


Figura 1.14. Dianas fisiológicas y acciones de la ghrelina.

1.4.2 PYY

1.4.2.1 Estructura, síntesis y secreción

Descrito por primera vez en 1980 (Tatemoto and Mutt 1980), el péptido YY (PYY) es una molécula estructuralmente similar al polipéptido pancreático (PP) y a NPY (con los que comparte su estructura terciaria, llamada pliegue PP), cuya forma nativa, de 36 aa (PYY₁₋₃₆), es hidrolizada en el plasma por el enzima DPP4 (dipeptidil peptidasa-4), lo que la convierte en PYY₃₋₃₆, que es la variante más abundante de la molécula en el plasma (Grandt, Schimiczek et al. 1994, Grandt, Schimiczek et al. 1994, Ballantyne 2006), y la forma del péptido con un efecto anorexígeno demostrado (Pfluger, Kampe et al. 2007).

Aunque se ha descrito su síntesis a lo largo de toda la mucosa intestinal, páncreas, y varios grupos neuronales del sistema nervioso central (Broome, Hökfelt et al. 1985, Batterham, Cowley et al. 2002), el principal lugar de síntesis de esta molécula son las células L de la mucosa de intestino delgado distal y colon (Adrian, Ferri et al. 1985). Su concentración plasmática, que es independiente de la edad (Pfluger, Kampe et al. 2007), sigue un ritmo circadiano, con un nadir por la mañana (Soffer, Adrian et al. 1997); aunque existe cierta controversia sobre el valor de la concentración de PYY en ayunas, dada la influencia que sobre dicha concentración tiene la mayor o menor duración del tiempo de ayuno previo (Tovar, Seoane et al. 2004).

El PYY se secreta en todo el tracto intestinal tras la ingesta, pero particularmente en la porción final. Prácticamente no se secreta en el estómago, se secreta en mayor proporción en duodeno y yeyuno, aún más en el ileón y colon y en gran proporción en el recto. La concentración de PYY aumenta tras la ingesta (especialmente la variante 3-36), de forma proporcional al aporte calórico (Adrian, Ferri et al. 1985) y a la composición del alimento, siendo las grasas el estímulo más potente para esta respuesta (Goodlad, Lenton et al. 1987, Degen, Oesch et al. 2005), que comienza a los 15 minutos del consumo de alimentos, alcanza un cénit a los 90 minutos, y se prolonga (disminuyendo progresivamente) durante 6 horas (Adrian, Ferri et al. 1985, Batterham, Cowley et al. 2002).

Existen diversos estudios sobre la relación entre el IMC y el PYY con resultados contradictorios (Vincent and Le Roux 2008, Karra and Batterham 2010). Existen estudios que demuestran que la pérdida de peso con restricción calórica disminuye los niveles de PYY₃₋₃₆ (King, Wasse et al. 2011) y que los niveles de PYY₁₋₃₆ son similares en mujeres obesas y con normopeso (Outeirino-Blanco, Garcia-Buela et al. 2011). Otros grupos de trabajo han encontrado que en los sujetos obesos, la concentración plasmática en ayunas es menor (Batterham, Cohen et al. 2003, Korner, Bessler et al. 2005, Stock, Lechner et al. 2005, Le Roux, Batterham et al. 2006, Pfluger, Kampe et al. 2007), y su respuesta a la ingesta menos intensa que la existente en individuos con normopeso (Le Roux, Batterham et al. 2006, le Roux, Aylwin et al. 2006) y que dicha deficiencia podría plantearse como una causa de que en la obesidad exista una menor sensación de saciedad tras la ingesta (Batterham, Cohen et al. 2003, Guo, Ma et al. 2006, Le Roux, Batterham et al. 2006). Los niños obesos también tienen niveles bajos de PYY en ayunas (Roth, Enriori et al. 2005).

Para un mismo número de calorías, los niveles de PYY son más altos si la dieta es rica en grasa, que si predominan hidratos de carbono o las proteínas. Otros estímulos para el PYY son el ácido gástrico, la CCK y las sales biliares, aunque no la distensión gástrica. En adolescentes obesos los niveles de PYY fueron resistentes a la ingesta de calorías en este grupo de personas la ingesta de alimentos es un proceso especialmente complejo que involucra numerosos

factores intrínsecos y extrínsecos. Una porción significativa de la ingesta calórica en la juventud puede ser debido al consumo de bebidas azucaradas o alimentos ingeridos en ausencia de hambre (Mittelman, Klier et al. 2010).

En la anorexia nerviosa y bulimia, por el contrario, su concentración en ayunas es mayor que en sujetos sanos con normopeso, (Stock, Lechner et al. 2005, Pfluger, Kampe et al. 2007), teóricamente este aumento de PYY podría contribuir al desarrollo de estas patologías aunque, en estos pacientes, la ganancia de peso no modifica sustancialmente la concentración del péptido (Misra, Miller et al. 2006, Pfluger, Kampe et al. 2007). Incluso se ha observado que los niveles de PYY en sujetos con anorexia nerviosa son diferentes a los que presentan aquellos individuos con delgadez constitucional (Germain, Galusca et al. 2007).

Se ha observado que los niveles de PYY basales y los obtenidos tras una sobrecarga oral de glucosa son mayores en mujeres que en varones (Kim, Carlson et al. 2005).

1.4.2.2 Mecanismo de acción

Los tres miembros de la familia de polipéptidos pancreáticos (el propio PP, NPY y el PYY) ejercen sus acciones a través de receptores Y que pertenecen a la superfamilia de receptores asociados a proteínas G. Dichos receptores difieren en distribución y función y se clasifican en función de su afinidad por PYY, NPY y PP. Existen 3 variantes del receptor de PYY, llamadas respectivamente Y1R, Y2R e Y3R. Aunque PYY₁₋₃₆ se une a las 3 isoformas del receptor (Tschöp, Castaneda et al. 2004), PYY₃₋₃₆, que es la forma activa de la molécula, lo hace de forma selectiva a Y2R (Le Roux, Batterham et al. 2006), un receptor especialmente abundante en el núcleo arcuato hipotalámico. La unión de PYY a Y2R produce cambios en la actividad de las neuronas NPY/AGRP y POMC/CART (pro-opiomelanocortina/transcrito regulador de cocaína y anfetamina) (Figura 1.15) (Batterham, Cowley et al. 2002).

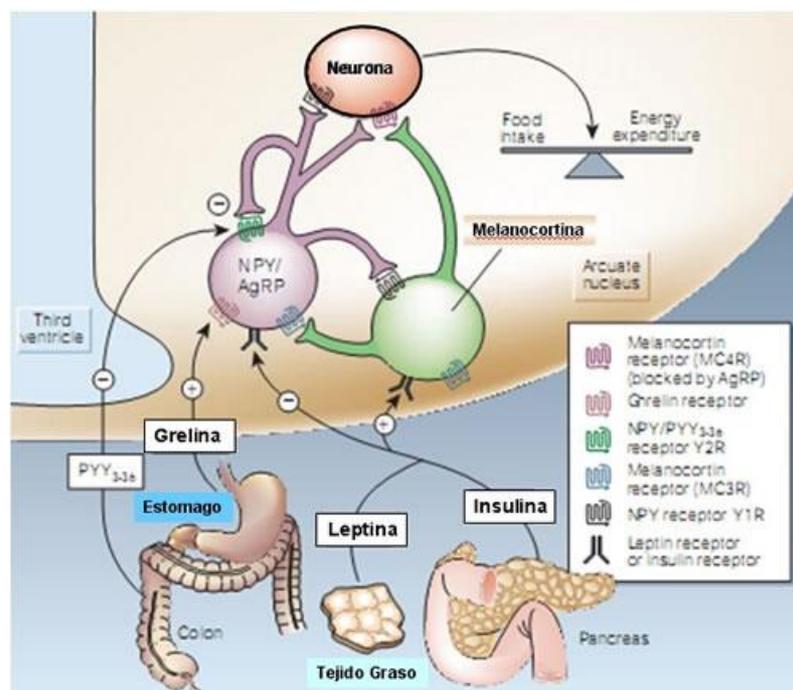


Figura 1.15. Mecanismos homeostáticos de regulación del balance energético (Schwartz and Morton 2002).

1.4.2.3. Efectos de la hormona

La administración periférica de PYY tiene un efecto saciante tanto en roedores como en humanos, en los que se prolonga hasta 12 horas después de la suspensión de su perfusión (Moran, Smedh et al. 2005, Talsania, Anini et al. 2005) Su administración intracerebral (en ventrículos cerebrales o núcleo paraventricular) produce, por el contrario, un aumento del apetito. Esta aparente paradoja (un efecto orexigénico tras la administración central del péptido, y un efecto anorexígeno al administrarlo periféricamente) se ha explicado por la unión selectiva de PYY₃₋₃₆ (que es la variante mayoritaria de PYY circulante) a los receptores Y2R del núcleo arcuato (receptores cuya activación tiene un efecto saciante). Sin embargo, la activación de Y1R e Y3R, predominantes en el núcleo paraventricular (a los que no tiene acceso, y a los que se une con menos afinidad PYY₃₋₃₆) tiene un efecto estimulante del apetito (Druce, Small et al. 2004, Wynne, Stanley et al. 2005, Suzuki, Simpson et al. 2009).

Se ha observado un significativo incremento posprandial de los niveles del péptido YY tras la realización del *by-pass* gástrico (Beckman, Beckman et al. 2011) (figura 1.16); dicho incremento es superior al que experimentan los pacientes sometidos a la colocación de una banda gástrica (Korner, Inabnet et al. 2009) y además aquellos individuos que experimentan mayores pérdidas ponderales tras la cirugía son aquellos que presentan mayores niveles posprandiales de péptido YY (le Roux, Welbourn et al. 2007).

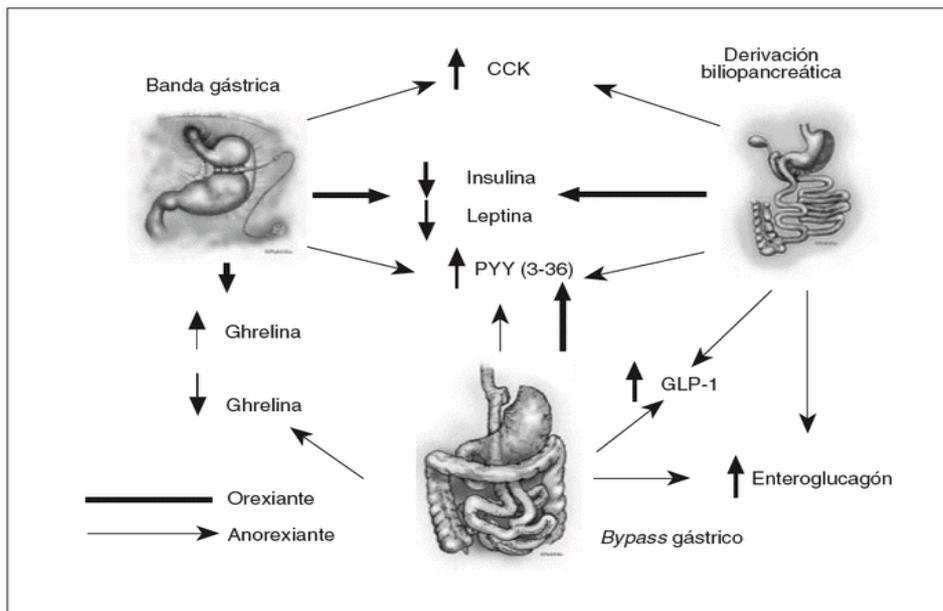


Figura 1.16. Niveles hormonales tras cirugía de la obesidad (Salvador and Frühbeck 2005).

A nivel gastrointestinal el PYY retrasa el vaciado gástrico (Savage, Adrian et al. 1987) e inhibe la secreción ácida gástrica (Adrian, Savage et al. 1985). También inhibe la fase cefálica de la secreción exocrina pancreática (Symersky, Biemond et al. 2005) a través de su acción a nivel hipotalámico en el área postrema y la inhibición de la liberación de la colecistoquinina (Naruse, Kitagawa et al. 2002). En el intestino el PYY inhibe la motilidad del intestino delgado y el tiempo de tránsito del bolo alimenticio a lo largo del tracto gastrointestinal (Spiller, Trotman et al. 1984).

1.5 IRISINA

1.5.1 INTRODUCCIÓN Y SÍNTESIS

La modificación del estilo de vida, especialmente los cambios en la dieta, la actividad física y el ejercicio, siguen siendo la mejor opción para el tratamiento de la obesidad. En este sentido, los beneficios del ejercicio han sido ampliamente documentados (Strasser 2012). Por otra parte, recientemente se ha demostrado que, especialmente durante o inmediatamente después de la actividad física, el músculo esquelético pone en circulación varias hormonas, que reciben el nombre de mioquinas que pueden influir en el metabolismo y modificar la producción de citoquinas en diferentes tejidos y órganos. En base a esto, el músculo esquelético puede ser realmente considerado como un órgano endocrino (Pedersen, Åkerström et al. 2007, Pedersen and Febbraio 2012).

En enero de 2012, Boström y sus colaboradores identificaron un nuevo péptido secretado por el tejido muscular, al que llamaron irisina (denominada así en alusión al dios griego mensajero "Iris"), y pusieron de relieve su papel como un mensajero entre el músculo esquelético y otras partes del cuerpo. En este estudio describieron el mecanismo por el cual el ejercicio muscular incrementa adicionalmente el gasto total de energía corporal (Boström, Wu et al. 2012), es decir, no sólo la energía gastada por el trabajo de la fibra muscular, sino también por una acción de biogénesis mitocondrial en otros tejidos, entre los que se incluye los depósitos de tejido graso. Según Böstrom, el ejercicio muscular despierta un proceso de cambios estructurales y metabólicos en las células musculares esqueléticas. El mayor interés en esta proteína surgió debido a su posible potencial terapéutico en la diabetes (Boström, Wu et al. 2012).

Böstrom y sus colaboradores, presentaron evidencias convincentes de que el ejercicio muscular desencadenaba un complejo proceso que se inicia con un incremento de la expresión de "*peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha*" (PGC-1 α), que a su vez actúa sobre genes de las células musculares provocando un aumento en la expresión de una proteína denominada "*fibronectin type III domain containing*" (FNDC5), que por un posterior proceso de proteólisis, da lugar a una pequeña proteína que se libera al torrente circulatorio: la irisina, y que se correspondía con una hormona, hasta la fecha desconocida, que podía actuar en el tejido adiposo blanco activando la termogénesis (Boström, Wu et al. 2012). Estos autores señalaron que tanto en humanos como en ratas, después del ejercicio los niveles sanguíneos de irisina se elevan considerablemente. Por otra parte, estudios *in vitro*, también demostraron que cuando esta hormona se añade a adipocitos obtenidos de tejido adiposo blanco subcutáneos, durante las primeras etapas de su desarrollo, estos se transformaban en células beige incrementando su capacidad termogénica (figura 1.17) (Pedersen 2012, Moreno-Navarrete, Ortega et al. 2013).

Los avances científicos en esta materia evidencian cada vez más que la hormona irisina puede constituir una aliada clave en la batalla contra el sobrepeso, la obesidad y otras enfermedades relacionadas como la DM2 o patologías cardiovasculares. Las líneas de investigación se centran ahora en la posibilidad de estimular farmacológicamente o mediante nutrientes la actividad de esta molécula para mejorar el tratamiento de los pacientes que sufren este tipo de dolencias. Sin embargo, niveles elevados de irisina se relacionan positivamente con niveles elevados de glucosa, TG, Homa-IR e IMC y por lo tanto con un mayor riesgo de sufrir síndrome metabólico y enfermedades cardiometabólicas (Hee Park, Zaichenko et al. 2013).

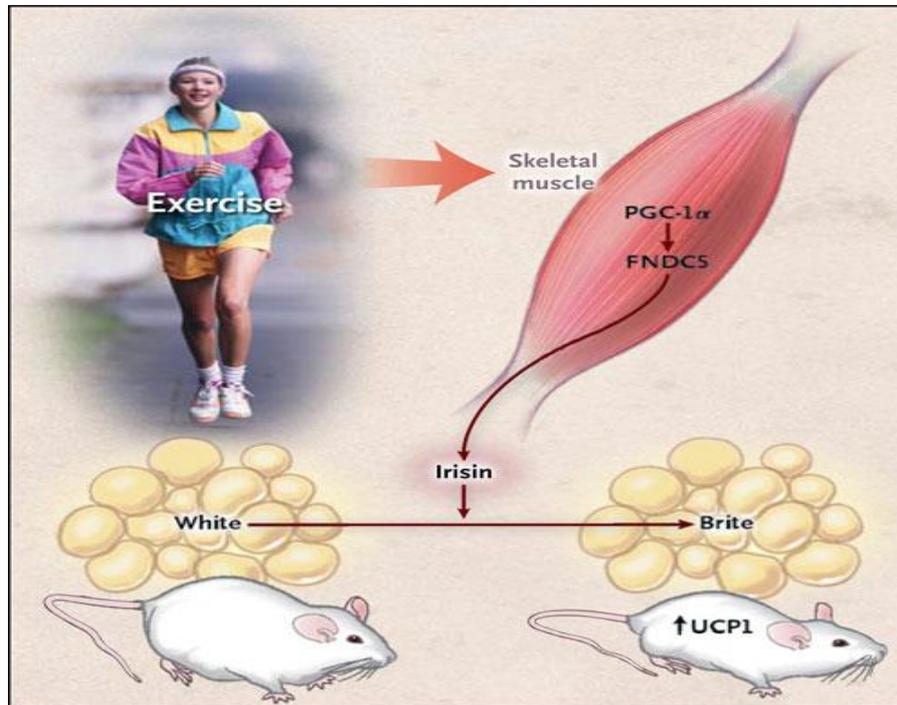


Figura 1.17. El aumento de irisina tras el ejercicio transforma la grasa blanca en grasa beige.

A este respecto, la evidencia sugiere un papel diferente de la irisina, como antidiabético mejorando la homeostasis de la glucosa (Højlund and Boström 2012, Zhang, Zhang et al. 2013), una asociación inversa de la concentración de irisina con el contenido en grasa del hígado (Zhang, Zhang et al. 2013); y una correlación positiva con la folistatina, un péptido que regula el crecimiento muscular (Vamvini, Aronis et al. 2013).

En la rata se ha demostrado que la hormona FNDC5/irisina no sólo es secretada por el músculo en respuesta al ejercicio físico, sino también se libera por el tejido adiposo blanco (considerándose por tanto una adipoquina, además de una mioquina). El hallazgo postula que, en sujetos cuyo IMC sea elevado, podría darse una resistencia a esta proteína impidiendo su natural papel protector contra la obesidad. También se ha comprobado que los adipocitos humanos procedentes de individuos obesos son también capaces de secretar esta nueva adipoquina (Roca-Rivada, Castela et al. 2013). Roca-Rivada *et al.* sugirieron que la proporción de secreción de la irisina por el tejido muscular/adiposo varía en función de la situación fisiológica del individuo. El músculo sería el protagonista en el ejercicio físico, ejerciendo un papel beneficioso, mientras que el tejido adiposo blanco sería el responsable de los niveles elevados de irisina en condiciones de IMC alterados como en la obesidad (Roca-Rivada, Castela et al. 2013).

1.5.2 EL TEJIDO ADIPOSEO

En humanos se han descrito dos tipos de tejidos grasos: tejido adiposo blanco y tejido adiposo pardo. La grasa de color blanco, la más abundante (que representa aproximadamente el 10% del peso corporal total), tiene como funciones principales acumular grasas como reservas para asegurar el abastecimiento normal de las necesidades calóricas y proteger a diferentes órganos y tejidos, manteniéndolos a una temperatura adecuada para su normal metabolismo y funcionalidad. El segundo tipo de células grasas, de color pardo, tienen por función generar calor, quemando directamente los sustratos. Su color pardo se debe a que sus células contienen una gran cantidad de mitocondrias, orgánulos intracelulares productores de energía, en cuyas paredes se encuentran enzimas ricas en hierro necesarias para degradar los hidratos de carbono y grasas (Monckeberg 2011). Su existencia se conoce desde hace mucho tiempo, pero sólo ahora comienzan a estudiarse en detalle, dado que potencialmente se podría utilizar esta propiedad para quemar grasas en casos de acumulación excesiva. Su existencia es imprescindible, por ejemplo, en los animales que tienen la propiedad de hibernar, y aunque inicialmente se pensaba que en los seres humanos sólo se encontraba durante los primeros años de vida (Monckeberg 2011), actualmente se sabe que también está presente durante la etapa adulta (Cereijo, Giralt et al. 2014). Hasta hace poco muy tiempo se afirmaba que en la especie humana la grasa parda sólo estaba presente durante los primeros años de vida y luego desaparecía o quedaban pocos rastros de ella. Esto era aparentemente explicable dada la necesidad del lactante de generar calor por la continua pérdida del mismo que presenta, dada su mayor superficie corporal en relación a su peso. Sin embargo, trabajos recientes, usando la tomografía de positrones y glucosa marcada, han demostrado que la grasa parda también está presente en el adulto, aunque en pequeña proporción, pero en cantidad suficiente como para que teóricamente, durante un tiempo más o menos largo (un año), un adulto pueda quemar sin notarlo una cantidad de energía equivalente a 4 kilos de grasa. Tres trabajos, realizados independientemente y publicados simultáneamente, utilizando la misma tecnología, han comprobado la presencia de grasa parda activa en adultos normales, esta comprobación ha despertado gran interés, dada la posibilidad de inducir, mediante algún fármaco, una mayor actividad de la grasa parda (van Marken Lichtenbelt, Vanhomerig et al. 2009, Virtanen, Lidell et al. 2009).

Los adipocitos de grasa blanca, captan la energía química de los alimentos, degradándolos para producir ATP, molécula que almacena la energía indispensable para realizar los diferentes procesos bioquímicos que continuamente están ocurriendo en el interior de las células. Pero en los adipocitos de grasa parda, la función primordial no es producir ATP, sino quemar directamente los nutrientes (Cypess, Lehman et al. 2009), es decir, degradar las grasas o azúcares, sin producir ATP, y por el contrario quemarlas como podría ser un horno que irradia calor. Esta característica se debe a que sus mitocondrias poseen un tipo de proteína llamada "desacopladora tipo 1" (UCP1), que se ubica en la membrana interna de sus mitocondrias. En su interior no acumulan grasa, ya que pueden captar el sustrato (ácidos grasos y glucosa) directamente de la circulación sanguínea (Cinti 2007) para lo que cuentan con una abundante red capilar que las envuelve y las abastece de nutrientes. Por otra parte, la actividad de la grasa parda está controlada por el sistema nervioso simpático. Las conexiones nerviosas que los rodean liberan adrenalina, que activa los receptores β -adrenérgicos ubicados en su membrana externa. Por ello es característica de este tejido la existencia de abundantes terminaciones nerviosas (Cinti 2007).

Más recientemente se ha descrito un tercer tipo de adipocito, que parece ser una transición entre el adipocito blanco y el pardo, que se ha denominado adipocito "beige". Tienen un color intermedio y con propiedades termogénicas también intermedias entre grasa blanca y grasa parda. Más aún, parece que bajo ciertas condiciones, derivarían de adipocitos blancos

(Ishibashi and Seale 2010). En las ratas en las que se sobreexpresa PGC-1 α , se observa que la grasa blanca va sufriendo un proceso de cambio, llegando a tener una apariencia de grasa beige, incluso con actividad termogénica evidente. Ello parece ser la consecuencia del incremento inicial de FNDC5 y como consecuencia, la elevación de irisina en el torrente sanguíneo (Kelly 2012). Finalmente Böstrom y sus colaboradores observaron que la administración de irisina a ratas sobrealimentadas, llevaba a una disminución de su peso y al mismo tiempo, lo que es muy favorable, una disminución de la resistencia a la insulina (Boström, Wu et al. 2012).

Los dos tipos de células grasas (la grasa parda y la beige) tienen la facultad de quemar reservas de lípidos y cuentan con una presencia abundante de mitocondrias, que son las que le dan el tono más oscuro. Sin embargo la grasa parda es la que expresa los más altos niveles de UCP1, mientras que la grasa beige, si bien es cierto que también la expresa, lo hace en menor cantidad. Según Spiegelman, hay otra diferencia que es la más importante: el lactante nace con la grasa parda y la va perdiendo con la edad, mientras que en el adulto la grasa blanca ya está y a partir de ella se puede inducir la grasa beige. En ello reside la potencial importancia del uso clínico de este tejido, ya que reacciona frente a la hormona irisina, poniendo en marcha el proceso de termogénesis (Spiegelman and Flier 1996, O'Callaghan 2012). Este es un nuevo campo de investigación en el que hay varios grupos trabajando y son también varias las posibles hormonas de diferentes orígenes que se están ensayando y que actuarían a nivel de la grasa blanca, induciendo en ellas la termogénesis. Uno de ellos es el suplemento B8, una proteína de origen óseo, que también activa la quema de grasa blanca, o la denominada hormona FG21 que se produce en el hígado como respuesta a la ingesta de grasas (Whittle, Carobbio et al. 2012).

1.5.3 LA PROTEÍNA PGC-1 α

El PGC-1 α , que fue originariamente identificado como un factor que interaccionaba con la proteína PPAR- γ (receptor activado por el proliferador de peroxisoma gamma) en tejido adiposo pardo, es un coactivador de la transcripción que no se une al ADN pero que presenta una fuerte acción estimuladora de la expresión de determinados genes al unirse a diversos factores. PGC-1 α induce la biogénesis mitocondrial y la expresión de enzimas oxidativas en diferentes tipos celulares (Handschin and Spiegelman 2008).

La proteína PGC-1 α se expresa en el tejido muscular esquelético de una forma diferencial, siendo mayores los niveles observados en músculos lentos que en los rápidos. El ejercicio puede inducir una rápida activación de PGC-1 α , que al translocarse al núcleo induce el incremento en la transcripción de enzimas mitocondriales, acción que se lleva a cabo antes incluso de observarse un incremento en los niveles de expresión del ARN mensajero de PGC-1 α (Muoio and Koves 2007). El papel del ejercicio sobre esta proteína parece estar al menos en parte mediado por el sistema nervioso simpático y por la activación de los receptores β 2 adrenérgicos, ya que la sobreexpresión de PGC-1 α inducida por el ejercicio puede ser evitada mediante el uso de inhibidores específicos para este receptor (Cantó and Auwerx 2009).

Los estudios realizados en ratones transgénicos que sobreexpresan PGC-1 α mostraron un aumento en el contenido de mitocondrias en las fibras musculares rápidas, así como un incremento de los niveles de las enzimas oxidativas. Se observó también que aumentaba la proporción de fibras tipo I y IIA haciendo a los músculos más resistentes a la fatiga (Schiaffino and Reggiani 2011). Estudios realizados en músculo esquelético de individuos obesos

demonstraron que estos poseían una menor cantidad de mitocondrias que los individuos normopeso, dado que PGC-1 α es un potente inductor de la biogénesis mitocondrial. Se descubrió que la elevación de ácidos grasos libres plasmáticos reducía la expresión de PGC-1 α en músculo, y que la reducción en la expresión de esta proteína se asociaba a obesidad y DM2; esto se relacionaba directamente con las deficiencias de ejercicio físico, ya que estos pacientes normalmente llevan una vida sedentaria (Eckardt, Taube et al. 2011).

En 2008 el grupo de Spiegelman propuso la hipótesis de que la proteína PGC-1 α era el factor clave que relacionaba el ejercicio con los beneficiosos efectos sistémicos que produce, sugiriéndose como el mayor responsable de la protección frente a las diferentes enfermedades relacionadas con el sedentarismo. Este grupo postuló que la reducción en la expresión de PGC-1 α en músculo esquelético debida a estilos de vida sedentarios, podría estar causando una respuesta proinflamatoria crónica que afectaría negativamente a otros tejidos. Por tanto, al eliminar este estado de inflamación crónica mediante la inducción de PGC-1 α con el ejercicio, disminuiría la frecuencia o la severidad de las enfermedades inflamatorias relacionadas, muchas de ellas asociadas con la obesidad. La cascada de efectos beneficiosos producidos por PGC-1 α y que derivan en una supresión de la inflamación crónica, van desde inducir una mayor vascularización del músculo, incrementar su capacidad de detoxificación de las especies reactivas del oxígeno (ROS), mejorar las capacidades metabólicas de este tejido mediante la biogénesis mitocondrial y sobre todo la inducción de la expresión de toda una serie de genes implicados en los efectos beneficiosos del ejercicio (los cuales denominaron “genes del ejercicio”), desde enzimas oxidativas a posibles factores secretados por el músculo (Handschin and Spiegelman 2008).

Entre los beneficios del ejercicio podemos destacar una mejora de la función cognitiva que se ha relacionado con el aumento de la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Estudios recientes con ratones ha demostrado que la expresión forzada de FNDC5 en las neuronas corticales primarias aumenta la expresión de BDNF, mientras que la caída de FNDC5 reduce BDNF. Estos hallazgos vinculan el ejercicio de resistencia y los mediadores metabólicos importantes, PGC- 1 α y FNDC5, con la expresión de BDNF en el cerebro (Wrann, White et al. 2013).

1.5.4 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA IRISINA

La sospecha de que la proteína PGC-1 α podría estar implicada en la secreción por parte del músculo de proteínas con una función endocrina condujo, a la realización de una serie de estudios para intentar demostrar este hecho. Se estudiaron ratones transgénicos que sobreexpresaban PGC-1 α en músculo, demostrándose que estos animales eran resistentes a la obesidad relacionada con la edad y a la diabetes, lo que sugería que presentaban algún tipo de alteración del balance energético sistémico. El estudio se centró en los genes encargados de activar el programa termogénico y el desarrollo del tejido adiposo pardo (TAP), descubriendo que en el tejido adiposo subcutáneo (TAS) de estos ratones transgénicos aparecían una serie de adipocitos con características similares a los adipocitos marrones, con una gran expresión de ARNm de UCP-1, propio del TAP. También observaron una mayor cantidad de células multiloculares en este tejido que presentaban grandes concentraciones de la proteína UCP-1. Por el contrario, tanto en el tejido adiposo subcutáneo gluteal (TAVg) como en el tejido adiposo pardo (TAP) no se observaban diferencias. Este modelo y sus efectos (llamado fenómeno de *browning*) también fue observado al someter a ratones de la cepa salvaje a distintos tipos de ejercicio durante 3 semanas (Boström, Wu et al. 2012).

Para evaluar si el fenómeno de *browning* era producido efectivamente por un factor secretado procedente del músculo esquelético, el grupo de Spiegelman realizó un experimento en el que añadía a un cultivo primario de adipocitos del TAS, medio de cultivo libre de suero procedente de miocitos que expresaban PGC-1 α , observando en estos adipocitos el incremento de ARNm de varias proteínas específicas del TAP. Mediante el uso de chips de expresión génica pudieron aislar una serie de proteínas reguladas por la acción de la PGC-1 α y con la capacidad en teoría de ser secretadas por el músculo esquelético. Se probó la acción de estas proteínas sobre cultivos primarios de adipocitos de TAS, descubriendo que el factor implicado en el fenómeno de *browning* era la FNDC5. Como se mencionó anteriormente a partir de la proteína FNDC5 se genera la irisina que se consideró como una mioquina capaz de iniciar la maquinaria termogénica en el tejido adiposo blanco (figura 1.18). Sin embargo, los datos aportados mediante técnicas de inmunodetección mostraron una serie de discrepancias con respecto al peso de la irisina y de su modificación proteolítica, puesto que los tamaños de las bandas identificadas como pertenecientes a la irisina en ningún momento fueron inferiores a 20 kDa, y utilizando anticuerpos específicos frente a la región endógena de la FNDC5 se detectaron grandes cantidades de la proteína completa en el medio de cultivo libre de células. Estos datos sugieren que la proteína FNDC5 puede ser secretada también en su forma completa y que todavía hace falta más conocimiento sobre los mecanismos exactos mediante los cuales esta proteína es secretada por parte de las células musculares (Boström, Wu et al. 2012).

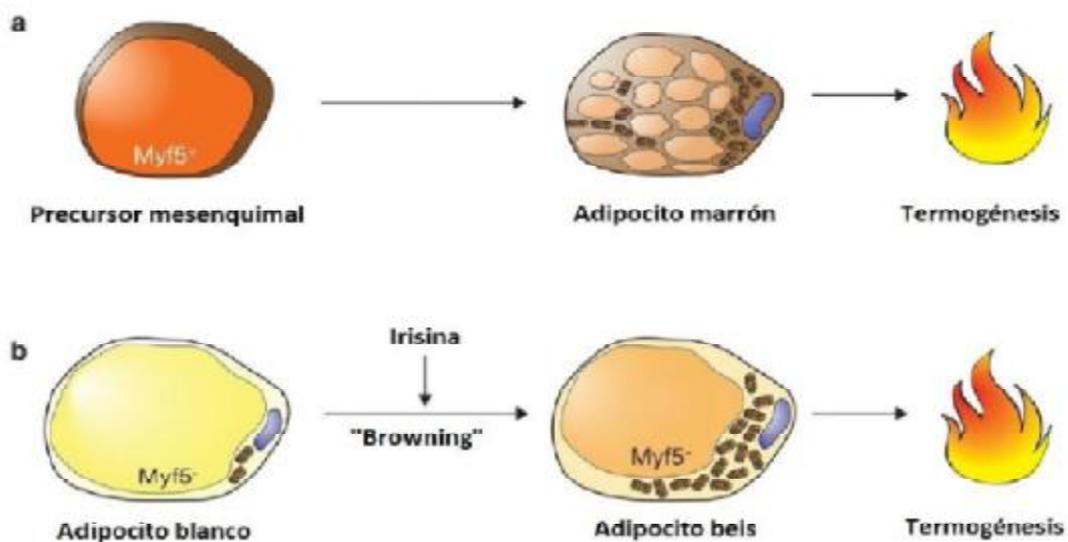


Figura 1.18. Diferentes modelos de termogénesis mediada por adipocitos. (a) Termogénesis clásica de los adipocitos marrones, (b) termogénesis mediada por los adipocitos beis inducidos por la acción de la irisina (Kornfeld and Brüning 2012)

Para ensayar los efectos de esta proteína *in vivo*, el grupo de Spiegelman forzó la sobreexpresión de la proteína completa FNDC5 en el hígado de ratones sometidos a una dieta alta en grasa de la cepa C57BL/6, por ser una cepa susceptible a la obesidad y la diabetes inducida por la dieta. Con los datos aportados con este experimento, se concluyó que el incremento de FNDC5 en la circulación podría aumentar el gasto energético, reducir el peso

corporal y mejorar la resistencia a insulina inducida por la dieta. Como aseveración final, el grupo de Spiegelman destacó el futuro potencial de esta proteína para poder ser usada en la clínica en situaciones de obesidad o resistencia a insulina mediante la inyección directa del péptido y así inducir la termogénesis en el TAS humano y mejorar las condiciones metabólicas del individuo (Boström, Wu et al. 2012). Desde la publicación de este trabajo, han surgido numerosos comentarios en las revistas científicas más relevantes, en las que se destaca esta investigación, pero también se demanda un mayor conocimiento e investigación futura sobre la irisina, su papel en el fenómeno de *browning* y sus efectos fisiológicos (Cunha 2012, Kelly 2012, Sanchis-Gomar, Lippi et al. 2012, Villarroya 2012).

La pérdida de peso, ya sea por la cirugía bariátrica o por la restricción de energía, disminuye los niveles circulantes de irisina (Huh, Panagiotou et al. 2012, Crujeiras, Pardo et al. 2014). Curiosamente, esta reducción de la concentración de irisina después de la pérdida de peso fue invertida en aquellos pacientes que recuperaron su peso original (Crujeiras, Pardo et al. 2014). Sin embargo, en otros estudios no se observan concentraciones inferiores de irisina en los pacientes obesos comparados con individuos controles, así como una correlación negativa con el IMC (Moreno-Navarrete, Ortega et al. 2013, Sanchis-Gomar, Alis et al. 2014). Curiosamente, los niveles de irisina en estos estudios divergieron enormemente (de 24 ng/l a 2 mg/l) (Sanchis-Gomar, Alis et al. 2014). Esta discrepancia podría basarse en cualquiera de las siguientes razones: las diferencias metodológicas en los ensayos, ya que, como se mencionó anteriormente, no hay un consenso sobre la identidad de la parte soluble de la proteína de la membrana FNDC5; diferentes mecanismos en la secreción; y diferencias entre los epítomos reconocidos por los anticuerpos de distintos fabricantes comerciales (Figura 1.19).

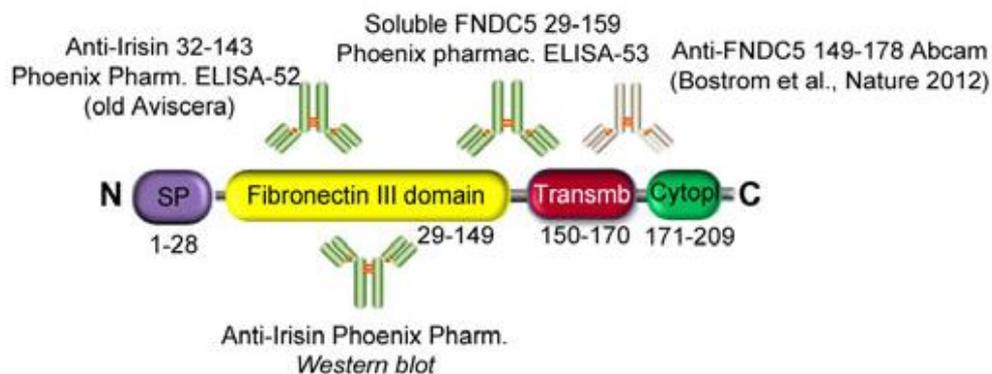


Figura 1.19. Representación esquemática de la proteína FNDC5, mostrando la ubicación de sus aminoácidos, incluyendo los epítomos reconocidos por diferentes anticuerpos comerciales.

La controversia ha surgido debido a que muchas investigaciones han puesto en duda el principal papel beneficioso de la irisina. Por un lado hay inconsistencias en cuanto a la regulación de FNDC5/irisina por el ejercicio (Huh, Panagiotou et al. 2012, Timmons, Baar et al. 2012) y, también diferentes informes han indicado que los niveles circulantes de irisina en los seres humanos se correlacionan positivamente con los parámetros de adiposidad, como el IMC (Huh, Panagiotou et al. 2012, Crujeiras, Pardo et al. 2014, Pardo, Crujeiras et al. 2014). Un análisis más detallado se centró en los trastornos metabólicos relacionados con la obesidad y mostró una asociación de la irisina con marcadores de la glucosa y lípidos perturbando la homeostasis de la obesidad (Crujeiras, Zulet et al. 2014, Lopez-Legarrea, de la Iglesia et al.

2014). Las diferencias entre las personas sanas y enfermas pueden explicar estas discrepancias. Sin embargo, la forma teórica de 12 kDa de irisina todavía no se ha identificado en la circulación en los seres humanos, la capacidad de los anticuerpos disponibles para detectar FNDC5/irisina también ha sido puesta en duda. De hecho, en una cohorte que va desde la anorexia a la obesidad mórbida, la masa grasa se reveló como el principal factor que explica aproximadamente el 30% de la variabilidad en los niveles de irisina en el plasma, independiente de la edad, la masa grasa libre, la actividad física diaria, el gasto de energía en reposo y el IMC(Pardo, Crujeiras et al. 2014)(Pardo, Crujeiras et al. 2014)(Pardo, Crujeiras et al. 2014). La masa grasa puede ser considerada como el principal factor para explicar los niveles circulantes de irisina (Crujeiras, Pardo et al. 2014).

Es importante destacar que la contribución del tejido adiposo a los niveles de irisina circulante fue confirmada por un estudio molecular en animales, que demostró que la secreción del tejido adiposo podría contribuir a aumentar los niveles circulantes de FNDC5/irisina (Roca-Rivada, Castelao et al. 2013). Este trabajo identifica por primera vez la expresión y secreción de FNDC5/irisina por el tejido adiposo visceral y, en mayor medida, por el tejido adiposo subcutáneo en ratas *ad libitum*. Además, se investigó cómo aumentó con el ejercicio la resistencia a corto plazo de FNDC5/secreción irisina por el tejido adiposo, así como la restricción de alimentos disminuye su secreción en animales modelos. En consecuencia, la grasa de los animales anoréxicos, basados en la actividad, mostró escasa secreción de FNDC5/irisina aunque, sorprendentemente, el tejido adiposo de los individuos obesos segregó exceso de esta proteína (Roca-Rivada, Castelao et al. 2013).

Por otra parte, la mejora en los parámetros metabólicos inducida por la dieta fue concomitante con una disminución en los niveles de irisina circulante (Lopez-Legarrea, de la Iglesia et al. 2014). Además, se identificó la irisina como un factor potencial asociado a la progresión de la resistencia a la insulina en los pacientes que recuperan su pérdida de peso inducida por la dieta (Crujeiras, Zulet et al. 2014). Por lo tanto, estos hallazgos identifican a la irisina y la leptina como factores importantes que contribuyen a la aparición de la resistencia a la insulina. El riesgo de resistencia a la insulina durante el período de mantenimiento de peso después de una intervención dietética fue mayor entre los pacientes con niveles altos de irisina y leptina (Crujeiras, Zulet et al. 2014). Resultados similares fueron encontrados en estudios anteriores, donde se muestra una asociación positiva entre los niveles de irisina circulante o la expresión de FNDC5 y las concentraciones de insulina en ayunas y el HOMA-IR (Timmons, Baar et al. 2012, Staiger, Böhm et al. 2013). Además, existe una correlación positiva significativa entre la línea de base de los niveles circulantes de irisina y la resistencia a la insulina, según la evaluación de HOMA-IR(Hee Park, Zaichenko et al. 2013).

Los trastornos en el metabolismo lipídico por una condición de exceso de peso corporal también parecen estar regulados por la irisina, como sugiere su asociación con los niveles de TG y el índice aterogénico colesterol total/HDL-colesterol o los niveles de Apo B (apolipoproteína B). Los niveles de irisina se redujeron en paralelo con estos factores aterogénicos en los pacientes con síndrome metabólico después de un programa de energía restringida (Iglesia, Lopez-Legarrea et al. 2014).

En conjunto, estas evidencias apoya la hipótesis de que el aumento de la irisina circulante puede ser una respuesta adaptativa para compensar la disminución de la sensibilidad a la insulina y otros trastornos metabólicos asociado con la obesidad (Højlund and Boström 2012, Huh, Panagiotou et al. 2012). Se sugiere que la irisina proporciona una retroalimentación fisiológica que se incrementa en situaciones metabólicas desfavorables, lo que provoca un mecanismo de compensación que puede revertirse una vez que el estado metabólico alterado se restaura tras de la pérdida de peso (Lopez-Legarrea, de la Iglesia et al. 2014).

En cuanto a las enfermedades metabólicas, diferentes estudios han indicado niveles inferiores de irisina en pacientes con DM2 (Choi, Kim et al. 2013, Liu, Wong et al. 2013, Moreno-Navarrete, Ortega et al. 2013) que podrían desempeñar un papel en la llamada resistencia al ejercicio (Højlund and Boström 2012). Sorprendentemente, la relación negativa entre la irisina y DM2 no se encuentra en las personas obesas, y también se ha demostrado la correlación entre la irisina y la mayoría de los signos de resistencia a la insulina en las poblaciones de personas no diabéticas (Hee Park, Zaichenko et al. 2013, Liu, Wong et al. 2013, Crujeiras, Zulet et al. 2014). El patrón observado de la secreción irisina parece asemejarse a la de la leptina en los sujetos obesos. Como la leptina, la irisina ha atraído considerablemente la atención debido a su posible potencial terapéutico propuesto para la obesidad y la diabetes, incluso para mejorar la esperanza de vida. Sin embargo, una y otra vez como la leptina, las concentraciones circulantes (Huh, Panagiotou et al. 2012, Stengel, Hofmann et al. 2013, Crujeiras, Pardo et al. 2014) y los niveles de expresión de la irisina en los tejidos musculares y adiposos (Roberts, Bayless et al. 2013, Roca-Rivada, Castela et al. 2013) se incrementan en la obesidad, lo que sugiere la posible resistencia a la irisina (Swick, Orena et al. 2013). Así, como la irisina es secretada por el tejido adiposo (Roca-Rivada, Castela et al. 2013), los niveles reducidos de la misma indican una DM2 (Choi, Kim et al. 2013, Liu, Wong et al. 2013, Moreno-Navarrete, Ortega et al. 2013) y se explican por una disminución de la grasa corporal en los casos de diabetes deficiente de insulina no controlada, similar a la leptina (Mohammadzadeh and Zarghami 2013).

La resistencia potencial a la irisina representada en la obesidad podría promover la secreción de la insulina, similar a la hiperinsulinemia y que conduce a la resistencia a la insulina y otros trastornos asociados con la obesidad. Este hipótesis, además, podría estar apoyada por la asociación descrita entre el músculo y el hígado (Gouni-Berthold, Berthold et al. 2013, Polyzos, Kountouras et al. 2014) y el aumento de los niveles de irisina, el estrés oxidativo y la inflamación; todos estos procesos están involucrados en el aparición de la resistencia a la insulina, enfermedades cardiovasculares (Gratas-Delamarche, Derbré et al. 2014) y representan un posible vínculo entre la obesidad y sus comorbilidades (Vincent, Innes et al. 2007, Crujeiras, Díaz-Lagares et al. 2013).

1.6 MICRO ARNs

Hace casi dos décadas se descubrieron una nueva clase de pequeños ARNs no codificantes, los *microARNs* (*miARNs*), que añadieron un nuevo nivel de complejidad al control de la homeostasis metabólica, ya que estos *miARNs* regulan la expresión génica de manera post-transcripcional, modificando al ARN mensajero (Dumortier, Hinault et al. 2013).

La ruta de síntesis de un *miARN* maduro es un proceso complejo que implica dos pasos distintos. El primero de ellos tiene lugar en el núcleo y el siguiente en el citoplasma, donde se genera un nucleótido maduro de cadena sencilla de aproximadamente 22 nucleótidos (Filipowicz, Bhattacharyya et al. 2008). En general, los genes de *microARNs*, que pueden estar localizados tanto en regiones intergénicas así como en los exones o intrones de otros genes, son transcritos por la polimerasa II, resultando un precursor (*pre-miARN*) que tiene una longitud aproximada entre 100 e 1000 nucleótidos. Estos *pre-microARN* frecuentemente tienen una cola poliA en su extremo 5' y están poliadenilados, pudiendo codificar secuencias para múltiples genes *miARNs* distintos. Dentro del núcleo el complejo microprocesador Drosha, reconoce la estructura secundaria en forma de bucle dentro del *pre-microARN* provocando la escisión y la liberación de un precursor en forma de horquilla con aproximadamente 70 nucleótidos: *pre-microARN*, que es transportado al citoplasma por el complejo exportina-5/Ran-GTP. Una vez en el citoplasma se asocia con la enzima Dicer resultando en el procesamiento la liberación de una cadena doble de aproximadamente 22 nucleótidos: *miARN-miARN**. Solamente una de las cadenas será la encargada de la represión traslacional del ARN mensajero. En animales, el principal mecanismo de regulación por *miARNs* viene dado por su capacidad de unión por homología parcial a secuencias complementarias en las regiones 3'-UTR de diferentes ARNs diana, provocando en la mayoría de los casos silenciamiento génico por bloqueo de la traducción, aunque los mecanismos exactos para reprimir la expresión génica aún continúan en debate (Filipowicz, Bhattacharyya et al. 2008). Una vez que el *miARN* se une a su gen diana puede provocar silenciamiento a través de distintos mecanismos:

1. Bloqueando el inicio y/o la elongación de la traducción.
2. "Secuestrando" el *ARNm* lejos de la "maquinaria" de traducción y transferencia a cuerpos de procesamiento donde será degradado.
3. También se ha observado cierto grado de degradación del *ARNm*.
4. Mecanismos alternativos dependiendo del contexto celular, estructura secundaria del *ARNm* o proteínas efectoras asociadas.

Un mismo *miARN* puede presentar secuencias de reconocimiento en las regiones 3'-UTRs de numerosos genes, lo que incrementa considerablemente su capacidad reguladora (estimaciones informáticas indican que un mismo *miARN* puede regular hasta 100 dianas distintas o incluso más), pudiendo afectar de forma colectiva a diversos elementos de una misma ruta o proceso biológico. Alternativamente, un mismo gen diana puede estar sometido a la acción reguladora de numerosos *miARNs* (Filipowicz, Bhattacharyya et al. 2008).

En este sentido, diversos estudios de expresión y funcionales documentaron la presumible implicación de familias de *miARNs* en la regulación de procesos biológicos diversos que incluyen la proliferación y el metabolismo celular, la apoptosis, desarrollo neuronal, hematopoyesis, transformación tumoral, mecanismos de control epigenético como la propia metilación del ADN y la modificación de histonas, y más recientemente la reproducción,

inflamación, formación de tejido adiposo pardo, homeostasis glucídica, sensibilidad a la insulina y diversas rutas metabólicas tales como el desarrollo, la proliferación celular y la neoplasia (Perera and Ray 2007, Fineberg, Kosik et al. 2009, Friedman and Jones 2009, Gunaratne 2009, Heneghan, Miller et al. 2010, Papaioannou and Nef 2010, Schaefer, Jung et al. 2010, Hilton, Neville et al. 2012, Sacco and Adeli 2012, Flowers, Froelicher et al. 2013, Gaytan, Sangiao-Alvarellos et al. 2013, Hasuwa, Ueda et al. 2013, Jeon, Esquejo et al. 2013, Kornfeld, Baitzel et al. 2013, Sangiao-Alvarellos, Manfredi-Lozano et al. 2013, Trajkovski and Lodish 2013, Zhu, Chen et al. 2013). Aunque no existe un cuadro claro sobre la implicación de los *miARNs* en el desarrollo y/o mantenimiento de la obesidad, como ya mencionamos sí que se conocen determinados *miARNs* que participan en la homeostasis de la glucosa, metabolismo de lípidos y ruta de señalización de la insulina (Krichevsky, King et al. 2003, Kloosterman and Plasterk 2006, Heneghan, Miller et al. 2010, Alexander, Lodish et al. 2011, Frost and Olson 2011). En este sentido a continuación expondremos una serie de ejemplos.

Mir-375 regula la secreción de insulina del páncreas (Poy, Hausser et al. 2009, Bolmeson, Esguerra et al. 2011). Trajkovski *et al.* demostraron que tanto *mir-107* como *mir-103* están sobreexpresados a nivel hepático y en el tejido adiposo de ratones obesos y su silenciamiento en estos tejidos mejora la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de la glucosa (Trajkovski, Hausser et al. 2011). Se sabe que el cluster, *mir-143/mir-145*, está sobreexpresado a nivel hepático en ratones obesos, independientemente de que esta obesidad sea de tipo genético o inducida por la dieta; por el contrario la deficiencia en este cluster protege del desarrollo de resistencia a la insulina asociada a la obesidad (Takanabe, Ono et al. 2008, Jordan, Krüger et al. 2011). Varios trabajos demostraron que la familia *let-7*, unos de los primeros *miARNs* descubiertos, regula el metabolismo de la glucosa en numerosos tejidos. La sobreexpresión de *let-7* en ratones provoca fallos en la tolerancia a la glucosa y un descenso en la secreción de insulina pancreática inducida por la glucosa. Además, altos valores de *let-7* también se relacionan con un descenso en la masa grasa y el peso corporal. Por el contrario, la inhibición farmacológica de esta familia de *miARNs* es suficiente para prevenir y tratar fallos en la tolerancia a la glucosa en ratones con obesidad inducida por la dieta, debido en parte a un aumento en la sensibilidad a la insulina a nivel hepático y muscular (Frost and Olson 2011). Por otra parte, ratones transgénicos para *let-7g* mostraron resistencia a la insulina y fallos en la tolerancia normal a la glucosa (Zhu, Shyh-Chang et al. 2011). Un estudio reciente identificó 21 *miARNs*, que se expresan de forma diferente en el tejido adiposo epididimal en ratones normales alimentados con una dieta estándar y en ratones obesos obtenidos por una dieta alta en grasa (Chartoumpekis, Zaravinos et al. 2012). Ortega *et al.* analizaron 799 *miARNs* en grasa subcutánea humana, de estos un 6,2% difirieron significativamente entre pacientes obesos y pacientes control. 17 de estos *miARNs* se correlacionan con el IMC y parámetros metabólicos (glucosa en ayunas y / o triglicéridos) (Ortega, Moreno-Navarrete et al. 2010). Estos datos son semejantes a los obtenidos por Klöting *et al.* en el tejido adiposo blanco de sujetos obesos, donde observaron correlaciones significativas entre la expresión de *miARNs* y parámetros metabólicos clave, incluyendo el área de la grasa visceral, la HbA1c, la concentración de glucosa plasmática en ayunas, la leptina, la adiponectina, y IL-6 circulante (Klöting, Berthold et al. 2009). Otro estudio encontró un conjunto de 11 *miRNAs* específicos que disminuyen en sujetos obesos tanto en el tejido adiposo blanco como en adipocitos aislados (Arner, Mejhert et al. 2012).

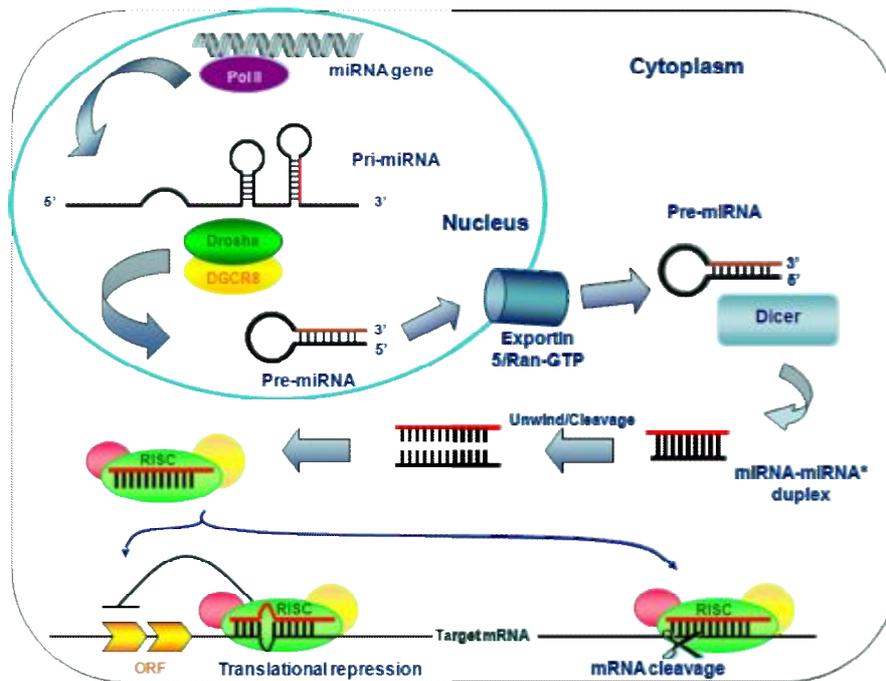


Figura 1.20. Ruta de síntesis de los *miRNAs*.

Un grado bajo de inflamación en el tejido adiposo blanco es una característica clave de la obesidad, y se han encontrado *miRNAs* estrechamente asociados con los trastornos metabólicos ocasionados por la obesidad y relacionados con la inmunidad. La regulación de los *miRNAs* es indispensable para la estabilidad del proceso inmunológico y la inmunidad adaptativa, los *miRNAs* pueden tener un papel clave en la diferenciación de células β (O'Carroll, Mecklenbrauker et al. 2007, Zhou, Wang et al. 2007, Xiao, Srinivasan et al. 2008). En este sentido se ha demostrado que los *miRNAs* (*miR-155*, *miR-146a*, *miR-21*, *miR-9*) tienen un papel importante en la inmunidad innata (O'Neill, Sheedy et al. 2011).

Varios estudios apoyan firmemente el papel de los *miRNAs* como mediadores importantes de la inflamación en el tejido adiposo. Se ha planteado que *miRNAs* específicos regulan la polarización de macrófagos y la expresión y secreción de adipocinas en el tejido adiposo blanco y que un subconjunto de *miRNAs* podrían ser empaquetados en los adipocitos y liberados en microvesículas a la sangre o células vecinas, mediando en la comunicación intercelular. Por otra parte, con el reciente descubrimiento de que los *miRNAs* se secretan en la circulación de una manera estable y se correlacionaron estrechamente con parámetros metabólicos cruciales, los perfiles de *miRNAs* plasmáticos podrían ser utilizados como biomarcadores para el síndrome metabólico (Ge, Brichard et al. 2014).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

- Estudiar los niveles basales de GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY en un grupo amplio de pacientes obesos y normales.
- Conocer la respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY en un grupo amplio de pacientes obesos y normales.
- Estudiar el papel de los diferentes índices de secreción y sensibilidad a la insulina sobre la secreción de GH en un grupo amplio de pacientes obesos y normales.
- Valorar la posible participación de la ghrelina en la secreción postprandial de GH en un grupo amplio de pacientes obesos y normales.
- Estudiar los niveles basales de GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY en pacientes con hipopituitarismo.
- Conocer la respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY en pacientes con hipopituitarismo.
- Conocer el papel de la respuesta de GH tras la administración oral de glucosa como índice de secreción de GH para valorar el déficit de GH del hipopituitarismo.
- Estudiar los niveles basales de irisina en pacientes obesos, hipopituitarios, acromegálicos y normales.
- Estudiar de forma masiva mediante el uso de *arrays* la alteración de *microARNs* a nivel hipotalámico en modelos experimentales crónicos de obesidad inducida por la dieta y subnutrición. Así como estudiar la respuesta de ciertos *microARNs* hipotalámicos alterados en los *arrays*, en modelos experimentales de dieta alta en grasa a medio y corto plazo.
- Estudiar la respuesta de ciertos *microARNs* hipotalámicos que se ven alterados por la dieta, en los apartados anteriores, tras un tratamiento con leptina.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. PACIENTES Y CONTROLES

- 51 pacientes obesos de etiología idiopática, con un IMC > 30 kg/m², ninguno de estos pacientes recibió medicación previamente a su inclusión en el estudio.
- 17 pacientes con hipopituitarismo diagnosticados clínicamente y confirmados bioquímicamente, todos los pacientes recibieron tratamiento sustitutivo adecuado, excepto de GH. Todos los pacientes hipopituitarios presentaban una respuesta de GH tras hipoglucemia insulínica inferior a 3 µg/l y con afectación de al menos dos ejes hipofisarios.
- 20 pacientes con acromegalia diagnosticados clínica y bioquímicamente.
- 34 voluntarios sanos como grupo control, de similar edad y sexo a los otros grupos estudiados.

Fueron criterios de exclusión de los voluntarios los siguientes supuestos:

- Diabetes.
- Enfermedad hepática o renal.
- Enfermedad neoplásica.
- Enfermedad cardiovascular.
- Trastorno psiquiátrico grave o incapacidad mental.
- Empleo de medicación que afecte al metabolismo lipídico.
- Uso de fármacos antiinflamatorios o presencia de una situación proinflamatoria.
- Fumar
- Cambios significativos de peso el año anterior al estudio.
- Ingesta excesiva de alcohol.
- Hábitos dietéticos inusuales.

Todos los pacientes y controles recibieron la hoja de información en la que se indicaban las características del estudio y el consentimiento informado. Los aspectos éticos de este estudio se adhieren a los principios de la VII declaración de Helsinki de la asociación médica mundial (2002) y a los criterios establecidos por el convenio de Oviedo (1997-2000), así como la legislación española, Ley 14/2007 de investigación biomédica. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia.

3.2. PROTOCOLO GENERAL DE ESTUDIO CON PACIENTES

Se estudió la secreción estimulada de ghrelina acilada y no acilada, PYY y GH tras la sobrecarga oral de glucosa. A los pacientes y controles se les indicó específicamente que siguieran una dieta normocalórica y sin restricción de hidratos de carbono, con objeto de que mantuvieran un peso y balance calórico estable en la semana previa a la realización de las pruebas.

La obesidad se definió por un IMC $> 30 \text{ Kg/m}^2$. El diagnóstico de hipopituitarismo se estableció por un antecedente de lesión estructural hipotalámica o hipofisaria tratada con cirugía y/o radioterapia necesitando posteriormente tratamiento hormonal sustitutivo para déficit tiroideo, adrenal o gonadal.

El diagnóstico de acromegalia se estableció por la presencia de fenotipo sugerente, conjuntamente con IGF-I elevado y ausencia de supresión de los niveles de GH a valores inferiores a $1 \mu\text{g/l}$ tras SOG con 75 gramos.

En la evaluación inicial se realizó el fenotipado del paciente, incluyendo la valoración clínica general inicial, valoración antropométrica y porcentaje de grasa corporal, analítica general, factores de riesgo cardiovascular clásicos, resistencia insulínica, marcadores de inflamación y analítica hormonal.

Las pruebas de estimulación de la secreción de ghrelina acilada, no acilada, PYY y GH se realizaron de la siguiente forma: se determinó la secreción tras la administración de la SOG (75g de glucosa por vía oral y diluida en 400 ml de agua, en el tiempo 0), se recogieron muestras de sangre venosa en los tiempos: 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 y 300 min.

En la valoración inicial del paciente se llevaron a cabo las siguientes medidas:

- **Talla:** se obtuvo mediante un estadímetro fijo. Con el paciente de pie, libre de calzado, con los talones unidos por el eje longitudinal de ambos pies y con un ángulo aproximado de 45° , brazos relajados a ambos lados de cuerpo, la cabeza se colocó de acuerdo al plano de Frankfurt (que une el borde inferior de la órbita de los ojos y el superior del meato auditivo externo). Los tobillos, los glúteos, la parte superior de la espalda y la parte posterior de la cabeza en contacto con la pared vertical. La mirada examinando hacia el frente e inhalando profundamente, se colocó el estadímetro sobre el vértex del cráneo y se procedió a leer y apuntar la lectura de la estatura, la cual se reportó en centímetros.
- **Peso:** se obtuvo mediante una báscula TANITA Body Composition Analyzer, Modelo BC-418, con el mínimo de ropa y descalzo, colocando los pies en el centro de la báscula y en forma simétrica a la plataforma, con ambas manos debe sujetar las mancuernas, cuidando que no se moviera en el momento de tomar la lectura del peso, el cual se reportó en kilogramos.
- **Grasa corporal:** se procedió después a medir la composición corporal mediante una báscula TANITA. Para la toma de la impedancia, se indicó al paciente que lo hiciera sin zapatos y con el mínimo de ropa posible. Colocando los pies en el centro de un tapete y al momento que se le indicó subir a la plataforma de la báscula, su posición seguirá siendo de pie, colocando las plantas de los pies exactamente sobre los indicadores

plantares metálicos, sin salir de sus bordes, y cuidando de no despegar las plantas de los pies, con ambas manos se agarrarán las mancuernas; se procedió a realizar las mediciones del masa grasa corporal total, incluyendo en el programa de la báscula el peso de los pacientes, la estatura, su edad en años, el sexo y la fecha de la medición.

- Masa grasa (kg) y porcentaje corporal de masa grasa (%): se realizó mediante un analizador segmentario de la composición corporal por impedancia bioeléctrica (Tanita® modelo BC-418).
- Circunferencia de cintura: se empleó una cinta SECA modelo 200 con intervalo de 12-200 y división milimétrica midiéndose el punto medio de la distancia entre la última costilla flotante y la cresta ilíaca con el individuo de pie, relajado y al final de una espiración suave.
- Circunferencia de la cadera: se empleó una cinta SECA modelo 200 con intervalo de 12-200 y división milimétrica midiéndose el máximo alcanzado al pasar la cinta métrica de forma horizontal a nivel de la cadera
- Presión arterial: se determinó con un esfigmomanómetro de tamaño adecuado y siguiendo los criterios de la American Heart Association.
- Índice de masa corporal (kg/m²): se calculó dividiendo el peso en kilogramos por el cuadrado de la talla en metros (fórmula de Quetelet) y se clasificó a los sujetos siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud.

3.3 ÍNDICES DE SENSIBILIDAD Y SECRECIÓN INSULÍNICA

Se estudiarán los siguientes índices de secreción y sensibilidad insulínica:

A) Sensibilidad a la insulina:

-HOMA-IR se estimó de acuerdo con el modelo:

Resistencia insulina = insulina plasmática ($\mu\text{UI/ml}$) x glucosa plasmática (mmol/l)/22,5
(Matthews, Hosker et al. 1985)

-QUICKI calculado según la siguiente fórmula:

$1/((\log \text{insulina ayunas (mUI/l)} + (\log \text{glucemia(mg/dl)})))$ (Katz, Nambi et al. 2000)

-MATSUDA obtenido según el siguiente cálculo, entre los tiempos 0 y 120 min:

$10.000/(\sqrt{(\text{glucosa}_0 (\text{mmol/l}) \times \text{insulina}_0 (\mu\text{U/ml})) \times \text{concentración media glucosa en la SOG} \times \text{concentración media insulina en la SOG}}$ (Matsuda and DeFronzo 1999)

B) Secreción de la insulina:

-Áreas bajo la curva (AUC) se calcularon mediante el método trapezoidal.

-La relación entre la secreción de insulina y glucosa según la fórmula:

$$AUCR = AUC_{ins_{0-120}}(\mu U/ml) / AUC_{glu_{0-120}}(mg/dl)$$

-STUMVOLL, estimado según el modelo:

$$0,156 - 0,0000459 \times insulina_{120} (pmol/l) - 0,000422 - 0,000321 \times insulina_0 (pmol/l) - 0,00541 \times glucosa_{120} (mmol/l)$$

-HOMA- β :

$$(20 \times insulina_0 (\mu UI/ml)) / (glucosa_0 (mmol/l) - 3,5) \text{ (Wallace, Levy et al. 2004).}$$

3.4 REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS

Las pruebas comenzaron a las 8:00 de la mañana con el sujeto en decúbito supino y tras una noche de ayuno. Se colocó un catéter intravenoso (IV) en una vena del antebrazo, que se mantuvo permeable con infusión lenta de suero salino (NaCl 150 mmol/l), tras una espera de 15 minutos se procedió a la primera extracción de sangre efectuándose las siguientes a intervalos regulares. El estímulo (75g de glucosa) se administró en el tiempo 0. Se recogieron 15 ml de sangre venosa en el tiempo 0 y 8 ml en el resto de los tiempos.

Todas las muestras de sangre obtenidas fueron inmediatamente centrifugadas, separadas y congeladas a $-80^{\circ}C$. Para aquellas destinadas a la determinación de ghrelina y PYY₁₋₃₆ se utilizaron, expresamente los siguientes tubos:

- Tubo 1: Tubo vacío con ácido etildiaminotetraacético (EDTA) K3 para 2 ml de sangre con conservante Aprotinina para cuantificación de ghrelina total.
- Tubo 2: Tubo vacío con EDTA K3 para 2 ml de sangre con conservante 4- (2-aminoetil) bencenosulfonilo de hidrocloreto de fluoruro (AEBSF) para cuantificación de ghrelina acilada.
- Tubo 3: Tubo vacío con EDTA K3 para 4 ml de sangre con conservante Aprotinina y dipeptidil peptidasa IV (DPP4) para cuantificación de PYY₁₋₃₆.

Los tres tubos se mezclarán por inversión cuidadosa 2-3 veces cada tubo y se colocarán en hielo. Inmediatamente después se centrifugarán a 1000 x g durante 10 minutos a $4-6^{\circ}C$. Después se guardarán las alícuotas de plasma correspondientes a $-80^{\circ}C$.

3.5 TÉCNICAS ANALÍTICAS

La concentración plasmática de las hormonas previamente citadas se realizó mediante kits comerciales siguiendo las especificaciones del fabricante:

-GH ($\mu\text{g/l}$): Ensayo inmunométrico quimioluminiscente (Immulite. EURO/DPC). CV intraensayo: 3,5; 3,4 y 4,2% para concentraciones de GH bajas, intermedias y elevadas, respectivamente. CV interensayo: 6,5%, 5,5 y 6,6 % para concentraciones de GH bajas, intermedias y elevadas, respectivamente.

-Insulina ($\mu\text{U/ml}$): Ensayo inmunométrico quimioluminiscente (Immulite 2000 Insulin, DPC, Los Angeles, CA, USA). Coeficiente de variación intraensayo de: 5,5; 3,3 y 3,7% para concentraciones de insulina bajas, intermedias y altas respectivamente. Coeficiente de variación interensayo de: 7,3; 4,1 y 5,3% para concentraciones de insulina bajas, intermedias y altas respectivamente.

-Ghrelin total (pg/ml): Radioinmunoensayo (Linco, St Charles, Missouri. USA). Coeficientes de variación intra e interensayo de 3,3-10% y 14,7-17,8% respectivamente.

-Ghrelin acilada (pg/ml): Radioinmunoensayo (Linco, St Charles, Missouri. USA). Coeficiente de variación intra e interensayo de 6,5-9,6% respectivamente.

-PYY₁₋₃₆ (pg/ml): Radioinmunoensayo (Linco, St Charles, Missouri. USA). Coeficiente de variación intra e interensayo de 2,9-9,4% y 5,5-8,5% respectivamente.

-Glucosa (mg/dl): Técnica de la glucose oxidasa (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

-Irisina (ng/ml): Elisa (Phonix Pharmaceuticals, Inc).

-IGF-1 (ng/ml): Ensayo quimioluminiscente (Nichols Institute, San Clemente, CA, USA). Coeficiente de variación intraensayo de: 4,8; 5,2 y 4,4% para concentraciones de IGF-1 bajas, intermedias y elevadas respectivamente. Coeficiente de variación interensayo de: 7,7; 7,4 y 4,7% para concentraciones de IGF-1 bajas, intermedias y altas respectivamente.

-Cortisol ($\mu\text{g/dl}$): Radioinmunoensayo (Linco, St. Charles, Missouri. USA). Coeficiente de variación intra e interensayo de 2,2-9,3% y 4,4-9,0% respectivamente.

-Leptina (ng/ml): Radioinmunoensayo (Mediagnost. Tübingen. Germany). Coeficiente de variación intra e interensayo de 5,3 y 13,6% respectivamente.

3.6 PROTOCOLO DE ESTUDIO DE *microARNs*

Esta parte se llevó a cabo con ratas y todos los experimentos fueron revisados y aprobados por los comités de bioética de la Universidad de A Coruña y el Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, de acuerdo con la Normativa de la Unión Europea para el uso de animales de experimentación. En todos los experimentos se usaron ratas macho de la cepa Wistar. En todos los casos los animales se mantuvieron con acceso libre a bebida, 12 horas luz/12 horas oscuridad y temperatura controlada.

3.6.1- MODELOS EXPERIMENTALES

3.6.1.1-Tratamientos con dietas

El objetivo global de este apartado es avanzar en la caracterización del papel de los *miARNs* a nivel hipotalámico en la regulación de aspectos claves de la función metabólica normal y alterada tanto por la obesidad como por una restricción calórica. Para llevar a cabo este objetivo se realizaron experimentos a largo, medio y corto plazo.

3.6.1.1.1-Experimentos a largo plazo:

Para definir el perfil hipotalámico de *microARNs* y su posible variación con diferentes pesos corporales, porcentaje de masa grasa, sensibilidad a la insulina y otros factores relacionados con la obesidad se realizaron experimentos a largo plazo, para ello se usaron 30 ratas. El día del destete (23 días de edad) los animales se dividieron en 3 grupos:

- 1 grupo en el cual los animales fueron alimentados con dieta estándar (ND), la cual tiene un valor energético de 3,85kcal/g procediendo el 10% de las calorías totales de grasa (Research Diets, Inc). Este grupo constituye el control del experimento.
- 1 grupo en el cual los animales se alimentaron con dieta alta en grasa (HFD) para obtener un modelo de obesidad. Este tipo de dieta posee 4,73kcal/g y un 45% del total de las calorías proviene de grasa (Research Diets, Inc).
- 1 grupo en el cual los animales se alimentaron con dieta estándar, pero restringida al 70% (CR) de lo que comen los animales control, obteniéndose de este modo un modelo de infrapeso.

Los animales se mantuvieron con estas condiciones de alimentación durante 3 meses, transcurrido este tiempo se procedió al sacrificio por decapitación, tomándose muestras de: suero e hipotálamo que se almacenaron a -80 °C hasta su análisis. Previamente tres días antes del sacrificio se analizó el porcentaje de grasa corporal y la masa grasa por resonancia magnética nuclear con el método EchoMRI (Sistema Echomedical).

3.6.1.1.2-Experimentos a corto plazo:

Evaluamos el impacto de la dieta HFD durante 2 semanas en un conjunto de *miRNAs* hipotalámicos. Para este fin, ratas adultas (Peso: 260 g \pm 4) fueron alimentadas con dieta HFD o ND. Las ratas se sacrificaron 15 días después del comienzo de la alimentación con HFD.

3.6.1.1.3-Experimentos a medio plazo:

En este experimento evaluamos el impacto de la dieta HFD durante 1 mes en el mismo conjunto de *miRNAs* hipotalámicos que antes. Las ratas adultas (Peso: 260 g \pm 4) fueron alimentadas con HFD o ND y sacrificadas a los 30 días después del comienzo de la alimentación con HFD.

3.6.1.2 Tratamientos con leptina

Se formaron dos grupos de ratas adultas (189 g \pm 9 g, 9 semanas de edad, n=7), uno se alimentó *ad libitum* y otro grupo fue privado de alimento durante 48 horas. Tanto el grupo alimentado (con valores normales de insulina, leptina, y glucosa), como el ayunado (estado asociado con bajos niveles de insulina, glucosa y leptina) recibieron 2 inyecciones ip de leptina (*ProSpec*, 1 mg/kg disuelto en 200 μ l de solución salina). En el grupo en ayuno el tratamiento se llevó a cabo 24 y 48 horas después de la retirada del alimento. Las inyecciones se iniciaron a las 8:00 AM y se llevaron a cabo en la fase luminosa. Los animales se sacrificaron 2 horas después de la segunda inyección (10:00 AM).

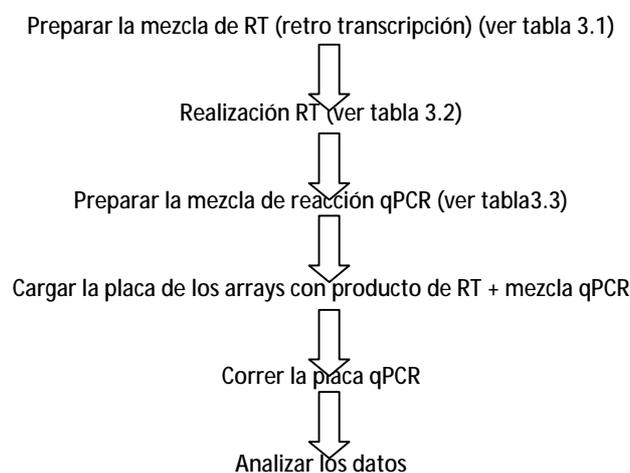
3.6.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.6.2.1 Análisis plasmáticos

Los niveles de insulina (*Millipore*), leptina y adiponectina (*Abcam*) se analizaron con ELISAS comerciales, de acuerdo con las especificaciones de los fabricantes. Los niveles de glucosa y triglicéridos en plasma se evaluaron utilizando un kit comercial basado en un método colorimétrico (*Spinreact*).

3.6.2.2 Extracción de ARNs y realización de *arrays*

Para los ensayos de *miRNAs*, el ARN total se extrajo con un Kit de aislamiento comercial: *mirVana miARN* (*Ambion, Inc*). La integridad y la calidad/concentración del ARN se determinaron mediante geles de agarosa y un Espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (*Thermo Scientific*) respectivamente. Una vez obtenido el ARN, los pasos a seguir para la realización de los *arrays* fueron los siguientes.



Componentes reacción RT	Volumen para una muestra (µl)	Volumen para diez muestra (µl)
Megaplex™ RT Primers (10x)	0,8	9,00
dNTPs con dTTP (100nM)	0,2	2,25
MultiScribe™ Reverse Transcriptase (50 U/ µl)	1,5	16,88
10 x RT Buffer	0,8	9,00
MgCl ₂ (25nM)	0,9	10,12
Inhibidor RNAasas (20 U/ µl)	0,1	1,12
H ₂ O libre de nucleasas	0,2	2,25
Total	4,5	50,62

Tabla 3.1. Preparación de la mezcla de reacción de la RT. En el volumen para diez muestras se tiene en cuenta un exceso para compensar posibles errores de pipeteo.

Etapa	Temperatura	Tiempo
Ciclos (40 ciclos)	16 °C	2 min
	42 °C	1 min
	50 °C	1 seg
Desnaturalización	85 °C	5 min
Enfriamiento	4 °C	∞

Tabla 3.2. Programa de la RT.

Componentes	Volumen para cada array
TaqMan® Universal PCR Master Mix, No AmpErase® UNG, 2x	450
Megaplex™ RT	6
H ₂ O libre de nucleasas	444
Total	900

Tabla 3.3. Preparación de la mezcla de reacción qPCR.

3.6.2.3 Análisis bioinformáticos

Una vez analizados los datos obtenidos en los *arrays*, analizamos las posibles dianas de aquellos *microARNs* que presentaron las diferencias más significativas, usando cinco algoritmos bioinformáticos conjuntamente: TargetScan, <http://www.targetscan.org/> (Lewis, Shih et al. 2003); Miranda, <http://www.microrna.org/microRNA/home.do> (John, Enright et al. 2004); PicTar, <http://pictar.mdc-berlin.de/> (Krek, Grün et al. 2005); Diana Lab, <http://diana.cslab.ece.ntua.gr/microT/> (Maragkakis, Reczko et al. 2009); y miRWalk <http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/> (Dweep, Sticht et al. 2011). Una vez hecho esto, seleccionamos aquellos *microARNs* que según al menos cuatro de los cinco algoritmos bioinformáticos tenían como posibles dianas genes implicados con rutas metabólicas alteradas en la obesidad, tales como resistencia a insulina, leptina, inflamación... para ensayarlos con posterioridad de manera individual y validar los resultados obtenidos en los *arrays*, los *miARNs* elegidos fueron los siguientes: *let-7a*, *mir-9*, *mir-30e*, *mir-132*, *miR-145*, *miR-200a* y *miR-218*. Posteriormente, usamos el Software de análisis Ingenuity Pathway (Ingenuity Systems, <http://www.ingenuity.com/>), para la identificación de rutas canónicas, usando las posibles dianas de los *miARNs* seleccionadas e identificadas en los algoritmos bioinformáticos mencionados previamente. A las rutas se les da una puntuación basada en la probabilidad de inclusión del número de moléculas en las redes generadas sobre la

probabilidad de una red que se genera por casualidad con moléculas al azar. Esta puntuación se generó como un log P de valor negativo. El análisis de la vía canónica se realizó comparando el conjunto de datos de interés contra la vía canónica conocida dentro de la base de datos (señalización y metabólica).

3.6.2.4 Retrotranscripción y PCR cuantitativa en tiempo real para *miARNs* individuales

Para la cuantificación de los *miARNs* primero se llevó a cabo una retrotranscripción específica usando 10 ng de ARN total con cebadores comerciales y con un kit de retrotranscripción siguiendo las instrucciones del fabricante (*Applied Biosystems*) (ver tabla 3.4 y 3.5). Después se llevó a cabo la PCR en tiempo real usando ensayos prediseñados (*Applied Biosystems*). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo como sigue: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 min, seguido por 40 ciclos de 95°C durante 15 s y 60°C durante 1 min (ver tabla 3.6). Para la determinación cuantitativa de *miRNA*, el gen RNU6 sirvió como referencia interna. La PCR en tiempo real se realizó en un termociclador de Roche (Roche Light Cycler 480).

Componentes	Volumen de mezcla para 15 µl de reacción
100 mM dNTPs (con dTTP)	0,15 µl
MultiScribe™ Reserve Transcriptase, 50U/ µl	1,00 µl
10X Tampón Transcripción inversa	1,50 µl
Inhibidor RNAasa, 20U/ µl	0,19 µl
Nucleasa-libre de agua	4,16 µl
Volumen total	8,00 µl

Tabla 3.4. Preparación de la mezcla de reacción de la RT. Se añaden 10ng de ARN en un volumen de 7µl.

Etapas	Temperatura	Tiempo
Mantener	16 °C	30 min
Mantener	42 °C	30 min
Mantener	85 °C	5 min
Mantener	4 °C	∞

Tabla 3.5. Programa de la RT.

Componentes	Volumen para 20 µl de reacción
TaqMan® Small RNA Assay, 20x	1,00 µl
Producto de la reacción de la RT previamente diluido	1,33 µl
TaqMan® Universal PCR Master Mix II (2x), no UNG	10,00 µl
H ₂ O libre de nucleasas	7,67 µl
Volumen total	20,00 µl

Tabla 3.6. Preparación de la mezcla de reacción qPCR.

3.6.2.5 Medición grasa corporal

Tres días antes del sacrificio de las ratas, analizamos su porcentaje y composición en grasa corporal. La grasa corporal y la masa magra fueron medidas por resonancia magnética nuclear con el método EchoMRI (Sistema Echomedical). Además, el hígado y la grasa blanca visceral y epididimal fueron diseccionados y pesados. Los índices somáticos se calcularon como la

relación entre el peso del tejido y la grasa corporal y expresadas como porcentaje. Las ratas se sacrificaron por dislocación cervical y se tomó sangre troncal. El hipotálamo fue disecado y se almacenado a -80°C hasta su posterior análisis.

3.7 ESTADÍSTICA

Las cifras del texto se expresan como media y los valores gráficos como media \pm error estándar de la media (con el fin de facilitar la visualización gráfica de los resultados).

Parte de las comparaciones se realizaron utilizando test univariantes, no paramétricos. Las comparaciones dentro de cada uno de los grupos (pacientes o controles) se hicieron utilizando el test de Wilcoxon.

Las comparaciones entre grupos (pacientes vs controles) se hicieron con el test de Fisher (para variables categóricas) y el de la U de Mann-Witney (para variables numéricas).

Las correlaciones de variables numéricas se establecieron utilizando la prueba de correlación de Spearman.

La significación estadística para los estudios de hipopituitarismo, acromegalia y *microARNs* se determinó por la prueba de la t de Student (experimentos con 2 grupos), ANOVA de un solo sentido con un test *post hoc* de Tukey (experimentos con más de 2 grupos y 1 variable).

Se consideraron significativas las diferencias con una $p \leq 0,05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el software IBM SPSS 21.0.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 DATOS EN PACIENTES OBESOS Y CONTROLES (HOMBRES Y MUJERES)

4.1.1) En la tabla 4.1 se presentan las características generales y antropométricas de los controles y pacientes obesos estudiados. Se puede observar que tanto el IMC, como la circunferencia de la cintura y el porcentaje de grasa corporal, fueron estadísticamente superiores en los pacientes obesos respecto a los controles.

	Controles	Obesos	p
Número	34	51	
Edad (años)	36,41±1,89	39,00±1,73	0,317
IMC (kg/m ²)	23,58±0,45	37,26±0,86	<0,001
Circunferencia cintura (cm)	84,53±1,45	109,70±1,74	<0,001
Total grasa corporal (%)	27,01±1,08	42,14±1,08	<0,001

Tabla 4.1. Datos de edad, IMC, circunferencia de la cintura, total de grasa corporal y número de casos en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como media y error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.1.

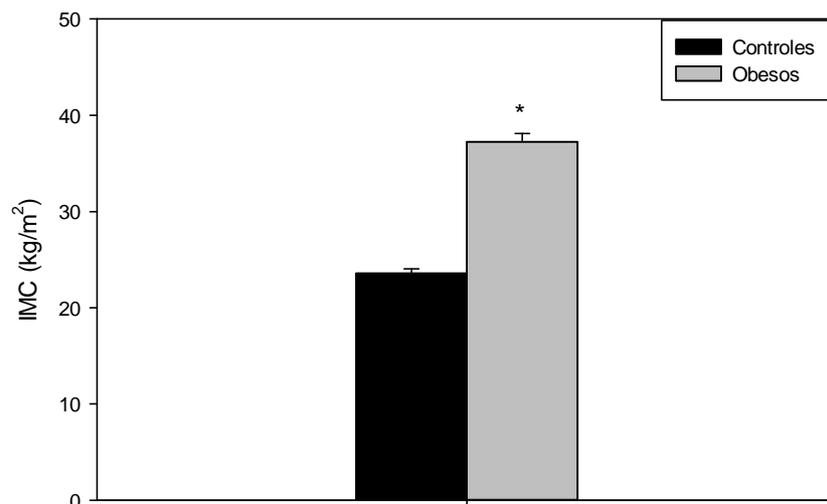


Figura 4.1. Valores de IMC (kg/m²) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,001 según el test U de Mann-Whitney.

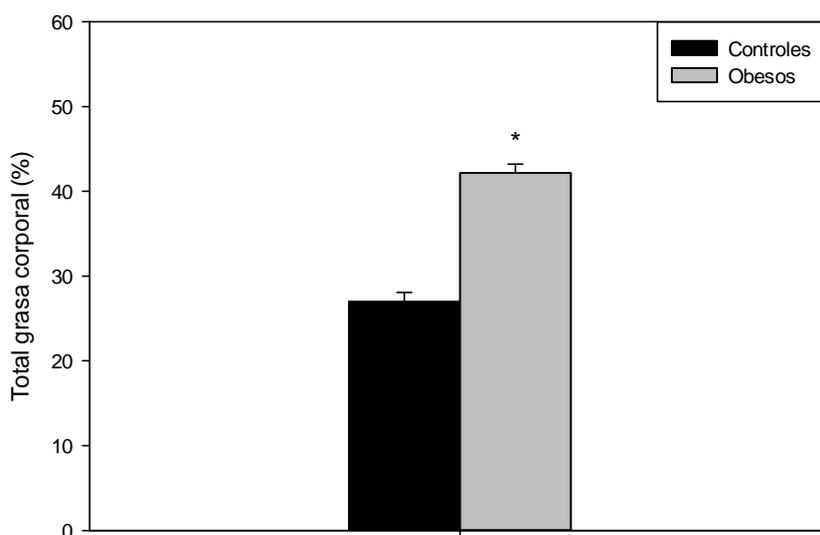


Figura 4.2. % de grasa corporal total en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

4.1.2) Niveles basales de GH, ghrelina acilada, ghelina total y PYY₁₋₃₆ y otras moléculas analizadas en pacientes obesos y controles.

En la tabla 4.2 se presenta la concentración plasmática de glucosa, insulina, GH, ghrelina acilada, ghelina total, PYY₁₋₃₆, IGF-I, leptina, cortisol, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL, ácido úrico, proteína C reactiva, apoproteína A, apoproteína B, TSH, IGFBP-3 y homocisteína en los sujetos control y en los pacientes obesos después de un ayuno nocturno y antes de la sobrecarga oral de glucosa. Los valores de glucosa, insulina, leptina (figura 4.3), triglicéridos (figura 4.4), proteína C reactiva y ácido úrico fueron superiores en los pacientes obesos de manera estadísticamente significativa, sin embargo los valores de ghrelina total, cortisol, IGF-I (figura 4.5) y colesterol HDL (figura 4.4) fueron inferiores respecto a los controles también de forma estadísticamente significativa. Se observa que los valores de glucosa, insulina y proteína C reactiva aumentan significativamente en los pacientes obesos sugiriendo una mayor resistencia a la insulina. Del mismo modo, en estos pacientes también se observan mayores niveles de triglicéridos y leptina.

	Controles	Obesos	p
Número	34	51	
Glucosa (mg/dl)	92,53±1,79	100,88±2,09	0,008
Insulina (μUI/ml)	5,26±0,80	15,01±3,18	<0,001
GH (μg/l)	1,52±0,42	0,82±0,19	0,452
Ghrelina acilada (pg/ml)	159,59±29,97	165,49±18,49	0,925
Ghrelina total (pg/ml)	1189,1±121,72	837,67±39,70	0,012
PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	138,32±8,28	134,70±7,43	0,473
Cortisol (μg/dl)	19,65±0,71	17,38±0,78	0,009
IGF-1 (ng/ml)	155,97±6,75	129,20±7,82	0,004
Leptina (ng/ml)	17,56±2,18	58,54±4,12	<0,001
Triglicéridos (mg/dl)	96,12±13,10	141,02±21,32	0,001
Colesterol (mg/dl)	195,00±7,98	190,12±4,79	0,788
Colesterol LDL (mg/dl)	115,08±6,43	117,51±4,45	0,597
Colesterol HDL (mg/dl)	59,91±2,62	50,16±2,04	0,001
Proteína C reactiva (mg/dl)	0,26±0,03	0,66±0,09	<0,001
Apoproteína A (mg/dl)	174,29±5,03	166,50±5,74	0,124
Apoproteína B (mg/dl)	102,27±5,27	117,59±5,87	0,100
IGFBP-3 (μg/ml)	4,49±0,16	4,28±0,13	0,216
TSH (μU/ml)	2,20±0,22	2,94±0,32	0,064
Ácido úrico (mg/dl)	4,75±0,22	5,62±0,23	0,002
Homocisteína (μM/L)	9,87±0,38	11,24±0,63	0,086

Tabla 4.2. Concentraciones plasmáticas en ayunas de glucosa, insulina, GH, ghrelina acilada, ghrelina total, PYY₁₋₃₆, cortisol, IGF-I, leptina, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL, proteína C reactiva, apoproteína A, apoproteína B, IGFBP-3, TSH, ácido úrico y homocisteína previas al estímulo en obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.2.

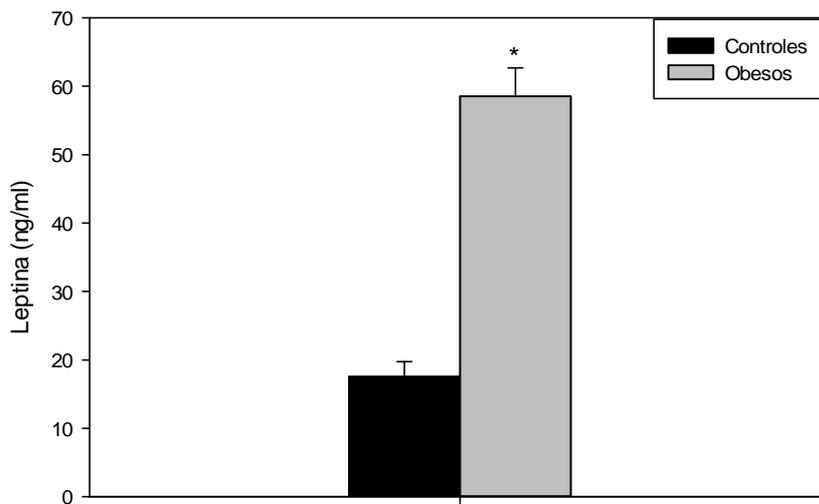


Figura 4.3. Valores de leptina (ng/ml) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

La leptina, a pesar de ser una hormona que disminuye el apetito, se encuentra muy aumentada en los pacientes obesos, sugiriendo una resistencia a la misma en estos pacientes.

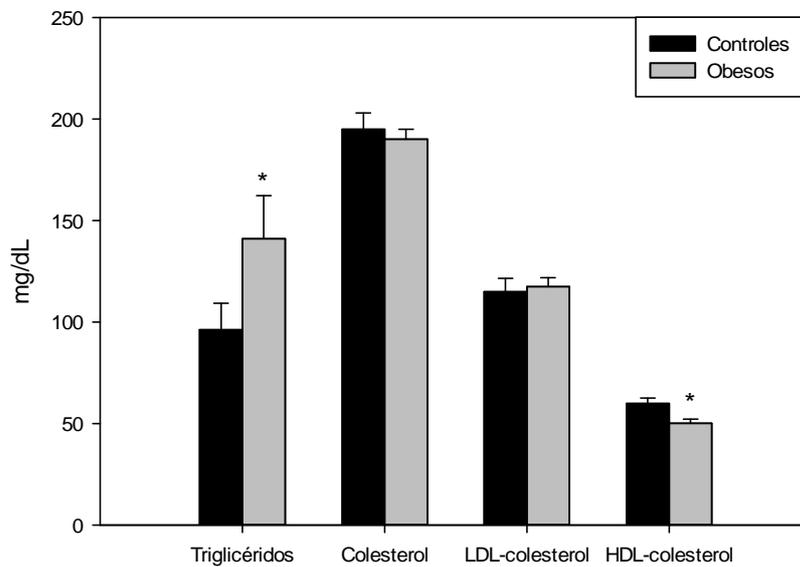


Figura 4.4. Valores de triglicéridos, colesterol, colesterol LDL y colesterol HDL (mg/dl) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

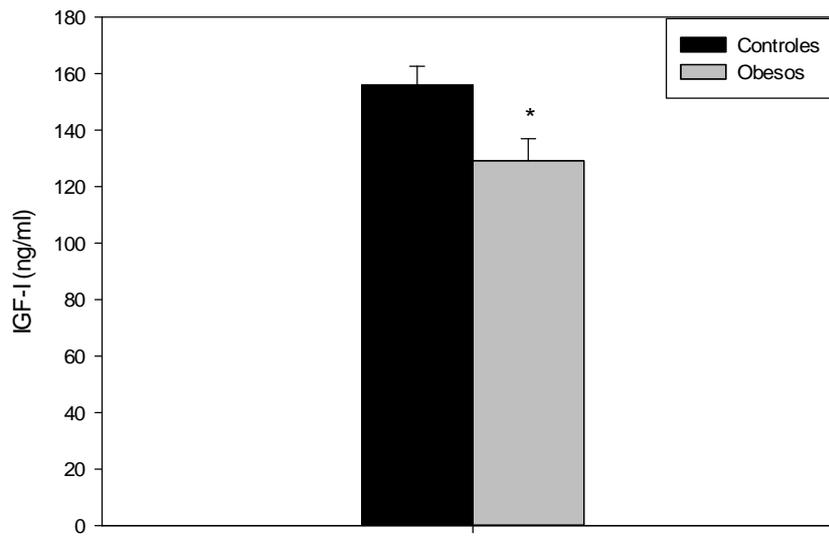


Figura 4.5. Valores de IGF-I (ng/ml) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

4.1.3) En las tablas de la 4.3 a la 4.8 y las figuras de la 4.6 a la 4.13 se pueden observar la respuesta a lo largo de 300 minutos de glucemia, insulina, GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY₁₋₃₆, tras la sobrecarga oral de glucosa en un grupo de pacientes obesos y controles.

	Controles	Obesos	p
Pico glucemia (mg/dl)	162,24 \pm 6,51	175,18 \pm 7,00	0,367
Nadir glucemia (mg/dl)	61,21 \pm 1,97	70,65 \pm 2,52	0,004
AUC ₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	29608 \pm 886,52	33330 \pm 1216	0,014
AUC ₀₋₁₂₀ glucemia (mg/dl x min)	15057 \pm 622,06	16972 \pm 658,74	0,094
AUC ₀₋₁₅₀ glucemia (mg/dl x min)	17803 \pm 738,38	20270 \pm 801,83	0,074
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	14551 \pm 355,01	16358 \pm 721,49	0,029
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	11805 \pm 253,70	13060 \pm 569,67	0,067

Tabla 4.3. Datos de pico, nadir de glucemia (mg/dl) y áreas bajo la curva postestímulo (mg/dl x min) en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

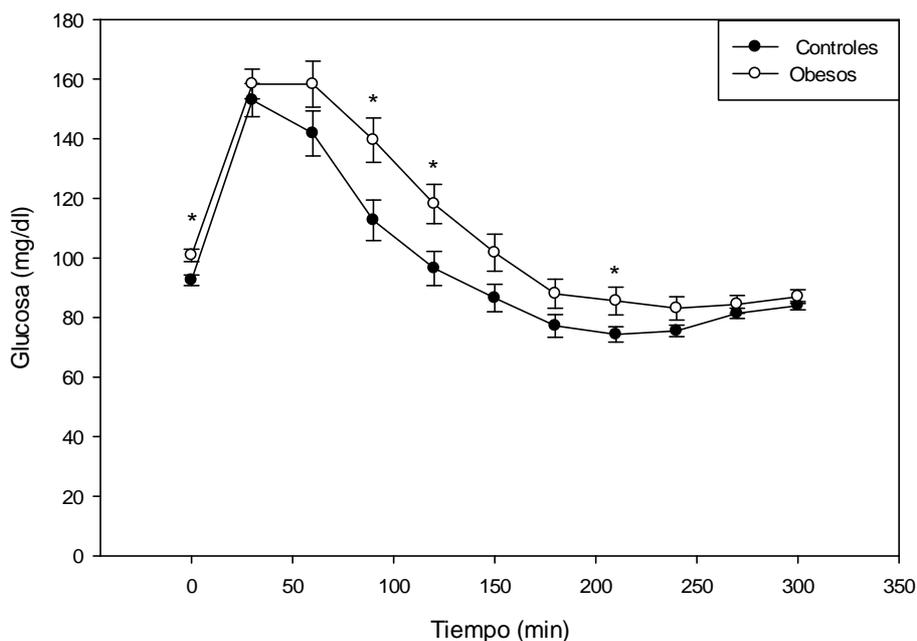


Figura 4.6. Concentraciones plasmáticas de glucosa (mg/dl) postestímulo en obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

La respuesta de la concentración de glucosa plasmática tras el estímulo expresada como área bajo la curva fue superior en los sujetos obesos que en los controles (tabla 4.3, figura 4.6) de forma estadísticamente significativa tanto de 0 a 300 minutos como en la fase final (de 120 a 300 minutos). También el nadir fue superior en los pacientes obesos de forma significativa.

	Controles	Obesos	p
Pico insulina (μ UI/ml)	64,99 \pm 6,98	108,90 \pm 8,05	<0,001
Nadir insulina (μ UI/ml)	4,16 \pm 0,78	9,19 \pm 0,83	<0,001
AUC ₀₋₃₀₀ insulina (μ UI/ml x min)	7733 \pm 872,21	12922 \pm 883,34	<0,001
AUC ₀₋₁₂₀ insulina (μ UI/ml x min)	5047 \pm 491,34	7802 \pm 536,93	<0,001
AUC ₀₋₁₅₀ insulina (μ UI/ml x min)	6012 \pm 620,53	9505 \pm 642,30	<0,001
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ insulina (μ UI/ml x min)	2686 \pm 446,91	5120 \pm 542,67	<0,001
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ insulina (μ UI/ml x min)	1721 \pm 299,87	3417 \pm 402,94	<0,001

Tabla 4.4. Datos de pico, nadir de insulina (μ UI/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (μ UI/ml x min) en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

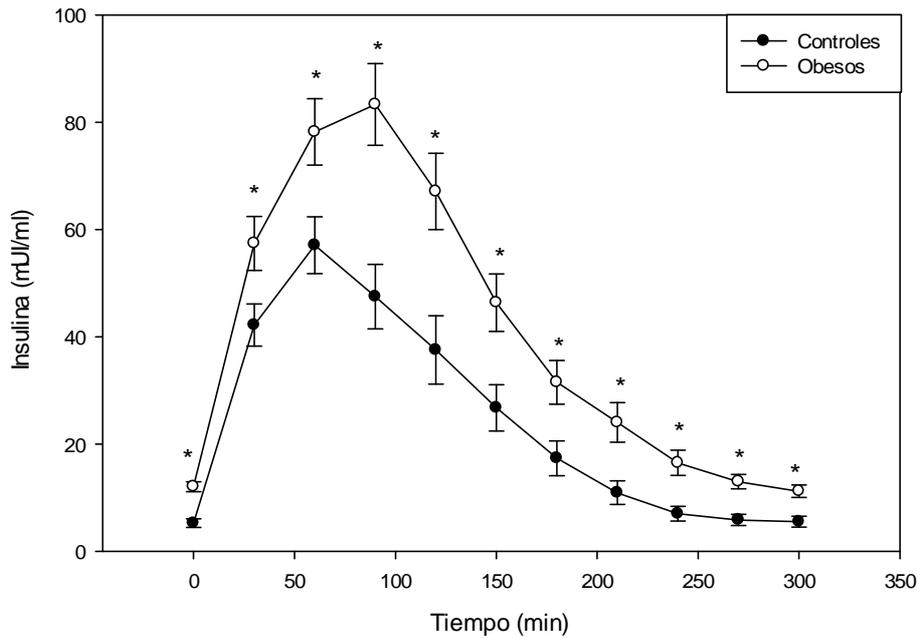


Figura 4.7. Concentraciones plasmáticas de insulina (μ UI/ml) postestímulo en obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

Tras la sobrecarga oral de glucosa la concentración máxima y mínima de insulina alcanzada fue superior en el grupo de sujetos obesos que en los controles y el área bajo la curva de 0 a 300 minutos y en cada uno de los tramos también fue superior en los obesos, todas estas diferencias alcanzaron significación estadística (tabla 4.4, figura 4.7).

	Controles	Obesos	p
Pico GH (μ g/l)	5,57 \pm 0,71	3,45 \pm 0,49	0,013
Nadir GH (μ g/l)	0,11 \pm 0,03	0,07 \pm 0,01	0,033
AUC ₀₋₃₀₀ GH (μ g/l x min)	409,03 \pm 61,55	247,24 \pm 37,71	0,020
AUC ₀₋₁₂₀ GH (μ g/l x min)	89,80 \pm 17,94	49,73 \pm 10,79	0,142
AUC ₀₋₁₅₀ GH (μ g/l x min)	111,51 \pm 24,67	57,92 \pm 12,17	0,203
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ GH (μ g/l x min)	319,23 \pm 52,74	197,51 \pm 32,83	0,067
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH (μ g/l x min)	297,53 \pm 48,73	189,32 \pm 32,00	0,065

Tabla 4.5. Datos de pico, nadir de GH (μ g/l) y áreas bajo la curva postestímulo (μ g/l x min) en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

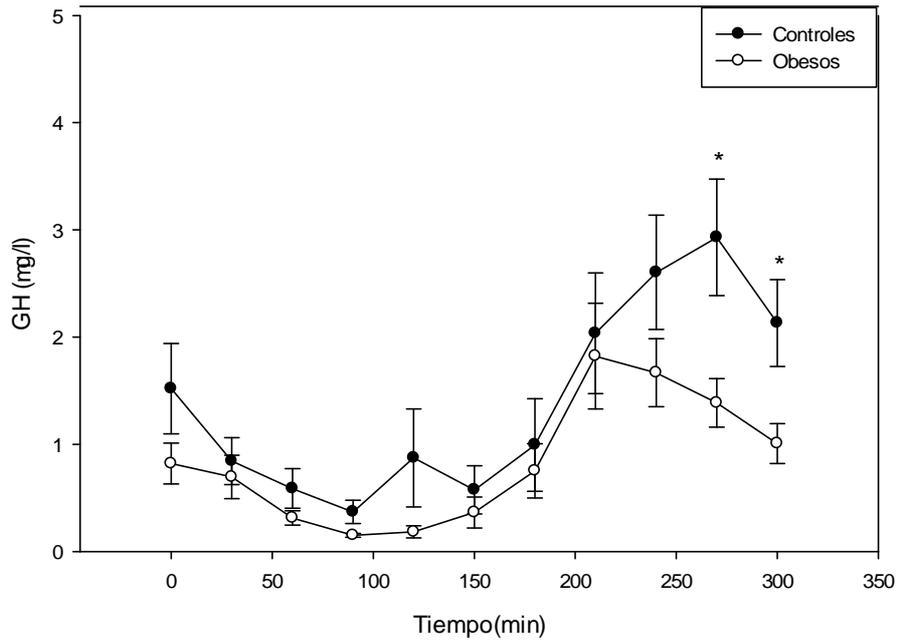


Figura 4.8. Concentraciones plasmáticas de GH ($\mu\text{g/l}$) postestímulo en obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

Como se puede observar en la tabla 4.5, figuras 4.8, 4.9 y 4.10 tras la sobrecarga oral de glucosa el pico y nadir de GH fueron superiores en los controles que en los obesos de forma estadísticamente significativa. Asimismo también fue superior en los controles de forma significativa el valor del área bajo la curva de 0 a 300 minutos.

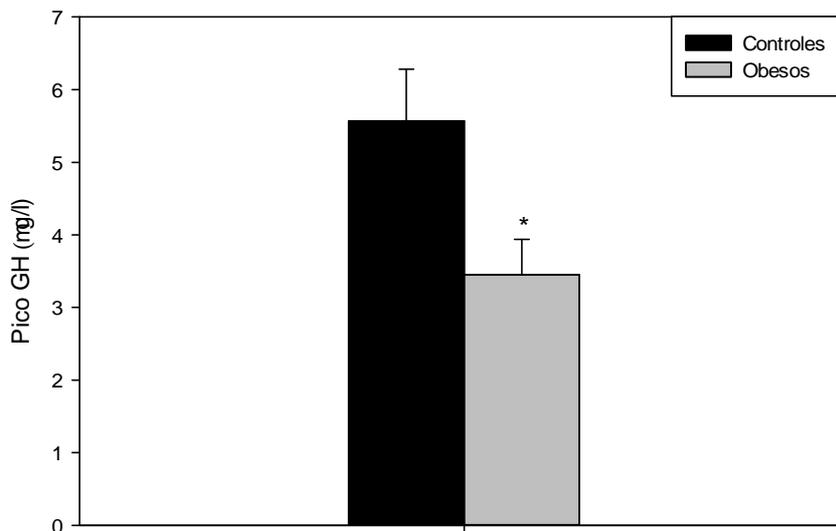


Figura 4.9. Valores del pico de GH ($\mu\text{g/l}$) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

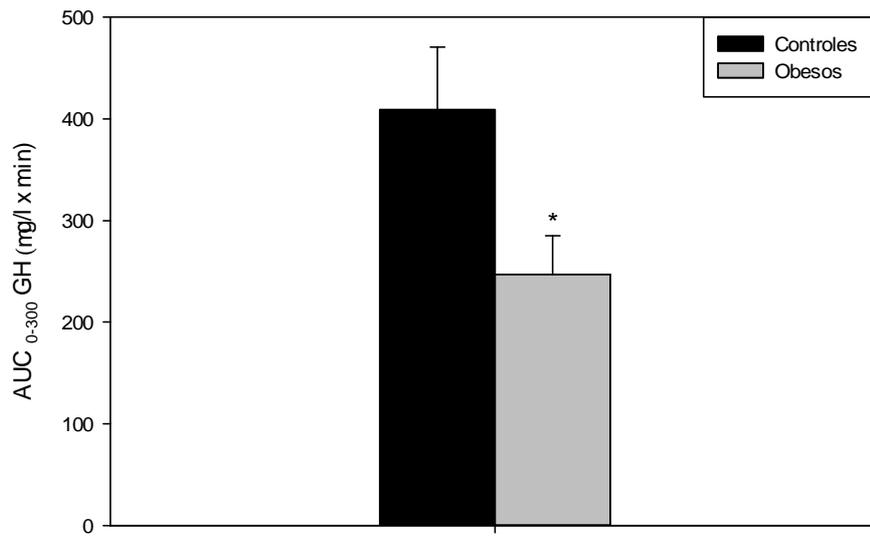


Figura 4.10. Valores de AUC₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

	Controles	Obesos	p
Pico ghrelina total (pg/ml)	1358,26 \pm 117,86	977,41 \pm 47,34	0,007
Nadir ghrelina total (pg/ml)	802,03 \pm 75,71	638,76 \pm 31,55	0,293
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	311307 \pm 28469	239249 \pm 10464	0,029
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina total (pg/ml x min)	109561 \pm 9972	89724 \pm 3905	0,244
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina total (pg/ml x min)	136708 \pm 12380	111384 \pm 4795	0,236
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	201746 \pm 18638	149524 \pm 6740	0,012
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	174600 \pm 16227	127864 \pm 5859	0,009

Tabla 4.6. Datos de pico, nadir de ghrelina total (pg/ml) y áreas bajo la curva postestimulo (pg/ml x min) en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

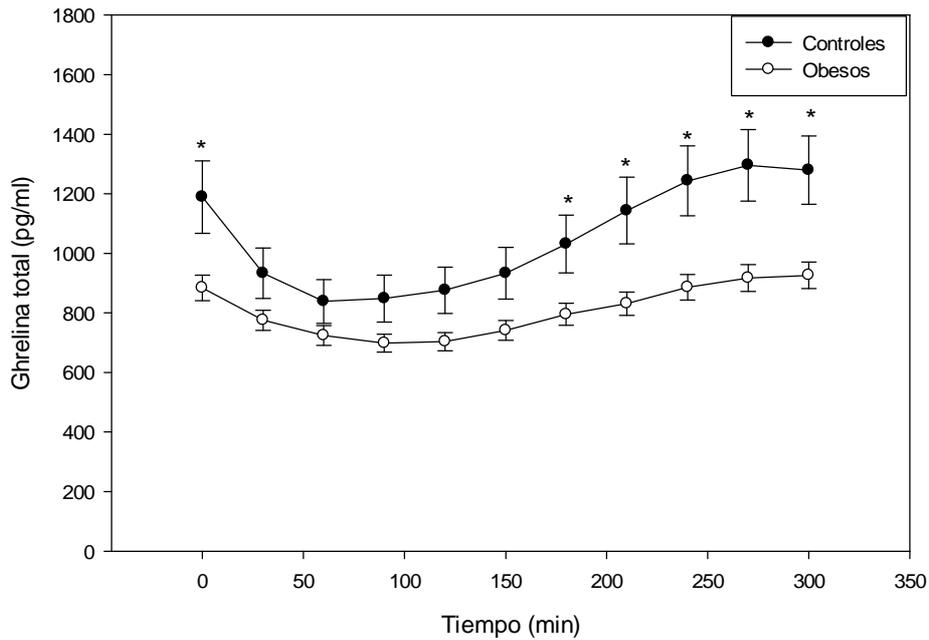


Figura 4.11. Concentraciones plasmáticas de ghrelina total (pg/ml) postestímulo en obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

La respuesta postestímulo de ghrelina total alcanzó un pico que fue significativamente mayor en los controles que en los pacientes obesos. Así mismo también fue superior en los controles de forma significativa el valor del área bajo la curva de 0 a 300 minutos y en los tramos finales (120 a 300 min y 150 a 300 min) (tabla 4.6, figuras 4.11 y 4.12).

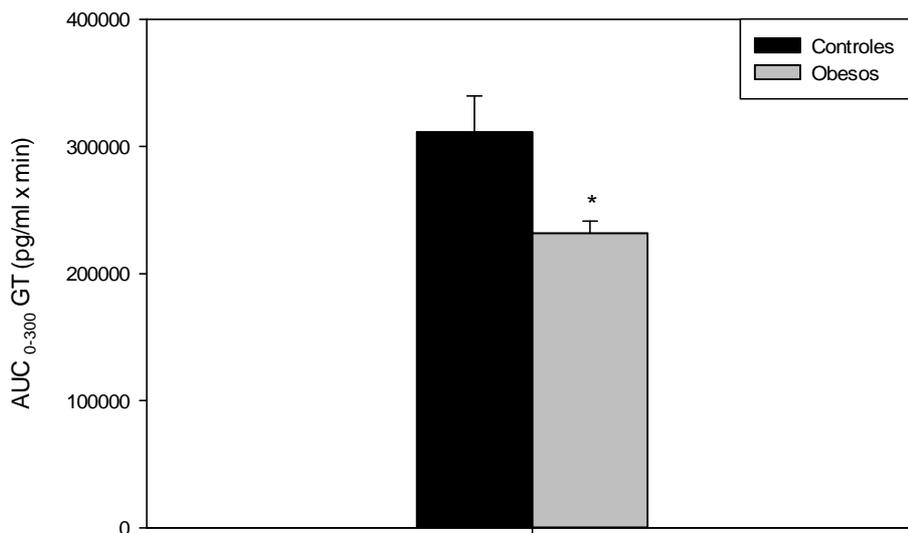


Figura 4.12. Valores de AUC₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

	Controles	Obesos	p
Pico ghrelina acilada (pg/ml)	312,48±37,47	290,68±25,07	0,809
Nadir ghrelina acilada (pg/ml)	99,06±18,50	102,10±11,86	0,847
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	57892±7697	54215±5115	0,713
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	20041±2622	19256±1778	0,911
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	25373±3235	24381±2252	0,950
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	37852±5160	34959±3435	0,686
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	32520±4545	29834±2950	0,670

Tabla 4.7. Datos de pico, nadir de ghrelina acilada (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

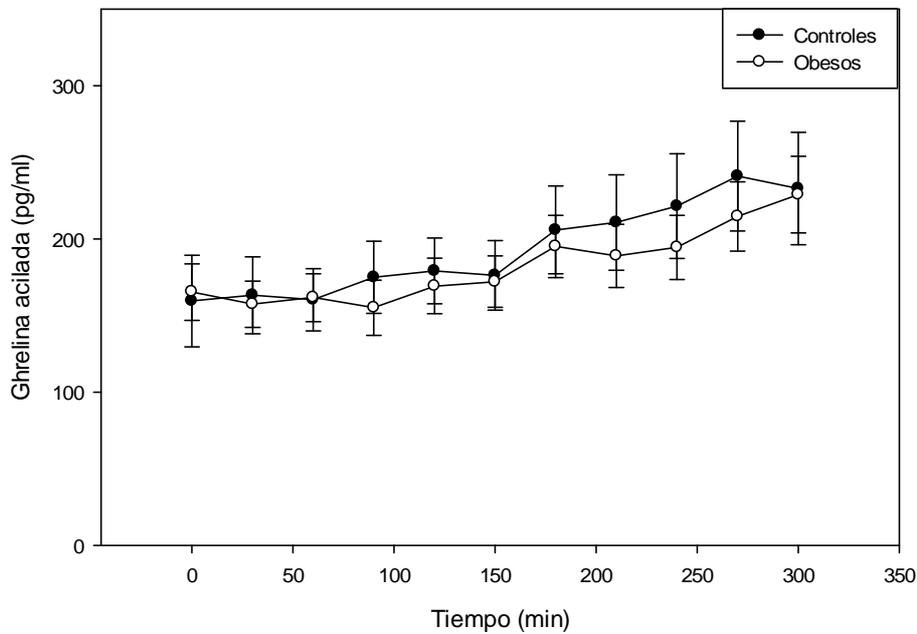


Figura 4.12. Concentraciones plasmáticas de ghrelina acilada (pg/ml) postestímulo en obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media.

El pico de ghrelina acilada tras el estímulo fue inferior en los obesos que en los controles, así como todas las áreas de las curvas pero no de forma estadísticamente significativa (tabla 4.7, figura 4.12).

	Controles	Obesos	p
Pico PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	161,29±10,56	160,30±8,77	0,840
Nadir PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	95,28±4,93	98,06±4,65	0,716
AUC ₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	37154±2208	36929±1744	0,982
AUC ₀₋₁₂₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	16540±990	16400±823,6	0,788
AUC ₀₋₁₅₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	20310±1231	20106±996	0,757
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	20614±1269	20529±973	0,946
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	16844±1025	16823±791	0,795

Tabla 4.8. Datos de pico, nadir de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

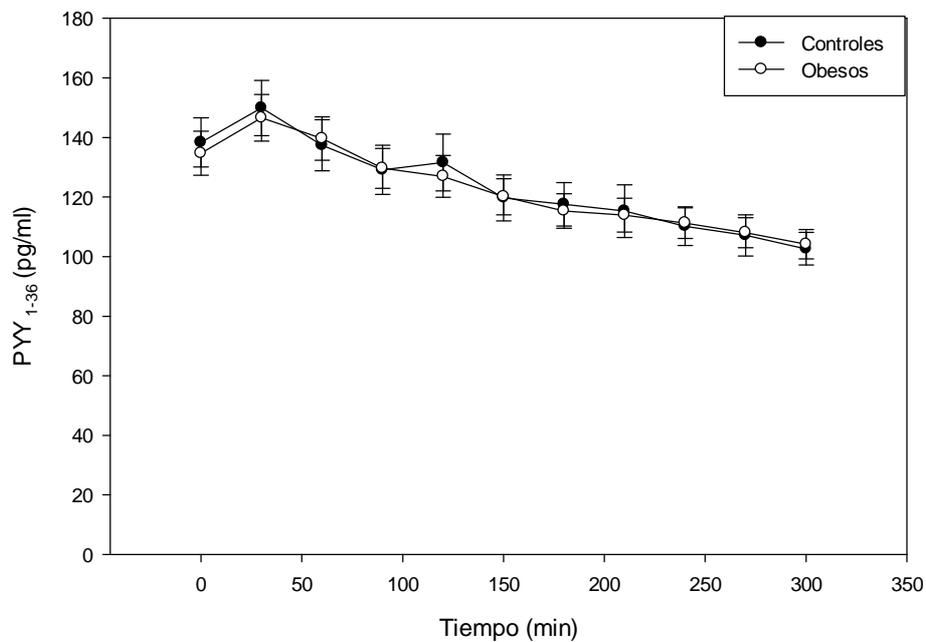


Figura 4.13. Concentraciones plasmáticas de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) postestímulo en obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media.

Los resultados de PYY₁₋₃₆ fueron similares en ambos grupos, los pacientes obesos y los controles (tabla 4.8, figura 4.13).

4.1.4) Datos de diferentes índices de sensibilidad y secreción insulínica en un grupo de pacientes obesos y normales.

· Sensibilidad a la insulina:

	Controles	Obesos	p
Número	34	51	
QUICKY	0,40±0,01	0,34±0,01	< 0,001
Homa-IR	1,24±0,21	3,86±0,86	< 0,001
I- Matsuda	12,73±0,82	5,14±0,32	< 0,001

Tabla 4.9. Valores de diferentes índices de sensibilidad insulínica en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados presentados en la tabla 4.9.

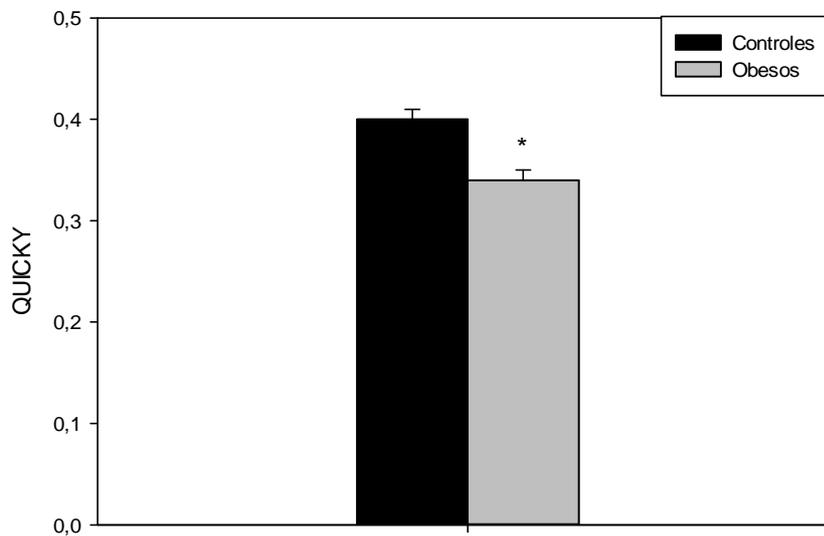


Figura 4.14. Valores de QUICKY en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,001 según el test U de Mann-Whitney.

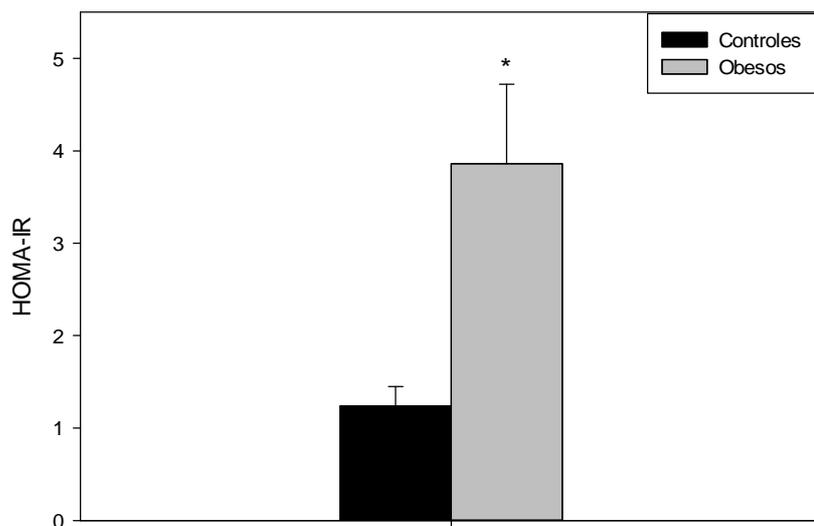


Figura 4.15. Valores de HOMA-IR en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

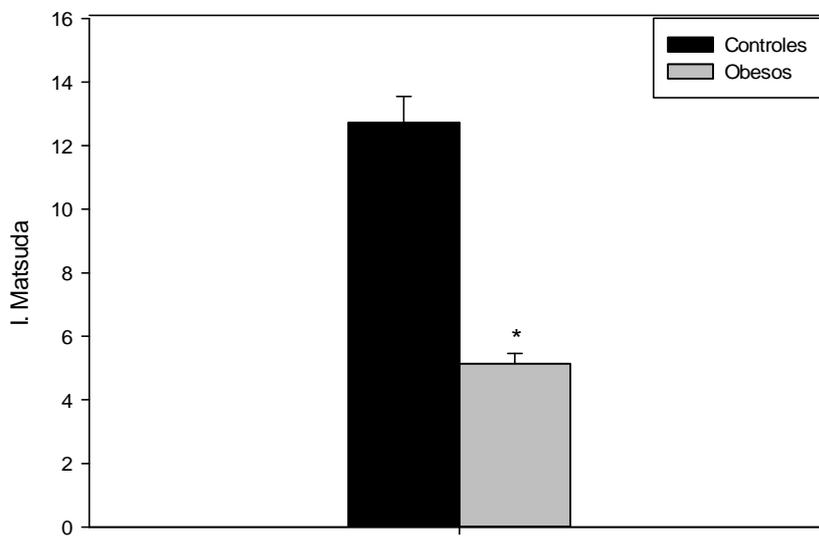


Figura 4.16. Valores de índice Matsuda en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

· Secreción insulina:

	Controles	Obesos	p
Número	34	51	
Homa-β	63,99±7,80	121,28±9,30	< 0,001
I. Stumvoll	0,11±0,003	0,05±0,005	< 0,001
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₁₂₀ (μUI/ml)/(mg/dl) x min	0,31±0,02	0,47±0,03	< 0,001
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₃₀₀ (μUI/ml)/(mg/dl) x min	0,23±0,02	0,39±0,02	< 0,001
AUC Insulina ₀₋₁₂₀ (μUI/ml x min)	5047,0±491,3	7801,8±537,5	< 0,001
AUC Insulina ₀₋₃₀₀ (μUI/ml x min)	7732,5±872,2	12921,6±883,1	< 0,001

Tabla 4.10. Valores de diferentes índices de secreción insulínica en pacientes obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

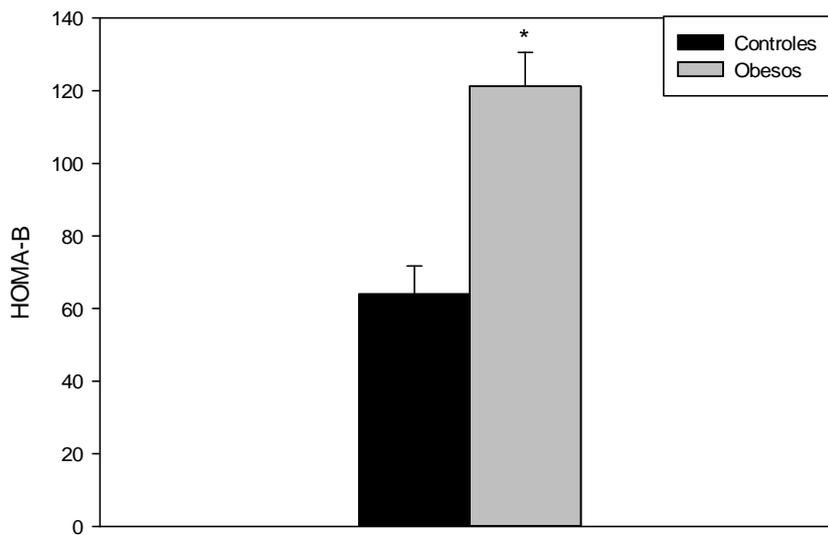


Figura 4.17. Valores de Homa β en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,001 según el test U de Mann-Whitney.

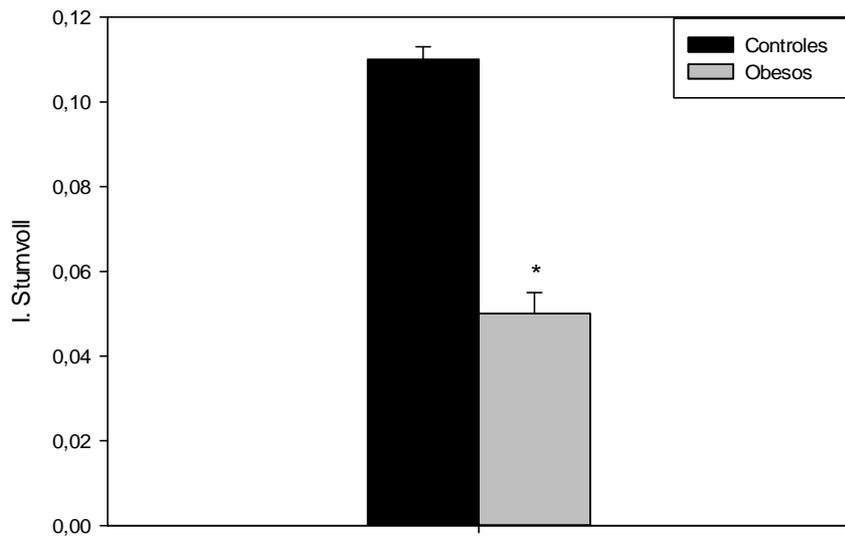


Figura 4.18. Valores de índice Stumvoll en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

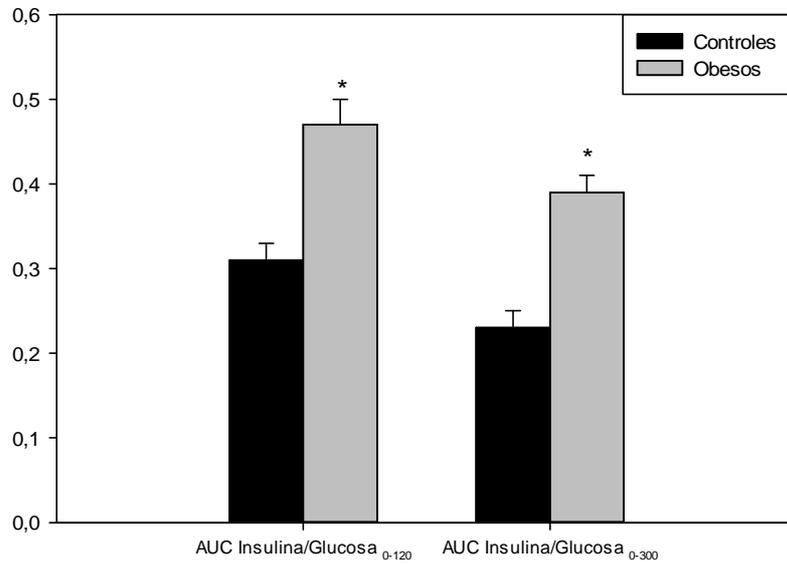


Figura 4.19. Valores de AUC insulina/glucosa₀₋₁₂₀ y AUC insulina/glucosa₀₋₃₀₀ en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

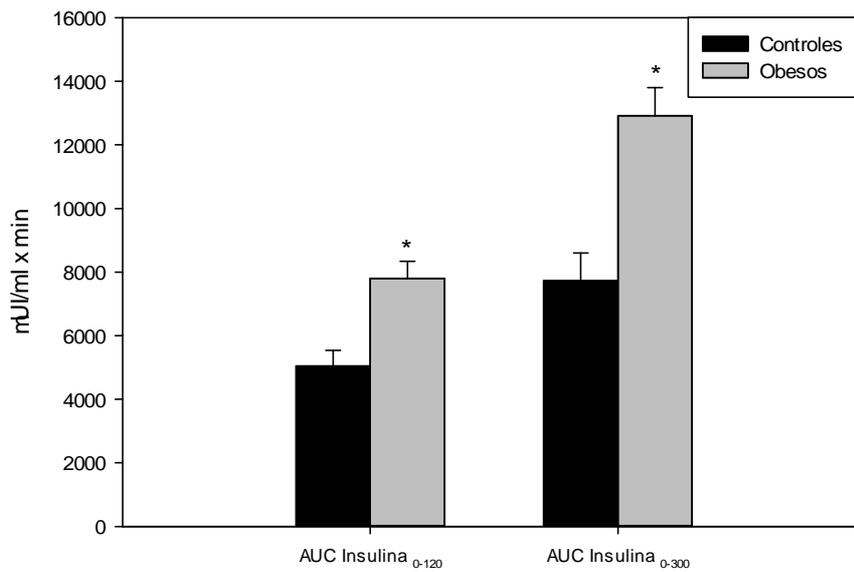


Figura 4.20. Valores de AUC insulina 0-120 y AUC insulina 0-300 en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

4.1.5) Correlaciones

- Correlaciones entre la secreción de GH y los distintos índices de secreción y sensibilidad a la insulina:

Controles/ Obesos	Pico GH		AUC 0-300 GH		AUC 0-150 GH		AUC 150-300 GH	
	r	p	r	p	r	p	r	p
IGF-1	0,256*	0,018	0,285**	0,008	0,090	0,411	0,277*	0,010
IMC	- 0,403**	<0,001	- 0,377**	<0,001	- 0,239*	0,027	- 0,306**	0,004
Total grasa corporal (%)	- 0,083	0,451	- 0,059	0,590	0,127	0,248	- 0,046	0,673
QUICKI	0,401**	<0,001	0,429**	<0,001	0,386**	<0,001	0,353**	0,001
I. MATSUDA	0,399**	<0,001	0,416**	<0,001	0,337**	0,002	0,343**	0,001
I. STUMVOLL	0,406**	<0,001	0,377**	<0,001	0,251*	0,021	0,294**	0,006
HOMA-IR	- 0,402**	<0,001	- 0,432**	<0,001	-0,391**	<0,001	-0,361**	0,001
HOMA- β	- 0,299*	0,035	- 0,263*	0,015	-0,272*	0,012	-0,223*	0,040
AUC Insulina 0-120	-0,328**	0,002	-0,345**	0,001	-0,429**	<0,001	-0,252*	0,020
AUC Insulina 0-150	-0,316**	0,003	-0,332**	0,002	-0,401**	<0,001	-0,238*	0,029
AUC Insulina 0-300	-0,320**	0,003	-0,335**	0,002	-0,339**	0,002	-0,250*	0,021
AUC Insulina/Glucosa 0-120	-0,158	0,149	-0,194	0,076	-0,311**	0,004	-0,155	0,158
AUC Insulina/Glucosa 0-150	-0,188	0,085	-0,215*	0,048	-0,344**	0,001	-0,152	0,166
AUC Insulina/Glucosa 0-300	-0,173	0,113	-0,200	0,066	-0,261*	0,016	-0,141	0,197

Tabla 4.11. Correlaciones entre GH y los índices de sensibilidad y secreción insulínica en obesos y controles. Se ha utilizado la prueba de correlación de Spearman; * la correlación es significativa con $p < 0,05$, ** la correlación es significativa con $p < 0,01$.

- Correlaciones entre la secreción de GH y los distintos índices de secreción de ghrelina total y ghrelina acilada:

Controles/ Obesos	Pico GH		AUC ₀₋₃₀₀ GH		AUC ₀₋₁₅₀ GH		AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Pico ghrelina total	0,414**	<0,001	0,412**	<0,001	0,412**	<0,001	0,267*	0,013
Nadir ghrelina total	0,258*	0,018	0,291**	0,007	0,391**	<0,001	0,155	0,156
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina total	0,333**	0,002	0,349**	0,001	0,419**	<0,001	0,202	0,064
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina total	0,297**	0,006	0,313**	0,003	0,435**	<0,001	0,165	0,130
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina total	0,306**	0,004	0,325**	0,002	0,448**	<0,001	0,178	0,103
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina total	0,352**	0,001	0,372**	<0,001	0,383**	<0,001	0,234*	0,031

Tabla 4.12. Correlaciones entre GH y los la ghrelina total en obesos y controles. Se ha utilizado la prueba de correlación de Spearman; * la correlación es significativa con $p < 0,05$, ** la correlación es significativa con $p < 0,01$.

Controles/ Obesos	Pico GH		AUC ₀₋₃₀₀ GH		AUC ₀₋₁₅₀ GH		AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Pico ghrelina acilada	0,147	0,179	0,145	0,184	0,100	0,361	0,112	0,307
Nadir ghrelina acilada	0,065	0,552	0,094	0,392	0,193	0,077	0,029	0,795
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina acilada	0,110	0,317	0,123	0,261	0,109	0,320	0,086	0,433
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina acilada	0,102	0,353	0,113	0,303	0,107	0,331	0,076	0,491
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina acilada	0,095	0,387	0,105	0,340	0,098	0,371	0,069	0,531
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina acilada	0,111	0,313	0,135	0,218	0,141	0,198	0,090	0,414

Tabla 4.13. Correlaciones entre GH y los la ghrelina acilada en obesos y controles. Se ha utilizado la prueba de correlación de Spearman; * la correlación es significativa con $p < 0,05$, ** la correlación es significativa con $p < 0,01$.

4.2 DATOS EN MUJERES OBESAS Y CONTROLES

4.2.1) Nos propusimos estudiar los parámetros anteriores en un grupo más homogéneo de solo mujeres. Para ello en la tabla 4.14 se presentan las características generales y antropométricas de las pacientes obesas y controles estudiadas, se puede observar que tanto los parámetros de IMC, como % de grasa total son similares a los ya presentados en la tabla 4.1 con valores superiores en las pacientes obesas de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

	Mujeres controles	Mujeres obesas	p
Número	24	40	
Edad (años)	37,13±2,46	39,89±2,01	0,390
IMC (kg/m ²)	22,94±0,47	37,67±1,03	<0,001
Circunferencia cintura (cm)	81,83±1,45	123,37±1,79	<0,001
Grasa total (%)	30,32±0,77	45,27±0,74	<0,001

Tabla 4.14. Datos de edad, IMC, circunferencia de la cintura y total de grasa corporal. Los datos se expresan como media y error típico de la media (en variables numéricas) y número de casos en pacientes obesas y controles. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.14.

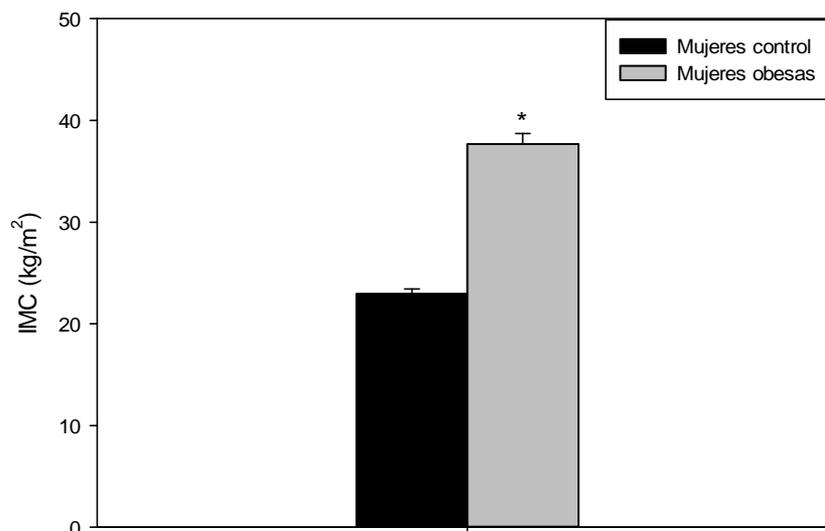


Figura 4.21. Valores de IMC (kg/m²) en pacientes obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

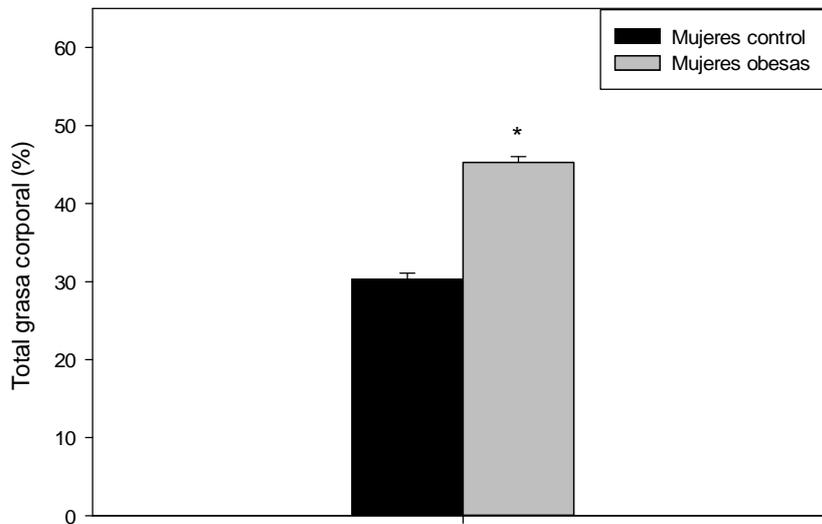


Figura 4.22. Valores de total de grasa corporal (%) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

4.2.2) Niveles basales de GH, ghrelina acilada, ghelina total y PYY₁₋₃₆ y otras moléculas analizadas en un grupo de mujeres obesas y normales.

En la tabla 4.15 se presenta la concentración plasmática de glucosa, insulina, GH, ghrelina acilada, ghelina total, PYY₁₋₃₆, IGF-I, leptina, cortisol, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL, ácido úrico, proteína C reactiva, apoproteína A, apoproteína B, TSH, IGFBP-3 y homocisteína en los mujeres control y en las pacientes obesas después de un ayuno nocturno y antes de la sobrecarga oral de glucosa. Los valores de glucosa, insulina, leptina (figura 4.23), triglicéridos (figura 4.24), proteína C reactiva y ácido úrico fueron superiores en las pacientes obesas de manera estadísticamente significativa, sin embargo los valores de ghrelina total, IGF-I (figura 4.25), colesterol HDL (figura 4.24) y apoproteína A fueron inferiores respecto a las mujeres controles también de forma estadísticamente significativa. Los datos son muy similares a los de la tabla 4.2, conjunto de pacientes obesos y controles.

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Glucosa (mg/dl)	90,00±2,04	101,71±2,69	0,002
Insulina (μUI/ml)	5,30±0,97	15,12±4,23	<0,001
GH (μg/l)	2,06±0,56	0,92±0,22	0,152
Ghrelina acilada (pg/ml)	179,19±40,98	149,82±21,13	0,319
Ghrelina total (pg/ml)	1317±163,86	889,42±45,48	0,026
PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	131,78±8,76	124,79±5,51	0,474
Cortisol (μg/dl)	19,50±0,91	17,56±0,98	0,052
IGF-1 (ng/ml)	159,49±8,74	130,06±9,23	0,010
Leptina (ng/ml)	23,08±2,12	66,35±4,31	<0,001
Triglicéridos (mg/dl)	73,38±7,07	111,21±8,37	<0,001
Colesterol (mg/dl)	192,00±8,30	189,37±5,69	0,919
Colesterol LDL (mg/dl)	112,09±7,14	117,94±4,99	0,448
Colesterol HDL (mg/dl)	64,38±2,96	49,16±2,17	<0,001
Proteína C reactiva (mg/dl)	0,25±0,03	0,73±0,12	<0,001
Apoproteína A (mg/dl)	182,13±5,07	166,71±6,62	0,022
Apoproteína B (mg/dl)	96,82±5,31	117,65±7,30	0,080
IGFBP-3 (μg/ml)	4,49±0,14	4,41±0,14	0,483
TSH (μU/ml)	2,33±0,28	2,91±0,33	0,161
Ácido úrico (mg/dl)	4,25±0,15	5,27±0,18	<0,001
Homocisteína (μM/L)	9,31±0,39	11,03±0,77	0,054

Tabla 4.15. Concentraciones plasmáticas en ayunas de glucosa, insulina, GH, ghrelina acilada, ghrelina total, PYY₁₋₃₆, cortisol, IGF-I, leptina, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL, proteína C reactiva, apoproteína A, apoproteína B, IGFBP-3, TSH, ácido úrico y homocisteína previas al estímulo en pacientes obesas y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

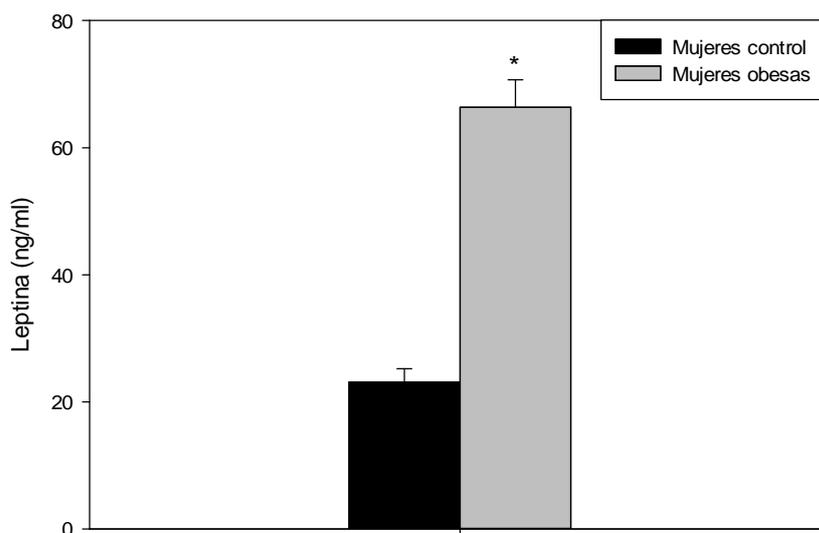


Figura 4.23. Valores de leptina (ng/ml) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,001 según el test U de Mann-Whitney.

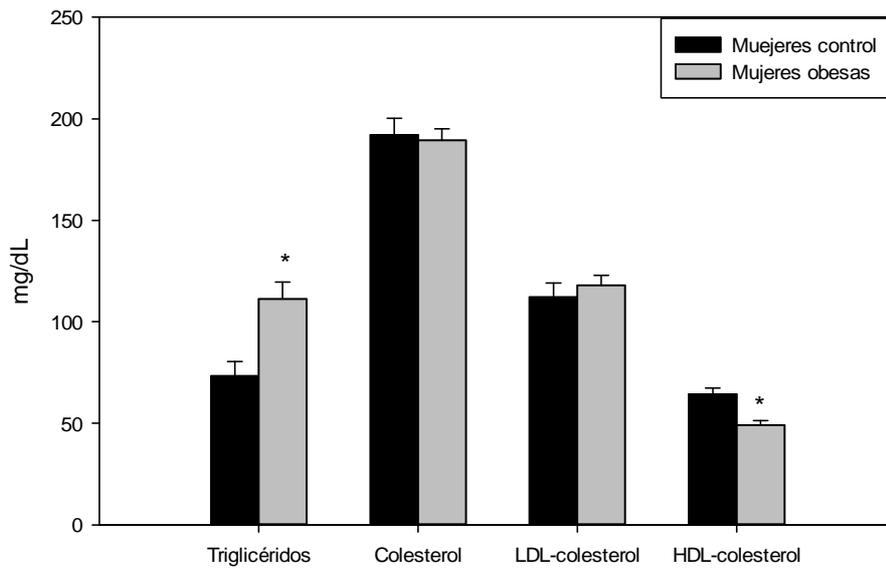


Figura 4.24. Valores de triglicéridos, colesterol, colesterol LDL y colesterol HDL (mg/dl) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

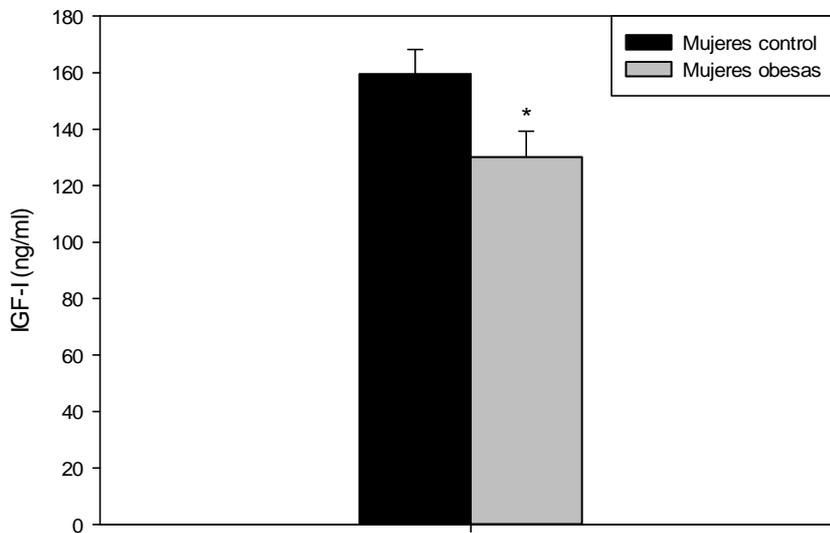


Figura 4.25 Valores de IGF-I (ng/ml) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

4.2.3) En las tablas de la 4.16 a la 4.21 y las figuras de la 4.26 a la 4.34 se pueden observar la respuesta a lo largo de 300 minutos de glucemia, insulina, GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY₁₋₃₆, tras la administración oral de glucosa en un grupo de mujeres obesas y controles.

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Pico glucemia (mg/dl)	153,17±7,35	174,68±8,64	0,155
Nadir glucemia (mg/dl)	59,33±2,34	71,76±3,21	0,001
AUC ₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	28719±1072	33794±1575	0,005
AUC ₀₋₁₂₀ glucemia (mg/dl x min)	17151±881,10	20505±1006	0,034
AUC ₀₋₁₅₀ glucemia (mg/dl x min)	14386±723,42	17060±310,06	0,056
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	11568±822,02	13289±736,76	0,016

Tabla 4.16. Datos de pico, nadir de glucemia (mg/dl) y áreas bajo la curva postestimulo (mg/dl x min) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

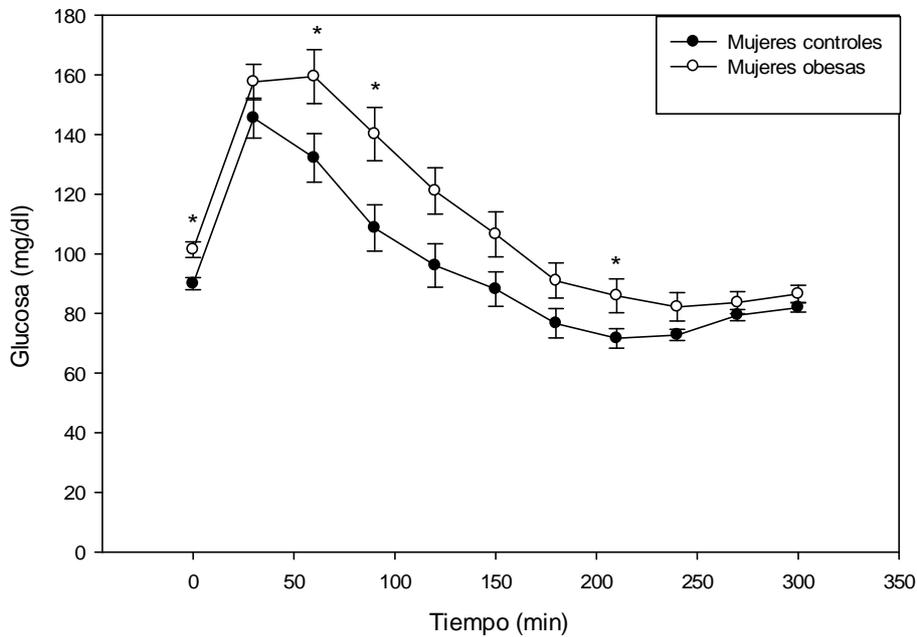


Figura 4.26. Concentraciones plasmáticas de glucosa (mg/dl) postestimulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,05 según el test U de Mann-Whitney.

El pico y nadir de glucemia fue superior en las pacientes obesas, así como el área bajo la curva, tanto de 0 a 300 minutos como en la fase inicial, de 0 a 150 minutos y de 0 a 120 minutos y en la final de 150-300 minutos; todas estas diferencias resultaron estadísticamente significativas excepto el pico de glucemia (tabla 4.16, figura 4.26).

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Pico insulina ($\mu\text{UI/ml}$)	61,32 \pm 8,41	100,71 \pm 9,27	0,001
Nadir insulina ($\mu\text{UI/ml}$)	3,95 \pm 0,91	9,04 \pm 0,94	<0,001
AUC ₀₋₃₀₀ insulina ($\mu\text{UI/ml x min}$)	7668 \pm 1126	12393 \pm 947,9	<0,001
AUC ₀₋₁₅₀ insulina ($\mu\text{UI/ml x min}$)	5833,2 \pm 774,83	8938 \pm 743,18	0,001
AUC ₀₋₁₂₀ insulina ($\mu\text{UI/ml x min}$)	4785 \pm 578,7	7295 \pm 627,99	0,003
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ insulina ($\mu\text{UI/ml x min}$)	1835,21 \pm 396,99	3455 \pm 354,16	<0,001

Tabla 4.17. Datos de pico, nadir de insulina ($\mu\text{UI/ml}$) y áreas bajo la curva postestímulo ($\mu\text{UI/ml x min}$) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

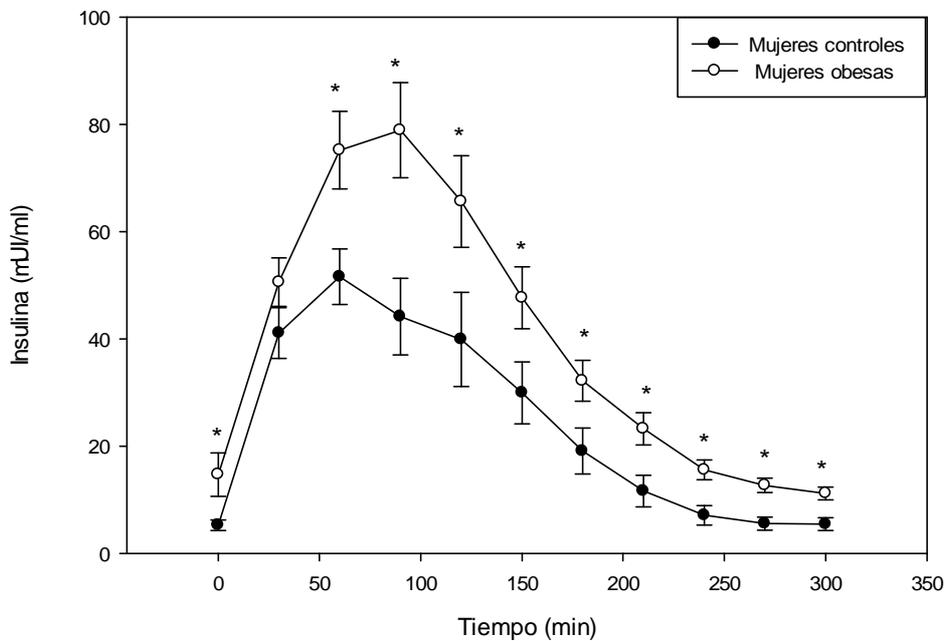


Figura 4.27. Concentraciones plasmáticas de insulina ($\mu\text{UI/ml}$) postestímulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

Como puede observarse en la tabla 4.17 y en la figura 4.27 tras la sobrecarga oral de glucosa la concentración máxima y mínima de insulina alcanzada fue superior en el grupo de mujeres obesas que en controles y el área bajo la curva de 0 a 300 minutos y en cada uno de los tramos también fue superior en las obesas, todas estas diferencias alcanzaron significación estadística.

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Pico GH ($\mu\text{g/l}$)	6,68 \pm 0,80	3,30 \pm 0,49	<0,001
Nadir GH ($\mu\text{g/l}$)	0,14 \pm 0,04	0,08 \pm 0,02	0,003
AUC ₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$)	490,39 \pm 74,61	249,77 \pm 41,77	0,001
AUC ₀₋₁₅₀ GH ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$)	140,00 \pm 30,89	67,52 \pm 15,23	0,020
AUC ₀₋₁₂₀ GH ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$)	116,78 \pm 22,54	57,65 \pm 13,34	0,017
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$)	350,39 \pm 61,48	182,24 \pm 31,62	0,010

Tabla 4.18. Datos de pico, nadir de GH ($\mu\text{g/l}$) y áreas bajo la curva postestímulo ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

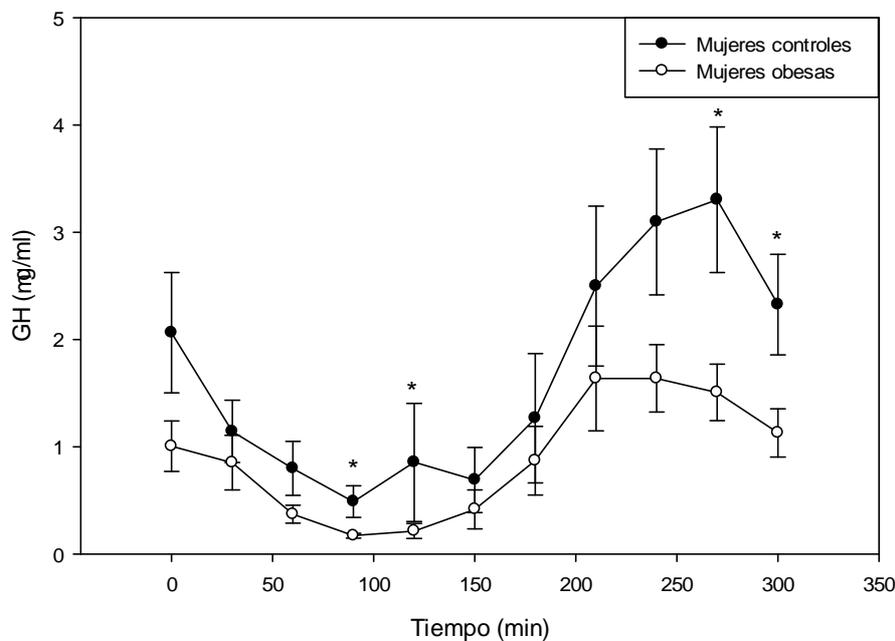


Figura 4.28. Concentraciones plasmáticas de GH ($\mu\text{g/l}$) postestímulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

Tras la sobrecarga oral de glucosa el pico y nadir de GH fue superior en las mujeres controles que en obesas de forma estadísticamente significativa. Asimismo también fue superior en controles de forma significativa el valor del área bajo la curva de 0 a 300 minutos, en su fase inicial (de 0 a 120 y de 0 a 150 minutos) y en su fase final (de 150 a 300 minutos) (tabla 4.18, figura 4.28).

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.18.

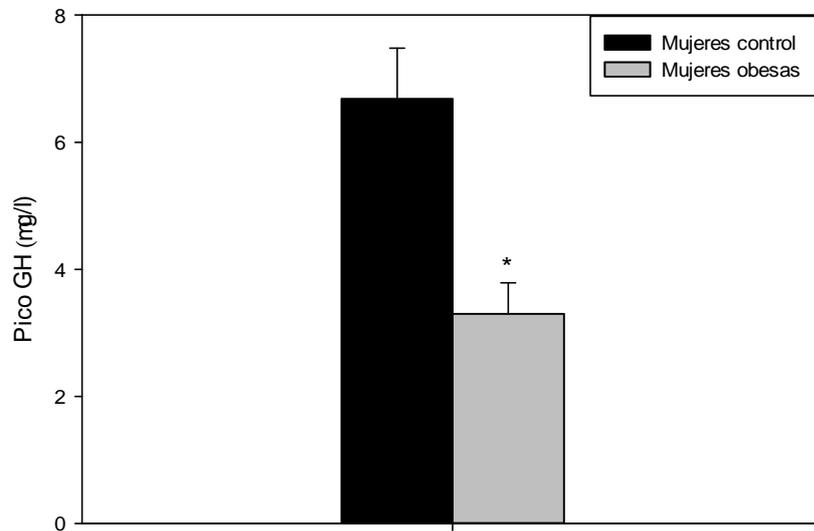


Figura 4.29. Valores del pico de GH ($\mu\text{g/l}$) en pacientes mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

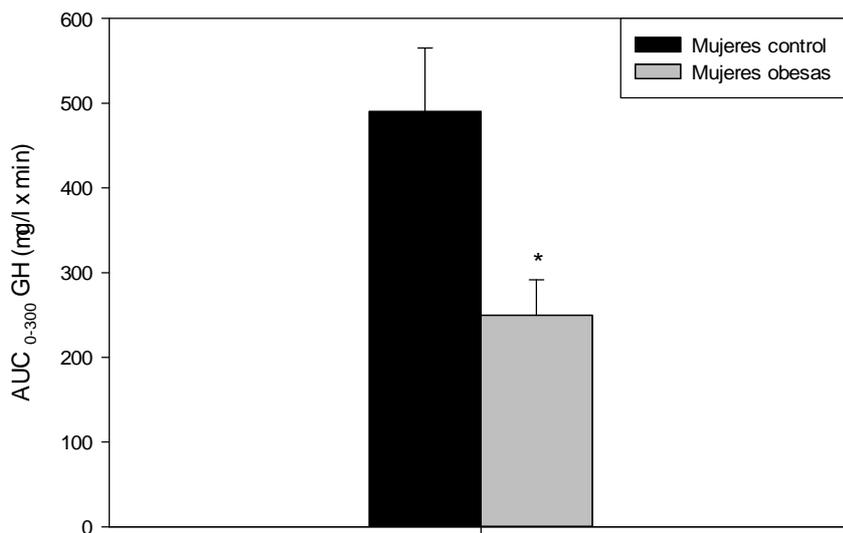


Figura 4.30. Valores de AUC₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l} \times \text{min}$) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Pico ghrelina total (pg/ml)	1487,3±44,92	1001±48,55	0,005
Nadir ghrelina total (pg/ml)	886,13±27,29	659,97±35,42	0,124
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	340797±10276	240996±11094	0,042
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina total (pg/ml x min)	150079±16396	113378±5387	0,112
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina total (pg/ml x min)	120595±3596	91459±4418	0,122
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	190719±21521	127618±5892	0,020

Tabla 4.19. Datos de pico, nadir de ghrelina total (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

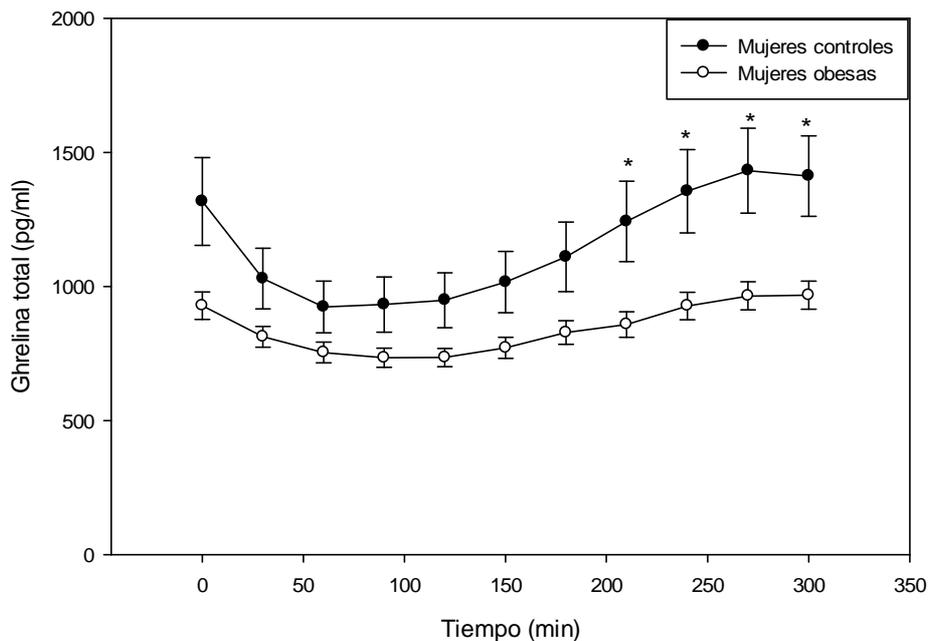


Figura 4.31. Concentraciones plasmáticas de ghrelina total (pg/ml) postestímulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,05 según el test U de Mann-Whitney.

El pico de ghrelina total fue menor en las pacientes obesas que en las controles de forma significativa. Las áreas bajo la curva de ghrelina total fueron menores en pacientes obesas, en el área bajo la curva total de 0 a 300 minutos y en el área bajo la curva del tramo final (150 a 300 minutos) las diferencias fueron significativas estadísticamente (tabla 4.19, figura 4.31).

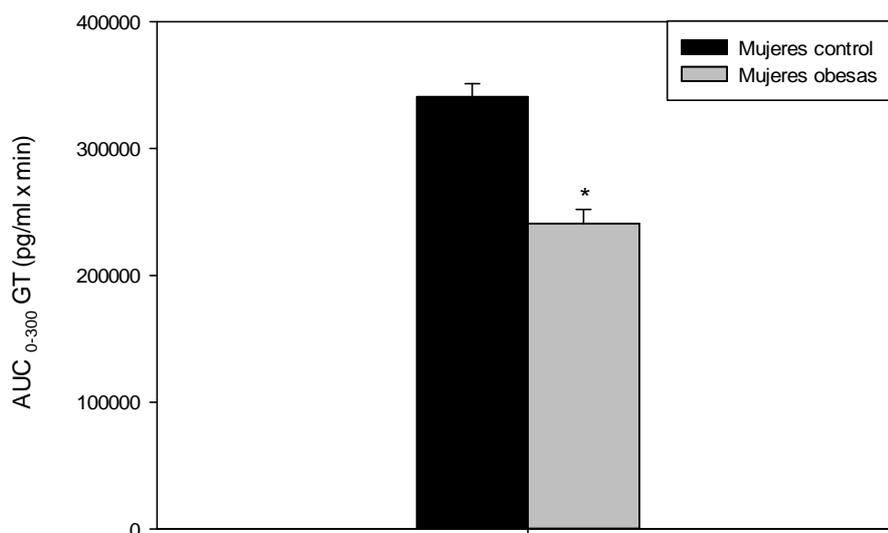


Figura 4.32. Valores de AUC₀₋₃₀₀ ghrelin total (pg/ml x min) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,05 según el test U de Mann-Whitney.

La concentración máxima y mínima alcanzada por la ghrelin acilada tras el estímulo fue inferior en obesas que en controles y el área bajo la curva total, en el tramo inicial (de 0 a 150 minutos y de 0-120 minutos) y en el tramo final (de 150 a 300 minutos) también fueron menores en obesas pero sin alcanzar significación estadística (tabla 4.20, figura 4.33).

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Pico ghrelin acilada (pg/ml)	333,79±49,42	269,08±29,24	0,326
Nadir ghrelin acilada (pg/ml)	112,41±25,07	95,74±12,98	0,745
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	62392±10345	50503±5611	0,410
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	27566±4281	22467±2547	0,386
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	21834±3473	17587±2007	0,312
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	34826±6159	28037±3115	0,474

Tabla 4.20. Datos de pico, nadir de ghrelin acilada (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

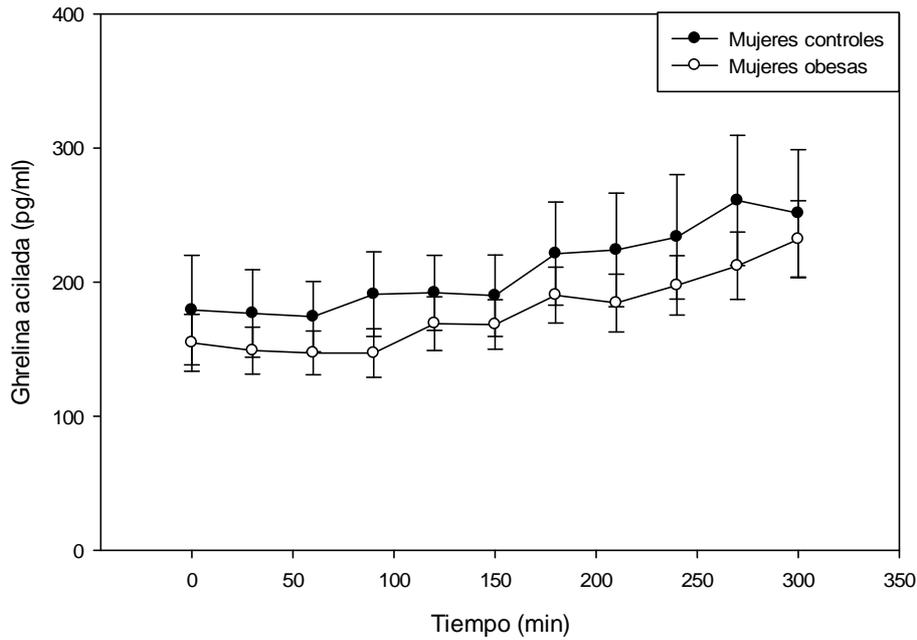


Figura 4.33. Concentraciones plasmáticas de ghrelina acilada (pg/ml) postestímulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

Como puede observarse en la tabla 4.21 y en la figura 4.34 los valores de pico, nadir y área bajo las curvas totales y parciales fueron superiores en controles respecto a obesas pero sin tener significado estadístico.

	Mujeres control	Mujeres obesas	p
Pico PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	158,55 \pm 12,71	146,29 \pm 8,09	0,525
Nadir PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	93,66 \pm 5,30	90,61 \pm 4,07	0,750
AUC ₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	36573 \pm 2483	34167 \pm 1597	0,593
AUC ₀₋₁₂₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	16120 \pm 1121	15233 \pm 747,15	0,539
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	16698 \pm 1141	15534 \pm 670,62	0,654
AUC ₀₋₁₅₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	19875 \pm 1398	18633 \pm 942,61	0,479

Tabla 4.21. Datos de pico, nadir de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

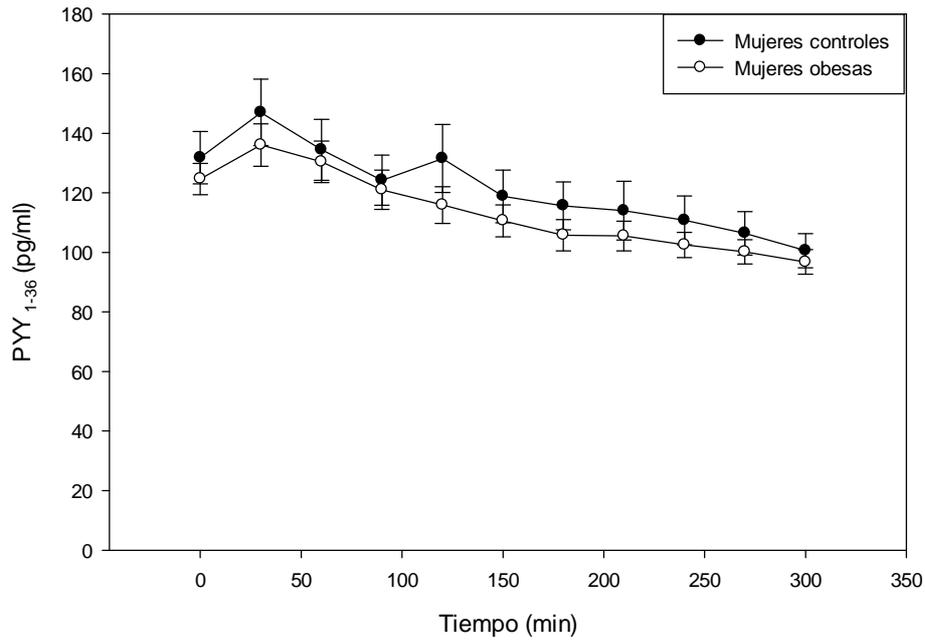


Figura 4.34. Concentraciones plasmáticas de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) postestímulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media.

4.2.4) Diferentes índices de sensibilidad y acción insulínica en un grupo de mujeres obesas y controles.

- Sensibilidad a la insulina:

	Mujeres control	Obesas	p
Número	24	40	
QUICKY	0,40±0,01	0,34±0,01	<0,001
Homa-IR	1,23±0,26	3,94±1,14	<0,001
I.Matsuda	13,08±1,07	5,32±0,38	<0,001

Tabla 4.22. Valores de diferentes índices de sensibilidad insulínica en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados de la tabla 4.22.

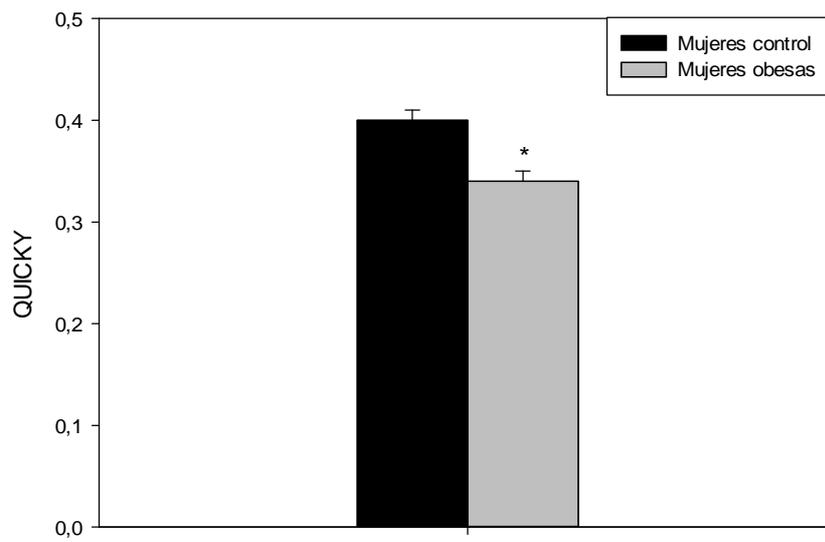


Figura 4.35. Valores de QUICKY en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

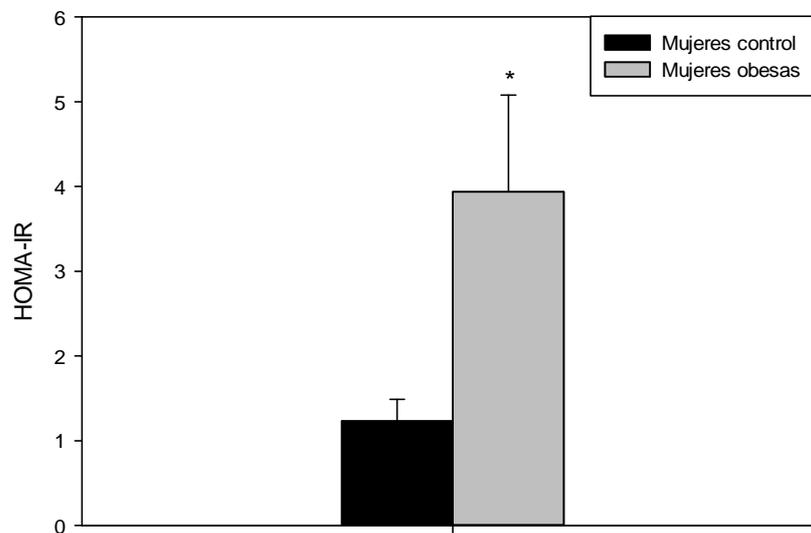


Figura 4.36. Valores de Homa- IR en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

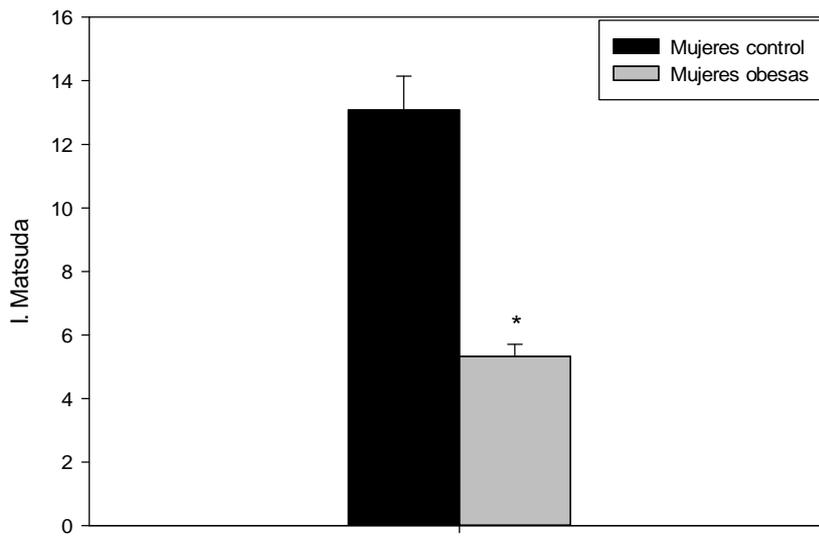


Figura 4.37. Valores de Índice Matsuda en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

· Secreción insulina:

	Mujeres control	Obesas	p
Número	24	40	
Homa- β	67,39 \pm 8,96	111,60 \pm 10,59	0,008
I. Stumvoll	0,11 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	<0,001
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₁₂₀ (μ UI/ml)/(mg/dl) x min	0,31 \pm 0,03	0,44 \pm 0,04	0,017
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₃₀₀ (μ UI/ml)/(mg/dl) x min	0,23 \pm 0,02	0,38 \pm 0,03	<0,001
AUC Insulina ₀₋₁₂₀ (μ UI/ml x min)	4785 \pm 578,69	7295 \pm 627,99	0,003
AUC Insulina ₀₋₃₀₀ (μ UI/ml x min)	7668 \pm 1126	12393 \pm 947,94	<0,001

Tabla 4.23. Valores de diferentes índices de secreción insulínica en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

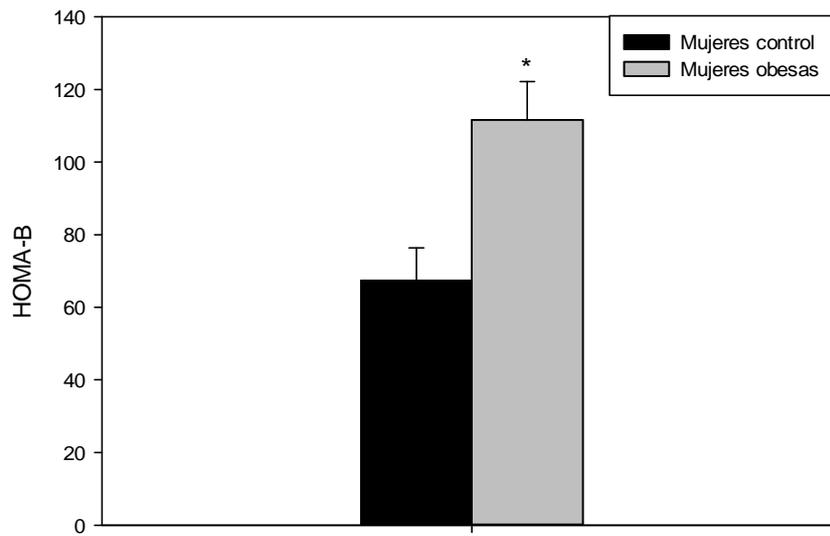


Figura 4.38. Valores de Homa- β en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

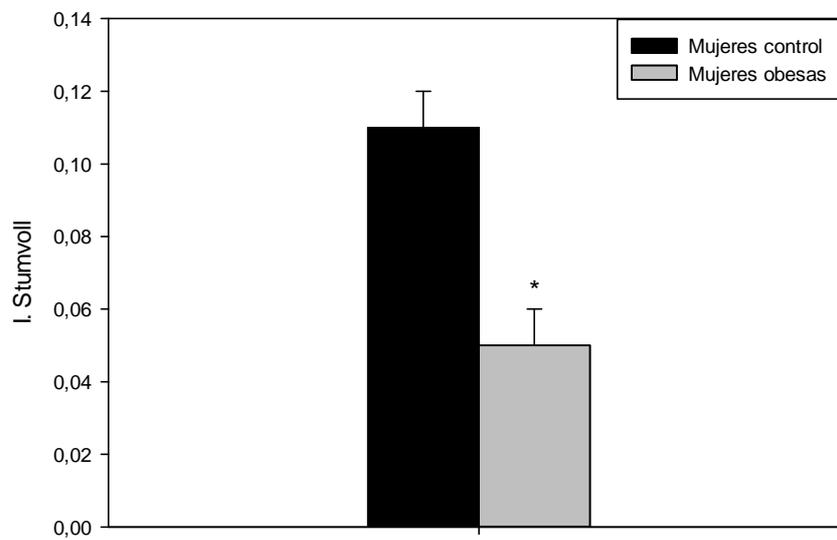


Figura 4.39. Valores de Índice Stumvoll en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

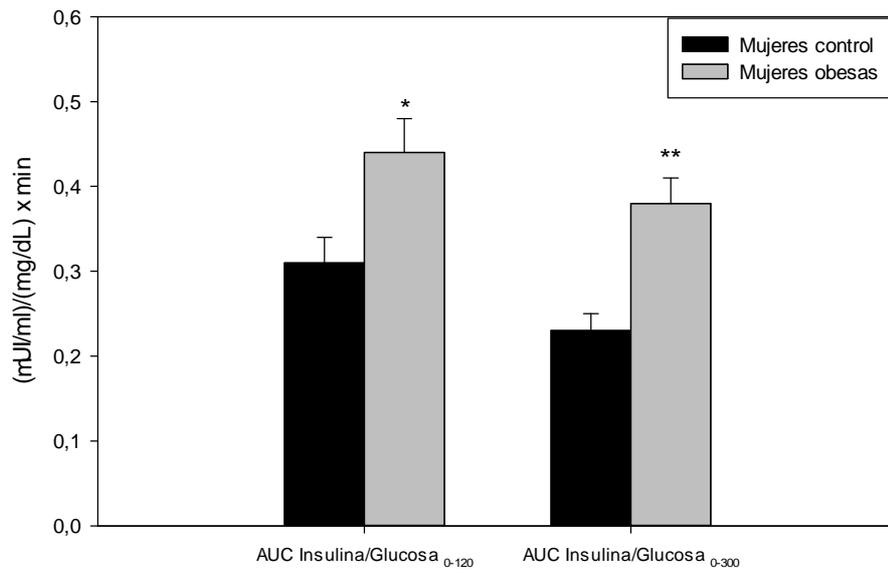


Figura 4.40. Valores de AUC insulina/glucosa 0-120 y AUC insulina/glucosa 0-300 ((μ UI/ml)/(mg/dl) x min) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo ** significa $p < 0,001$ y * $p < 0,05$ segun el test U de Mann-Whitney.

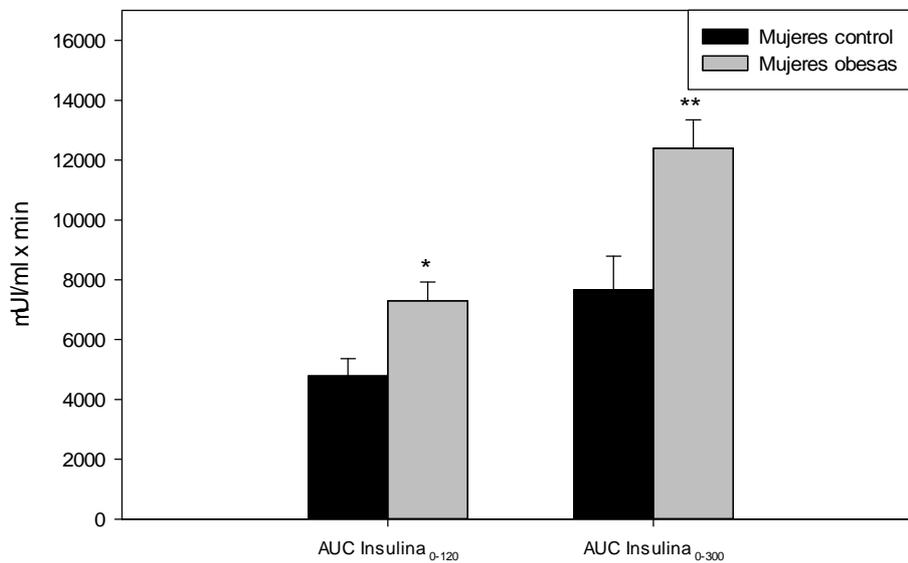


Figura 4.41. Valores de AUC insulina 0-120 y AUC insulina 0-300 (μ UI/ml x min) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo ** significa $p < 0,001$ y * $p < 0,05$ segun el test U de Mann-Whitney.

4.2.5) Correlaciones

- Correlaciones entre la secreción de GH y los distintos índices de secreción y sensibilidad a la insulina en mujeres controles y obesas:

Mujeres Controles/ Obesos	Pico GH		AUC ₀₋₃₀₀ GH		AUC ₀₋₁₅₀ GH		AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH	
	r	p	r	p	r	p	r	p
IGF-1	0,279	0,028	0,323	0,010	0,046	0,722	0,343	0,006
IMC	-0,564**	<0,001	-0,499**	<0,001	-0,377**	0,006	-0,369**	0,006
Total grasa corporal (%)	-0,479**	<0,001	-0,414**	0,001	-0,316*	0,011	-0,279*	0,026
QUICKI	0,523	<0,001	0,552	<0,001	0,416	0,001	0,458	<0,001
I. MATSUDA	0,553	<0,001	0,559	<0,001	0,396	0,001	0,460	<0,001
I. STUMVOLL	0,611**	<0,001	0,565**	<0,001	0,399**	0,001	0,444**	<0,001
HOMA-IR	-0,540	<0,001	-0,575	<0,001	-0,428	0,001	-0,469	<0,001
HOMA-β	-0,220	0,086	-0,268	0,035	-0,233	0,068	-0,219	0,087
AUC Insulina ₀₋₁₂₀	-0,390**	0,002	-0,425**	0,001	-0,414**	0,001	-0,324*	0,010
AUC Insulina ₀₋₁₅₀	-0,379**	0,002	-0,420**	0,001	-0,406**	0,001	-0,309*	0,015
AUC Insulina ₀₋₃₀₀	-0,408	0,001	-0,449	<0,001	-0,374	0,003	-0,339	0,007
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₁₂₀	-0,172	0,180	-0,211	0,099	-0,253*	0,047	-0,193	0,132
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₁₅₀	-0,217	0,090	-0,256*	0,045	-0,323*	0,010	-0,195	0,130
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₃₀₀	-0,245	0,055	-0,294	0,020	-0,263	0,039	-0,239	0,062

Tabla 4.24. Correlaciones entre GH y los índices de sensibilidad y secreción insulínica en mujeres obesas y controles. Se ha utilizado la prueba de correlación de Spearman; * la correlación es significativa con $p < 0,05$, ** la correlación es significativa con $p < 0,01$.

- Correlaciones entre la secreción de GH y los distintos índices de secreción de ghrelina en mujeres controles y pacientes obesas.

Mujeres Controles/ Obesas	Pico GH		AUC ₀₋₃₀₀ GH		AUC ₀₋₁₅₀ GH		AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Pico ghrelina total	0,490**	<0,001	0,476**	<0,001	0,488**	<0,001	0,302*	0,017
Nadir ghrelina total	0,341**	0,007	0,371**	0,003	0,478**	<0,001	0,197	0,125
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina total	0,409**	0,001	0,412**	0,001	0,483**	<0,001	0,236	0,065
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina total	0,377**	0,002	0,382**	0,002	0,484**	<0,001	0,208	0,105
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina total	0,381**	0,002	0,387**	0,002	0,487**	<0,001	0,214	0,095
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina total	0,430**	<0,001	0,439**	<0,001	0,474**	<0,001	0,269*	0,035

Tabla 4.25. Correlaciones entre GH y los la ghrelina total en mujeres obesas y controles. Se ha utilizado la prueba de correlación de Spearman; * la correlación es significativa con $p < 0,05$, ** la correlación es significativa con $p < 0,01$.

Mujeres Controles/ Obesos	Pico GH		AUC ₀₋₃₀₀ GH		AUC ₀₋₁₅₀ GH		AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Pico ghrelina acilada	0,314*	0,013	0,319*	0,012	0,231	0,071	0,266*	0,037
Nadir ghrelina acilada	0,195	0,128	0,216	0,092	0,279*	0,028	0,123	0,343
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina acilada	0,273*	0,032	0,288*	0,023	0,201	0,118	0,237	0,064
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina acilada	0,262*	0,039	0,276*	0,030	0,209	0,103	0,218	0,088
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina acilada	0,256*	0,044	0,270*	0,034	0,212	0,099	0,210	0,102
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina acilada	0,267*	0,036	0,296*	0,019	0,220	0,085	0,240	0,060

Tabla 4.26. Correlaciones entre GH y los la ghrelina total en mujeres obesas y controles. Se ha utilizado la prueba de correlación de Spearman; * la correlación es significativa con $p < 0,05$, ** la correlación es significativa con $p < 0,01$.

Para estudiar de una forma más profunda la linealidad de las asociaciones entre los índices de la secreción de GH se utilizó una regresión de splines cúbicos, en la figura 4.42 se observa una clara asociación lineal entre el AUC ghrelina y los diferentes índices de secreción de GH (transformados en log).

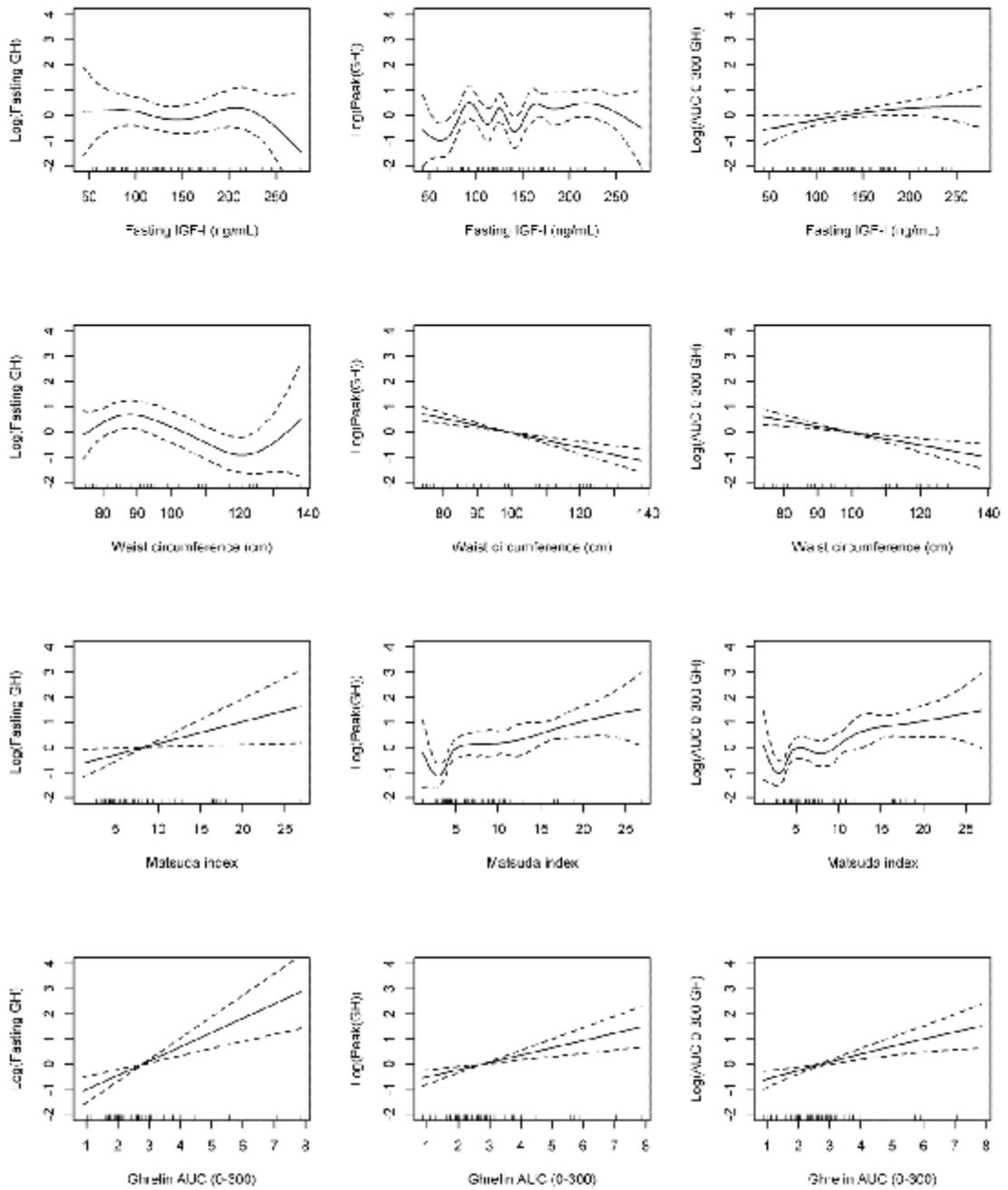


Figura 4.42. Relación entre los índices de secreción de GH (log) y concentración de IGF-I, circunferencia de la cintura, índice de Matsuda y AUC₀₋₃₀₀ ghrelina total. Modelos de regresión univariante mediante splines cúbicos.

Con objeto de estudiar el determinante principal de la secreción de GH y debido a las correlaciones significativas entre los diferentes índices de adiposidad, índices de secreción de insulina, índices de acción de la insulina y la ghrelina se empleó el análisis multivariante mediante los modelos aditivos generalizados (GAM) y de regresión lineal. Se evaluó cuantitativamente la aportación individual que cada medida predictiva para explicar la variabilidad entre los valores de los índices de la secreción de GH (ayuno, pico, AUC), en presencia de los otros predictores. De todos los predictores estudiados, IGF-I, índices de adiposidad (circunferencia de la cintura), sensibilidad a la insulina (índice Matsuda) y la secreción de ghrelina (AUC₀₋₃₀₀ ghrelina / 100.000), sólo el AUC₀₋₃₀₀ de la ghrelina total seguía siendo un predictor significativo para la GH en ayunas y pico de GH, con una significación límite para el AUC₀₋₃₀₀ GH (tabla 4.27).

	GH (log(µg/L))			Pico GH (log(µg/L))			AUC ₀₋₃₀₀ GH (log (µUI/ml·min))		
	B	SE	p	B	SE	p	B	SE	p
Intercepción	-3,266	0,896	<0,001	2,398	0,846	0,007	5,871	0,897	<0,001
Edad (años)	0,011	0,017	0,537	-0,012	0,008	0,148	-0,009	0,008	0,280
IGF-I*	-	-	0,993	-	-	0,231	-	-	0,138
Circunferencia cintura	-	-	0,149	-0,012	0,007	0,097	-0,005	0,008	0,491
Índice Matsuda	0,098	0,055	0,080	-	-	0,150	-	-	0,139
AUC ₀₋₃₀₀ Ghrelina (/100.000)	0,430	0,160	0,010	0,159	0,077	0,045	0,162	0,081	0,053

* Introducido como un término no lineal en el modelo
 B,=coeficiente de regresión lineal; SE= error estándar

Tabla 4.27. Modelo de regresión de aditivos generalizados (GAM) para los índices de secreción de GH (transformados en log).

4.3 DATOS EN HOMBRES OBESOS Y CONTROLES

4.3.1) Una vez presentados los datos en mujeres, en la tabla 4.28 se presentan las características generales y antropométricas exclusivamente de los hombres controles y obesos estudiados. Se puede observar que el % de grasa corporal, al igual que ocurría en las mujeres, aumenta en los pacientes obesos con respecto a su control, si bien este %, como cabría esperar, es mucho mayor en mujeres que en hombres. También son superiores en hombres obesos los valores de IMC y circunferencia de la cintura respecto a los sujetos control, de forma estadísticamente significativa. Este grupo de hombres tiene un tamaño muestral menor, por eso los datos obtenidos hay que tomarlos con más cautela.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Número	12	11	
Edad (años)	37,00±2,96	34,91±3,34	0,651
IMC (kg/m ²)	25,58±0,68	35,68±1,65	<0,001
Circunferencia cintura (cm)	95,42±3,69	112,73±2,85	0,004
Grasa total (%)	20,04±1,07	30,93±1,65	<0,001

Tabla 4.28. Datos de edad, IMC, circunferencia de la cintura y total de grasa corporal. Los datos se expresan como media y error típico de la media y número de casos en hombres obesos y controles. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.28.

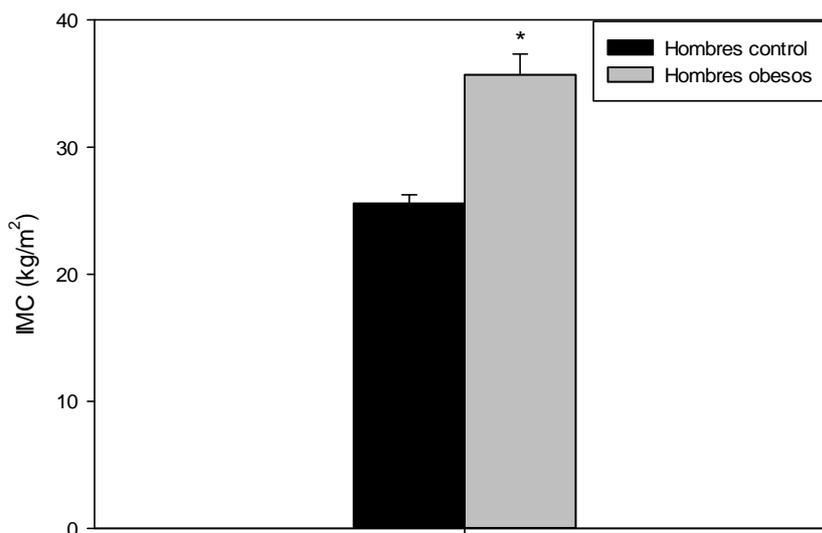


Figura 4.43. Valores de IMC (kg/m²) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,001 según el test U de Mann-Whitney.

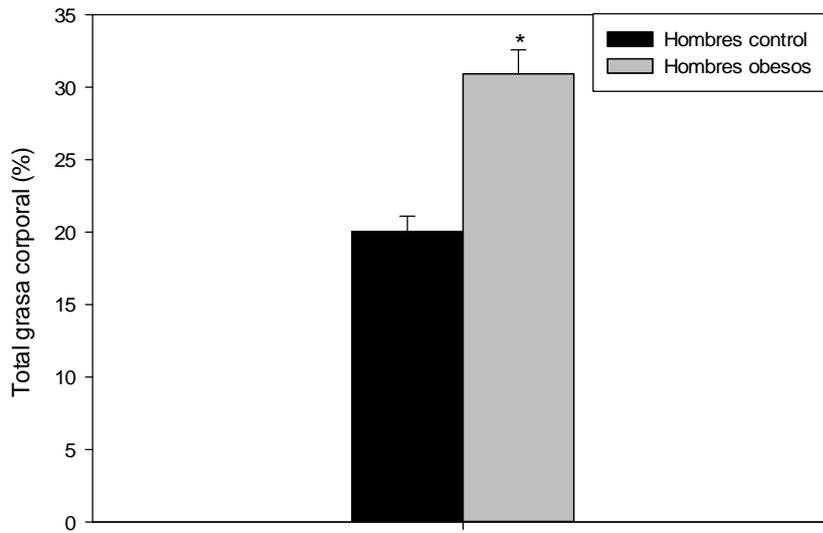


Figura 4.44. Valores de total de grasa corporal (%) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

4.3.2) Niveles basales de GH, ghrelina acilada, ghelina total y PYY₁₋₃₆ y otras moléculas analizadas en un grupo de hombres obesos y normales.

En la tabla 4.29 se presenta la concentración plasmática de glucosa, insulina, GH, ghrelina acilada, ghelina total, PYY₁₋₃₆, IGF-I, leptina, cortisol, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL, ácido úrico, proteína C reactiva, apoproteína A, apoproteína B, TSH, IGFBP-3 y homocisteína en los hombres control y en las pacientes obesos después de un ayuno nocturno y antes de la sobrecarga oral de glucosa.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Glucosa (mg/dl)	98,60±2,93	98,91±2,32	0,863
Insulina (μUI/ml)	5,18±1,52	16,09±1,83	<0,001
GH (μg/l)	0,26±0,12	0,14±0,07	0,201
Ghrelinina acilada (pg/ml)	112,55±23,48	204,27±37,06	0,132
Ghrelinina total (pg/ml)	880,42±70,84	722,09±53,52	0,029
PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	154,00±18,57	171,09±26,85	0,863
Cortisol (μg/dl)	20,00±1,05	15,48±1,26	0,020
IGF-1 (ng/ml)	147,51±9,36	125,00±16,45	0,223
Leptina (ng/ml)	4,37±0,84	26,82±4,35	<0,001
Triglicéridos (mg/dl)	150,70±36,92	251,82±89,76	0,152
Colesterol (mg/dl)	178,40±12,46	188,27±10,15	0,654
Colesterol LDL (mg/dl)	112,70±12,97	113,65±11,65	0,654
Colesterol HDL (mg/dl)	49,20±3,69	51,00±5,46	0,705
Proteína C reactiva (mg/dl)	0,30±0,06	0,41±0,09	0,173
Apoproteína A (mg/dl)	155,50±10,13	157,64±8,93	0,756
Apoproteína B (mg/dl)	115,36±12,12	121,18±10,30	0,605
IGFBP-3 (μg/ml)	4,45±0,41	3,92±0,34	0,282
TSH (μU/ml)	1,88±0,31	3,08±0,98	0,349
Ácido úrico (mg/dl)	5,94±0,45	6,88±0,77	0,223
Homocisteína (μM/L)	11,20±0,72	12,20±0,97	0,654

Tabla 4.29. Concentraciones plasmáticas en ayunas de glucosa, insulina, GH, ghrelinina acilada, ghrelinina total, PYY₁₋₃₆, cortisol, IGF-I, leptina, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL, proteína C reactiva, apoproteína A, apoproteína B, IGFBP-3, TSH, ácido úrico y homocisteína previas al estímulo en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.29.

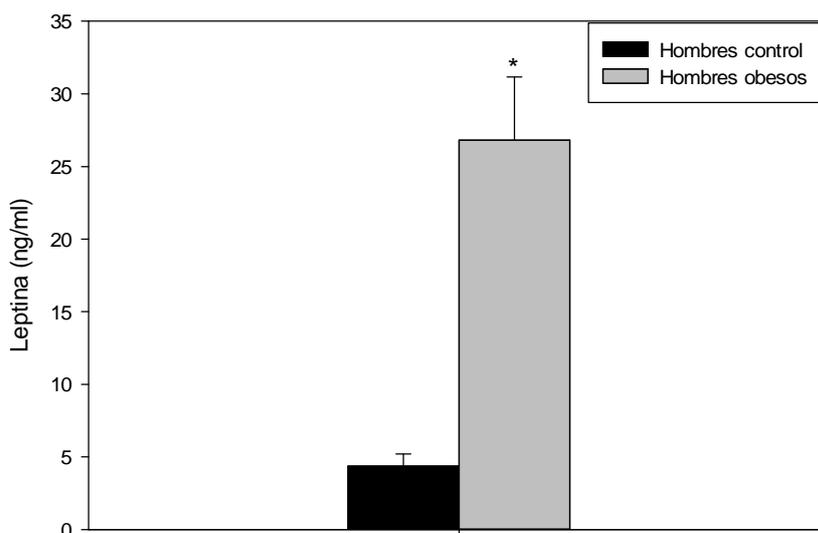


Figura 4.45. Valores de leptina (ng/ml) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

4.3.3) En las tablas de la 4.30 a la 4.41 y las figuras de la 4.46 a la 4.61 se pueden observar la respuesta a lo largo de 300 minutos de glucemia, insulina, GH, ghrelina total, ghrelina acilada y PYY₁₋₃₆, tras la administración oral de glucosa en un grupo de hombres obesos y controles.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Pico glucemia (mg/dl)	184,00 \pm 11,03	177,36 \pm 12,10	0,512
Nadir glucemia (mg/dl)	65,40 \pm 3,60	69,45 \pm 3,03	0,468
AUC ₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	31743 \pm 1426	32157 \pm 1391	0,809
AUC ₀₋₁₂₀ glucemia (mg/dl x min)	19370 \pm 1284	19534 \pm 1174	0,863
AUC ₀₋₁₅₀ glucemia (mg/dl x min)	16670 \pm 1098	16662 \pm 1004	1,000
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	12374 \pm 402,30	12623 \pm 682,84	0,756

Tabla 4.30. Datos de pico, nadir de glucemia (mg/dl) y áreas bajo la curva postestimulo (mg/dl x min) en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

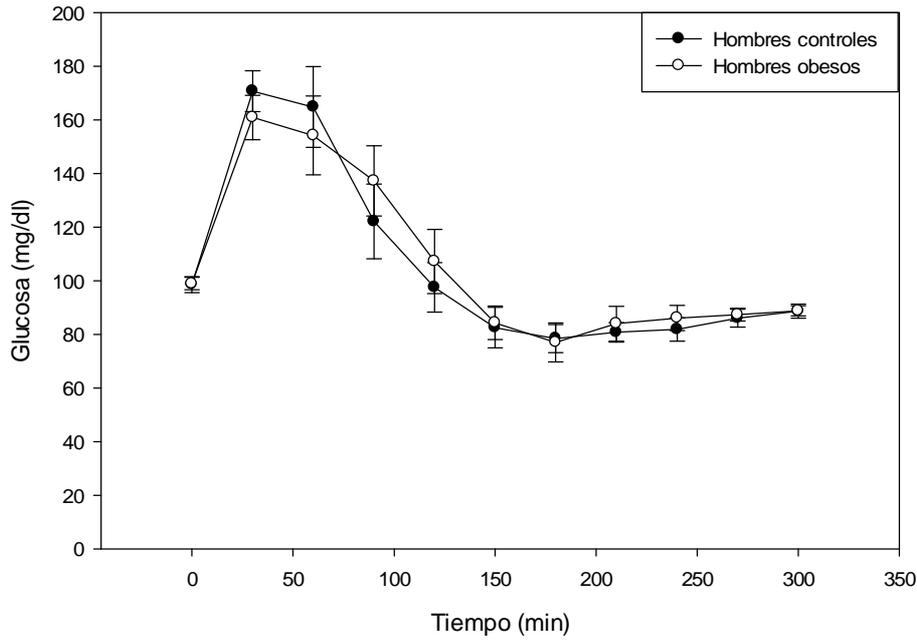


Figura 4.46. Concentraciones plasmáticas de glucosa (mg/dl) postestímulo en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa tras la sobrecarga oral de glucosa (tabla 4.30, figura 4.46), a diferencia de lo que ocurría en mujeres, esto sugiere un dimorfismo sexual.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Pico insulina (μ UI/ml)	73,79 \pm 12,68	129,75 \pm 10,84	0,006
Nadir insulina (μ UI/ml)	4,69 \pm 1,56	9,67 \pm 2,10	0,010
AUC ₀₋₃₀₀ insulina (μ UI/ml x min)	7887 \pm 1307	14655 \pm 2199	0,008
AUC ₀₋₁₅₀ insulina (μ UI/ml x min)	6442 \pm 1044	11160 \pm 1101	0,010
AUC ₀₋₁₂₀ insulina (μ UI/ml x min)	5676 \pm 945	9449 \pm 959	0,020
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ insulina (μ UI/ml x min)	1445,30 \pm 377,46	3495,27 \pm 1441,29	0,036

Tabla 4.31. Datos de pico, nadir de insulina (μ UI/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (μ UI/ml x min) en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

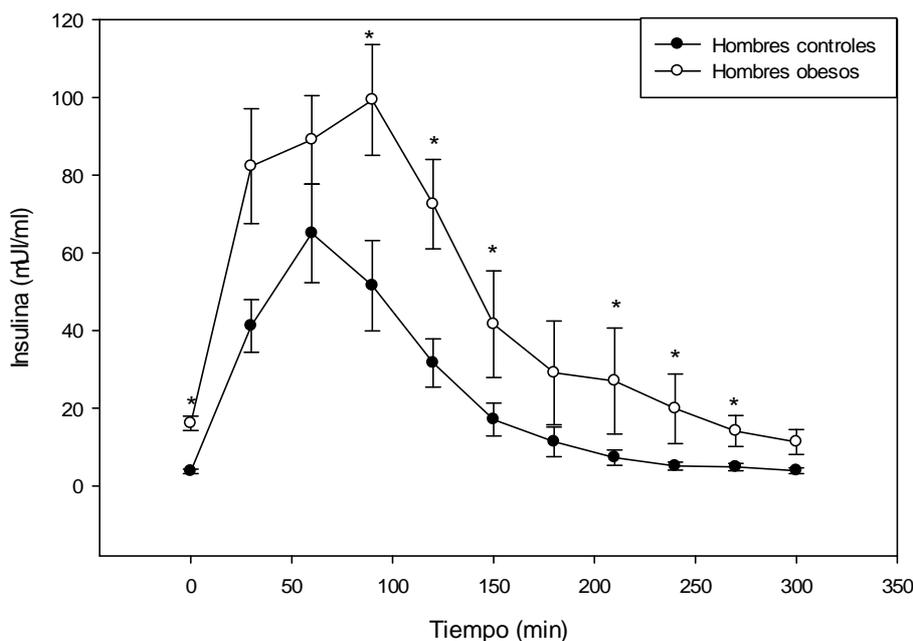


Figura 4.47. Concentraciones plasmáticas de insulina ($\mu\text{UI/ml}$) postestimulo en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ según el test U de Mann-Whitney.

Como puede observarse en la tabla 4.31 y en la figura 4.47, tras la sobrecarga oral de glucosa la concentración máxima y mínima de insulina alcanzada fue superior en el grupo de sujetos obesos que en los controles y el área bajo la curva de 0 a 300 minutos, en su tramo inicial y final también fue superior en los obesos, todas estas diferencias alcanzaron significación estadística.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Pico GH ($\mu\text{g/l}$)	2,90 \pm 1,10	3,13 \pm 1,44	0,918
Nadir GH ($\mu\text{g/l}$)	0,06 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,426
AUC ₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l x min}$)	213,79 \pm 84,18	191,37 \pm 89,40	0,918
AUC ₀₋₁₅₀ GH ($\mu\text{g/l x min}$)	43,11 \pm 31,60	15,00 \pm 4,41	0,918
AUC ₀₋₁₂₀ GH ($\mu\text{g/l x min}$)	25,05 \pm 15,35	11,54 \pm 3,87	0,557
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l x min}$)	170,68 \pm 62,36	176,37 \pm 89,17	0,863

Tabla 4.32. Datos de pico, nadir de GH ($\mu\text{g/l}$) y áreas bajo la curva postestimulo ($\mu\text{g/l x min}$) en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

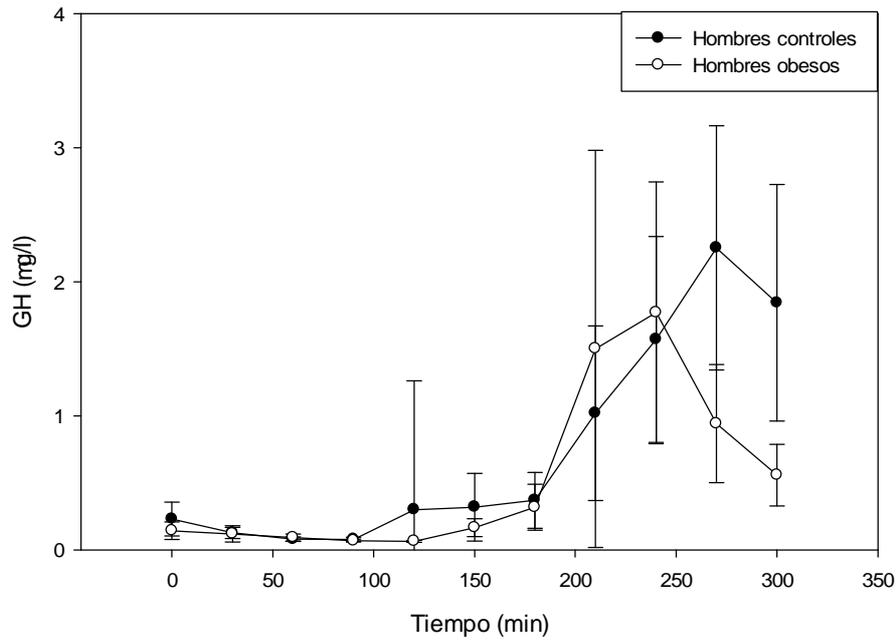


Figura 4.48. Concentraciones plasmáticas de GH ($\mu\text{g/l}$) postestimulo en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

Tras la sobrecarga oral de glucosa el pico de GH y las áreas bajo la curva no presentaron diferencias con significación estadística entre ambos grupos (tabla 4.32, figura 4.48). Esto contrasta con los resultados obtenidos en mujeres donde observamos que el pico y nadir de GH fue superior en las mujeres controles que en obesas de forma estadísticamente significativa y también fue superior en controles de forma significativa el valor del área bajo la curva de 0 a 300 minutos, podemos hablar por tanto de la existencia de un dimorfismo sexual en la secreción de GH.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.32.

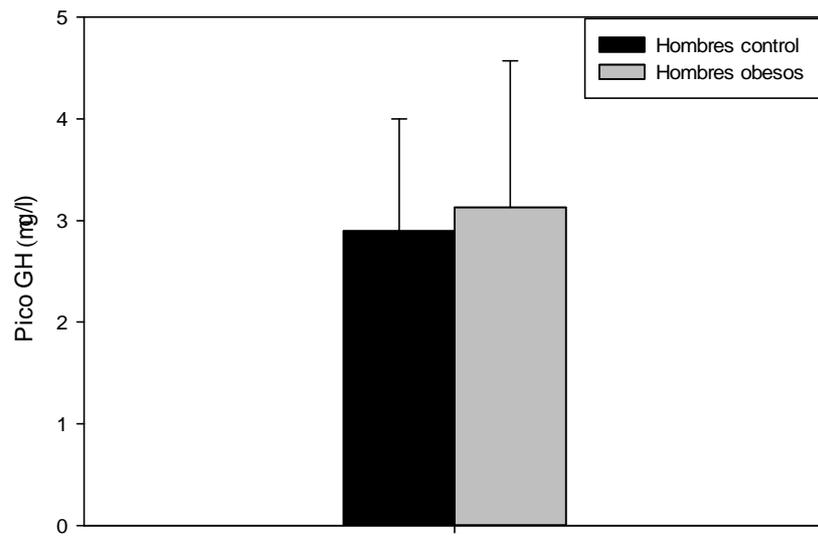


Figura 4.49. Valores del pico de GH ($\mu\text{g/l}$) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

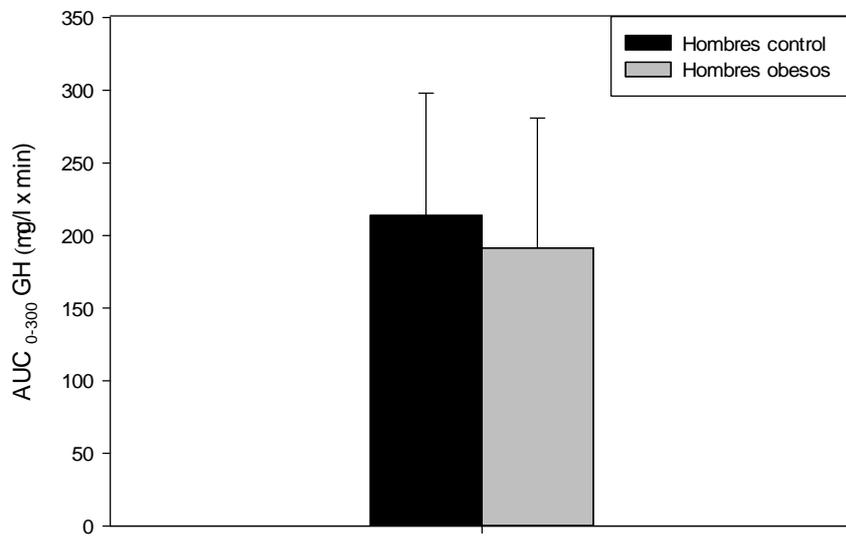


Figura 4.50. Valores del AUC₀₋₃₀₀ GH ($\mu\text{g/l}$) en pacientes mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Pico ghrelina total (pg/ml)	1048,5±95,46	820,09±56,96	0,035
Nadir ghrelina total (pg/ml)	594,76±58,67	538,55±42,87	0,529
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	240532±23908	199856±14000	0,114
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina total (pg/ml x min)	104619±9986	92437±6677	0,387
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina total (pg/ml x min)	83079±7642	74213±5305	0,426
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	135913±14363	107419±7672	0,072

Tabla 4.33. Datos de pico, nadir de ghrelina total (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

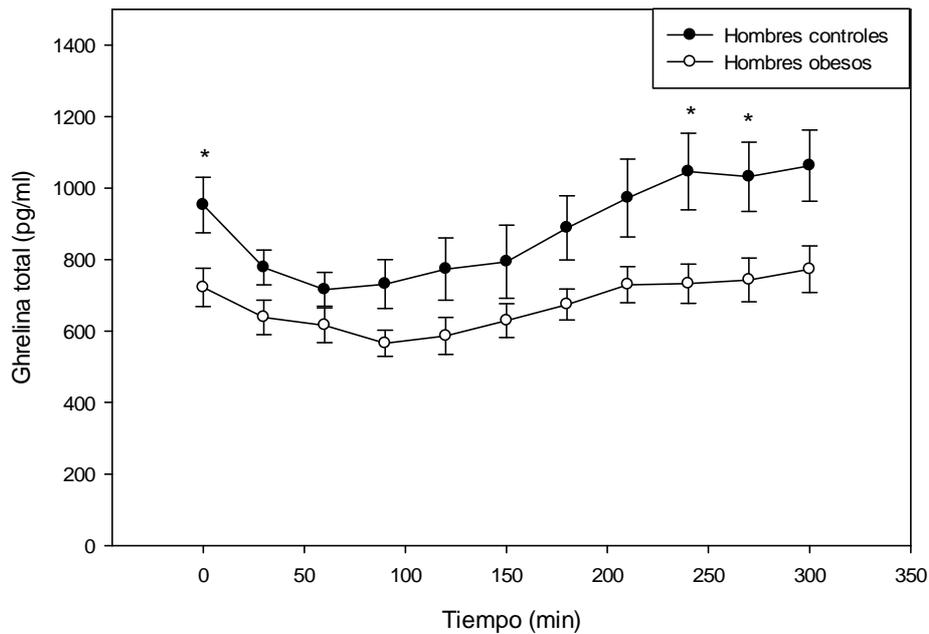


Figura 4.51. Concentraciones plasmáticas de ghrelina total (pg/ml) postestímulo en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,05 según el test U de Mann-Whitney.

La respuesta postestímulo de ghrelina total alcanzó un valor máximo y mínimo que fue menor en los obesos que en los controles. Las áreas bajo la curva de ghrelina total fueron menores en los obesos, ninguna de estas diferencias alcanzó significación estadística (tabla 4.33, figura 4.51).

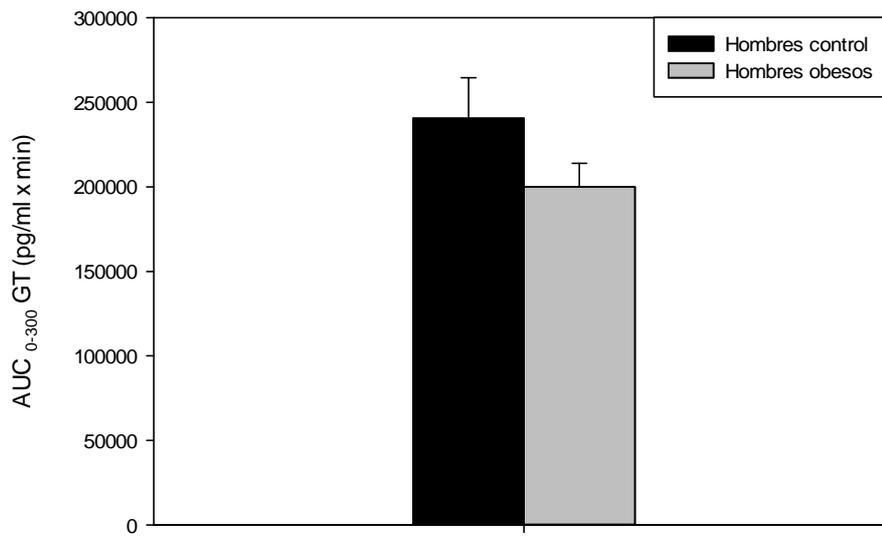


Figura 4.52. Valores de AUC₀₋₃₀₀ ghrelin total (pg/ml x min) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Pico ghrelin acilada (pg/ml)	261,34±45,98	332,91±52,21	0,282
Nadir ghrelin acilada (pg/ml)	67,01±15,74	120,91±32,16	0,605
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	47095±7995	59449±12812	0,705
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	20109±3693	28579±5316	0,282
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelin acilada (pg/ml x min)	15737±2972	23231±4180	0,173
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelin acilada (pg/mlx min)	26986±4474	30870±7835	1,000

Tabla 4.34. Datos de pico, nadir de ghrelin acilada (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

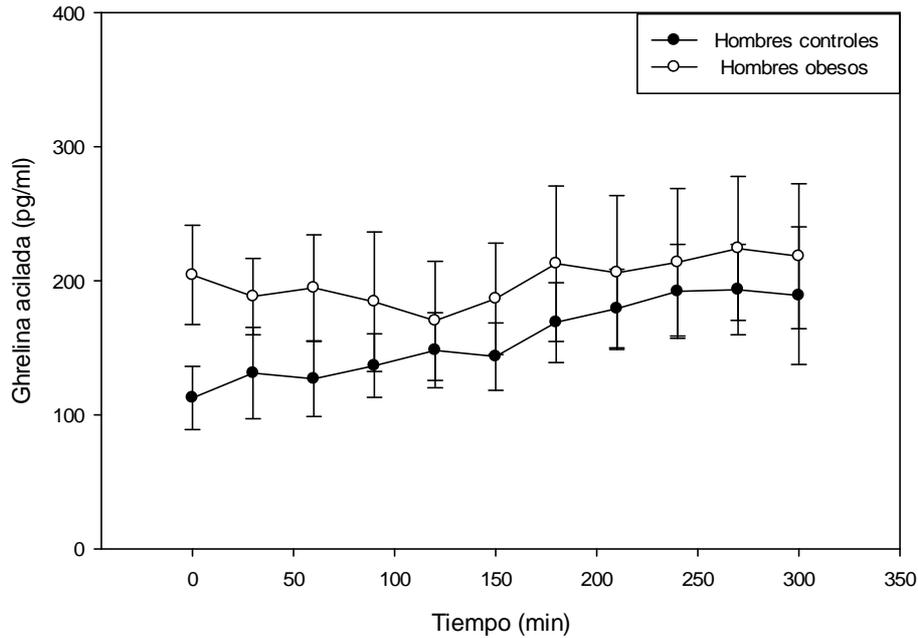


Figura 4.53. Concentraciones plasmáticas de ghrelina acilada (pg/ml) postestímulo en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

La concentración máxima y mínima alcanzada por la ghrelina acilada tras el estímulo fue superior en los obesos que en los controles y el área bajo la curva total y en el tramo inicial y final también fue mayor en los obesos; ninguna diferencia resultó estadísticamente significativa (tabla 4.34, figura 4.53).

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Pico PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	167,97 \pm 19,83	210,73 \pm 25,54	0,314
Nadir PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	99,16 \pm 11,34	124,36 \pm 13,70	0,152
AUC ₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	38548 \pm 4760	46985 \pm 4917	0,197
AUC ₀₋₁₅₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	21354 \pm 2591	25466 \pm 2782	0,426
AUC ₀₋₁₂₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	17548 \pm 2090	20641 \pm 2340	0,426
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	17495 \pm 2254	21520 \pm 2306	0,132

Tabla 4.35. Datos de pico, nadir de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

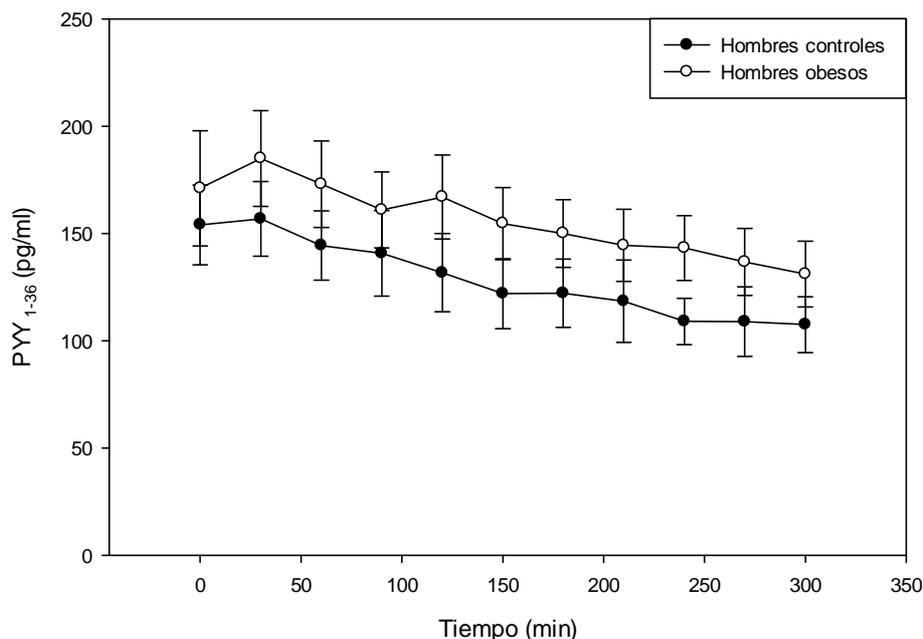


Figura 4.54. Concentraciones plasmáticas de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) postestímulo en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media.

Como puede observarse en la tabla 4.35 y en la figura 4.54 la concentración máxima y mínima alcanzada por el PYY₁₋₃₆ tras el estímulo fue superior en los obesos que en los controles y el área bajo la curva total y en el tramo inicial y final también fue mayor en los obesos; ninguna diferencia resultó estadísticamente significativa, al igual que ocurría en mujeres.

4.3.4) Diferentes índices de sensibilidad y secreción insulínica sobre la liberación de GH en un grupo de hombres obesos y normales.

- Sensibilidad a la insulina:

	Hombres control	Obesos	p
Número	10	11	
QUICKY	0,39±0,01	0,32±0,01	<0,001
Homa-IR	1,25±0,37	3,97±0,51	<0,001
I.Matsuda	11,89±1,17	4,03±0,26	<0,001

Tabla 4.36. Valores de diferentes índices de sensibilidad insulínica en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados en la tabla 4.36.

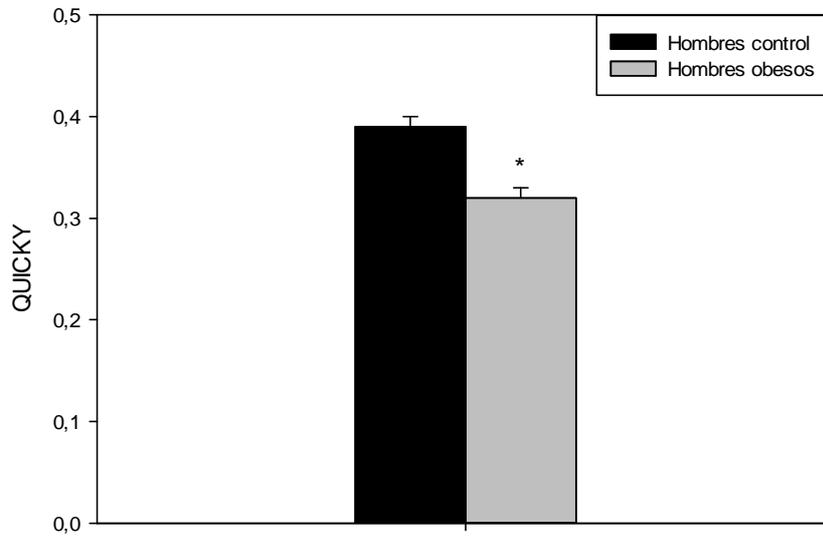


Figura 4.55. Valores de QUICKY en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

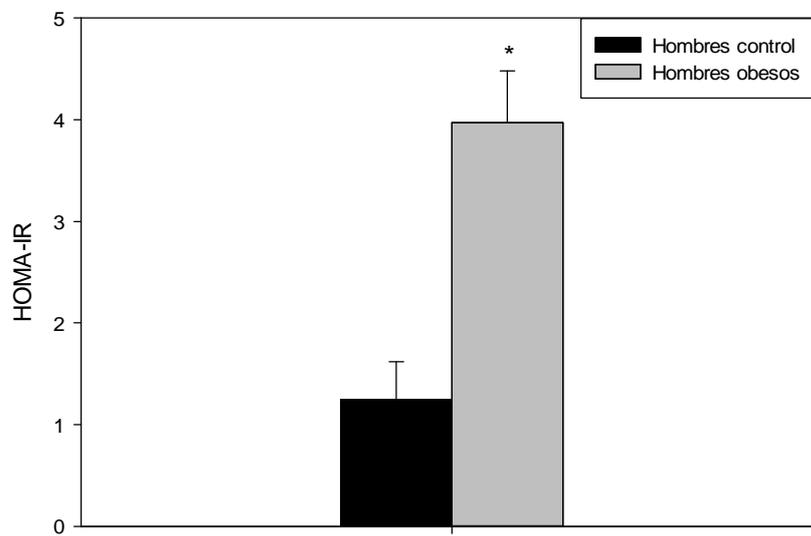


Figura 4.56. Valores de Homa-IR en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

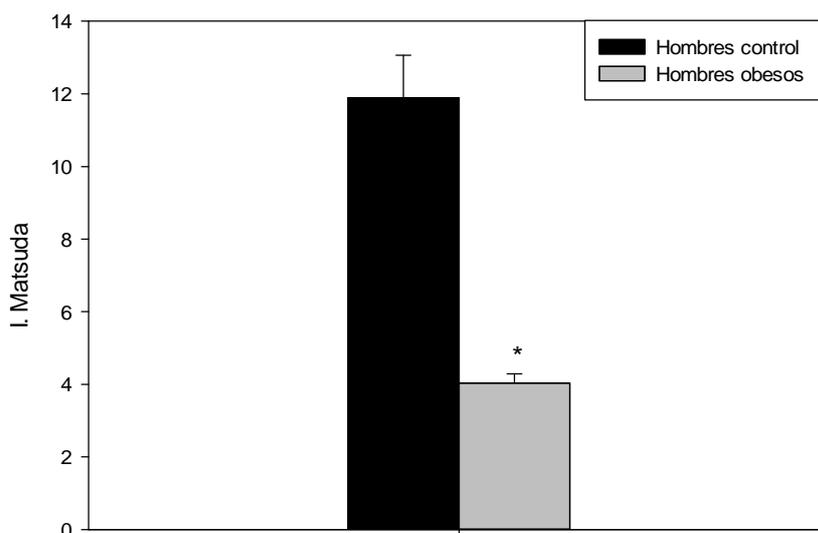


Figura 4.57. Valores de Índice Matsuda en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

· Secreción insulina:

	Hombres control	Obesos	p
Número	10	11	
Homa- β	55,84 \pm 16,02	164,95 \pm 16,46	<0,001
I. Stumvoll	0,11 \pm 0,001	0,05 \pm 0,01	<0,001
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₁₂₀ (μ UI/ml)/(mg/dl) x min	0,30 \pm 0,04	0,59 \pm 0,07	0,005
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₃₀₀ (μ UI/ml)/(mg/dl) x min	0,22 \pm 0,03	0,45 \pm 0,05	0,002
AUC Insulina ₀₋₁₂₀ (μ UI/ml x min)	5676 \pm 945,27	9449 \pm 959,10	0,020
AUC Insulina ₀₋₃₀₀ (μ UI/ml x min)	7887 \pm 1307	14655 \pm 2199	0,008

Tabla 4.37. Valores de diferentes índices de secreción insulínica en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

A continuación se representan en histogramas los resultados en la tabla 4.37.

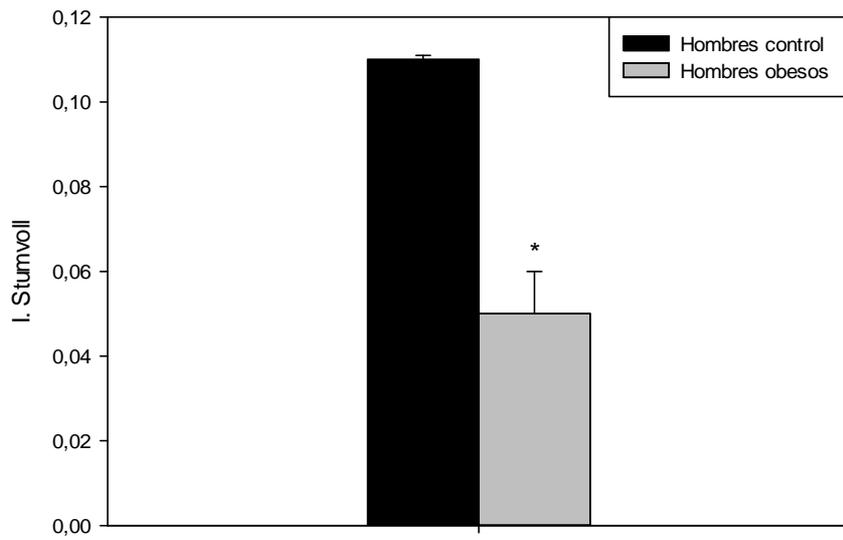


Figura 4.58. Valores de Índice Stumvoll en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

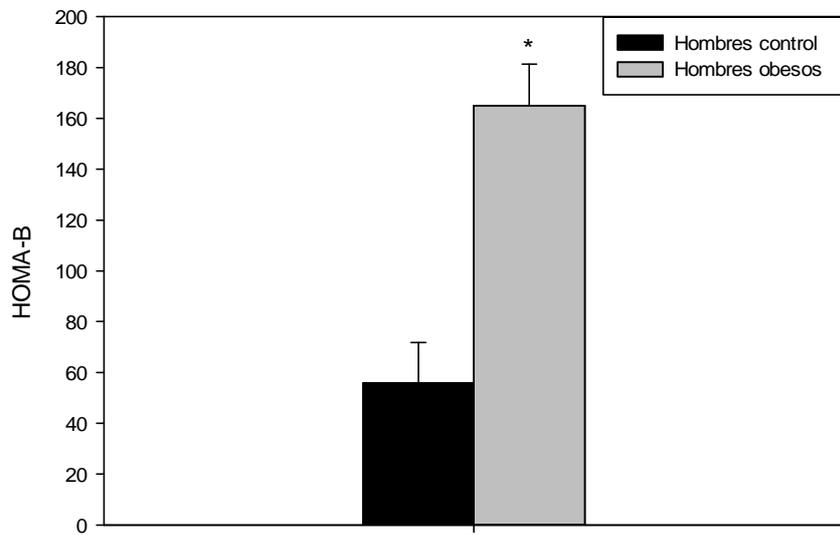


Figura 4.59. Valores de Homa- β en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

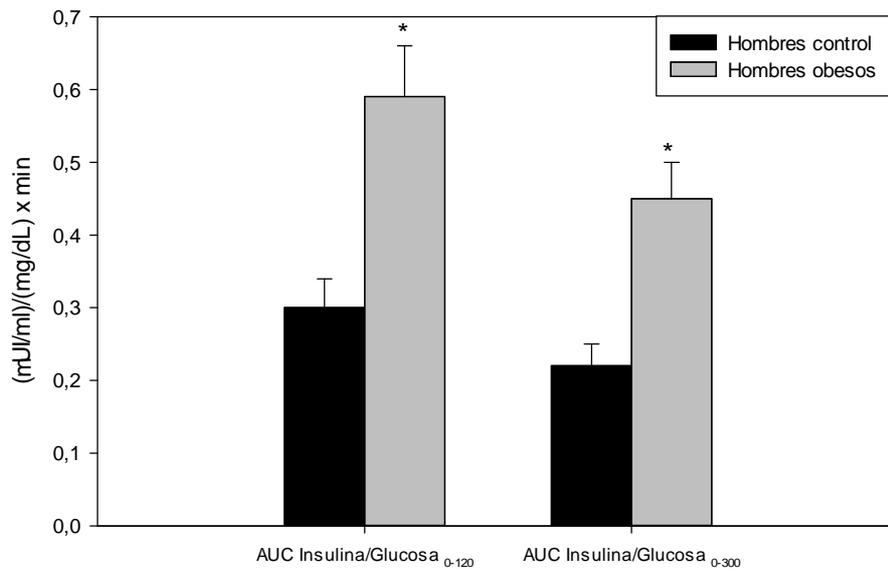


Figura 4.60. Valores de AUC Insulina/Glucosa₀₋₁₂₀ y AUC Insulina/Glucosa₀₋₃₀₀ ((μ UI/ml)/ (mg/dl) x min) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ segun el test U de Mann-Whitney.

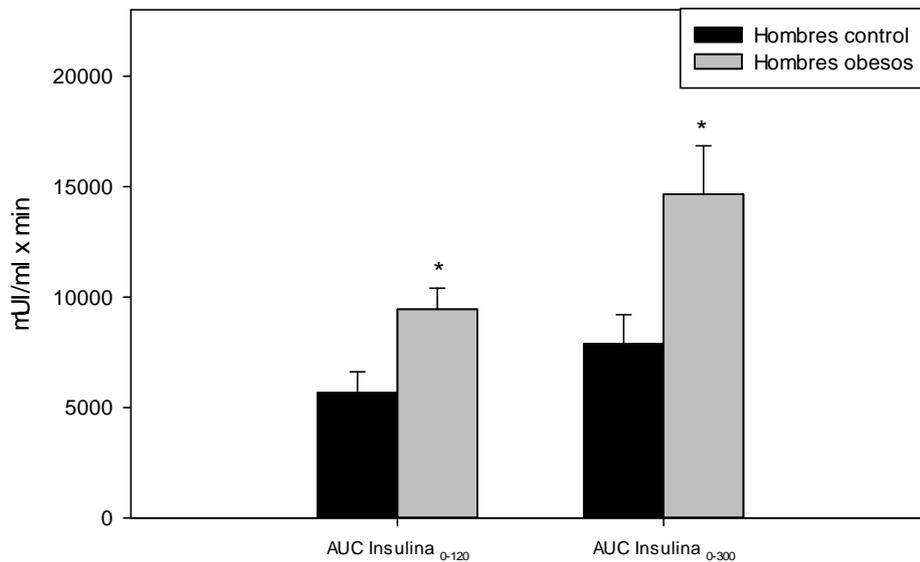


Figura 4.61. Valores de AUC Insulina₀₋₁₂₀ y AUC Insulina₀₋₃₀₀ (μ UI/ml x min) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,05$ segun el test U de Mann-Whitney.

4.4 DATOS EN PACIENTES HIPOPITUITARIOS, COMPARADOS CON GRUPO CONTROL Y PACIENTES OBESOS (HOMBRES Y MUJERES)

4.4.1) El hipopituitismo es una enfermedad caracterizada por el déficit de una o varias funciones hipofisarias, siendo la más frecuente el déficit de GH. Para comprobar cómo influye esta alteración hipofisaria en la secreción de hormonas gastrointestinales, relacionadas con la ingesta, llevamos a cabo un estudio con pacientes controles, obesos e hipopituitarios con déficit somatotropo sin tratamiento sustitutivo para GH, aunque adecuadamente tratados para el resto de los déficits hipofisarios. En la tabla 4.38 se presentan las características generales y antropométricas de los sujetos de este estudio.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34 (24 mujeres)	51 (40 mujeres)	17 (10 mujeres)
Edad (años)	36,41±1,89	39,00±1,73	43,12±2,43
IMC (kg/m ²)	23,58±0,45	37,26±0,86 ^{^^}	27,58±1,45 ^{*##}
Circunferencia cintura (cm)	84,53±1,45	109,70±1,74 ^{^^}	101,18±3,07 ^{*##}
Total grasa corporal (%)	27,01±1,08	42,14±1,08 ^{^^}	29,24±2,25 ^{##}

Tabla 4.38. Se representan los datos de edad, IMC, circunferencia de la cintura y total de grasa corporal. Los datos se expresan como media y error típico de la media (en variables numéricas) y número de casos en pacientes obesos, hipopituitarios y controles. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.38.

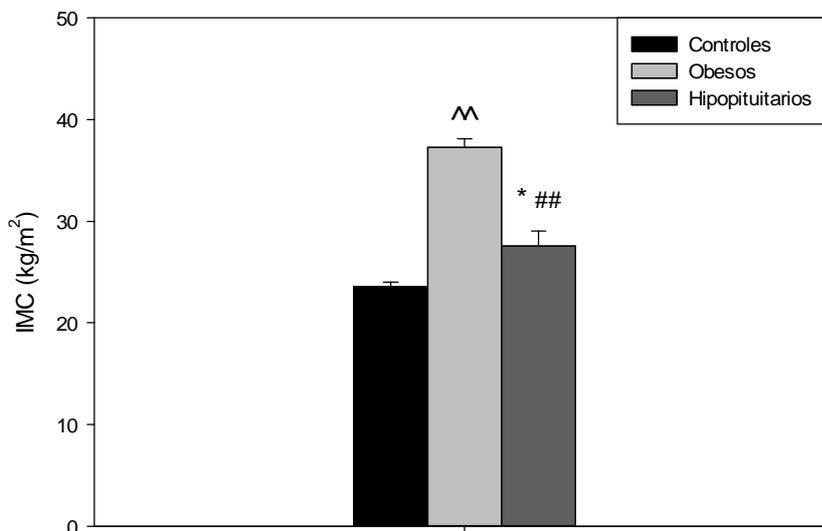


Figura 4.62. Valores de IMC (kg/m²) en pacientes obesos, hipopituitarios y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

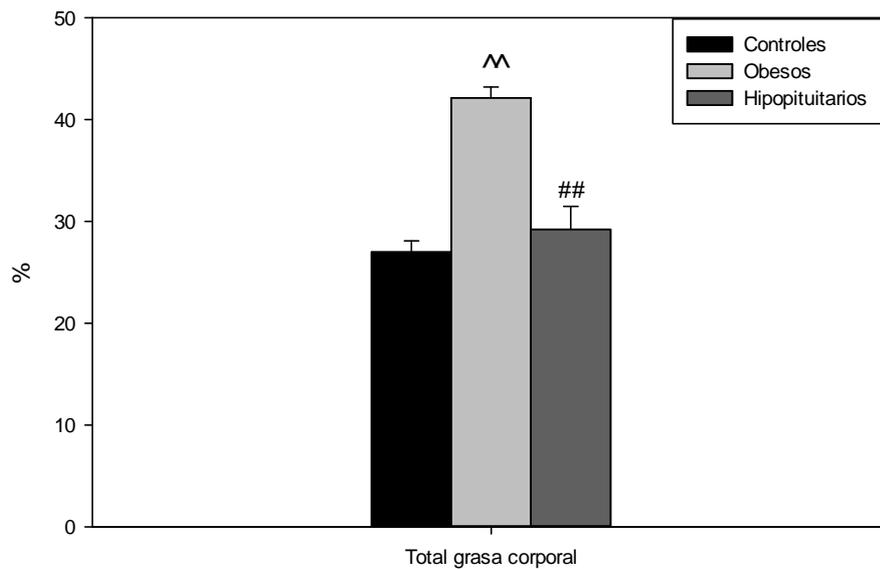


Figura 4.63. Valores de total de grasa corporal (%) en pacientes obesos, hipopituitarios y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media según el test U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

4.4.2) Niveles basales de GH, ghrelina acilada, ghelina total y PYY₁₋₃₆ y otras moléculas analizadas en un grupo de pacientes obesos, hipopituitarios y normales.

En la tabla 4.39 se presenta la concentración plasmática de glucosa, insulina, GH, IGF-I, leptina, cortisol, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL, colesterol HDL y proteína C reactiva en los sujetos control, pacientes obesos y en los pacientes hipopituitarios después de un ayuno nocturno y antes de la sobrecarga oral de glucosa.

Los valores de cortisol y IGF-I son significativamente inferiores en los pacientes hipopituitarios respecto a los grupos control y obesos.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	17
Glucosa (mg/dl)	92,53±1,79	100,88±2,09 [^]	92,82±3,30
Insulina (μUI/ml)	5,26±0,80	15,01±3,18 ^{^^}	17,90±5,98 ^{**}
GH (μg/l)	1,52±0,42	0,82±0,19	0,14±0,04 [*]
Cortisol (μg/dl)	19,65±0,71	17,38±0,78 [^]	4,98±1,30 ^{**##}
IGF-1 (ng/ml)	155,97±6,75	129,20±7,82 [^]	91,06±13,33 ^{**#}
Leptina (ng/ml)	17,56±2,18	58,54±4,12 ^{^^}	27,80±8,23 ^{##}
Triglicéridos (mg/dl)	96,12±13,10	141,02±21,32 [^]	129,88±26,70
Colesterol (mg/dl)	195,00±7,98	190,12±4,79	214,82±6,71
Colesterol LDL (mg/dl)	115,08±6,43	117,51±4,45	133,94±7,61
Colesterol HDL (mg/dl)	59,91±2,62	50,16±2,04 [^]	56,59±4,67
Proteína C reactiva (mg/dl)	0,26±0,02	0,66±0,09 ^{^^}	1,03±0,31 ^{**}

Tabla 4.39. Concentraciones plasmáticas en ayunas de glucosa, insulina, GH, cortisol, IGF-I, leptina, triglicéridos, colesterol, colesterol LDL y proteína C reactiva previas al estímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

A continuación se representan en histogramas los resultados más relevantes obtenidos en la tabla 4.39.

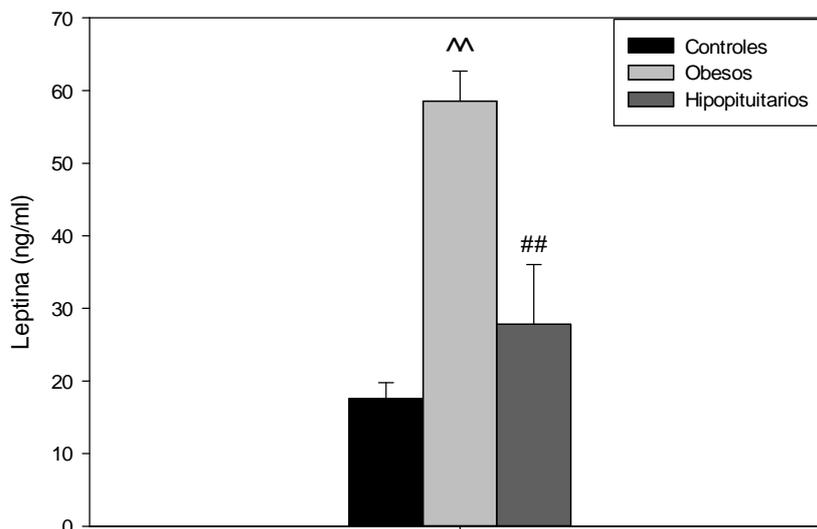


Figura 4.64. Valores de leptina (ng/ml) en pacientes obesos, hipopituitarios y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

Como puede observarse en la figura 4.64 la leptina es muy superior en los obesos, respecto a los otros dos grupos ya que sus niveles plasmáticos son proporcionales al tamaño de la grasa corporal.

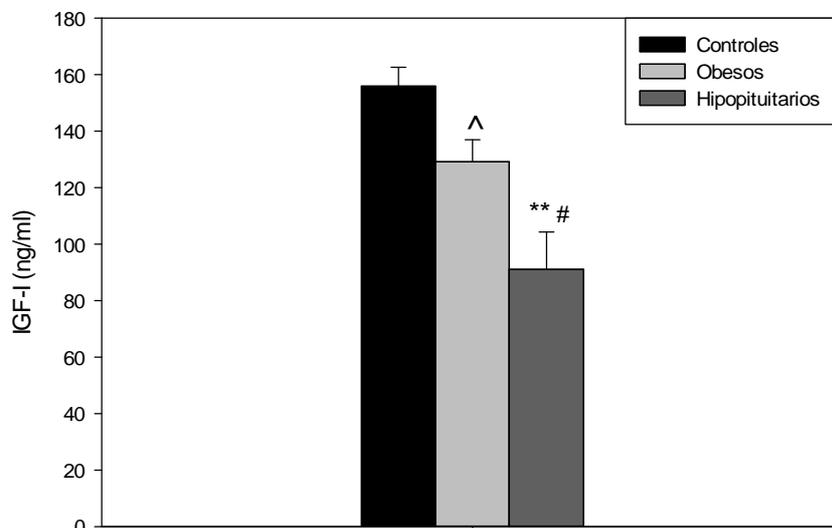


Figura 4.65. Valores de IGF-I (ng/ml) en pacientes obesos, hipopituitarios y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

En la tabla 4.40 se presenta la concentración plasmática de ghrelina acilada, ghrelina total, ácido úrico, apoproteína A, apoproteína B, TSH, IGFBP-3 y homocisteína en los sujetos control, en los pacientes hipopituitarios y en los pacientes obesos después de un ayuno nocturno y antes de la sobrecarga oral de glucosa.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Ghrelina acilada (pg/ml)	159,59 \pm 29,97	165,49 \pm 18,49	215,89 \pm 52,68
Ghrelina total (pg/ml)	1189,1 \pm 121,72	837,67 \pm 39,70 [^]	841,09 \pm 162,03 [*]
PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	138,33 \pm 8,28	134,70 \pm 7,43	115,71 \pm 13,61
Ácido úrico (mg/dl)	4,75 \pm 0,22	5,62 \pm 0,23 [^]	5,11 \pm 0,48
Apoproteína A (mg/dl)	174,29 \pm 5,03	166,50 \pm 5,74	158,40 \pm 10,12
Apoproteína B (mg/dl)	102,27 \pm 5,27	117,59 \pm 5,87	116,40 \pm 5,86
IGFBP-3 (μ g/ml)	4,49 \pm 0,16	4,28 \pm 0,13	3,80 \pm 0,56
TSH (μ U/ml)	2,20 \pm 0,22	2,94 \pm 0,32	0,86 \pm 0,54 [#]
Homocisteína (μ M/L)	9,87 \pm 0,38	11,24 \pm 0,63	13,86 \pm 2,19

Tabla 4.40. Concentraciones plasmáticas en ayunas de ghrelina acilada, ghrelina total, PYY₁₋₃₆, apoproteína A, apoproteína B, IGFBP-3, TSH y homocisteína previas al estímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

4.4.3) Respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de insulina, GH, ghrelina total, ghrelina acilada, PYY₁₋₃₆ y cortisol en pacientes con hipopituitarismo, obesidad y controles.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Pico glucemia (mg/dl)	162,24±6,51	175,18±7,00	170,50±14,99
Nadir glucemia (mg/dl)	61,21±1,97	70,65±2,52 [^]	72,50±8,01
AUC ₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	29608±886,52	33330±1216 [^]	33017±3544
AUC ₀₋₁₂₀ glucemia (mg/dl x min)	15057±622,06	16972±658,74	16892±1531
AUC ₀₋₁₅₀ glucemia (mg/dl x min)	17803±738,38	20270±801,83	20142±1827
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	14551±355,01	16358±721,49 [^]	15354±2599
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ glucemia (mg/dl x min)	11805±253,70	13060±569,67	12104±2242

Tabla 4.41. Datos de pico, nadir de glucemia (mg/dl) y áreas bajo la curva postestímulo (mg/dlxmin) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

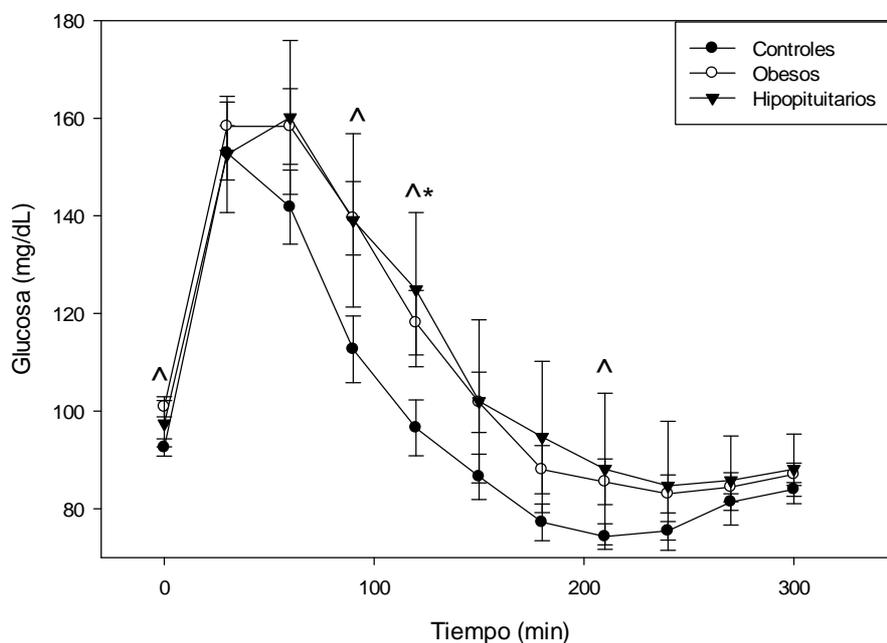


Figura 4.66. Concentraciones plasmáticas de glucosa (mg/dl) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

Los valores de glucemia obtenidos tras la SOG fueron muy similares a los de los pacientes obesos, sin diferencias significativas estadísticamente respecto a los otros dos grupos.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Pico insulina (μUI/ml)	64,99±6,98	108,90±8,05 ^{^^}	114,67±17,18 ^{**}
Nadir insulina (μUI/ml)	4,16±0,78	9,19±0,83 ^{^^}	18,45±7,08 ^{**#}
AUC ₀₋₃₀₀ insulina (μUI/ml x min)	7733±872,21	12922±883,34 ^{^^}	17066±3492 ^{**}
AUC ₀₋₁₂₀ insulina (μUI/ml x min)	5047±491,34	7802±536,93 ^{^^}	10523±1725 ^{**}
AUC ₀₋₁₅₀ insulina (μUI/ml x min)	6012±620,53	9505±642,30 ^{^^}	12928±2167 ^{**}
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ insulina (μUI/ml x min)	2686±446,91	5120±542,67 ^{^^}	6949±1914 ^{**}
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ insulina (μUI/ml x min)	1721±299,87	3417±402,94 ^{^^}	4544±1621 ^{**}

Tabla 4.42. Datos de pico, nadir de insulina (μUI/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (μUI/ml x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

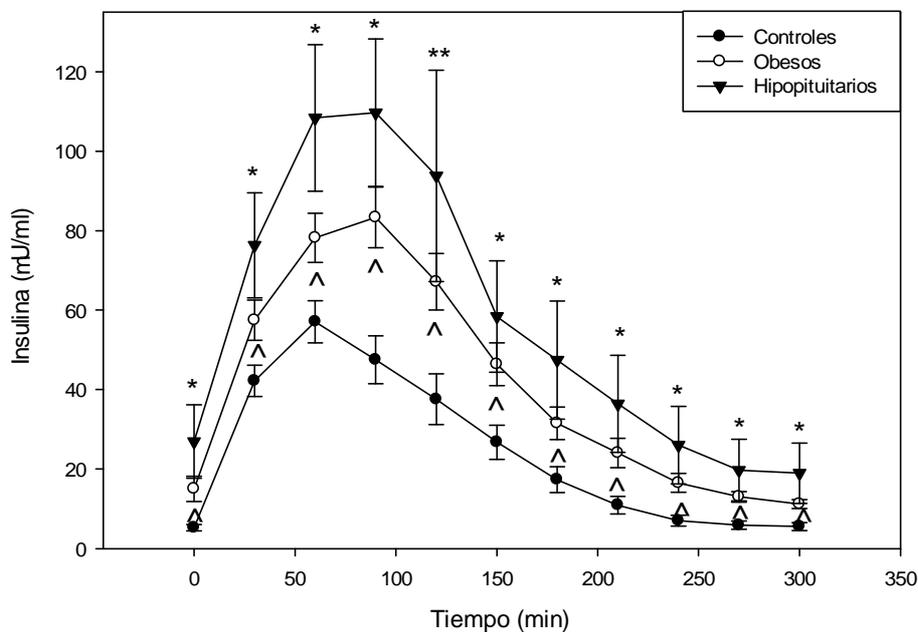


Figura 4.67. Concentraciones plasmáticas de insulina (μUI/ml) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

Como se puede observar en la tabla 4.42 y en la figura 4.67 las diferencias más importantes en los niveles plasmáticos de insulina tras la SOG se observan entre los grupos de pacientes hipopituitarios y control. Como ya se observó en experimentos anteriores existen diferencias entre los pacientes obesos y el grupo control, los valores entre los pacientes obesos e hipopituitarios son similares, aunque con una clara tendencia a valores más elevados en los pacientes hipopituitarios.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Pico GH (µg/l)	5,57±0,71	3,45±0,49 [^]	0,26±0,09 ^{**#}
Nadir GH (µg/l)	0,11±0,03	0,07±0,01 [^]	0,05±0,01 [*]
AUC ₀₋₃₀₀ GH (µg/l x min)	409,03±61,55	247,24±37,71 [^]	45,65±15,30 ^{**#}
AUC ₀₋₁₂₀ GH (µg/l x min)	89,80±17,94	49,73±10,79	14,34±5,76 [*]
AUC ₀₋₁₅₀ GH (µg/l x min)	111,51±24,67	57,92±12,17	17,91±7,27 ^{**#}
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ GH (µg/l x min)	319,23±52,74	197,51±32,83	27,45±9,99 ^{**#}
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ GH (µg/l x min)	297,53±48,73	189,32±32,00	23,88±8,72 ^{**#}

Tabla 4.43. Datos de pico, nadir de GH (µg/l) y áreas bajo la curva postestimulo (µg/l x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] p < 0,05, ^{^^} p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

Como se puede observar en la tabla 4.43 y la figura 4.68 la respuesta de GH tras la SOG es prácticamente ausente en los pacientes hipopituitarios. Siendo estos valores significativamente inferiores, con respecto a los controles al igual que el grupo de pacientes obesos, si bien las diferencias no son significativas en este caso posiblemente por el número bajo de pacientes hipopituitarios. A partir del minuto 200 hay un aumento importante de la secreción de GH tanto en obesos como en controles, sin embargo la respuesta en los pacientes hipopituitarios sigue siendo la misma.

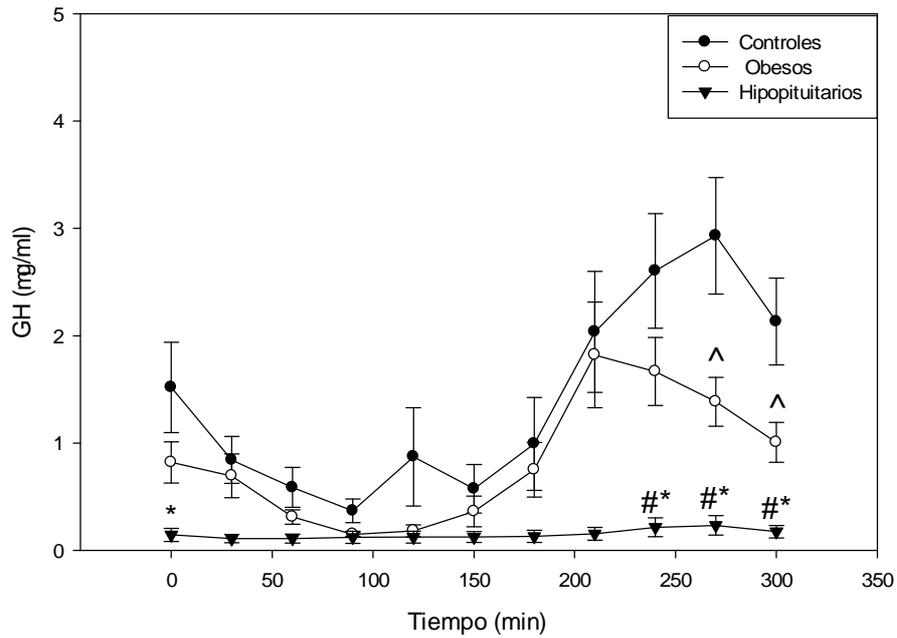


Figura 4.68. Concentraciones plasmáticas de GH ($\mu\text{g/l}$) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

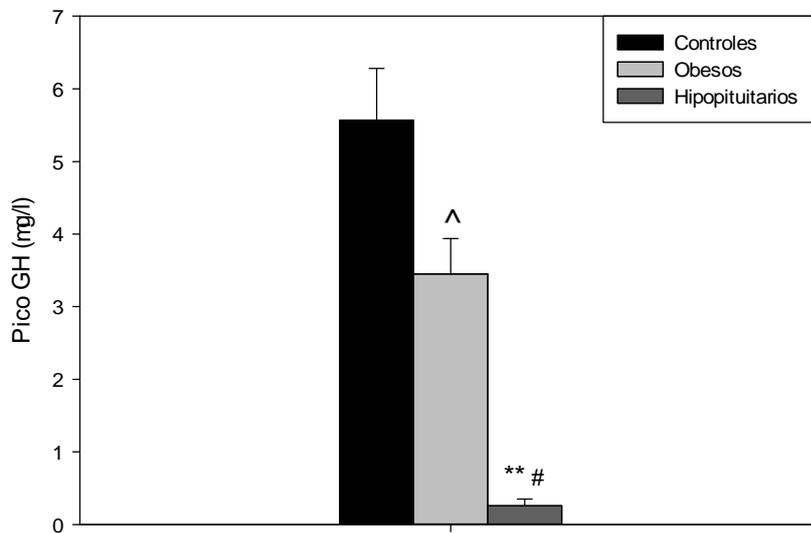


Figura 4.69. Pico de GH ($\mu\text{g/l}$) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

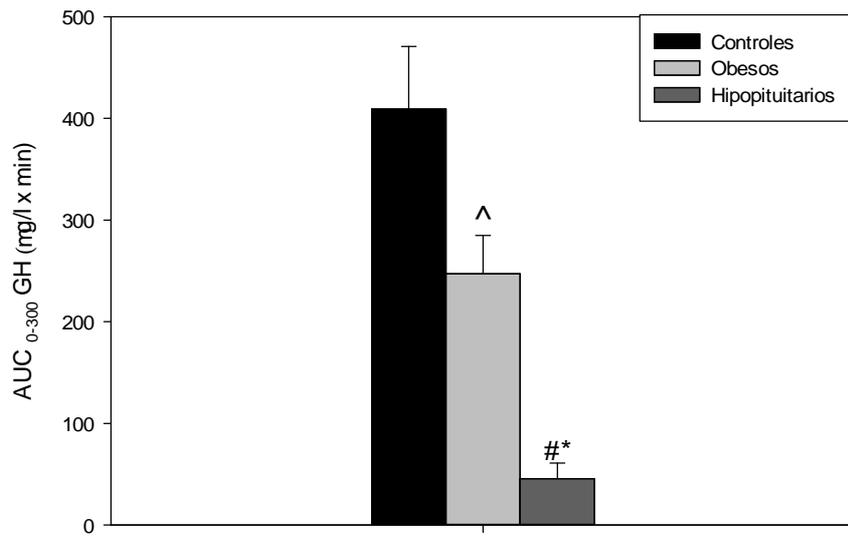


Figura 4.70. AUC₀₋₃₀₀ GH (µg/l x min) postestimulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Pico ghrelina total (pg/ml)	1370,0±124,24	992,84±45,32 [^]	1000,48±191,12
Nadir ghrelina total (pg/ml)	799,26±75,83	645,98±30,13	569,89±91,56
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	311307±28469	231760±9428 [^]	234705±39488
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina total (pg/ml x min)	109561±9972	89724±3905	85667±12576
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina total (pg/ml x min)	136708±12380	111384±4795	105442±15693
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	201746±18638	144173±5819 [^]	131992±28800*
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina total (pg/ml x min)	174600±16227	123083±4998 [^]	112217±25671

Tabla 4.44. Datos de pico, nadir de ghrelina total (pg/ml) y áreas bajo la curva postestimulo (pg/ml x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

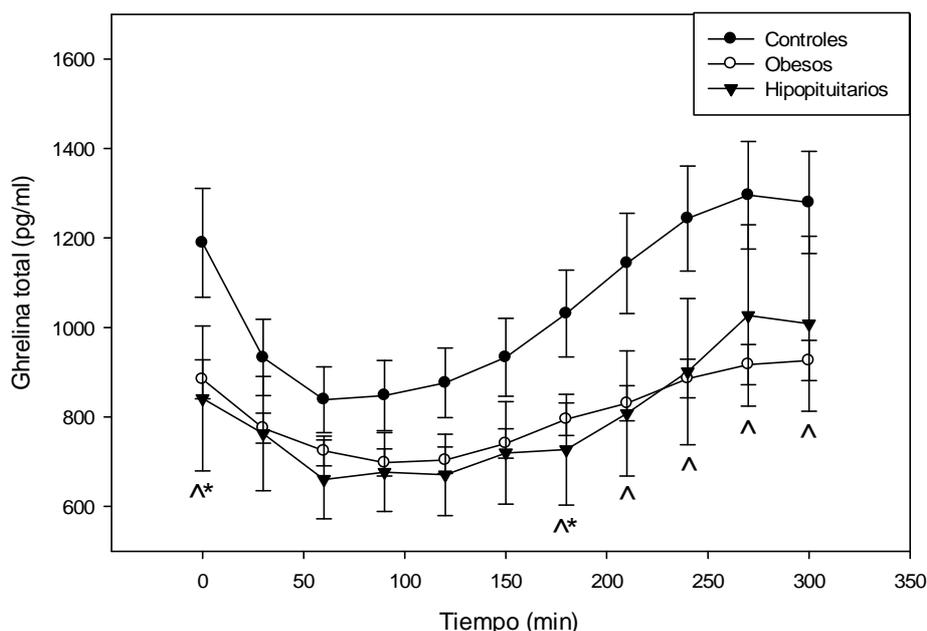


Figura 4.71. Concentraciones plasmáticas de ghrelina total (pg/ml) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

Como se observa en la tabla 4.44 y la figura 4.71 los valores de ghrelina total son inferiores en los pacientes hipopituitarios respecto a los controles y similares a los de los pacientes obesos, si bien los datos presentan una alta variabilidad y solo existe diferencia significativa entre controles e hipopituitarios en el AUC en el período 120-300.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Pico ghrelina acilada (pg/ml)	312,48±37,47	290,68±25,07	286,67±65,05
Nadir ghrelina acilada (pg/ml)	99,06±18,50	102,10±11,86	110,04±32,42
AUC ₀₋₃₀₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	57892±7697	54215±5115	63709±13311
AUC ₀₋₁₂₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	20041±2622	19256±1778	20824±4099
AUC ₀₋₁₅₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	25373±3235	24381±2252	25828±5302
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	37852±5160	34959±3435	37236±9811
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ ghrelina acilada (pg/ml x min)	32520±4545	29834±2950	32232±8594

Tabla 4.45. Datos de pico, nadir de ghrelina acilada (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

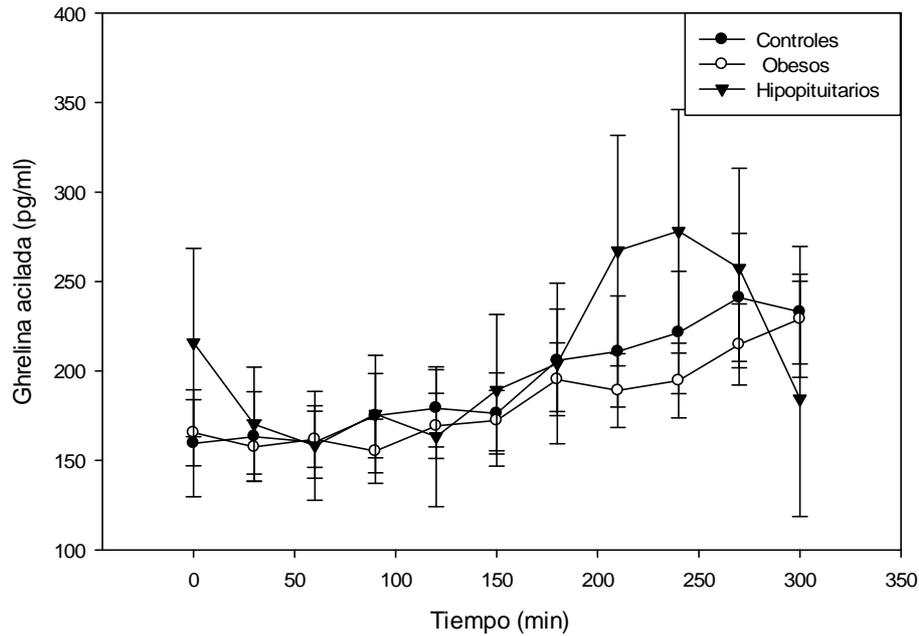


Figura 4.72. Concentraciones plasmáticas de ghrelina acilada (pg/ml) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Pico PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	161,32 \pm 10,56	161,31 \pm 8,77	148,27 \pm 18,46
Nadir PYY ₁₋₃₆ (pg/ml)	95,28 \pm 4,93	98,06 \pm 4,65	87,25 \pm 9,26
AUC ₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	37154 \pm 2208	36929 \pm 1744	35378 \pm 3783
AUC ₀₋₁₂₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	16540 \pm 990	16400 \pm 823,6	15041 \pm 1598
AUC ₀₋₁₅₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	20310 \pm 1231	20106 \pm 996	18652 \pm 2138
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	20614 \pm 1269	20529 \pm 973	17745 \pm 2922
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ PYY ₁₋₃₆ (pg/ml x min)	16844 \pm 1025	16823 \pm 791	14135 \pm 2377

Tabla 4.46. Datos de pico, nadir de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

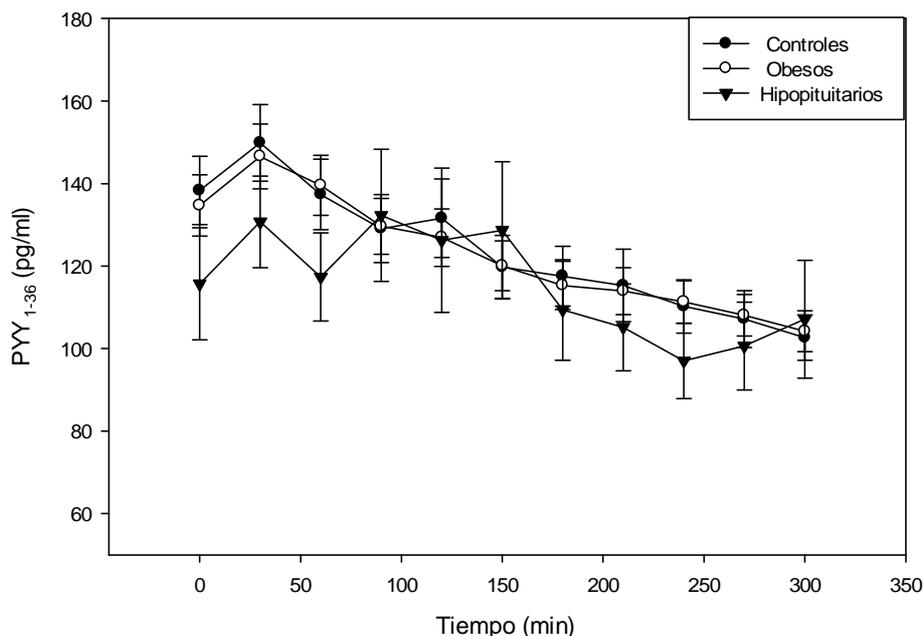


Figura 4.72. Concentraciones plasmáticas de PYY₁₋₃₆ (pg/ml) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	37	51	10
Pico cortisol (µg/dl)	20,64±0,62	19,27±0,77	5,26±2,02 ^{*#}
Nadir cortisol (µg/dl)	6,30±0,38	6,54±0,50	2,17±0,94 ^{*#}
AUC ₀₋₃₀₀ cortisol (µg/dl x min)	3348,23±143,75	3401,88±171,1	1154,12±464,98 ^{*##}
AUC ₀₋₁₂₀ cortisol (µg/dl x min)	1678,30±79,80	1570,24±79,85	531,00±215,88 ^{*##}
AUC ₀₋₁₅₀ cortisol (µg/dl x min)	1947,68±94,53	1883,62±92,89	635,61±264,11 ^{*##}
AUC ₁₂₀₋₃₀₀ cortisol (µg/dl x min)	1669,93±90,65	1518,26±93,25	519,7±235,7 ^{*##}
AUC ₁₅₀₋₃₀₀ cortisol (µg/dl x min)	1400,55±81,70	1831,64±106,98	415,1±187,4 ^{*##}

Tabla 4.47. Datos de pico, nadir de cortisol (µg/dl) y áreas bajo la curva postestímulo (pg/ml x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

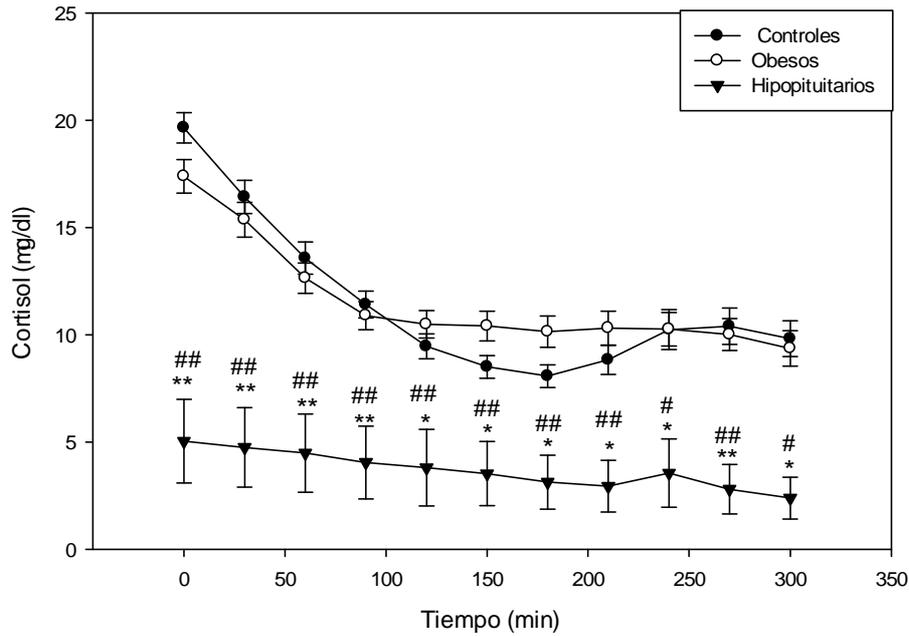


Figura 4.73. Concentraciones plasmáticas de cortisol ($\mu\text{g/dl}$) postestímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

Como se observa en la tabla 4.47 y en la figura 4.73 los pacientes hipopituitarios tienen valores muy inferiores de cortisol comparados con los otros dos grupos.

4.4.4) Diferentes índices de sensibilidad y secreción insulínica sobre la liberación de GH en un grupo de pacientes obesos, hipopituitarios y normales.

- Sensibilidad a la insulina:

	Control	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
QUICKY	0,40 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01 $\hat{\hat{}}$	0,33 \pm 0,02*
Homa-IR	1,24 \pm 0,21	3,86 \pm 0,86 $\hat{\hat{}}$	7,05 \pm 2,60**#
I.Matsuda	12,73 \pm 0,82	5,14 \pm 0,32 $\hat{\hat{}}$	4,68 \pm 1,11**

Tabla 4.48. Valores de diferentes índices de sensibilidad insulínica en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

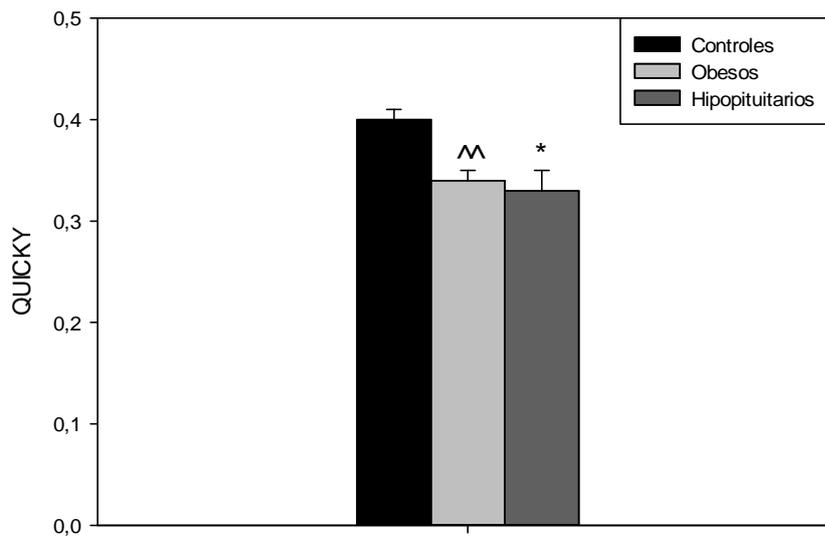


Figura 4.74. Valores del índice QUICKY en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{\wedge}$ $p < 0,05$, $\hat{\wedge}\hat{\wedge}$ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

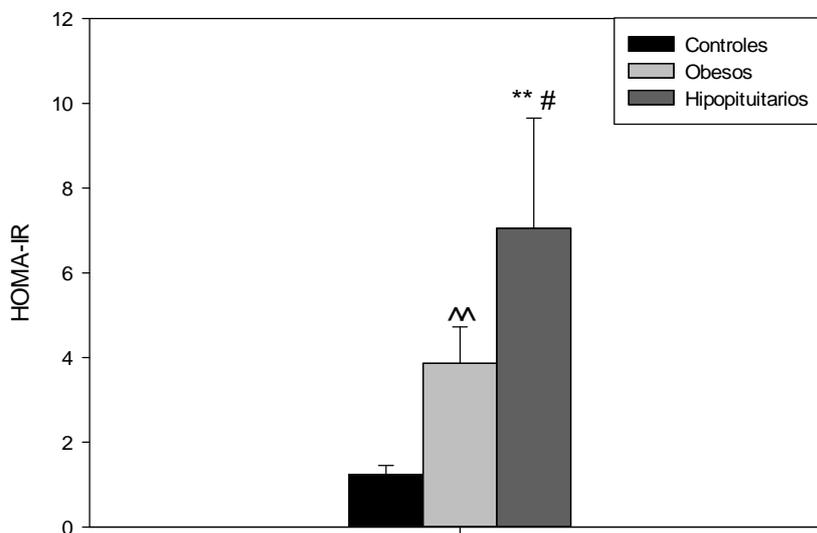


Figura 4.75. Valores del índice Homa-IR en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{\wedge}$ $p < 0,05$, $\hat{\wedge}\hat{\wedge}$ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

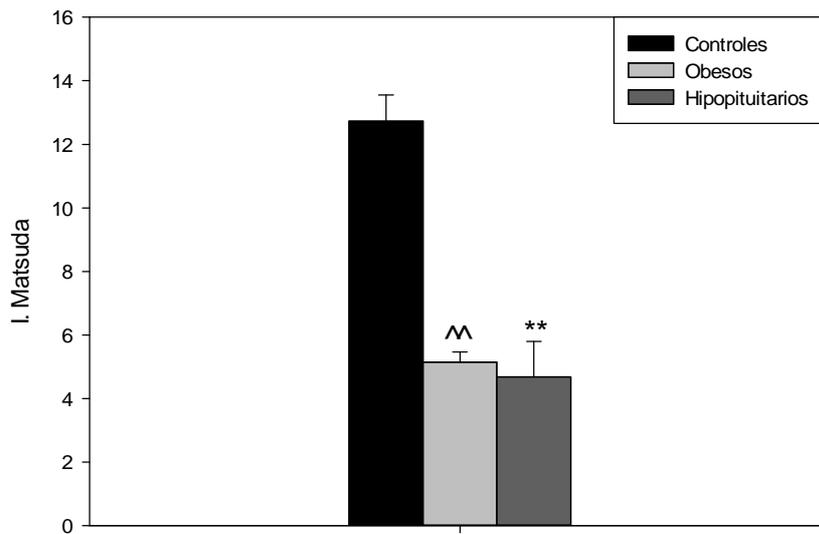


Figura 4.76. Valores del índice Matsuda en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

· Secreción insulina:

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	10
Homa- β	63,99 \pm 7,80	121,28 \pm 9,30^^	256,48 \pm 77,15**##
I. Stumvoll	0,11 \pm 0,003	0,05 \pm 0,005^^	0,07 \pm 0,01**
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₁₂₀ (μ UI/ml)/(mg/dl) x min	0,31 \pm 0,02	0,47 \pm 0,03^^	0,58 \pm 0,09**
AUC Insulina/Glucosa ₀₋₃₀₀ (μ UI/ml)/(mg/dl) x min	0,23 \pm 0,02	0,39 \pm 0,02^^	0,44 \pm 0,07**
AUC Insulina ₀₋₁₂₀ (μ UI/ml x min)	5047,0 \pm 491,3	7801,8 \pm 537,5^^	10522,8 \pm 1725,0**
AUC Insulina ₀₋₃₀₀ (μ UI/ml x min)	7732,5 \pm 872,2	12921,6 \pm 883,1^^	17066,1 \pm 3491,5**

Tabla 4.49. Valores de diferentes índices de secreción insulínica en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

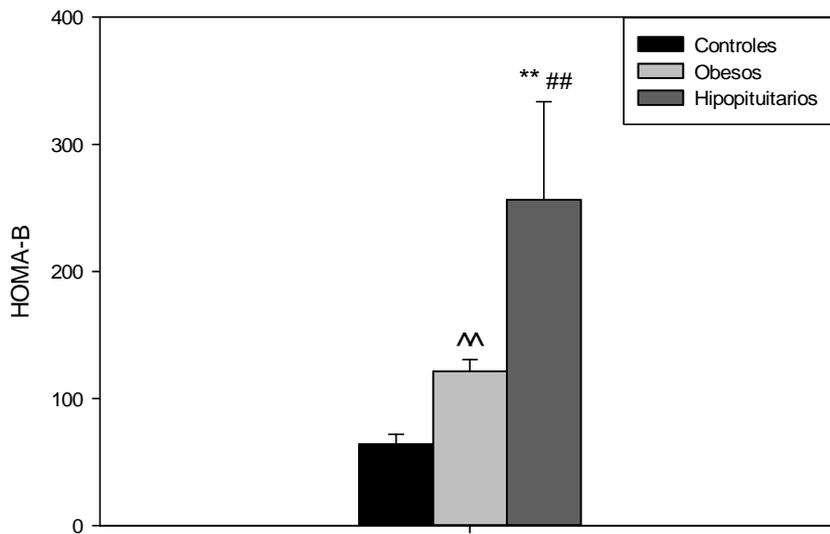


Figura 4.77. Valores del índice Homa-β en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

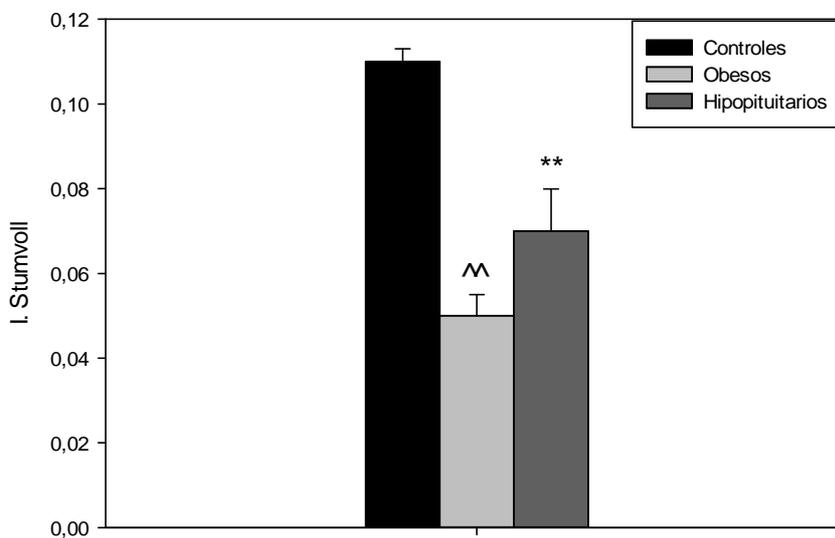


Figura 4.78. Valores del índice Stumvoll en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * p < 0,05, ** p < 0,001, hipopituitarios vs. control respectivamente, # p < 0,05, ## p < 0,001, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y ^ p < 0,05, ^^ p < 0,001, obesos vs. control respectivamente.

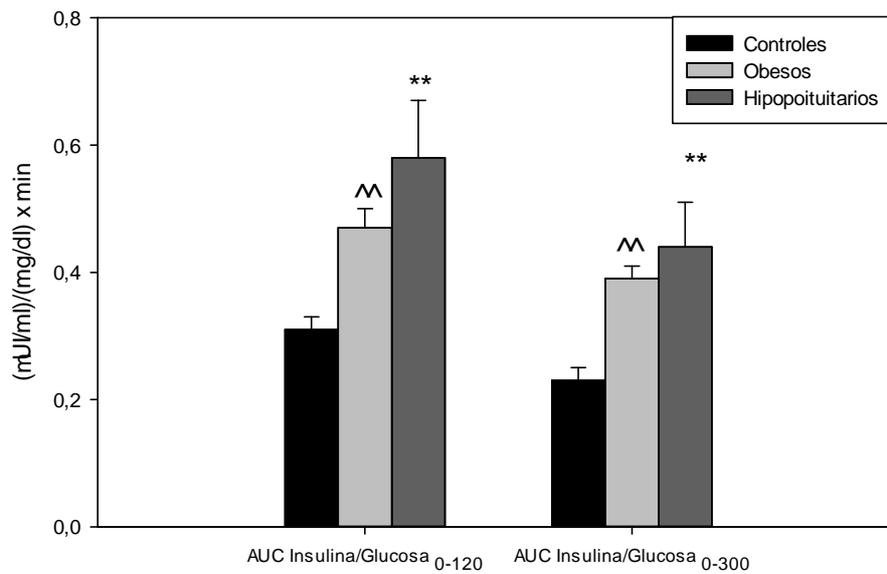


Figura 4.79. Valores de AUC Insulina/Glucosa₀₋₁₂₀ y AUC Insulina/Glucosa₀₋₃₀₀ ((μ UI/ml)/(mg/dl) x min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

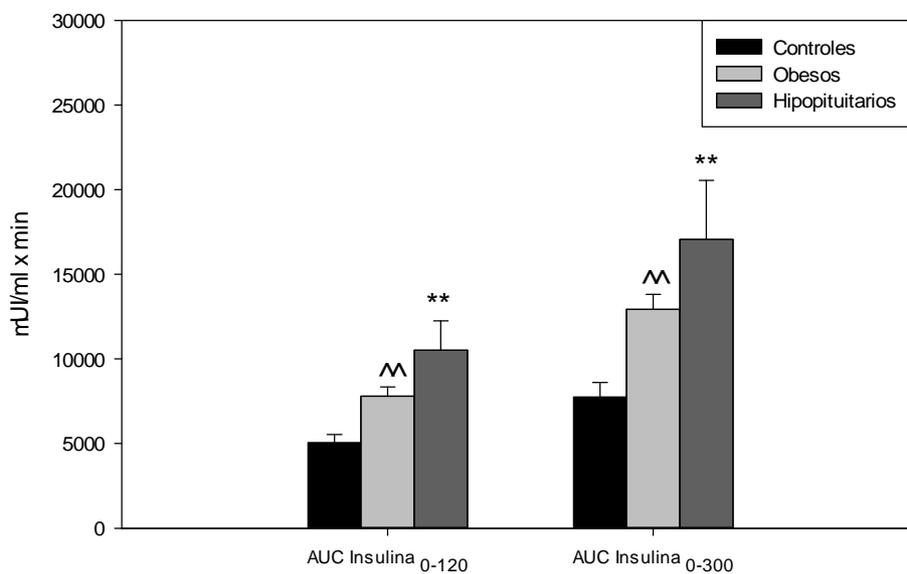


Figura 4.80. Valores de AUC Insulina₀₋₁₂₀ y AUC Insulina₀₋₃₀₀ (μ UI/ml-min) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

4.5 DATOS DE LA CONCENTRACIÓN DE IRISINA EN UN GRUPO DE PACIENTES OBESOS, HIPOPITUITARIOS, ACROMEGÁLICOS Y CONTROLES (HOMBRES Y MUJERES)

4.5.1) En la tabla 4.50 y en la figura 4.81 se presentan los valores de la concentración de irisina en ayunas en los pacientes obesos y controles estudiados. Los obesos presentan niveles más elevados de irisina.

	Controles	Obesos	p
Número	34 (24 mujeres)	51 (40 mujeres)	
Irisina (ng/ml)	191,67±10,44	254,77±13,12	<0,001

Tabla 4.50. Concentraciones plasmáticas en ayunas de irisina (ng/ml) previas al estímulo en obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

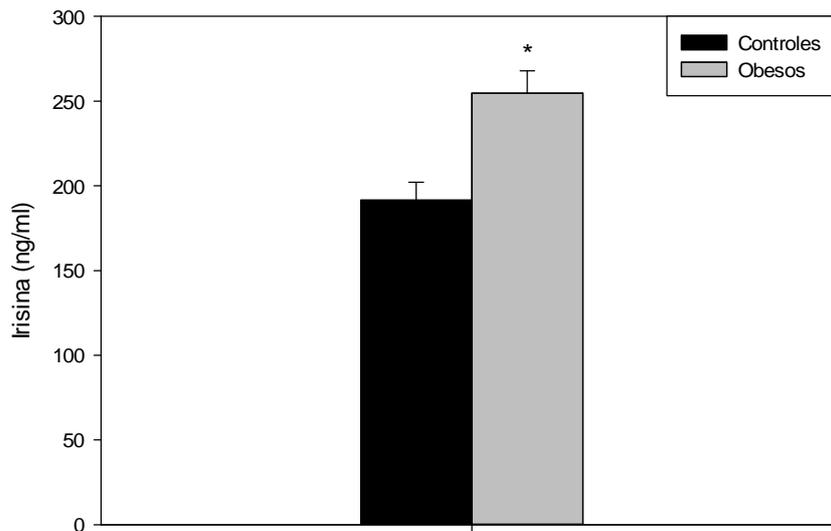


Figura 4.81. Valores de irisina (ng/ml) en pacientes obesos y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa p < 0,001 según el test U de Mann-Whitney.

4.5.2) En la tabla 4.51 y en la figura 4.82 se presentan los valores de la concentración de irisina en ayunas en las pacientes obesas y controles estudiadas.

	Mujeres controles	Mujeres obesas	p
Número	24	40	
Irisina (ng/ml)	190,79±9,86	252,74±16,28	0,003

Tabla 4.51. Concentraciones plasmáticas en ayunas de irisina (ng/ml) previas al estímulo en mujeres obesas y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

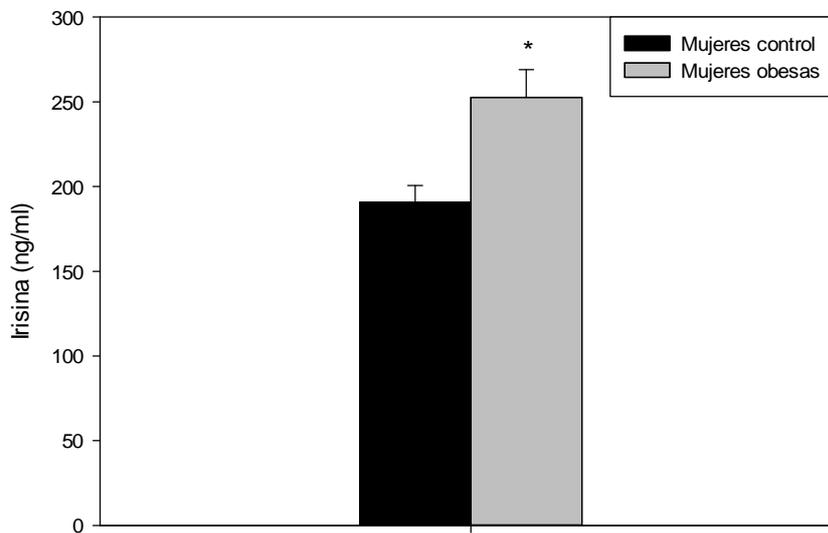


Figura 4.82. Valores de irisina (ng/ml) en mujeres obesas y controles. Los datos se expresan como la media ± error típico de la media. El símbolo * significa $p < 0,001$ según el test U de Mann-Whitney.

4.5.3) En la tabla 4.52 y en la figura 4.83 se presentan los valores de la concentración de irisina en ayunas en los pacientes hombres obesos y controles estudiados.

	Hombres controles	Hombres obesos	p
Número	10	11	
Irisina (ng/ml)	193,77±27,62	238,82±16,39	0,132

Tabla 4.52. Concentraciones plasmáticas en ayunas de irisina (ng/ml) previas al estímulo en hombres obesos y controles. Las cifras se expresan como la media ± error típico de la media. Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

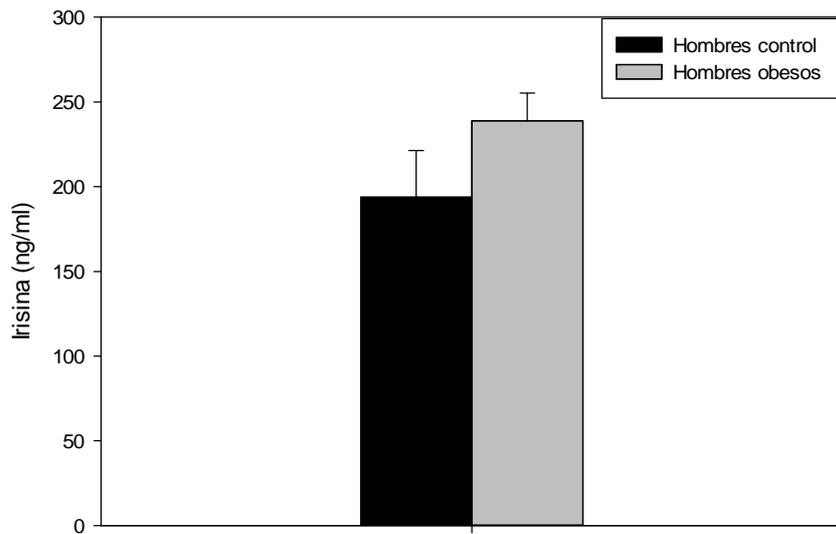


Figura 4.83. Valores de irisina (ng/ml) en hombres obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media.

4.5.4) En la tabla 4.53 y en la figura 4.84 se presentan los valores de la concentración de irisina en ayunas en los pacientes hipopituitarios, obesos y controles estudiados.

	Controles	Obesos	Hipopituitarios
Número	34	51	17
Irisina (ng/ml)	191,67 \pm 10,44	254,77 \pm 13,12 ^{^^}	201,97 \pm 20,36 [#]

Tabla 4.53. Concentraciones plasmáticas en ayunas de irisina (ng/ml) previas al estímulo en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y [^] $p < 0,05$, ^{^^} $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

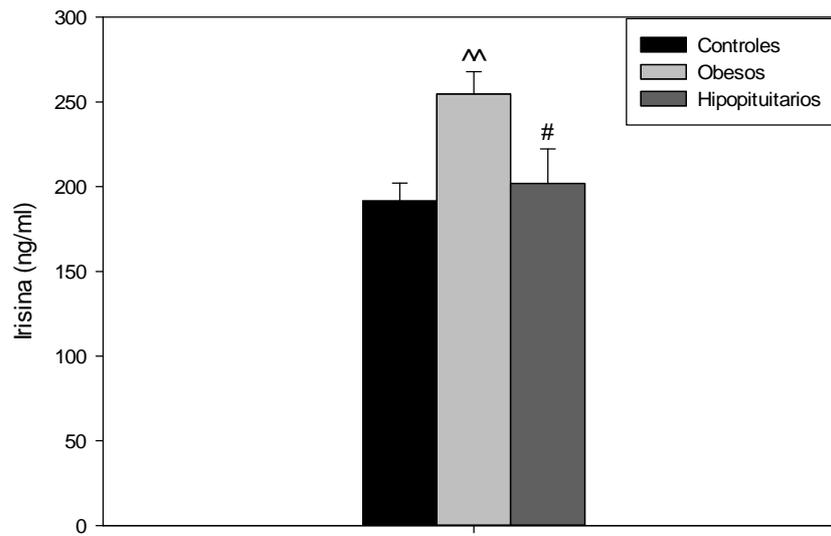


Figura 4.84. Valores de irisina (ng/ml) en pacientes hipopituitarios, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, hipopituitarios vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, hipopituitarios vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

4.5.5) En la tabla 4.54 y en la figura 4.85 se presentan los valores de la concentración de irisina en ayunas en los pacientes acromegálicos, obesos y controles estudiados.

	Controles	Obesos	Acromegálicos
Número	34	51	20
Irisina (ng/ml)	191,67 \pm 10,44	254,77 \pm 13,12 $\hat{\hat{}}$	175,04 \pm 8,84 $\hat{\hat{}}$

Tabla 4.54. Concentraciones plasmáticas en ayunas de irisina (ng/ml) previas al estímulo en pacientes acromegálicos, obesos y controles. Las cifras se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, acromegálicos vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, acromegálicos vs. obesos respectivamente y $\hat{p} < 0,05$, $\hat{\hat{p}} < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

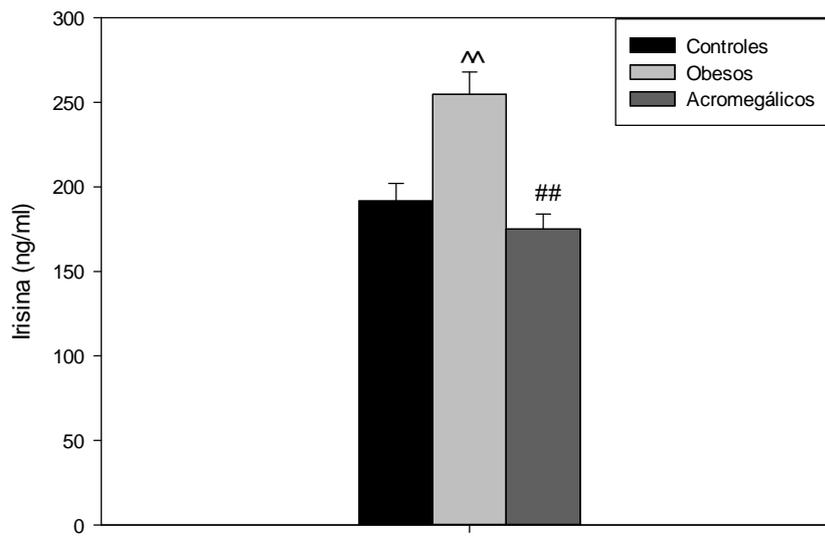


Figura 4.85. Valores de irisina (ng/ml) en pacientes acromegálicos, obesos y controles. Los datos se expresan como la media \pm error típico de la media. Comparaciones utilizando la prueba ANOVA de un factor. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, acromegálicos vs. control respectivamente, # $p < 0,05$, ## $p < 0,001$, acromegálicos vs. obesos respectivamente y ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,001$, obesos vs. control respectivamente.

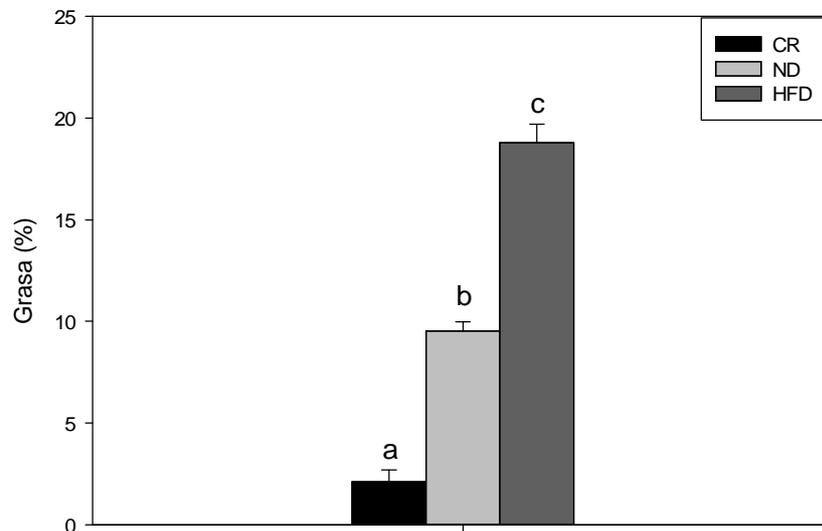
4.6 ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN DE *MICROARNs* EN LA OBESIDAD

Figura 4.86. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre el % de grasa corporal. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un test *post hoc* de Tukey).

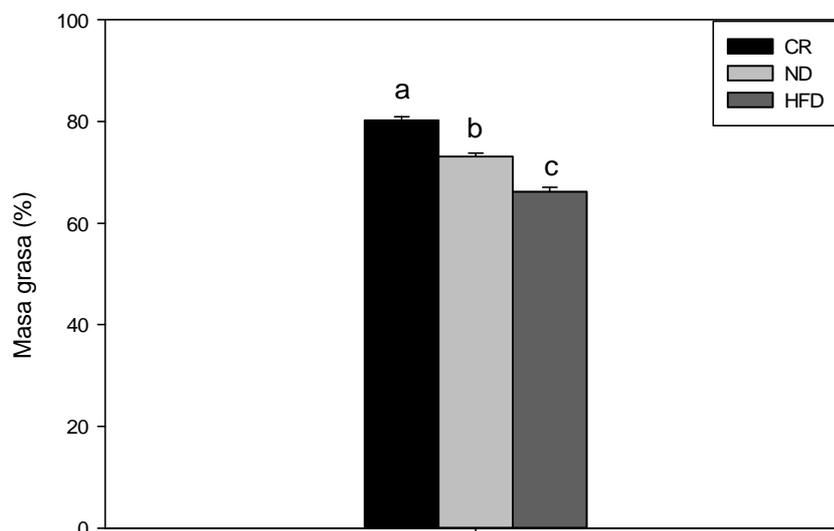


Figura 4.87. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre el % de masa magra corporal. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un test *post hoc* de Tukey).

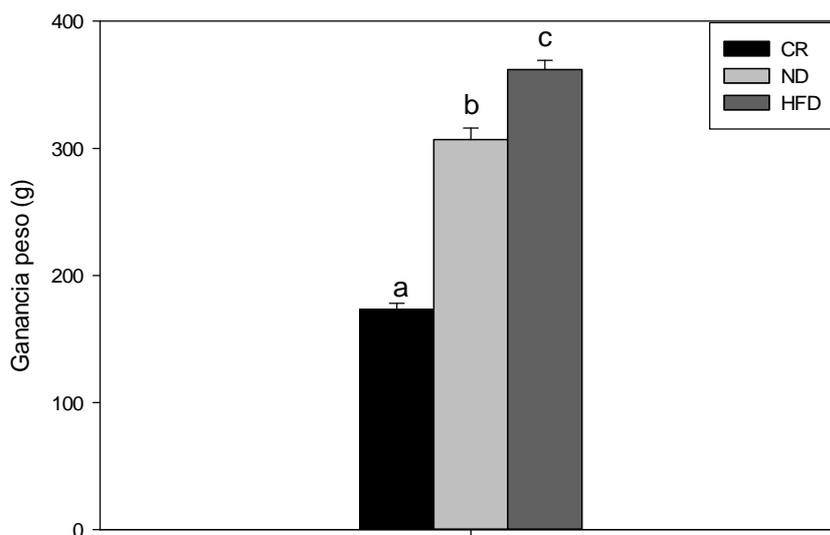


Figura 4.88. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre el aumento de peso corporal. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un *test post hoc* de Tukey).

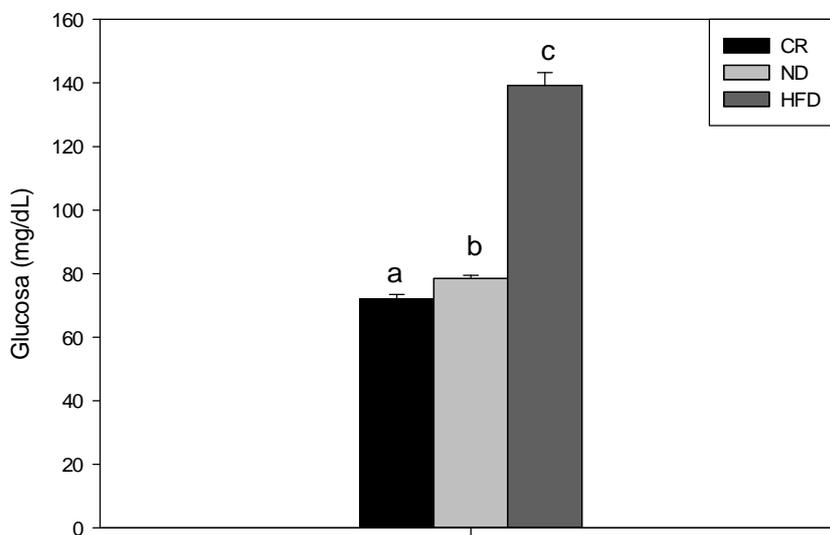


Figura 4.89. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre los niveles de glucosa en plasma. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un *test post hoc* de Tukey).

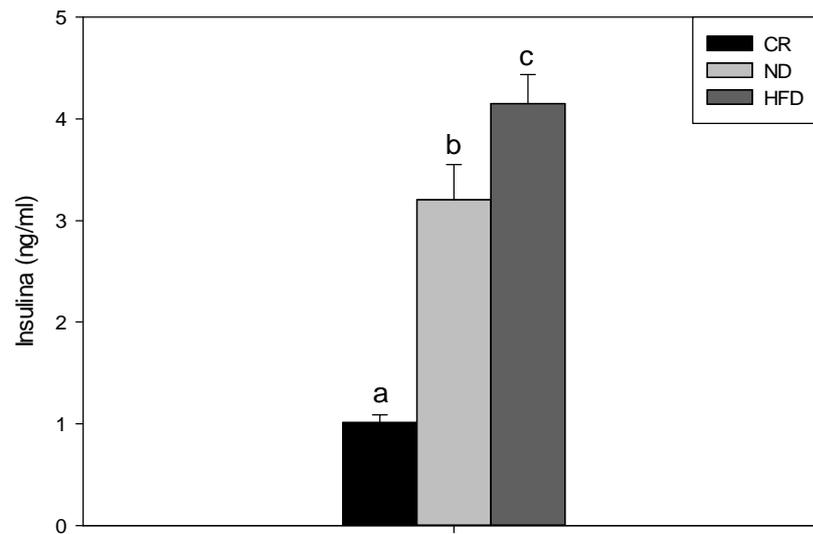


Figura 4.90. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre los niveles de insulina en plasma. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un *test post hoc* de Tukey).

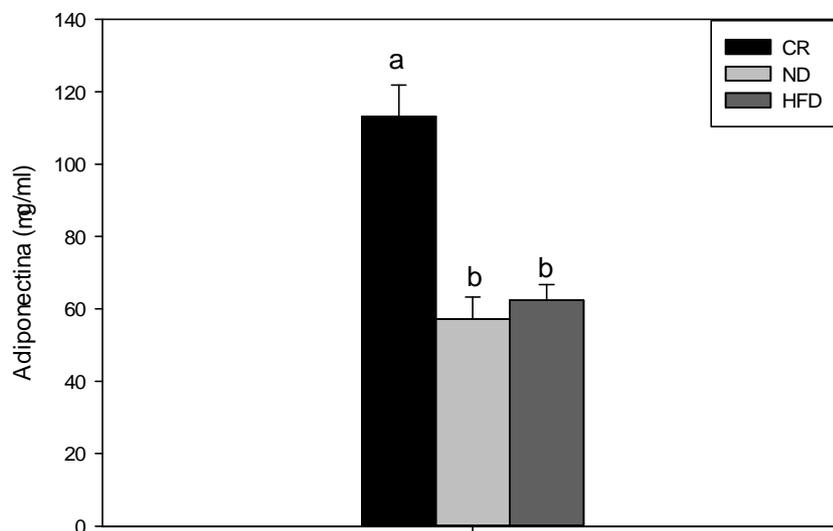


Figura 4.91. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre los niveles de adiponectina en plasma. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un *test post hoc* de Tukey).

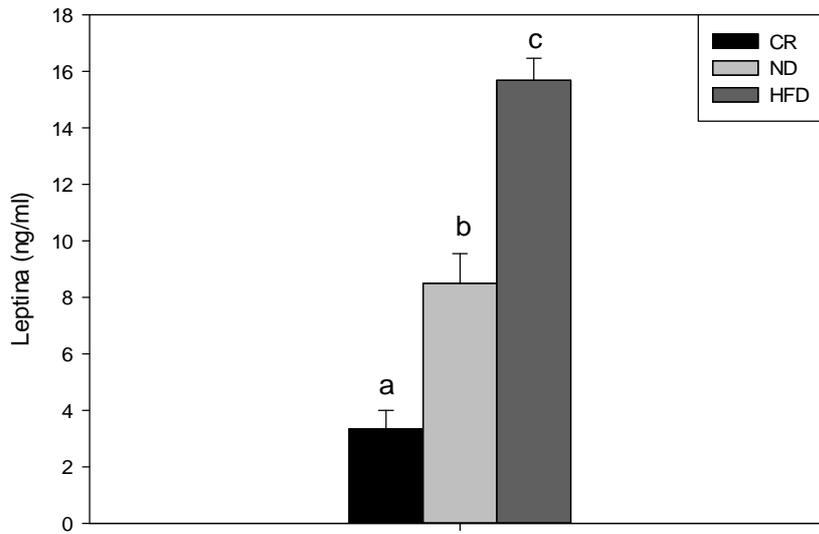


Figura 4.92. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre los niveles de leptina en plasma. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un *test post hoc* de Tukey).

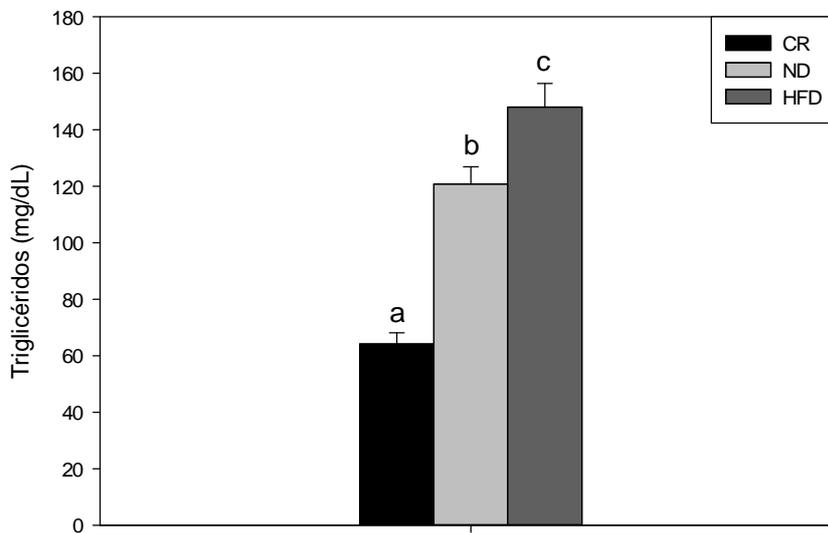


Figura 4.93. Efecto de la HFD y CR durante 3 meses sobre los niveles de triglicéridos en plasma. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de una vía con un *test post hoc* de Tukey).

El porcentaje de masa grasa fue muy bajo en los animales sometidos a CR (apenas el 2%), pero aumentó hasta el 9,5% en el grupo control y se elevó hasta el 18,8% en los animales alimentados con HFD (Figura 4.87). Como era de esperar, la ganancia de peso total fue máxima en los animales alimentados con HFD, mientras que en los animales mantenidos en CR se observó una baja ganancia durante el período de estudio (Figura 4.88). Para constatar las posibles alteraciones metabólicas inducidas por las diferentes dietas, se analizaron diferentes parámetros en el plasma. Como se muestra en la Figura 4.86, los animales expuestos a CR mostraron un aumento de la sensibilidad a la insulina, porque tenían tanto los niveles de glucosa (Figura 4.89) como de insulina (Figura 4.90) más bajos en comparación con el grupo control y el grupo de HFD. En contraste, las ratas HFD presentaron signos de resistencia a la insulina, como lo demuestran los altos niveles de glucosa a pesar de tener unos niveles de insulina mucho más altos. También se observó que los niveles de leptina (Figura 4.92) y triglicéridos en plasma (Figura 4.93) aumentaron de manera proporcional al porcentaje de grasa ingerido por los animales.

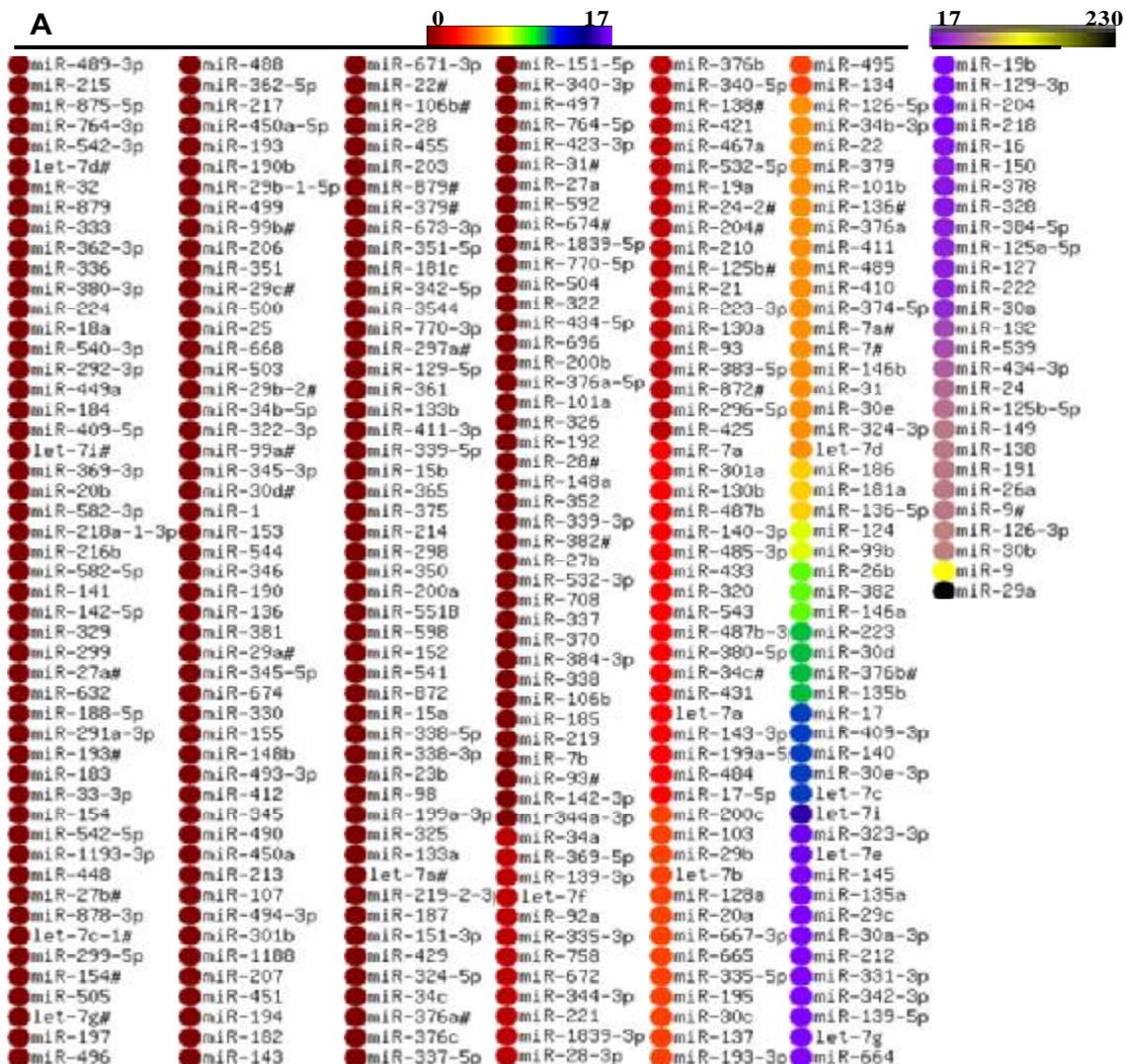


Figura 4.94. Mapa de calor de los datos de arrays de *miARN* mostrando el perfil de expresión en el hipotálamo de ratas macho adultas. Se muestra la expresión de cada *miARN* calculada por el método de $\Delta\Delta Ct$, utilizando el gen RNU6 como referencia interna. La expresión se da en unidades arbitrarias y es la media de cuatro muestras. Para facilitar la interpretación de los resultados, las primeras 5 columnas tienen una escala diferente que la última columna. Los gráficos se generaron usando el programa matrix2png 1.2.2 (<http://www.chibi.ubc.ca/matrix2png/>).

A continuación mostramos una validación por PCR en tiempo real de los *miARNs* más significativos alterados en los *arrays*.

- *MicroARNs* que aumentan con una dieta alta en grasa:

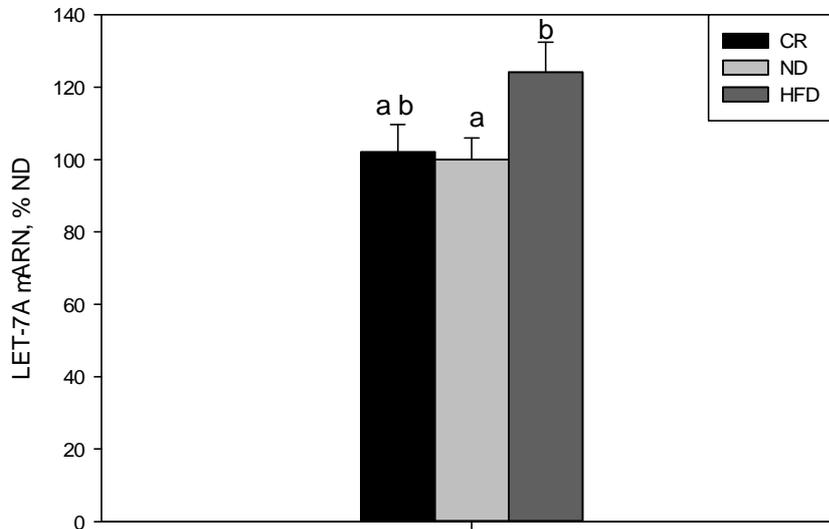


Figura 4.96. Validación del *miARN let-7a* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

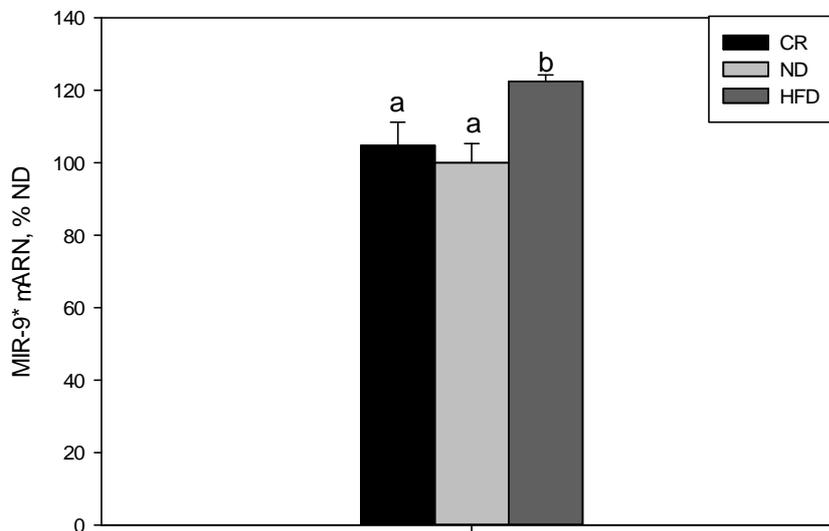


Figura 4.97. Validación del *miARN mir-9** por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

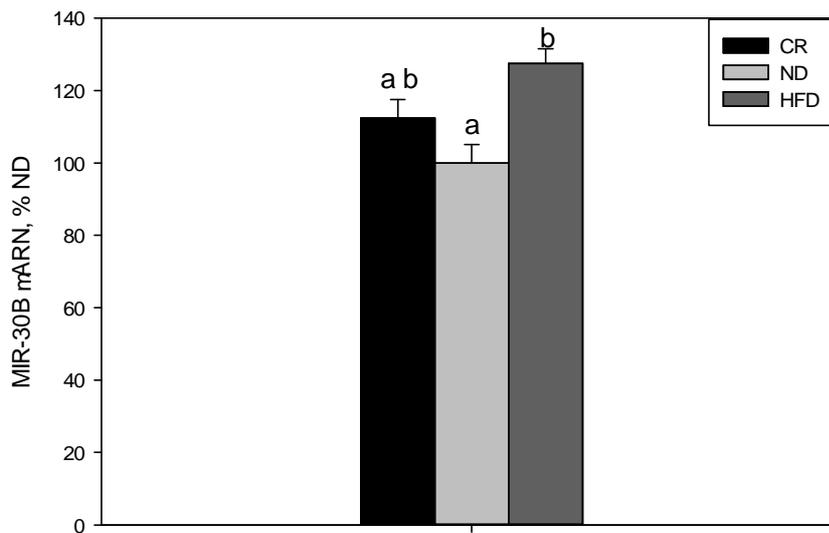


Figura 4.98. Validación del *miARN mir-30b* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

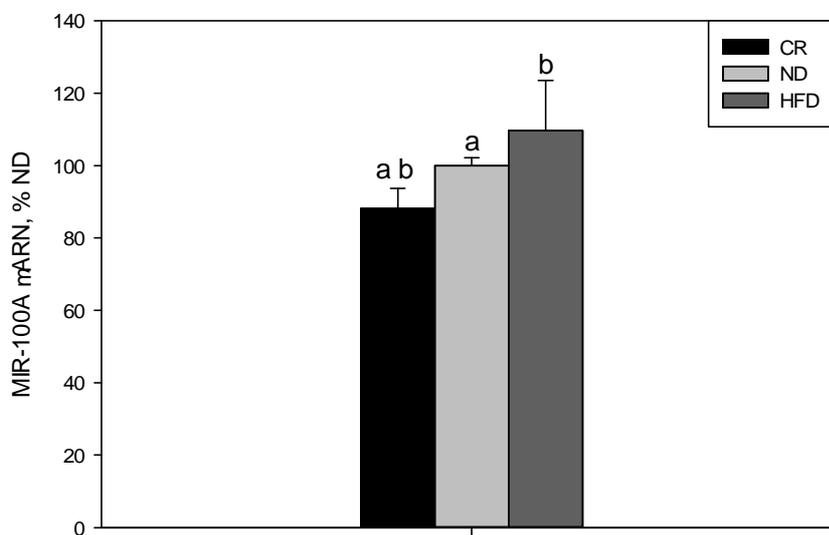


Figura 4.99. Validación del *miARN mir-100a* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

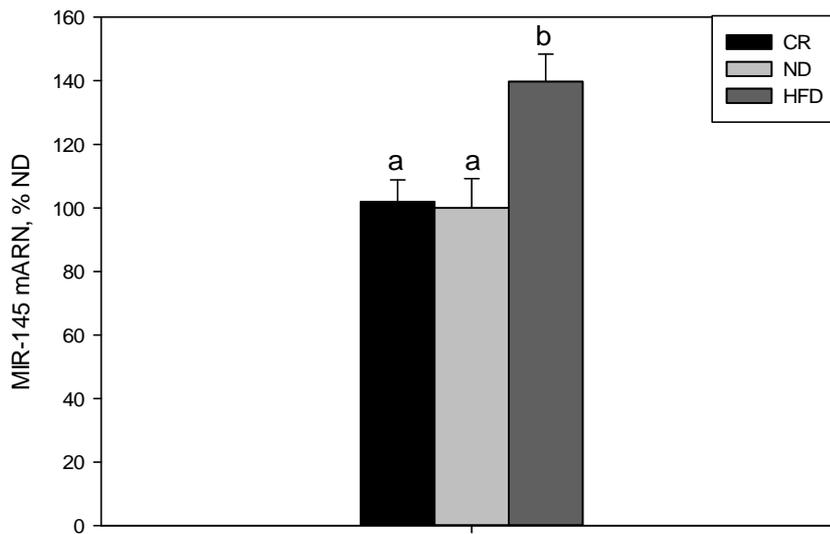


Figura 4.100. Validación del *miARN mir-145* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

- MicroARNs que aumentan con una restricción calórica crónica:

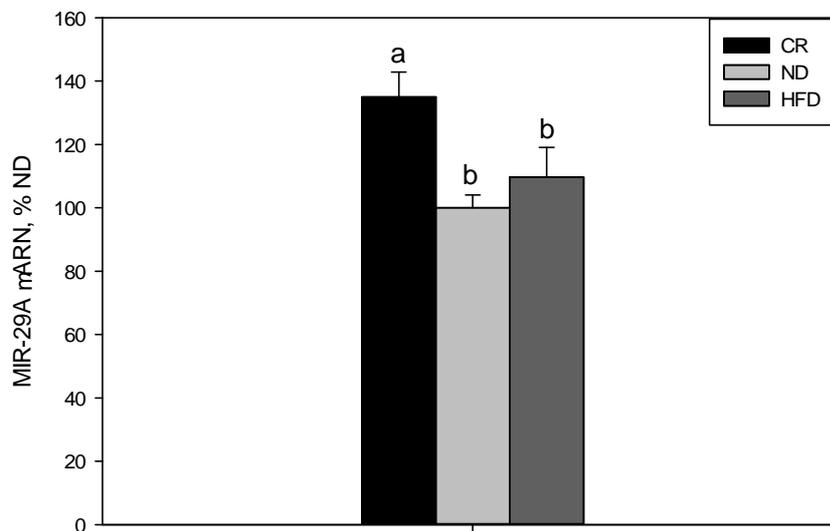


Figura 4.101. Validación del *miARN mir-29a* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

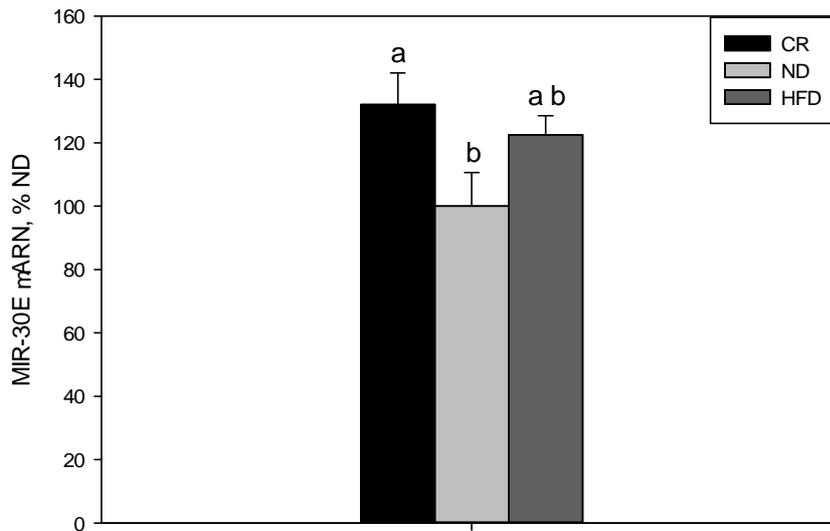


Figura 4.102. Validación del *miARN mir-30e* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

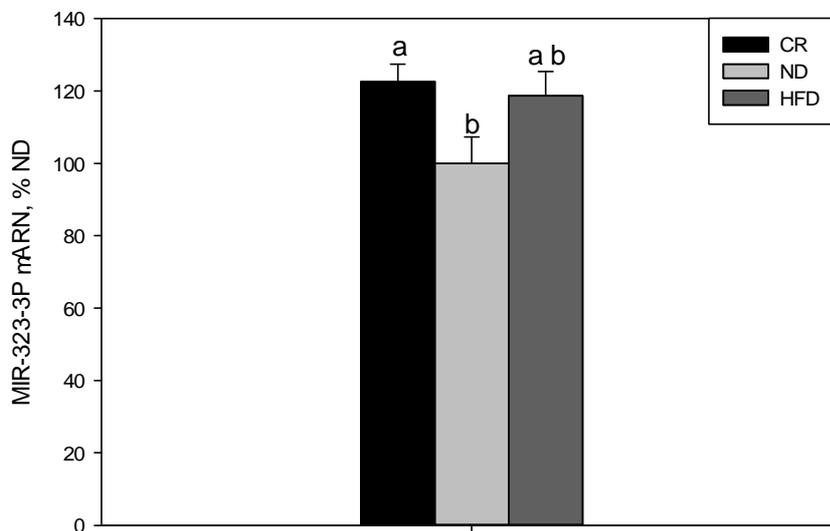


Figura 4.103. Validación del *miARN mir-323-3p* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

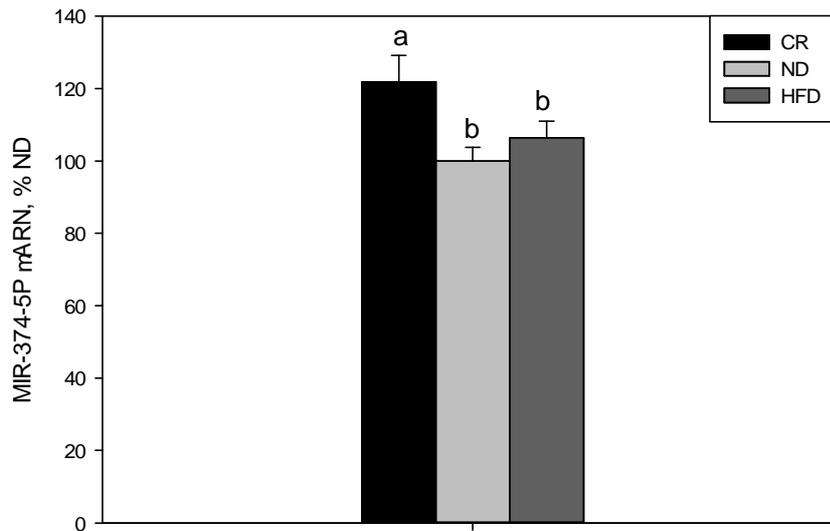


Figura 4.104. Validación del *miARN mir-374-5p* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

- *MicroARNs* que aumentan tanto por restricción calórica crónica como por una dieta alta en grasa:

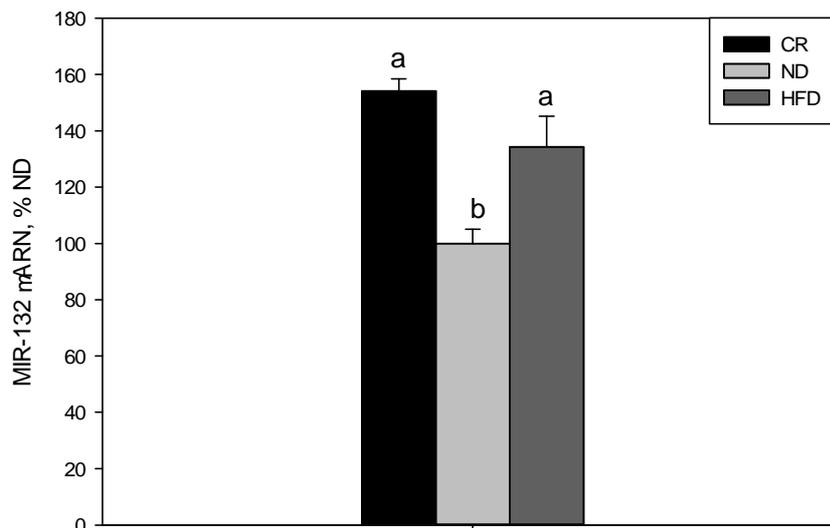


Figura 4.105. Validación del *miARN mir-132* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

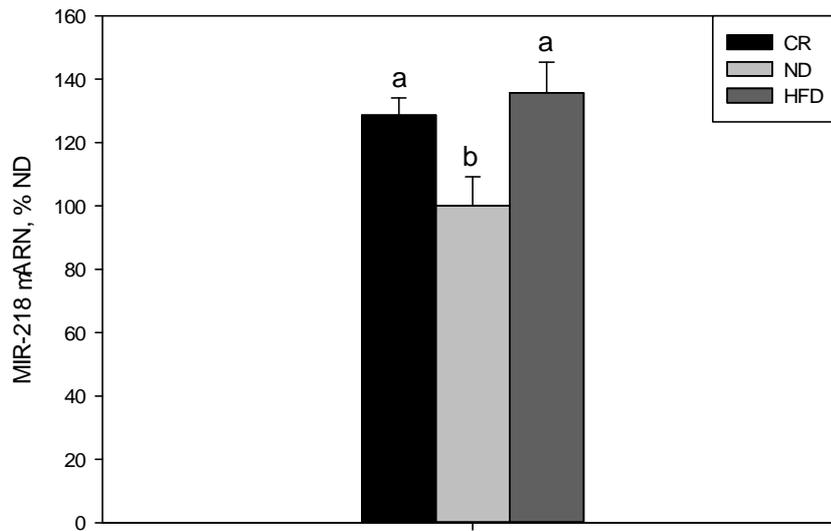


Figura 4.106. Validación del *miARN mir-218* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

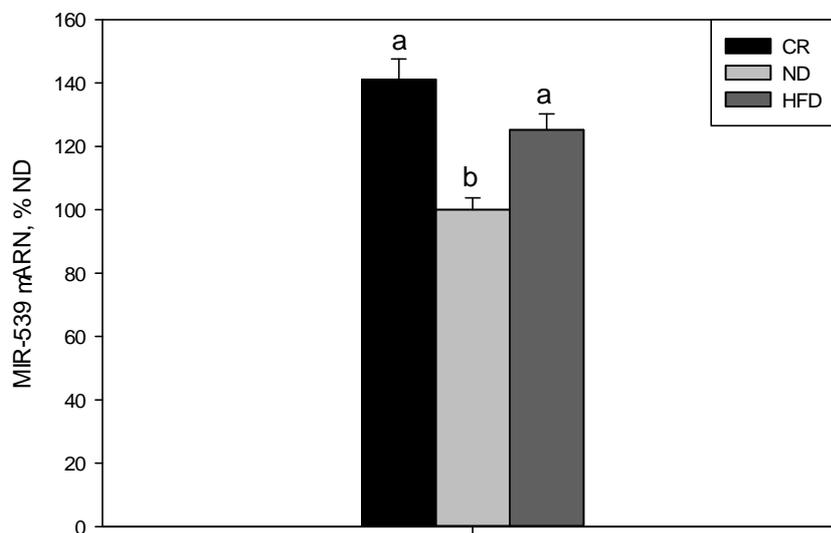


Figura 4.107. Validación del *miARN mir-539* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

• MicroARNs que disminuyen con restricción calórica crónica:

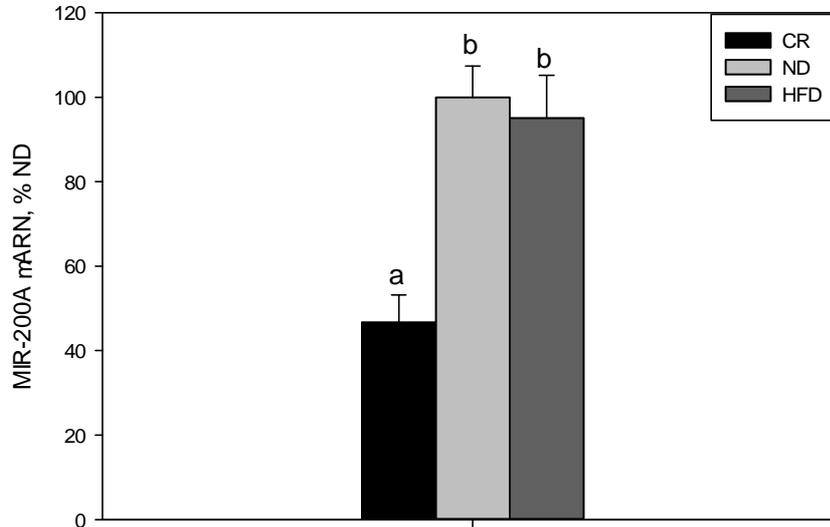


Figura 4.108. Validación del *miARN mir-200a* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

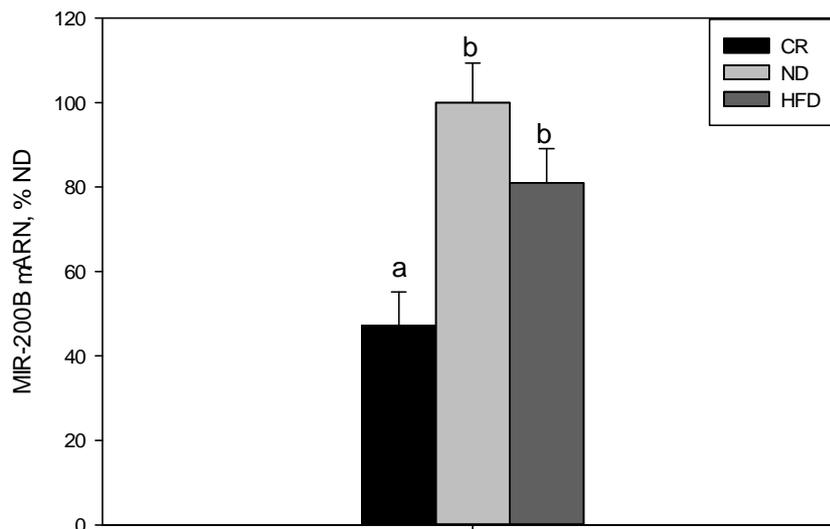


Figura 4.109. Validación del *miARN mir-200b* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

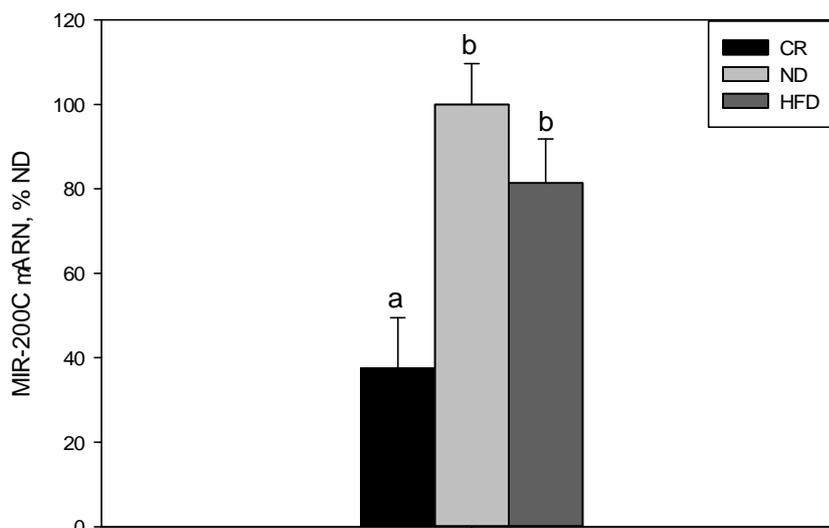


Figura 4.110. Validación del *miARN mir-200c* por PCR en tiempo real. Los valores se expresan en unidades arbitrarias (media \pm SEM), en % ND. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas (ANOVA con *test post hoc* de Tukey). CR, n= 5; ND, n= 5; y HFD, n= 5. Los animales fueron alimentados con estas dietas durante 3 meses después del destete.

De la figura 4.96 a la figura 4.100, se representan los *miRNAs* cuyos niveles de expresión aumentan sólo con HFD (*let-7a*, *mir-9**, *mir-30b*, *mir-100a*, y *mir-145*). De la figura 4.101 a la figura 4.104, se muestran los *miRNAs* cuyos niveles de expresión aumentan sólo con CR (*mir-29a*, *mir-30e*, *mir-323-3p*, y *mir-374-5p*). Por otra parte, los *miRNAs* que incrementan su expresión ya sea con HFD o CR (*mir-132*, *mir-218* y *mir-539*) se representan de la figura 4.105. a la figura 4.107. Finalmente, de la figura 4.108 a la figura 4.110, se representan los *miRNAs* que disminuye su expresión en el hipotálamo tras CR (*mir-200a*, *mir-200b*, y *mir-200c*).

Entre los *miRNAs* que cambian su expresión significativamente tras CR y / o HFD elegimos 7 (*let-7a*, *mir-9**, *mir-30e*, *mir-132*, *mir-145*, *mir-200a*, y *mir-218*) para estudiar en profundidad por 3 razones:

- (1) porque su expresión hipotalámica es alta
- (2) porque estudios anteriores en otros tejidos indican una vinculación con alteraciones metabólicas
- (3) a causa de los datos aportados por los modelos informáticos, que sugieren que están involucrados en la regulación de las vías de señalización de la insulina, la leptina, la adiponectina, ácidos grasos/ metabolismo de los lípidos, y / o la inflamación (Figura 4.111).

En los siguientes estudios lo que hicimos fue someter a ratas macho adultas a HFD durante períodos más cortos de tiempo, en concreto dos semanas y un mes.

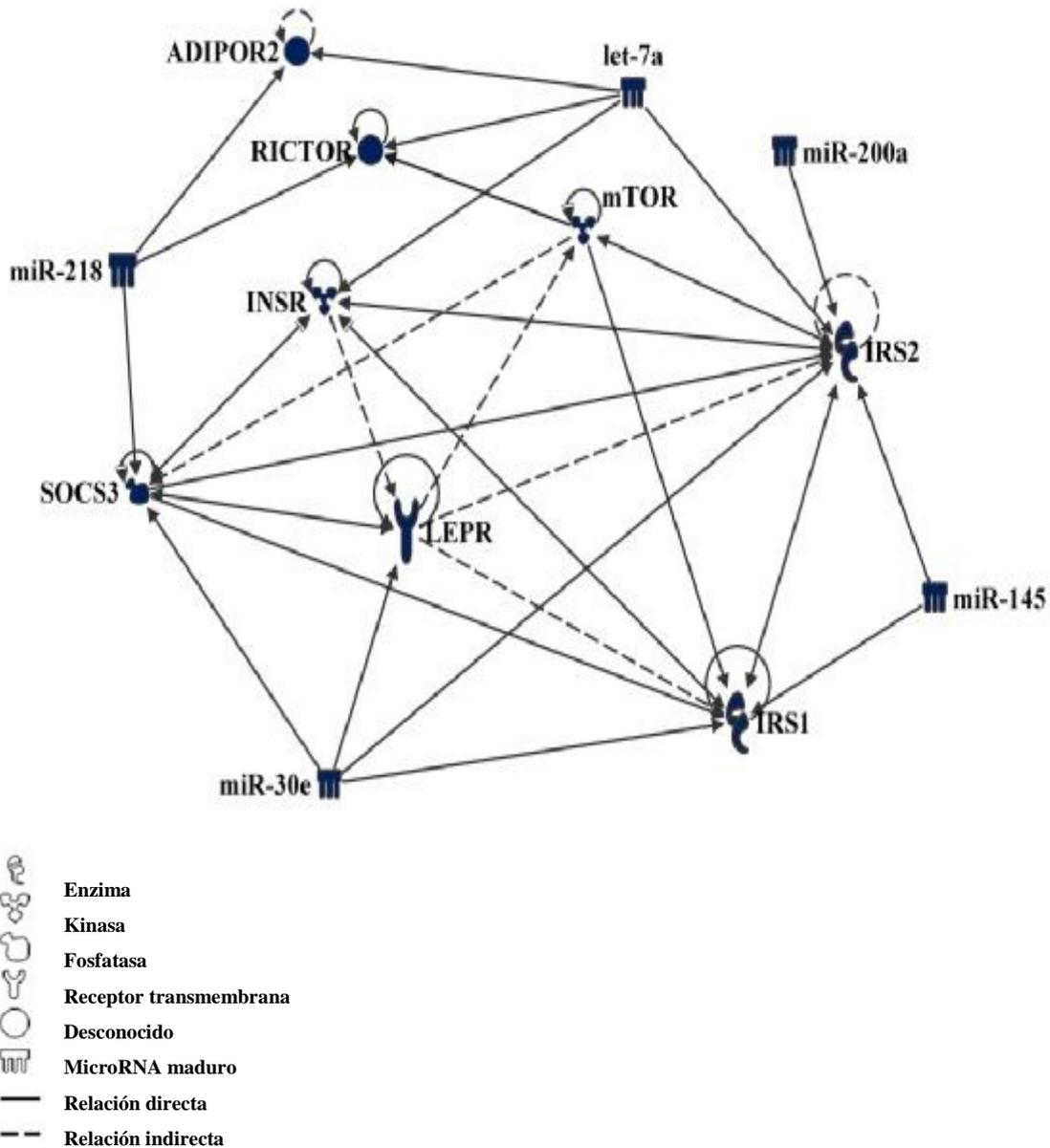


Figura 4.111. Representación esquemática de la interrelación entre el *let-7a*, *mir-9**, *mir-30e*, *mir-132*, *mir-145*, *mir-200a*, y *mir-218* con genes relacionados con las vías de señalización de la insulina, la leptina y la adiponectina. El análisis se realizó con el software Ingenuity. AdipoR2, receptor de adiponectina 2; INSR, receptor de insulina; IRS1, sustrato del receptor de insulina tipo 1; IRS2, sustrato del receptor de insulina tipo 2; LEPR, receptor de leptina; mTOR, diana de la rapamicina en células de mamíferos; Rictor, compañero de mTOR insensible a la rapamicina; SOCS3, supresor de la señalización de citoquinas 3. Las flechas indican interacciones positivas, mientras que las flechas con las barras en T indican interacciones negativas. Las líneas continuas indican interacciones directas, y las líneas de puntos indican interacciones indirectas.

En la tabla 4.87 se pueden observar los resultados para los principales parámetros somáticos y plasmáticos en ratas alimentadas durante 2 semanas y 1 mes con diferentes dietas. Como era de esperar, la ganancia de peso fue mayor en los animales alimentados con la dieta alta en grasa. A su vez, los niveles de glucosa fueron mayores en las ratas HFD después de 2 semanas de dieta, sin embargo al final del periodo de 1 mes las concentraciones de glucosa circulante fueron menores que en los controles, probablemente debido a la tendencia de niveles más altos de insulina aunque no fueron estadísticamente significativos.

	Ganancia peso (g)	Glucosa (mg/dl)	Insulina (ng/ml)	Triglicéridos (mg/dl)
ND, 2 semanas	41,2 ± 2,5	120,0 ± 1,5	2,3 ± 0,3	162 ± 13
HFD, 2 semanas	69,8 ± 2,1*	134,0 ± 4,2*	2,9 ± 0,4	129 ± 24
ND, 1 mes	192,3 ± 6,6	138,42 ± 1,9	3,5 ± 0,5	151 ± 9
HFD, 1 mes	228,5 ± 6,9*	124,5 ± 5,4*	4,3 ± 0,4	146 ± 14

Tabla 4.87 Datos de ganancia en peso y niveles plasmáticos de glucosa, insulina y triglicéridos después de la alimentación con diferentes dietas durante 2 semanas/1 mes. * p <0,05 vs. ND

También se ensayaron en ratas macho sometidas a HFD durante 2 semanas y 1 mes los niveles de expresión de los *microARNs*: *let-7a*, *mir-9**, *mir-30e*, *mir-132*, *mir-145*, *mir-200a*, y *mir-218*, los resultados se compararon con los datos obtenidos en ratas expuestas a HFD durante 3 meses. El curso temporal de los cambios inducidos por HFD en esos *miARN* se muestra en las Figuras 4.112-4.118. Nuestro análisis mostró que los niveles de *mir-30e*, *mir-145* y *mir-218* en el hipotálamo fueron desregulados de manera similar por la HFD, con una supresión inicial seguida por un aumento variable de la expresión hipotalámica, que se convierte en más marcada después de 1 mes para el *mir-218* y después de 3 meses para *mir-145*. Los niveles de expresión hipotalámica de *let-7a* y *mir-9** fueron elevados por la HFD tanto a corto como a largo plazo, mientras que la expresión de *mir-132* aumentó sólo a los 3 meses después de la HFD.

En contraste, la expresión de *mir-200a* en el hipotálamo disminuye en los animales alimentados con HFD durante 2 semanas y 1 mes, pero sus niveles de expresión volvieron a los valores control 3 meses después de la exposición a HFD (Figura 4.117).

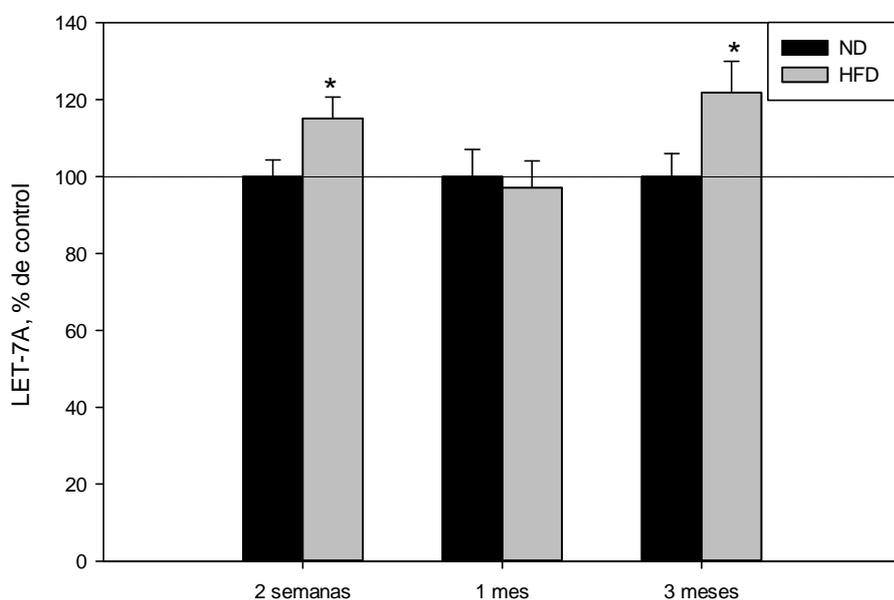


Figura 4.112. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en los niveles de expresión de *let-7a* en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media ± SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100%, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas p < 0,05 (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

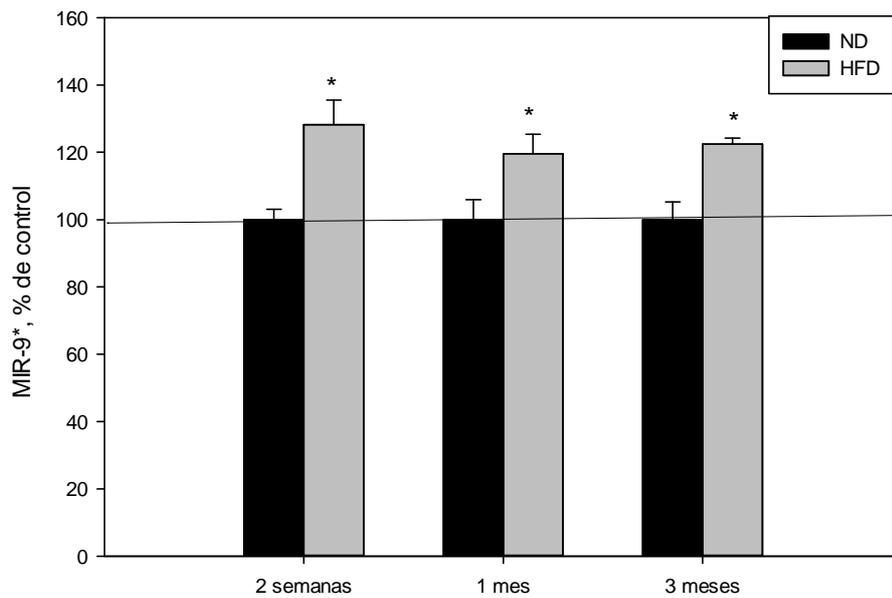


Figura 4.113. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en, los niveles de expresión de *mir-9** en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100%, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

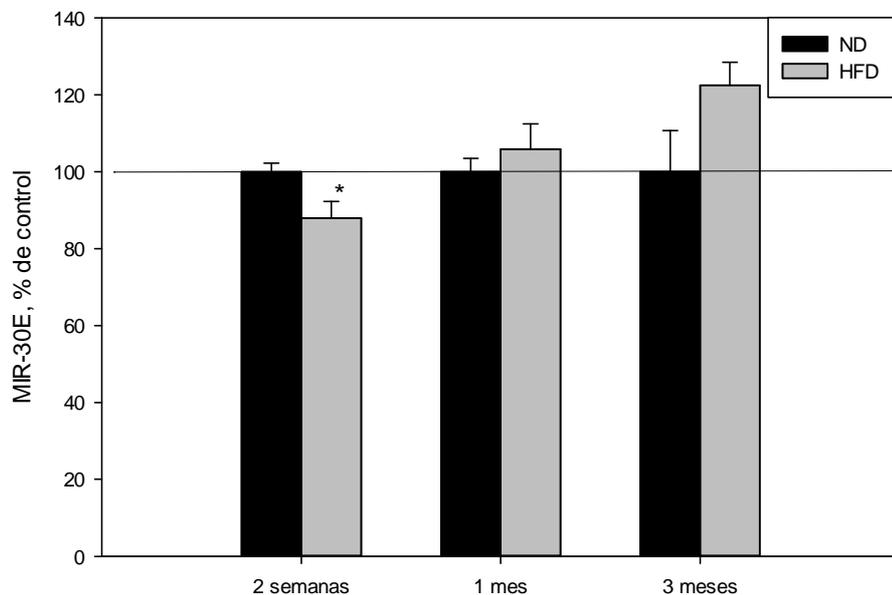


Figura 4.114. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en, los niveles de expresión de *mir-30E* en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100 %, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

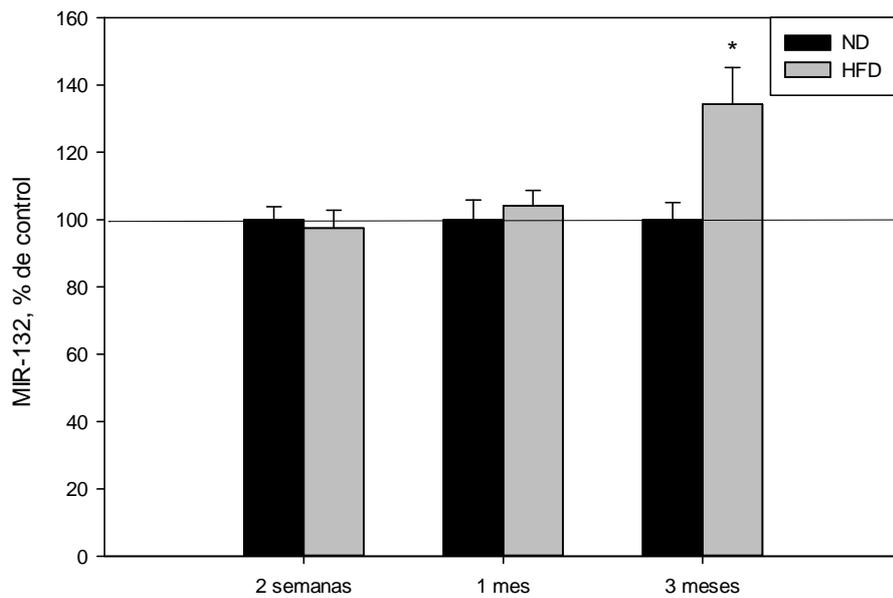


Figura 4.115. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en, los niveles de expresión de *mir-132* en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100 %, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

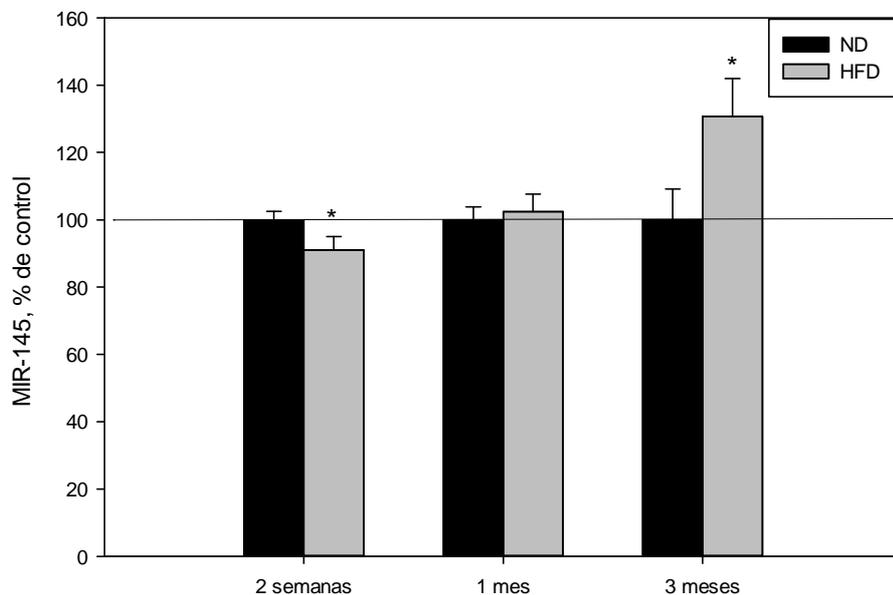


Figura 4.116. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en, los niveles de expresión de *mir-145* en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100 %, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

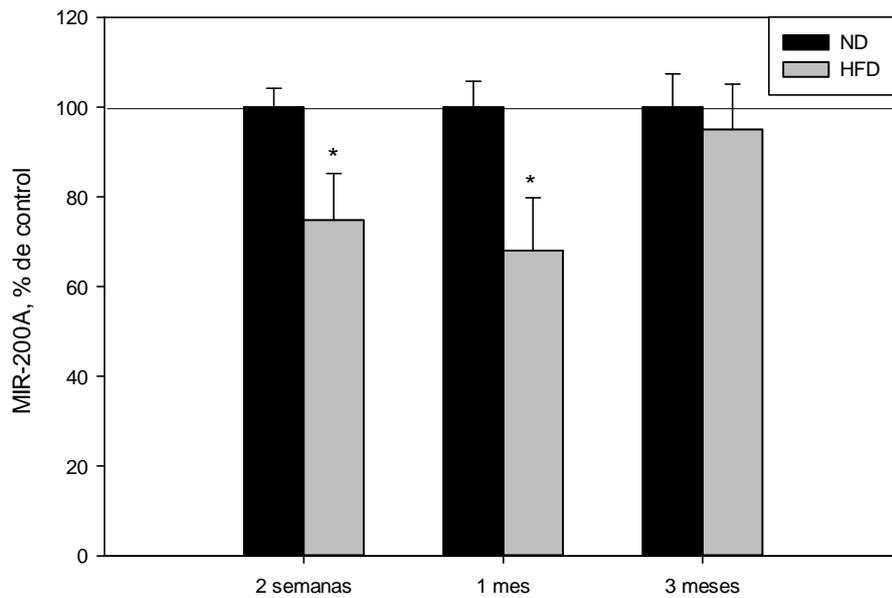


Figura 4.117. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en, los niveles de expresión de *mir-200A* en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100 %, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

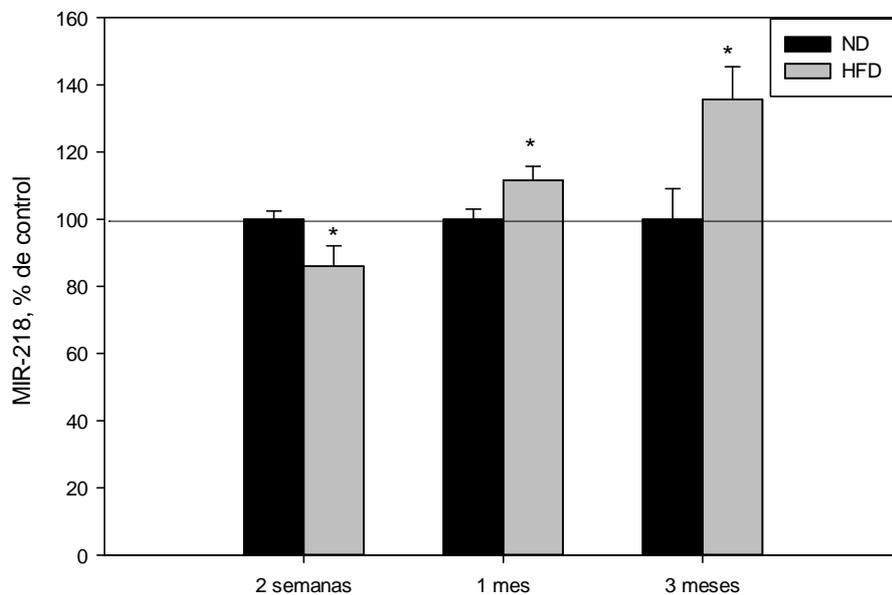


Figura 4.118. Efecto de HFD durante 2 semanas (n= 9), 1 mes (n= 8), y 3 meses (n= 5) en, los niveles de expresión de *mir-218* en el hipotálamo de ratas macho adultas. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM. Para cada punto de tiempo, los valores HFD se expresan como un porcentaje de los animales alimentados con el ND (100 %, indicado por la línea). *indica diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ (t de Student). En todos los casos, los animales fueron sacrificados entre los 3 y 4 meses de edad.

En otra parte del estudio nos propusimos ver el efecto de la leptina sobre la expresión hipotalámica de los *miRNAs* antes seleccionados. El impacto de la leptina en varios parámetros somáticos y metabólicos se evaluó en ratas alimentadas *ad libitum* o sometidas a un ayuno de 48 horas. La privación de alimentos provocó una disminución en el porcentaje de grasa corporal, índice hepatosomático y los niveles plasmáticos de glucosa, insulina y triglicéridos. Las ratas alimentadas y tratadas con leptina durante 48 horas (2 inyecciones con 24 horas de diferencia) muestran una disminución significativa en la ingesta de alimentos (Figura 4.119), lo que demuestra la eficacia del tratamiento, de modo que, en contraste con los animales control, los animales tratados con leptina y alimentados *ad libitum* perdieron peso durante el periodo de tratamiento (Figura 4.120).

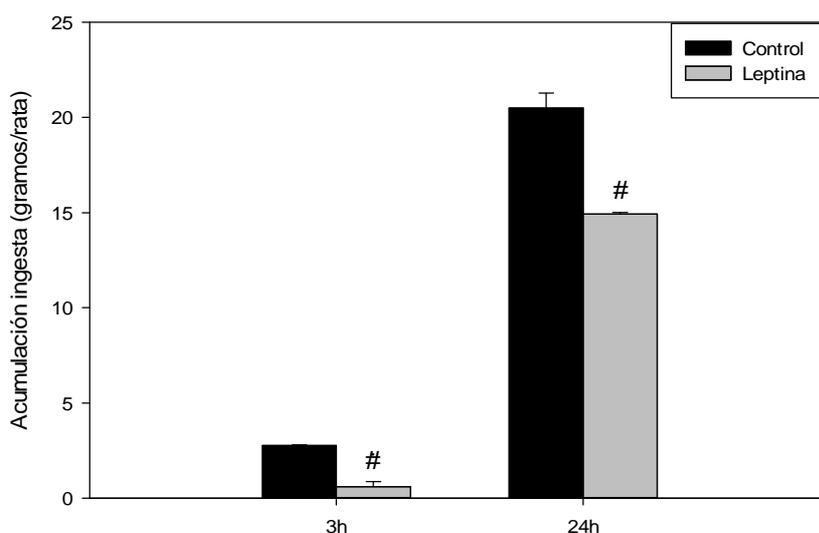


Figura 4.119. Efecto de una inyección ip de leptina sobre la ingesta acumulada 3 y 24 horas después del tratamiento. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n = 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey).

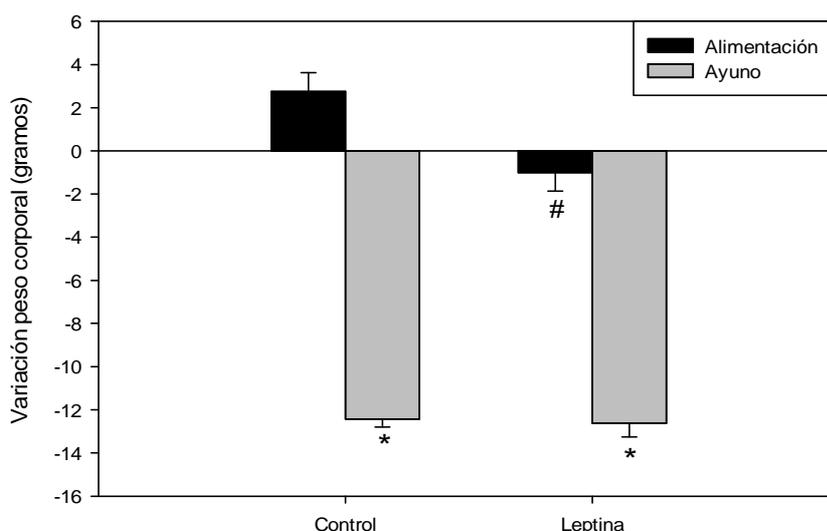


Figura 4.120. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina en los animales alimentados y en ayunas en la variación del peso corporal. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n = 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey).

Además, las ratas tratadas con leptina y alimentadas *ad libitum* tuvieron los niveles de glucosa significativamente más bajos que el grupo control (Figura 4.121), mientras que sus niveles de insulina fueron más altos (Figura 4.122).

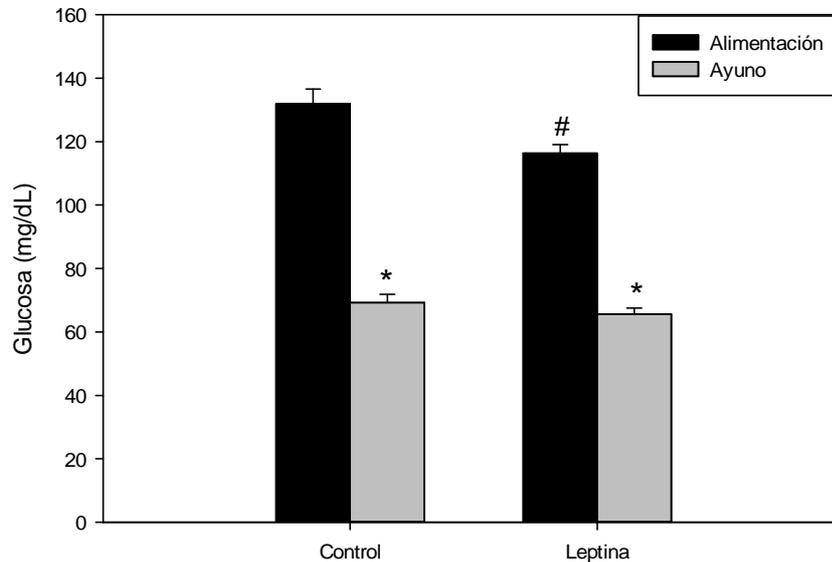


Figura 4.121. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina ip en animales alimentados y en ayunas en la concentración de glucosa en el plasma. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n = 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey).

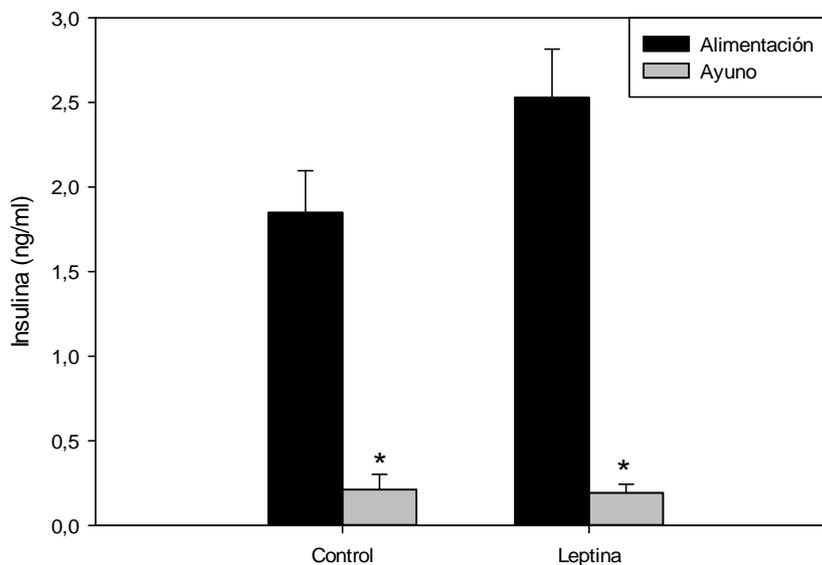


Figura 4.122. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina ip en animales alimentados y en ayunas sobre la concentración de insulina en el plasma. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n = 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey).

El tratamiento con leptina disminuyó los niveles de triglicéridos tanto en los animales alimentados como en los animales en ayunas (Figura 4.123).

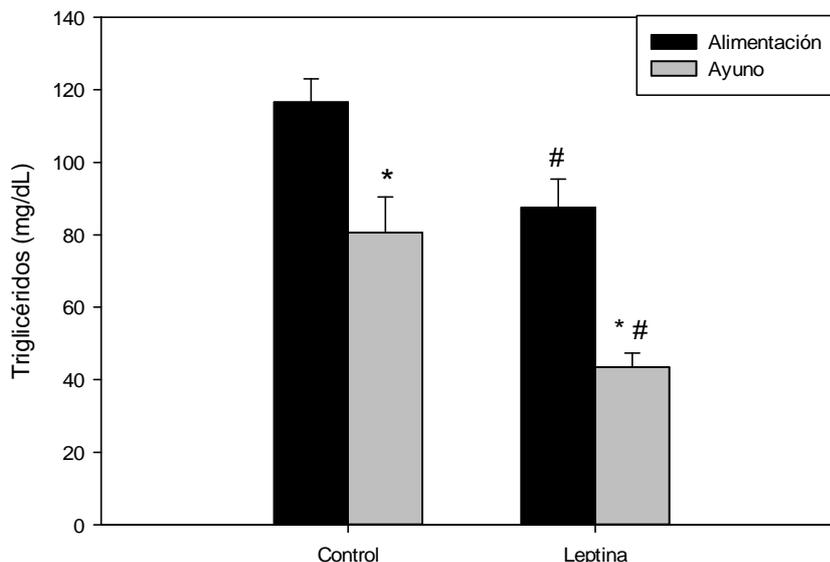


Figura 4.123. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina ip en animales alimentados y en ayunas sobre los niveles de triglicéridos en el plasma. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n= 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey).

Finalmente, aunque el índice hepatosomáticos y los índices somáticos de los distintos depósitos grasos estudiados no se alteraron por el tratamiento con leptina, ésta provocó una tendencia a disminuir la grasa epididimal en los animales alimentados, que se acentuó aún más en los animales en ayunas (Figura 4.124-4.126).

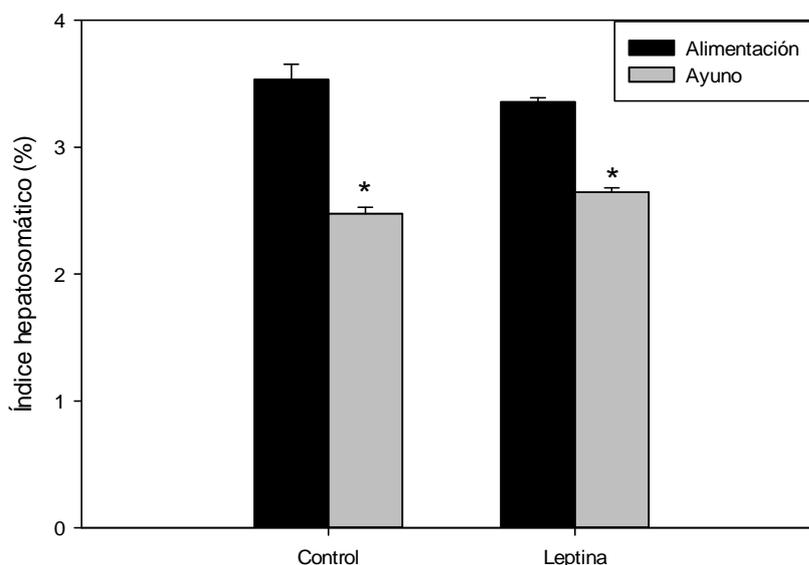


Figura 4.124. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina ip en animales alimentados y en ayunas en el índice hepatosomático. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n= 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey). Todos los índices somáticos se calcularon como la relación entre el peso del tejido y el peso corporal, expresado como porcentaje.

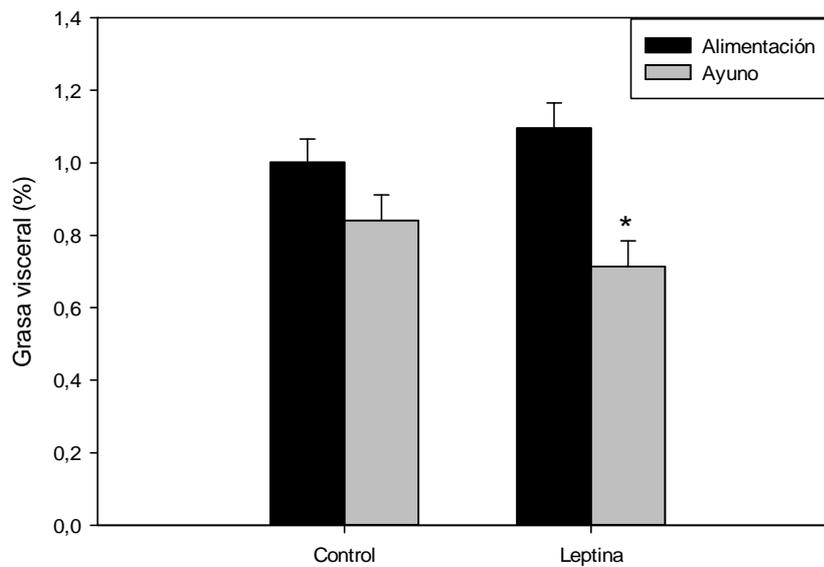


Figura 4.125. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina ip en animales alimentados y en ayunas en el % de grasa visceral. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n = 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey). Todos los índices somáticos se calcularon como la relación entre el peso del tejido y el peso corporal, expresado como porcentaje.

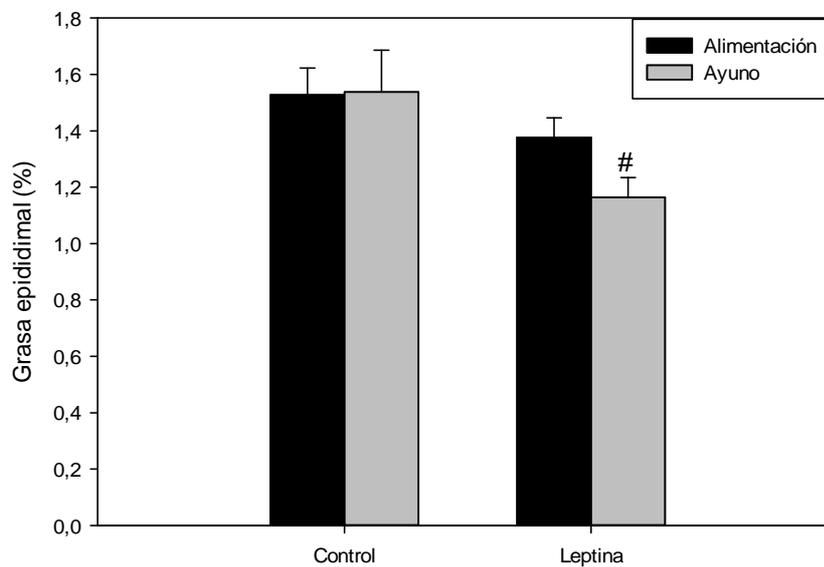


Figura 4.126. Efecto de 2 días de tratamiento con leptina ip en animales alimentados y en ayunas en el % de grasa epididimal. *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina). Los valores se expresan media \pm SEM; $n = 7$ u 8 (ANOVA de dos vías con una prueba *post hoc* de Tukey). Todos los índices somáticos se calcularon como la relación entre el peso del tejido y el peso corporal, expresado como porcentaje.

También estudiamos el efecto de la leptina en la expresión hipotálmica de los *miARNs* previamente seleccionados. El ayuno provocó un aumento en los niveles de expresión hipotálamicos de *let-7a*, *mir-132*, *mir-145* y *mir-9**, un efecto que es revertido por el tratamiento con leptina (Figura 4.127-4.131).

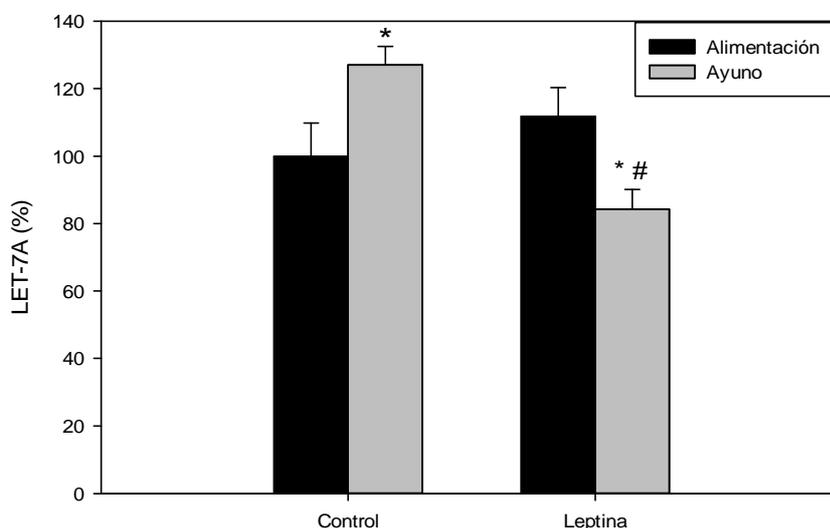


Figura 4.127. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *let-7a*, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

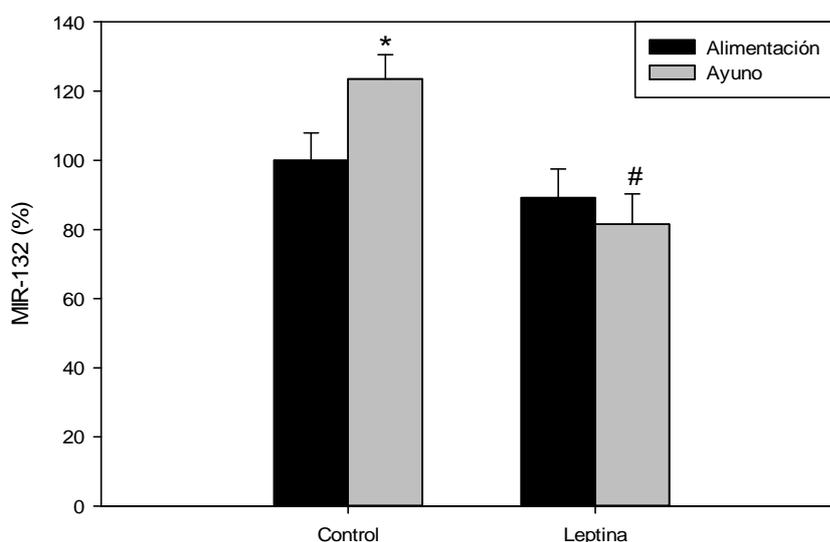


Figura 4.128. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *mir-132*, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

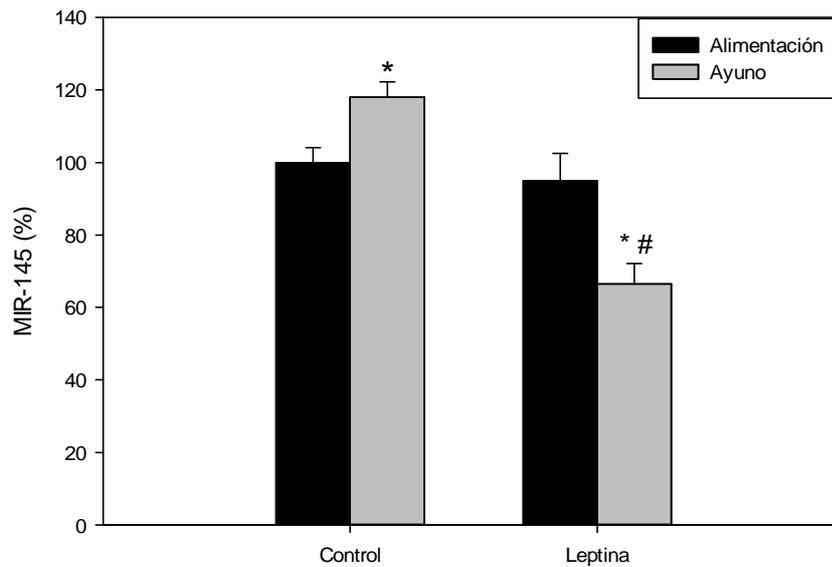


Figura 4.129. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *mir-145*, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

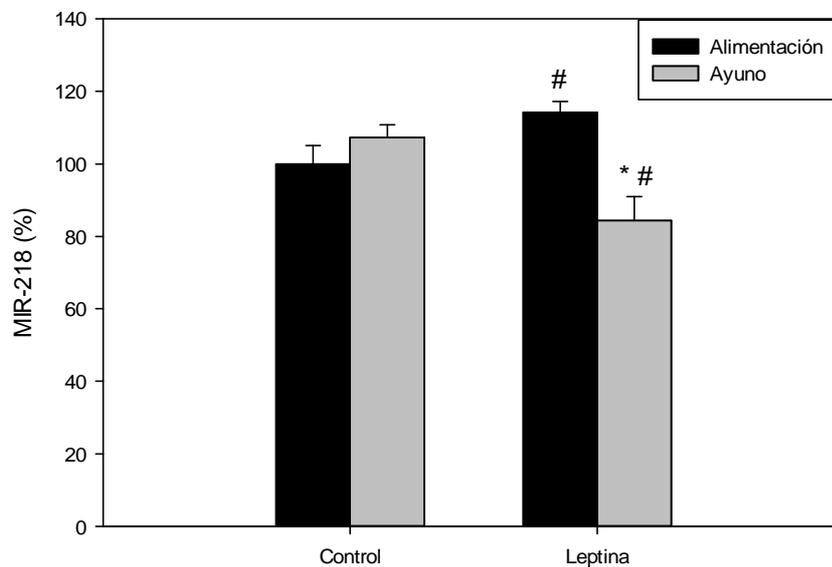


Figura 4.130. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *mir-218*, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

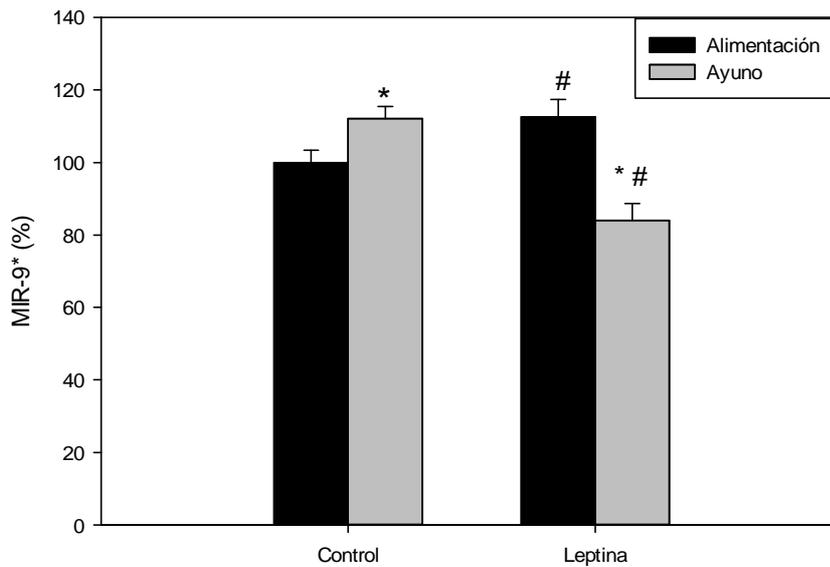


Figura 4.131. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *mir-9**, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

A su vez, el tratamiento con leptina aumentó los niveles de expresión de los siguientes *miRNAs*: *mir-218* y *mir-9** en ratas alimentadas *ad libitum*, mientras que el efecto de la leptina fue el opuesto en ratas sometidas a ayuno. Del mismo modo, los niveles de expresión de *mir-30e* se mantuvieron sin cambios después del tratamiento con leptina en las ratas alimentadas *ad libitum*, pero disminuyeron con la administración de leptina durante el ayuno (Figura 4.132).

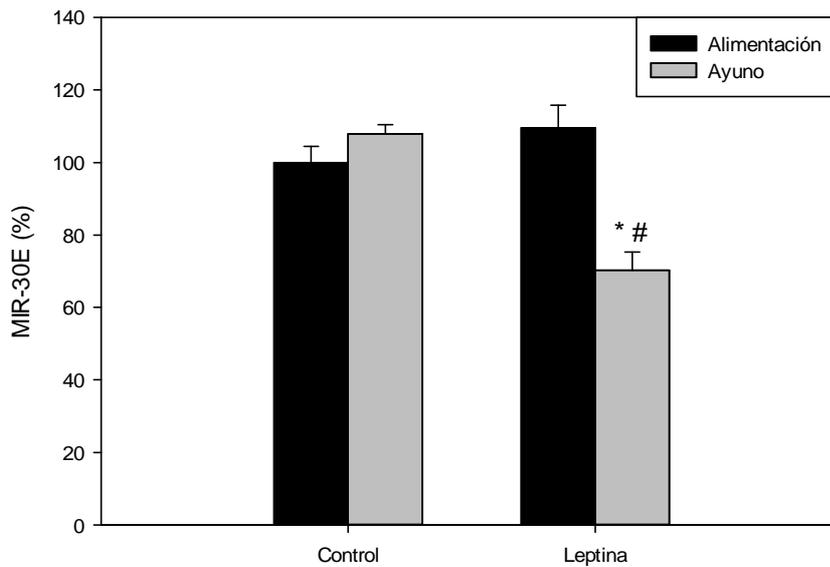


Figura 4.132. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *mir-30e*, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

No hubo cambios de ningún tipo para la expresión de *mir-200a*, *mir-29a* y *mir-31* (Figura 4.133-4.135).

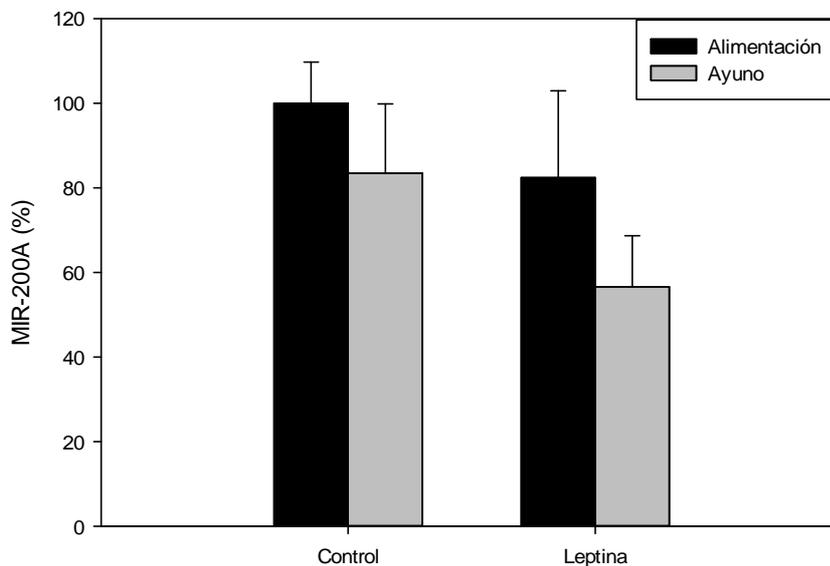


Figura 4.133. Efecto del tratamiento con leptina ip durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de *mir-200a*, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

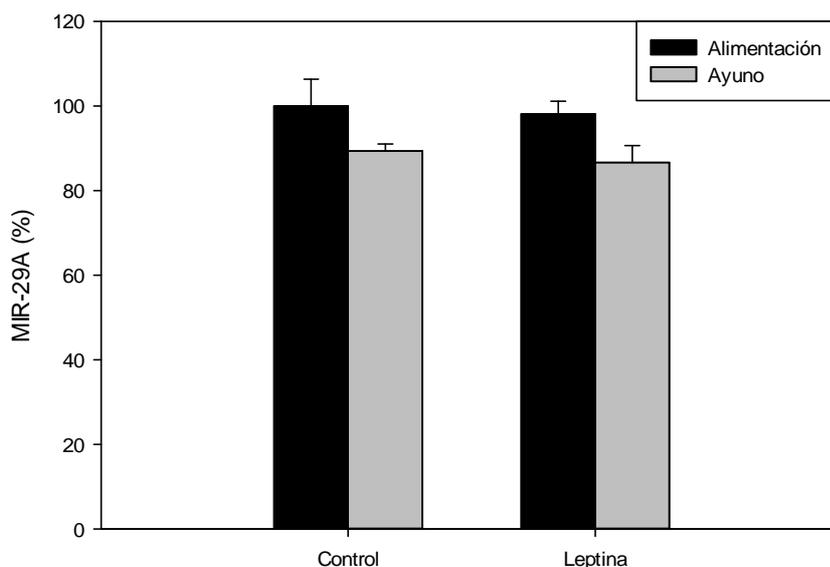


Figura 4.134. Efecto del tratamiento con leptina durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de mir-29a, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

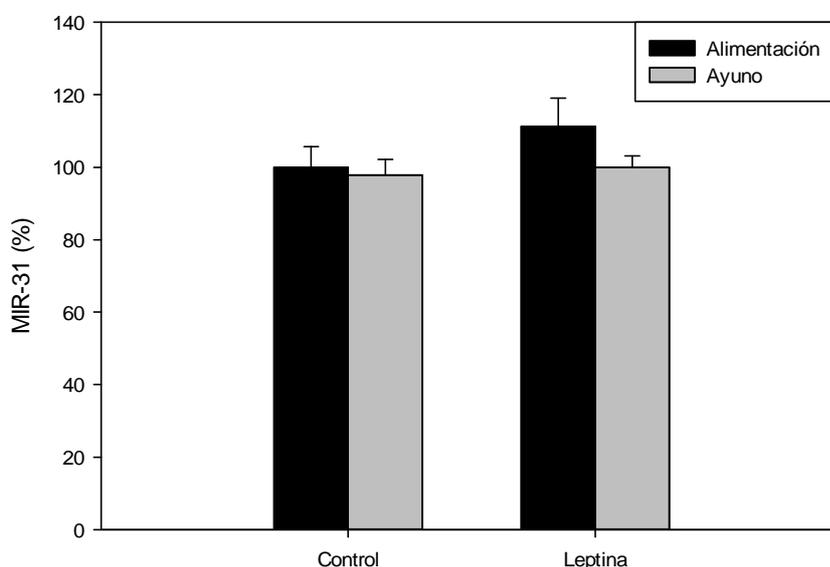


Figura 4.135. Efecto del tratamiento con leptina durante 2 días sobre los niveles de expresión en el hipotálamo de mir-31, en ratas macho adultas en condiciones de alimentación y de ayuno. Los valores se expresan en unidades arbitrarias como media \pm SEM (n=7-8) y como porcentajes de los controles alimentados (animales tratados con solución salina=100%). *, $p \leq 0,05$ vs alimentados; #, $p \leq 0,05$ vs control (ratas inyectadas con solución salina) (ANOVA de dos vías con *test post hoc* de Tukey).

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Estudio en humanos

La adiposidad se asocia con una disminución de la secreción de GH (Rasmussen, Hvidberg et al. 1995). La alteración de la función somatotropa en la obesidad no es permanente; ya que puede ser revertida por un retorno al peso normal (Rasmussen, Hvidberg et al. 1995). La capacidad secretora más importante apareció cuando los pacientes obesos fueron tratados con GHRH lo que dio lugar a una respuesta masiva de GH en los sujetos obesos (Cordido, Penalva et al. 1993). Los ensayos clínicos para evaluar los efectos del tratamiento con GH en pacientes con obesidad han demostrado reducciones en la masa total de tejido adiposo, especialmente los depósitos de tejido adiposo abdominal y visceral (Berryman, Glad et al. 2013). En los animales, se ha encontrado una disminución en la secreción pulsátil de GH asociada a la edad en ratones alimentados con un alto contenido de grasa, así como el aumento de peso inducido por la dieta (Huang, Steyn et al. 2012).

El mecanismo de alteración en la secreción de GH en la obesidad no está claro. Se ha demostrado en animales que la insulina puede reducir la secreción de GH (Luque, Gahete et al. 2006). En los seres humanos se ha encontrado que inyecciones de bajas concentraciones de insulina reducen la respuesta de la GH a GHRH (Lanzi, Manzoni et al. 1997). La concentración de insulina en ayunas y la grasa visceral abdominal son predictores importantes de las concentraciones de GH en adultos sanos (Clasey, Weltman et al. 2001). Cornford *et al.* encontraron que comer en exceso induce una supresión rápida y sostenida de la secreción de GH. La reducción en la secreción de GH se produjo antes de cualquier cambio en la masa corporal y la marcada disminución de la secreción de GH estuvo acompañada por un aumento en la concentración de insulina en plasma (Cornford, Barkan et al. 2011). Hay una fuerte evidencia de que la ghrelina estimula el apetito y aumenta los niveles circulantes de GH (Garin, Burns et al. 2013). Sin embargo, diferentes estudios para determinar los efectos de la ghrelina endógena sobre el control de la secreción de GH han arrojado resultados contradictorios. Avram *et al.* (Avram, Jaffe et al. 2005) no observaron ninguna relación entre la GH y las condiciones de alimentación o de ayuno. Koutkia *et al.* (Koutkia, Schurgin et al. 2005) reconocen la existencia de una regularidad significativa en la cosecreción entre la ghrelina y la GH en el estado de ayuno. Misra *et al.* (Misra, Miller et al. 2005) encontraron que la concentración de ghrelina en ayuno es un predictor independiente de la secreción de GH basal y la frecuencia secretora de GH. Nass *et al.* (Nass, Farhy et al. 2008) sugirieron que, en condiciones normales en determinadas comidas regulares, la ghrelina acilada endógena actúa aumentando la amplitud de los pulsos de GH. La secreción de ghrelina disminuye en la obesidad y podría ser responsable de la alteración de la secreción de GH en la obesidad (Karra and Batterham 2010).

La prueba de tolerancia oral a la glucosa es un modelo clínico utilizado para estudiar los diferentes índices de secreción y acción de la insulina (Oliveira, Salvatori et al. 2012, DeFronzo, Tripathy et al. 2013), y es también un excelente estímulo para la evaluación de la ghrelina (Shiyya, Nakazato et al. 2002) y la secreción de GH. Hay evidencias de que la administración oral de glucosa afecta inicialmente a la secreción de GH y, posteriormente, a la disminución de la estimulación de la secreción de GH, la secreción de GH después de la SOG en humanos disminuye (Grottoli, Procopio et al. 1997). Con una sola prueba podemos estudiar la insulina, la GH y la secreción de ghrelina. Los niveles plasmáticos de ghrelina aumentan antes de una comida y disminuyen después del consumo de nutrientes y después de una SOG (Shiyya, Nakazato et al. 2002). La insulina aumenta después de SOG y disminuyen los niveles circulantes

de ghrelina (McLaughlin, Abbasi et al. 2004). La supresión de ghrelina acilada persiste hasta 2 años después de un bypass gástrico, y este efecto se asocia con una disminución de la obesidad y una mejora en la secreción de insulina (Malin, Samat et al. 2013). Los niveles de ghrelina que se producen en estados fisiológicos tales como el hambre disminuyen la secreción de insulina (Tong, Prigeon et al. 2013). Por lo tanto, no se puede excluir un posible papel de la insulina como un regulador común de la circulación de la ghrelina y la GH tras la SOG. En estudios preliminares con un pequeño número de mujeres obesas y sanas, se ha encontrado una correlación significativa entre la secreción de GH y la secreción de ghrelina después de una SOG (Outeirino-Blanco, Garcia-Buela et al. 2011).

Posiblemente los resultados más interesantes y novedosos de nuestro trabajo son los datos obtenidos en las pacientes obesas y las mujeres controles. En nuestro estudio hemos encontrado que tras la sobrecarga oral de glucosa la ghrelina y la secreción de GH disminuyen en las pacientes obesas y las mujeres controles. Encontramos una asociación significativa entre los índices de secreción de GH y la adiposidad, la secreción de insulina, los índices de acción de la insulina y la secreción de la ghrelina. Tras el análisis multivariante sólo la secreción de ghrelina se mantuvo como predictor significativo tanto para el ayuno como para el pico de GH. Estos datos sugieren que la ghrelina circulante es un importante regulador de la secreción de GH después de la sobrecarga oral de glucosa en las mujeres y que la disminución de la secreción de GH en la obesidad es debida, probablemente a la alteración de la secreción de ghrelina encontrada en las pacientes obesas (Pena-Bello, Pertega-Diaz et al. 2015).

La principal causa del deterioro de la secreción de GH en la obesidad podría ser una alteración en el hipotálamo, un funcionamiento anormal de la hipófisis o una perturbación de las señales periféricas que actúan sobre la glándula pituitaria o a nivel hipotalámico. Hay tres señales periféricas importantes que podrían participar en la alteración de la secreción de GH en la obesidad, la leptina, la insulina y la ghrelina. Iranmanesh *et al.* estudiaron la secreción de GH durante 6 horas tras una sobrecarga oral de glucosa en hombres (Iranmanesh, Lawson et al. 2012), encontrando que en las concentraciones del nadir de GH, tras la supresión de la glucosa y postglucosa, se aprecia un rebote en la liberación de GH que está fuertemente determinado por sustitutos metabólicos selectivos, incluida la grasa, especialmente el tejido adiposo visceral, la adiponectina, la leptina y la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG). Los datos de nuestro estudio están de acuerdo con esta sugerencia, el mecanismo más probable del rebote en la secreción de GH después de la ingestión de glucosa puede ser un retraso en la unión de la ghrelina endógena, bajo la modulación de la STT. La acción mejor establecida de la ghrelina, administrada exógenamente, es ser un potente estimulador de la secreción de GH en la hipófisis (Garin, Burns et al. 2013). Por ejemplo, en los seres humanos una mutación en el gen de GHS-R se asocia con una talla baja (Pantel, Legendre et al. 2009). Varios estudios han investigado la relación entre la ghrelina y la secreción de GH, Espelund *et al.* (Espelund, Hansen et al. 2005) no encontraron ninguna correlación entre la ghrelina y la secreción de GH en condiciones de ayuno. Avram *et al.* (Avram, Jaffe et al. 2005) no observaron ninguna relación de la GH en condiciones de alimentación o en ayunas. Estos diferentes resultados se pueden explicar por las diferencias existentes en los protocolos y también por la población de estudio que incluye tanto hombres como mujeres. Koutkia *et al.* (Koutkia, Schurgin et al. 2005) encontraron que hay una correlación significativa en la cosecreción de la ghrelina y GH en el estado de ayuno, sin embargo, esto sólo fue determinado durante la noche. En estudios llevados a cabo en 8 hombres jóvenes sanos, Nass *et al.* (Nass, Farhy et al. 2008) encontraron una relación significativa entre la amplitud de los picos de secreción de GH y la media de los niveles circulantes de ghrelina acilada durante las condiciones de alimentación. De acuerdo con nuestros resultados, en mujeres sanas y con sobrepeso en condiciones normales de comidas regulares, la ghrelina endógena actúa aumentando la amplitud de los pulsos de GH. Estudios realizados en ratones sin el gen de la GOAT, mostraron

un aumento de los niveles de GH durante restricción calórica severa, preservando así la glucosa en sangre y preveniendo la muerte (Zhao, Liang et al. 2010). Por otro lado, se ha descubierto recientemente que con el envejecimiento normal, los niveles de ghrelina acilada endógenos están menos vinculados a la regulación de GH (Nass, Farhy et al. 2013), lo que indica que el papel fisiológico de la ghrelina sobre la regulación de GH es dependiente de la edad.

En animales de experimentación, ratas, la leptina estimula la secreción de GH (Carro, Senaris et al. 1997) y en estudios clínicos la leptina exógena no inhibe la secreción de GH estimulada por el ayuno (Chan, Heist et al. 2003). La relación negativa entre la GH y la leptina observada en algunos estudios probablemente sea un reflejo de la correlación inversa entre la grasa corporal total y la GH. Se ha encontrado que después de una sobrecarga oral de glucosa la secreción de GH inicial y los niveles de leptina fueron mayores en las mujeres que en los hombres, lo que sugiere que la leptina no participa en el dimorfismo sexual de la secreción de GH tras la sobrecarga oral de glucosa (Outeiriño-Blanco, Garcia-Buela et al. 2012). Además, el tratamiento con hormona de crecimiento recombinante en pacientes con deficiencia de GH disminuyó el porcentaje de la masa grasa y los niveles de leptina (Roemmler, Gockel et al. 2012). En conjunto, todos estos datos apoyan nuestros resultados que indican que la leptina no participa en la disminución de la secreción de GH en la obesidad. El tratamiento con insulina inhibe la liberación de GH y reduce la expresión del ARNm de GH, del receptor de la GHRH y del GHSR en cultivos primarios aislados de primates no humanos (Luque, Gahete et al. 2006). En ratones machos con deficiencia de secreción pulsátil de GH se produce junto a la ganancia progresiva de peso una relación inversa entre las medidas de la secreción pulsátil de GH y el peso corporal y los niveles circulantes de leptina e insulina estos resultados en ratones fueron similares a nuestros resultados en las mujeres (Steyn, Xie et al. 2013). Muchos índices de resistencia a la insulina en el estudio de Iranmanesh *et al.* (Iranmanesh, Lawson et al. 2012) están involucrados en alteraciones de la producción de GH, sin embargo, ni las concentraciones de insulina ni el HOMA-IR están correlacionados con el rebote en la secreción de GH. Además, en un interesante estudio de Cornford *et al.* la reducción en la secreción de GH no se correlacionó con el aumento de los niveles de insulina (Cornford, Barkan et al. 2011). Otros factores como los esteroides sexuales, GHRH, SST, IGF-I y la IGFBP-1 también podrían modular el control de la secreción de GH por la ghrelina, como se ha encontrado en hombres mayores sanos (Veldhuis, Norman et al. 2012). Además también se ha observado que los ácidos grasos libres pueden participar en la hiposecreción de GH en la obesidad (Cordido, Fernandez et al. 1998).

La supresión de la secreción de GH en la obesidad puede tener un impacto metabólico importante. Creemos que este estudio, donde hemos empleado un análisis multivariado con regresión lineal y un modelo aditivo generalizado, sugieren fuertemente que la secreción de ghrelina es un importante regulador de la secreción periférica de GH tras una sobrecarga oral de glucosa en mujeres normales y obesas. En el presente estudio encontramos que tras la SOG en mujeres obesas existe una correlación significativa entre ghrelina y la secreción de GH, esto sugiere que la disminución de la secreción de ghrelina en la obesidad es uno de los mecanismos responsables de la alteración en la secreción de GH (Pena-Bello, Pertega-Diaz et al. 2015). La recuperación del eje GH-IGF I después de la pérdida de peso sugiere un defecto adquirido, sin embargo, la disminución de la estimulación de la liberación de GH en los sujetos obesos puede promover la retención de la masa grasa, y contribuir a la perpetuación del estado de obesidad. En las mujeres premenopáusicas obesas, el pico de GH está inversamente asociado a los lípidos intramiocelulares e intrahepáticos. Esto sugiere que la disminución de la GH puede contribuir a la resistencia a la insulina en la obesidad a través de efectos sobre el músculo y los lípidos intrahepáticos (Bredella, Torriani et al. 2009). A largo plazo, la deficiencia

funcional de GH podría conducir a un círculo vicioso y al deterioro de las células β y participar en el desarrollo de la diabetes (Cordoba-Chacon, Gahete et al. 2014).

Debido a que nuestro estudio no era intervencionista y el análisis se basó en la correlación, no podemos excluir completamente la existencia de uno o varios factores que controlan tanto la liberación de GH como los niveles circulantes de ghrelina simultáneamente. Por lo tanto, el posible papel de la insulina como regulador común de la circulación de la ghrelina y la GH después de la SOG no se puede excluir por completo, a pesar de que la correlación entre GH y la ghrelina persistió después del ajuste por la insulina (Pena-Bello, Pertega-Diaz et al. 2015). Otra limitación puede ser la medida de la ghrelina acilada, aunque ha demostrado ser la forma biológicamente activa en el control de la secreción de la GH; la mayoría de los principales estudios sobre la correlación entre GH y la secreción de ghrelina se han centrado en la estimación de la ghrelina total (Espelund, Hansen et al. 2005, Koutkia, Schurgin et al. 2005, Misra, Miller et al. 2005, Gibbons, Caudwell et al. 2013, van der Klaauw, Keogh et al. 2013) y uno de los principales problemas es conocer realmente la estabilidad en el plasma de la ghrelina acilada una vez recogida la muestra (Blatnik and Soderstrom 2011).

En otra parte de nuestro estudio nos propusimos determinar la concentración de irisina en pacientes obesos, hipopituitarios, acromegálicos y sujetos control. Por el momento hay pocos estudios sobre esta proteína, y los existentes no ayudan a aclarar el papel de la irisina con respecto a la regulación metabólica del organismo. Incluso en aspectos tan concretos como los niveles de irisina humana en obesidad existen datos contradictorios, mientras unos grupos encuentran mayores niveles en pacientes obesos (Huh, Panagiotou et al. 2012, Stengel, Hofmann et al. 2013), otros autores sugieren lo contrario (Moreno-Navarrete, Ortega et al. 2013). En sujetos con SM también se han descritos niveles de irisina superiores en comparación con los sujetos sin SM significativa (Hee Park, Zaichenko et al. 2013). Por otra parte, se encontró una correlación positiva entre la expresión de genes FNDC5 en el músculo en seres humanos y el IMC (Timmons, Baar et al. 2012).

Crujeiras *et al.* observaron una asociación directa entre la irisina y la insulina, junto con una correlación inversa entre la irisina y la ghrelina (Crujeiras, Pardo et al. 2014). Por otra parte el efecto potencial de la irisina sobre el metabolismo de la glucosa se relacionó en un estudio de sujetos obesos con síndrome metabólico. Después de un tratamiento diseñado para bajar de peso, se encontró que las concentraciones más altas de irisina al comienzo de la intervención se asociaron con mayores reducciones de glucosa, insulina y HOMA-IR, independientemente del peso corporal perdido (Lopez-Legarrea, de la Iglesia et al. 2014).

Los obesos presentan mayores niveles de irisina, lo cual puede estar relacionado con una mayor resistencia a la insulina en estos pacientes, planteando que quizás no funcione como se propuso, o bien que en sujetos obesos se produzca una resistencia a la acción de la irisina, es decir, que mediante algún mecanismo desconocido se esté bloqueando su acción. También podría ser que la irisina se secrete para tratar de compensar esos fallos en el metabolismo, pero sin ser capaz de hacerlo.

Estudio en el modelo animal

El hipotálamo desempeña un papel clave en la regulación de la homeostasis energética mediante el control de la ingesta de alimentos y de la detección de múltiples señales metabólicas periféricas, tales como la leptina, la insulina, la adiponectina, hormonas intestinales y nutrientes que interactúan con regiones hipotalámicas específicas para modular rutas metabólicas tanto a nivel central como periférico (Ahima, Qi et al. 2006, Ahima and Lazar 2008, Chen, Roth et al. 2008). Sin embargo, los mecanismos moleculares finales por los cuales dichas integraciones hipotalámicas se llevan a cabo siguen siendo en gran parte desconocidos. En este escenario, la posibilidad de que rutas reguladas por *miARNs* puedan participar en el control central de la homeostasis energética es atractiva, pero está muy poco estudiada. De hecho, aunque diferentes *miRNAs* se han relacionado con el control del metabolismo en los vertebrados (Poy, Spranger et al. 2007, Guay, Roggli et al. 2011, McGregor and Choi 2011, Sacco and Adeli 2012), su implicación a nivel hipotalámico permanece sin explorar.

Mediante el uso de análisis de *microarrays* seguido una validación por PCR cuantitativa, nos propusimos caracterizar los cambios en la expresión hipotalámica de *miARNs* en diferentes condiciones nutricionales y metabólicas, incluyendo la obesidad inducida por HFD, CR crónica, y tratamientos con leptina (Sangiao-Alvarellos, Pena-Bello et al. 2014).

En nuestro estudio documentamos la expresión de 327 *miRNAs* en el hipotálamo, de los cuales hasta 74 fueron desregulados por CR crónica y/o HFD. Es de destacar que estudios recientes en ratas identificaron una fuerte expresión de ciertos *miRNAs* como *mir-7*, *mir-9** y distintos miembros de las familias de *let-7* y *mir-30* en distintos núcleos hipotalámicos, tales como los núcleos arcuato y paraventricular (Amar, Benoit et al. 2012, Herzer, Silahtaroglu et al. 2012). Aunque estos *miRNAs* también fueron altamente expresados en nuestro estudio (donde usamos el hipotálamo completo), los mayores niveles de expresión se detectaron para *mir-29a* y *mir-9*, seguido por *mir-30b*, *mir-126-3p*, *mir-9**, *mir-26a*, *mir-191*, *mir-138*, *mir-149*, *mir-125b-5p*, *mir-24*, *mir-434-3p*, *mir-539* y *mir-132* (Sangiao-Alvarellos, Pena-Bello et al. 2014).

Los *miRNAs* que fueron desregulados por las dietas alargo plazo (HFD o/y CR) pertenecen a 63 familias diferentes, 29 de las cuales están ampliamente conservadas a través de las distintas especies de mamíferos. Sin embargo estudiar de manera individual un número tan amplio de *miARNs* resulta imposible, por ello nos centramos en el análisis de un subconjunto de 7 *miRNAs*:

- (1) *mir-30e*, cuya familia mostró alteraciones en 6 de sus 10 miembros
- (2) *let-7a*, que pertenece a una familia con varios miembros desregulados y previamente relacionados con el control del metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina (Frost and Olson 2011, Zhu, Shyh-Chang et al. 2011)
- (3) *mir-9** y *mir-132*, que son *miRNAs* específicos del cerebro y con alta expresión hipotalámica
- (4) *mir-145*, que está relacionado con la insulina y el metabolismo de la glucosa en tejidos periféricos en la obesidad (Jordan, Krüger et al. 2011)
- (5) *mir-218*, que se ha relacionado con la inhibición de la fosforilación de AKT (proteína quinasa B) (Uesugi, Kozaki et al. 2011, Venkataraman, Birks et al. 2013)
- (6) *mir-200a*, que, junto con *mir-200b* y *mir-200c*, fueron los *miRNAs* que mostraron un porcentaje de cambio mayor en los *arrays* y cuya alteración se ha relacionado con la predisposición para desarrollar sobrepeso en ratas después de un bloqueo temprano de la leptina (Benoit, Ould-Hamouda et al. 2013).

Además de las razones mencionadas anteriormente, diferentes modelos bioinformáticos apuntaron que estos *miRNAs* tienen como posibles dianas y por tanto pueden regular

elementos relacionados con vías de desarrollo neuronal, la señalización neuronal de CREB (*cAMP response element-binding*) y lo más importante las rutas de señalización de la insulina, la adiponectina, la leptina y la inflamación. Además todos los *miRNAs* estudiados individualmente en este trabajo, a excepción de *mir-145*, están aparentemente involucrados en algunos (o varios) pasos de la neurogénesis (Choi, Zakhary et al. 2008, Liu and Zhao 2009, Yoo, Sun et al. 2011, Coolen, Thieffry et al. 2012, Kawahara, Imai et al. 2012, Lang and Shi 2012, Nigro, Menon et al. 2012, Pathania, Torres-Reveron et al. 2012). Del mismo modo, la participación de estos *miRNAs* en la señalización inflamatoria proporciona un vínculo sostenible con la obesidad, porque ésta está considerada como una enfermedad inflamatoria que resulta de la consolidación de un estado de inflamación de bajo grado en el hipotálamo. Tal estado inflamatorio podría contribuir a la resistencia a los efectos de la leptina y la insulina (Zhang, Zhang et al. 2008, Milanski, Arruda et al. 2012) y a la alteración de los circuitos neuronales en el hipotálamo.

El análisis de la expresión de los *miARNs*, junto con el perfil metabólico en nuestros modelos de estrés metabólico nos permitió identificar 2 etapas durante la progresión de la obesidad inducida por la dieta:

- una fase temprana, durante las primeras semanas de la HFD
- un período crónico, cuando la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas están claramente establecidas.

Durante la etapa inicial, varios *miRNAs* mostraron una disminución en sus niveles de expresión (*mir-30e*, *mir-145*, *mir-200a*, y *mir-218*), que se normalizaron con el tiempo (*mir-200a*) o incluso mostraron un aumento en periodos posteriores (*mir-218*, *mir-145* y *mir-30e*). Esta última respuesta podría ser un intento de restaurar la homeostasis metabólica que se produce cuando la obesidad se consolida y se altera la señalización hipotalámica de la insulina, la leptina y/o la inflamación (Obici, Feng et al. 2002, Buettner, Muse et al. 2008, Koch, Wunderlich et al. 2008, Ring and Zeltser 2010).

Diferentes manipulaciones en la alimentación han demostrado tener un impacto variable sobre el metabolismo hipotalámico, aunque la naturaleza de tales cambios depende tanto del tipo como del momento (justo después del destete, en la etapa adulta...) en el que se introduzca el cambio nutricional (Chang, Gaysinskaya et al. 2008, Page, Malik et al. 2009). Por lo tanto, no podemos descartar la posibilidad de que algunas de las diferencias observadas durante el desarrollo de la obesidad inducida por la dieta alta en grasa se debieron a la edad en la que los animales fueron expuestos a la HFD en lugar de a la propia duración de esta dieta. Sin embargo, puesto que ya previamente en nuestro grupo hemos demostrado que algunos de nuestros *miARNs* diana varían sus niveles de expresión en el hipotálamo a lo largo del desarrollo postnatal (Sangiao-Alvarellos, Manfredi-Lozano et al. 2013), las exposiciones a HFD en los diferentes experimentos se ajustaron de tal manera que todos los animales se sacrificaron cuando estaban en la etapa adulta, evitando de este modo diferencias que podrían ser debidas exclusivamente al desarrollo ontogénico del animal.

Aunque nuestros datos no nos permitieron demostrar una relación de causalidad directa entre los cambios observados en la expresión hipotalámica de los *miRNAs* estudiados y la alteración de las rutas centrales, potencialmente modificadas en condiciones metabólicas extremas, el uso de programas bioinformáticos y las predicciones que ellos nos aportan nos permiten formular hipótesis donde esta conexión patogénica tiene lugar, tal como se puede observar en la figura 4.110. En este sentido, muchos estudios han demostrado que la insulina y la resistencia a la leptina están asociadas con un descenso en la actividad de AKT (Clegg, Gotoh et al. 2011, Caricilli, Pentecado et al. 2012) y con los altos niveles de SOCS3 (Bjørnbæk, El-

Haschimi et al. 1999, de Backer, Brans et al. 2010). En este contexto, las predicciones algorítmicas sugieren que las familias de *mir-218* y *mir-30* son posibles reguladoras de *SOCS3*, mientras que las familias de *mir-143/145*, *mir-132*, *mir-30* y *mir-218* son posibles reguladoras del *OSBPL8* (*oxysterol binding protein-like 8*), una proteína que promueve la activación de AKT estimulada por la insulina y que se expresa en altos niveles en el cerebro (Jordan, Krüger et al. 2011). Además, se ha propuesto que tanto la familia *let-7* como *mir-218* se unen a RICTOR (uno de los componentes de mTOR), inhibiendo de este modo la fosforilación de AKT (Uesugi, Kozaki et al. 2011, Venkataraman, Birks et al. 2013), mientras que *let-7* se ha demostrado que regula el metabolismo de la glucosa en tejidos periféricos por la disminución de los niveles de expresión del receptor de insulina, de IRS2, TORC1, IGF-I, y el receptor de IGF-I (Frost and Olson 2011, Zhu, Shyh-Chang et al. 2011). Por lo tanto, el aumento observado en los niveles de expresión de estos *miRNAs* durante el desarrollo de la obesidad podría inducir una disminución en la activación de AKT (y por lo tanto en la resistencia a la leptina/insulina) regulando RICTOR y/o OSBPL8.

Del mismo modo, es interesante observar que en nuestros modelos, donde la expresión hipotalámica de *SOCS3* es alta en comparación con sus controles, experimentos a largo plazo con HFD y el tratamiento con leptina (datos analizados pero no mostrados), se observó que los niveles de expresión hipotalámica para *mir-218* y *mir-30e* estaban aumentados. Suponiendo un papel represor de estos *miRNAs* en la expresión *SOCS3*, es tentador especular que estas respuestas pueden deberse a un intento de disminuir los niveles de ARNm de *SOCS3* como un medio para aliviar sus efectos negativos sobre las rutas de señalización de la insulina a largo plazo. Por otro lado, se ha demostrado que *mir-218* inactiva el factor nuclear proinflamatorio κ en células de glioma (Song, Huang et al. 2010, Xia, Yan et al. 2012), mientras que la inflamación cerebral aumenta los niveles de expresión de por *mir-132*, que a su vez promueve respuestas anti-inflamatorias (Shaked, Meerson et al. 2009) Sobre esta base, nosotros sugerimos que el aumento en los niveles de expresión de *mir-218* y *mir-132* después de una dieta a largo plazo con HFD puede ser un mecanismo para aliviar la inflamación excesiva que se produce en condiciones de obesidad crónica.

Algo que debemos admitir de nuestro estudio es que, aunque estadísticamente significativos, la magnitud de algunos de los cambios en la expresión hipotalámica de *miARNs*, es moderada, creemos, que en parte el motivo es debido a nuestro enfoque analítico, en el que llevamos a cabo *microarrays* a gran escala en el conjunto hipotalámico. Por lo tanto, cambios notables en núcleos discretos del hipotálamo podrían ser parcialmente oscurecidos. Aunque esto es una limitación de nuestro enfoque, es justo asumir que los cambios observados son genuinos y señalan rutas específicas de desregularización, cuya ubicación precisa y relevancia funcional requeriría una caracterización más profunda y específica. Aunque se necesiten análisis funcionales, gracias al uso de diferentes algoritmos computacionales pudimos identificar varios *microARNs* como posibles reguladores de genes que codifican factores clave en la señalización de la insulina y la leptina, y también en la neurogénesis y la inflamación (Sangiao-Alvarellos, Pena-Bello et al. 2014).

Nuestro estudio aporta nuevos conocimientos sobre la posible función de distintos *miRNAs* en los mecanismos mediante los cuales el hipotálamo controla y se adapta a las fluctuaciones dinámicas en la homeostasis energética y destaca el potencial regulador de los *miARNs* en ciertas rutas actuando como un posible enlace para la obesidad, la inflamación y las enfermedades neurodegenerativas.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- La respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de los niveles de GH, está disminuida en los pacientes obesos respecto a los controles sanos.
- Los niveles basales de ghrelina total son inferiores en los pacientes obesos respecto al grupo control con normopeso y la respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de los niveles de ghrelina total, esta disminuida en los pacientes obesos respecto a los controles sanos.
- La respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de los niveles de ghrelina acilada y PYY₁₋₃₆ es similar en los pacientes obesos y los controles.
- Existe una importante relación entre los índices de secreción y sensibilidad a la insulina y la secreción de GH en un grupo amplio de pacientes obesos y controles sanos.
- Existe una importante relación entre la secreción de ghrelina total y la secreción de GH en un grupo amplio de pacientes obesos y controles sanos.
- En el grupo de mujeres se encontró una importante relación entre la secreción de GH y los índices de secreción y sensibilidad a la insulina, y también con la secreción de ghrelina. Tras el análisis multivariante tan solo ghrelina persistió como un predictor significativo de la secreción de GH. Por tanto la ghrelina circulante es un importante regulador de la secreción de GH tras glucosa oral y la disminución de la secreción de GH en este modelo se debe a una alteración de la secreción de ghrelina.
- Los niveles basales de ghrelina total y acilada, y PYY₁₋₃₆ fueron similares en los pacientes con hipopituitarismo y los controles sanos en este estudio.
- La respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de GH, en los pacientes con hipopituitarismo se encontró claramente disminuida respecto a los controles sanos y los pacientes obesos.
- La respuesta a lo largo de 300 minutos tras la administración oral de glucosa de ghrelina total y acilada, y PYY₁₋₃₆ en los pacientes con hipopituitarismo se fue similar a la que presentan los controles.

- La respuesta de GH en forma de pico secretorio tras la administración oral de glucosa podría utilizarse como índice de secreción de GH para valorar el déficit de GH del hipopituitarismo.
- Los niveles basales de irisina se encuentran elevados en los pacientes obesos respecto a los controles sanos. Por el contrario en los pacientes hipopituitarios y acromegálicos no existe diferencia en los niveles de irisina respecto al grupo control.
- Existen varios sets de *miARNs*, incluyendo *let-7a*, *mir-9**, *mir-132*, *mir-145*, *mir-200a* y *mir-218* cuyo patrón de expresión hipotalámica fue alterado por la restricción calórica y/o la dieta alta en grasa, además mostraron diferentes perfiles dependiendo de la duración del estrés metabólico ocasionado. Entre las posibles dianas de estos *miARNs* se incluyen elementos clave de distintas rutas metabólicas e inflamatorias, tales como las rutas de señalización de la insulina y la leptina.
- El tratamiento con leptina provocó alteraciones en los niveles de expresión hipotalámicos de distintos *microARNs* dependientes del *status* nutricional del animal. Revirtió el aumento en los niveles de expresión hipotalámica de *let-7a*, *mir-132*, *mir-145* y *mir-9** provocado por un ayuno agudo. Aumentó los niveles de expresión de *mir-218* y *mir-9** en ratas alimentadas *ad libitum*, mientras que el efecto fue el opuesto en ratas ayunadas y los niveles de expresión de *mir-30e* sólo disminuyeron con la administración de leptina durante el ayuno.

7. ARTÍCULOS PRODUCTO DE ESTA TESIS

7. ARTÍCULOS PRODUCTO DE ESTA TESIS

-Lugo G, Pena L, Cordido F. Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly. *Int J Endocrinol* 2012; 2012: 540398.

-Outeiriño-Blanco E, Garcia-Buela J, Sangiao-Alvarellos S, Brandón I, Pena L, Pertega-Diaz S, Martinez T, Cordido F. Sexual Dimorphism on Growth Hormone Secretion after Oral Glucose Administration. *Horm Metab Res* 2012; 44:533-538.

-Alvarez-Castro P, Pena L, Cordido F. Ghrelin in Obesity, Physiological and Pharmacological Considerations. *Mini Rev Med Chem* 2013; 13:541-552.

-Sangiao-Alvarellos S, Pena-Bello L, Manfredi-Lozano M, Tena-Sempere M, Cordido F. Perturbation of hypothalamic microRNA expression patterns in male rats following metabolic distress: Impact of obesity and conditions of negative energy balance. *Endocrinology*. 2014;155:1838-50.

-Pena-Bello L, Pertega-Diaz S, Outeiriño-Blanco E, Garcia-Buela J, Tovar S, Sangiao-Alvarellos S, Dieguez C, Cordido F. Effect of oral glucose administration on rebound Growth Hormone release in normal and obese women: The role of adiposity, insulin sensitivity and ghrelin. *PLoS ONE* 2015 ; 10(3): e0121087.

8. BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFIA

Adrian, T., et al. (1985). "Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY." Gastroenterology 89(5): 1070-1077.

Adrian, T., et al. (1985). "Effect of peptide YY on gastric, pancreatic, and biliary function in humans." Gastroenterology 89(3): 494-499.

Aguila, M. and S. McCann (1985). "Stimulation of somatostatin release in vitro by synthetic human growth hormone-releasing factor by a nondopaminergic mechanism." Endocrinology 117(2): 762-765.

Ahima, R. S. (2006). "Adipose tissue as an endocrine organ." Obesity 14(S8): 242S-249S.

Ahima, R. S. and J. S. Flier (2000). "Leptin." Annual review of physiology 62(1): 413-437.

Ahima, R. S. and M. A. Lazar (2008). "Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance." Molecular Endocrinology 22(5): 1023-1031.

Ahima, R. S., et al. (2006). "Brain adipocytokine action and metabolic regulation." Diabetes 55(Supplement 2): S145-S154.

Alba-Roth, J., et al. (1988). "Arginine stimulates growth hormone secretion by suppressing endogenous somatostatin secretion." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 67(6): 1186-1189.

Alberti, K. and P. Zimmet (1998). "Report of a WHO Consultation. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus." World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. Diabet Med 15(7): 539-553.

Alexander, R., et al. (2011). "MicroRNAs in adipogenesis and as therapeutic targets for obesity." Expert opinion on therapeutic targets 15(5): 623-636.

Alfenas, R. C. and R. D. Mattes (2003). "Effect of fat sources on satiety." Obesity research 11(2): 183-187.

Álvarez-Castro, P., et al. (2011). "Función endocrina en la obesidad." Endocrinología y Nutrición 58(8): 422-432.

Amar, L., et al. (2012). "MicroRNA expression profiling of hypothalamic arcuate and paraventricular nuclei from single rats using Illumina sequencing technology." Journal of neuroscience methods 209(1): 134-143.

Amini, P., et al. (2012). "Serum acylated ghrelin is negatively correlated with the insulin resistance in the CODING study." PLoS ONE 7(9): e45657.

Andreotti, A., et al. (1994). "Acute pharmacologic blockade of lipolysis normalizes nocturnal growth hormone levels and pulsatility in obese subjects." Metabolism 43(10): 1207-1213.

Angelidis, G., et al. (2010). "Current and potential roles of ghrelin in clinical practice." Journal of endocrinological investigation 33(11): 823.

Arafah, B. M., et al. (2000). "The Dominant Role of Increased Intrasellar Pressure in the Pathogenesis of Hypopituitarism, Hyperprolactinemia, and Headaches in Patients with Pituitary Adenomas 1." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(5): 1789-1793.

Arafah, b. u. m. (1986). "Reversible Hypopituitarism in Patients with Large Nonfunctioning Pituitary Adenomas*." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 62(6): 1173-1179.

Aranceta-Bartrina, J., et al. (2005). "Prevalencia de obesidad en España." Medicina clínica 125(12): 460-466.

Ariyasu, H., et al. (2001). "Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(10): 4753-4758.

Arlt, W. and B. Allolio (2003). "Adrenal insufficiency." The Lancet 361(9372): 1881-1893.

Arner, E., et al. (2012). "Adipose tissue microRNAs as regulators of CCL2 production in human obesity." Diabetes 61(8): 1986-1993.

Arvat, E., et al. (2000). "Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans." Journal of endocrinological investigation 23(8): 493-495.

Asakawa, A., et al. (2005). "Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacyl ghrelin." Gut 54(1): 18-24.

Ascaso, J. F. (2001). "Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética." Medicina clínica 117(14): 530.

Attallah, H., et al. (2006). "Visceral obesity, impaired glucose tolerance, metabolic syndrome, and growth hormone therapy." Growth hormone & IGF research 16: 62-67.

Attanasio, A. F., et al. (1997). "Adult Growth Hormone (GH)-Deficient Patients Demonstrate Heterogeneity Between Childhood Onset and Adult Onset Before and During Human GH Treatment 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 82(1): 82-88.

Avram, A. M., et al. (2005). "Endogenous circulating ghrelin does not mediate growth hormone rhythmicity or response to fasting." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(5): 2982-2987.

Baes, M. and W. Vale (1990). "Characterization of the glucose-dependent release of growth hormone-releasing factor and somatostatin from superfused rat hypothalami." Neuroendocrinology 51(2): 202-207.

Baes, M. and W. W. Vale (1989). "Growth hormone-releasing factor secretion from fetal hypothalamic cell cultures is modulated by forskolin, phorbol esters, and muscimol." Endocrinology 124(1): 104-110.

Ballantyne, G. H. (2006). "Peptide YY (1-36) and peptide YY (3-36): Part I. Distribution, release and actions." Obesity surgery 16(5): 651-658.

Bang, A. S., et al. (2007). "Characterisation of proghrelin peptides in mammalian tissue and plasma." Journal of endocrinology 192(2): 313-323.

Banting, F., et al. (1922). "Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus." Canadian Medical Association Journal 12(3): 141.

Baragli, A., et al. (2011). "Neuroendocrine and metabolic activities of ghrelin gene products." Peptides 32(11): 2323-2332.

Barkan, A. L., et al. (2003). "Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(5): 2180-2184.

Barker, D., et al. (1993). "Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth." Diabetologia 36(1): 62-67.

Barker, F. G., et al. (2003). "Transsphenoidal surgery for pituitary tumors in the United States, 1996–2000: mortality, morbidity, and the effects of hospital and surgeon volume." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(10): 4709-4719.

Barnett, B. P., et al. (2010). "Glucose and weight control in mice with a designed ghrelin O-acyltransferase inhibitor." Science 330(6011): 1689-1692.

Basterra-Gortari, F. J., et al. (2011). "Tendencia creciente de la prevalencia de obesidad mórbida en España: de 1, 8 a 6, 1 por mil en 14 años." Revista Española de Cardiología 64(5): 424-426.

Bates, A., et al. (1996). "The effect of hypopituitarism on life expectancy." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 81(3): 1169-1172.

Batterham, R. L., et al. (2003). "Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36." New England Journal of Medicine 349(10): 941-948.

Batterham, R. L., et al. (2002). "Gut hormone PYY₃₋₃₆ physiologically inhibits food intake." Nature 418(6898): 650-654.

Baumann, G. (1991). "Metabolism of growth hormone (GH) and different molecular forms of GH in biological fluids." Hormone Research in Paediatrics 36(Suppl. 1): 5-10.

Baumann, G. (2001). "Growth hormone binding protein 2001." Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism 14(4): 355-376.

Baumgartner, R. N., et al. (1999). "Age-related changes in sex hormones affect the sex difference in serum leptin independently of changes in body fat." Metabolism 48(3): 378-384.

Beaumont, N. J., et al. (2003). "Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase." Journal of Biological Chemistry 278(11): 8877-8880.

Beck, B., et al. (2002). "Ghrelin, macronutrient intake and dietary preferences in Long-Evans rats." Biochemical and biophysical research communications 292(4): 1031-1035.

Beckman, L. M., et al. (2011). "Changes in gastrointestinal hormones and leptin after Roux-en-Y gastric bypass surgery." Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 35(2): 169-180.

Belfiore, A., et al. (2009). "Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease." Endocrine reviews 30(6): 586-623.

Bell, G. I. (1986). "The glucagon superfamily: precursor structure and gene organization." Peptides 7: 27-36.

Bellone, S., et al. (2002). "Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood." Journal of endocrinological investigation 25(5): RC13-RC15.

Benoit, C., et al. (2013). "Early leptin blockade predisposes fat-fed rats to overweight and modifies hypothalamic microRNAs." Journal of endocrinology 218(1): 35-47.

Bereket, A., et al. (1995). "Effect of insulin on the insulin-like growth factor system in children with new-onset insulin-dependent diabetes mellitus." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 80(4): 1312-1317.

Berelowitz, M., et al. (1982). "Release of somatostatin-like immunoreactivity from incubated rat hypothalamus and cerebral cortex: effects of glucose and glucoregulatory hormones." Journal of Clinical Investigation 69(6): 1293.

Bergman, R. (2000). "Non-esterified fatty acids and the liver: why is insulin secreted into the portal vein?" Diabetologia 43(7): 946-952.

Bergman, R. N. (1989). "Toward physiological understanding of glucose tolerance: minimal-model approach." Diabetes 38(12): 1512-1527.

Bergman, R. N., et al. (1981). "Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of insulin sensitivity and beta-cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose." Journal of Clinical Investigation 68(6): 1456.

Berryman, D. E., et al. (2013). "The GH/IGF-1 axis in obesity: pathophysiology and therapeutic considerations." Nature Reviews Endocrinology 9(6): 346-356.

Beshyah, S. A., et al. (1995). "Beta-cell function in hypopituitary adults before and during growth hormone treatment." Clinical Science 89(Pt 3): 321-328.

Bessesen, D. H. (2008). "Update on obesity." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 93(6): 2027-2034.

Bjørnbæk, C., et al. (1999). "The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance." Journal of Biological Chemistry 274(42): 30059-30065.

Blatnik, M. and C. I. Soderstrom (2011). "A practical guide for the stabilization of acylghrelin in human blood collections." Clinical endocrinology 74(3): 325-331.

Bloch, B., et al. (1984). "Topographical and ontogenetic study of the neurons producing growth hormone-releasing factor in human hypothalamus." Regulatory peptides 8(1): 21-31.

Bludell, J., et al. (1996). "Control of human appetite: implications for the intake of dietary fat." Annual review of nutrition 16(1): 285-319.

Blundell, J., et al. (2001). "Regulation of appetite: role of leptin in signalling systems for drive and satiety." International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity 25: S29.

Blundell, J. E. (2006). "Perspective on the central control of appetite." Obesity 14: S160-S163.

Blundell, J. E., et al. (1993). "Dietary fat and the control of energy intake: evaluating the effects of fat on meal size and postmeal satiety." The American journal of clinical nutrition 57(5): 772S-777S.

Bolmeson, C., et al. (2011). "Differences in islet-enriched miRNAs in healthy and glucose intolerant human subjects." Biochemical and biophysical research communications 404(1): 16-22.

Bonner-Weir, S. (1988). "Morphological evidence for pancreatic polarity of β -cell within islets of Langerhans." Diabetes 37(5): 616-621.

Bonora, E., et al. (1989). "Estimates of In Vivo Insulin Action in Man: Comparison of Insulin Tolerance Tests with Euglycemic and Hyperglycemic Glucose Clamp Studies*." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 68(2): 374-378.

Bonora, E., et al. (2000). "Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity." Diabetes care 23(1): 57-63.

Boockfor, F., et al. (1985). "Cultures of GH3 cells are functionally heterogeneous: thyrotropin-releasing hormone, estradiol and cortisol cause reciprocal shifts in the proportions of growth hormone and prolactin secretors." Endocrinology 117(1): 418-420.

Borrás, J. (2008). "Métodos para la determinación de la sensibilidad a la insulina basados en la sobrecarga oral de glucosa." Av Diabetol 24(4): 296-304.

Borson-Chazot, F., et al. (1999). "Decrease in Carotid Intima-Media Thickness after One Year Growth Hormone (GH) Treatment in Adults with GH Deficiency 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 84(4): 1329-1333.

Boström, P., et al. (2012). "A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis." Nature 481(7382): 463-468.

Brazeau, P., et al. (1973). "Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone." Science 179(4068): 77-79.

Bredella, M. A., et al. (2009). "Peak growth hormone-releasing hormone-arginine-stimulated growth hormone is inversely associated with intramyocellular and intrahepatic lipid content in premenopausal women with obesity." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 94(10): 3995-4002.

Broglio, F., et al. (2003). "Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine, or free fatty acids load in humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(9): 4268-4272.

Broglio, F., et al. (2004). "Non-acylated ghrelin counteracts the metabolic but not the neuroendocrine response to acylated ghrelin in humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(6): 3062-3065.

Broome, M., et al. (1985). "Peptide YY (PYY)-immunoreactive neurons in the lower brain stem and spinal cord of rat." Acta physiologica scandinavica 125(2): 349-352.

Buettner, C., et al. (2008). "Leptin controls adipose tissue lipogenesis via central, STAT3-independent mechanisms." Nature medicine 14(6): 667-675.

Bülow, B., et al. (2000). "Hypopituitary Females Have a High Incidence of Cardiovascular Morbidity and an Increased Prevalence of Cardiovascular Risk Factors 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(2): 574-584.

Burman, P., et al. (1995). "Quality of life in adults with growth hormone (GH) deficiency: response to treatment with recombinant human GH in a placebo-controlled 21-month trial." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 80(12): 3585-3590.

Callahan, H. S., et al. (2004). "Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(3): 1319-1324.

Campbell, R. and C. Scanes (1992). "Evolution of the growth hormone-releasing factor (GRF) family of peptides." Growth regulation 2(4): 175-191.

Campbell, R. M., et al. (1991). "GRF analogs and fragments: correlation between receptor binding, activity and structure." Peptides 12(3): 569-574.

Cantó, C. and J. Auwerx (2009). "PGC-1alpha, SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure." Current opinion in lipidology 20(2): 98.

Caricilli, A. M., et al. (2012). "Topiramate treatment improves hypothalamic insulin and leptin signaling and action and reduces obesity in mice." Endocrinology 153(9): 4401-4411.

Caron, R., et al. (1994). "Lactogenic actions of different growth hormone preparations in pregnant and lactating rats." Journal of endocrinology 142(3): 535-545.

Carro, E., et al. (1997). "Regulation of in vivo growth hormone secretion by leptin." Endocrinology 138(5): 2203-2203.

Casanueva, F. (1992). "Physiology of growth hormone secretion and action." Endocrinology and metabolism clinics of North America 21(3): 483-517.

Casanueva, F. F. and C. Dieguez (2002). "Ghrelin: the link connecting growth with metabolism and energy homeostasis." Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 3(4): 325-338.

Cederholm, J. and L. Wibell (1990). "Insulin release and peripheral sensitivity at the oral glucose tolerance test." Diabetes research and clinical practice 10(2): 167-175.

Cereijo, R., et al. (2014). "Thermogenic brown and beige/brite adipogenesis in humans." Annals of medicine(0): 1-9.

Cinti, S. (2007). The adipose organ. Adipose tissue and adipokines in health and disease, Springer: 3-19.

Clasey, J. L., et al. (2001). "Abdominal visceral fat and fasting insulin are important predictors of 24-hour GH release independent of age, gender, and other physiological factors." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(8): 3845-3852.

Clegg, D. J., et al. (2011). "Consumption of a high-fat diet induces central insulin resistance independent of adiposity." Physiology & behavior 103(1): 10-16.

Colao, A., et al. (1999). "Bone Loss Is Correlated to the Severity of Growth Hormone Deficiency in Adult Patients with Hypopituitarism 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 84(6): 1919-1924.

Consultation, W. (1999). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications, Part.

Cooke, N. E., et al. (1988). "Human growth hormone gene and the highly homologous growth hormone variant gene display different splicing patterns." Journal of Clinical Investigation 82(1): 270.

Coolen, M., et al. (2012). "miR-9 controls the timing of neurogenesis through the direct inhibition of antagonistic factors." Developmental cell 22(5): 1052-1064.

Cordido, F., et al. (1989). "Cholinergic receptor activation by pyridostigmine restores growth hormone (GH) responsiveness to GH releasing hormone administration in obese subjects: Evidence for hypothalamic somatostatinergic participation in the blunted GH release of obesity." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 68(2): 290-293.

Cordido, F., et al. (1990). "Effect of central cholinergic neurotransmission enhancement by pyridostigmine on the growth hormone secretion elicited by clonidine, arginine, or hypoglycemia in normal and obese subjects." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 70(5): 1361-1370.

Cordido, F., et al. (1998). "Effect of Acute Pharmacological Reduction of Plasma Free Fatty Acids on Growth Hormone (GH) Releasing Hormone-Induced GH Secretion in Obese Adults with and without Hypopituitarism 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 83(12): 4350-4354.

Cordido, F., et al. (2009). "Ghrelin and growth hormone secretagogues, physiological and pharmacological aspect." Current drug discovery technologies 6(1): 34-42.

Cordido, F., et al. (1996). "Impaired growth hormone secretion in obese subjects is partially reversed by acipimox-mediated plasma free fatty acid depression." The Journal of clinical endocrinology and metabolism 81(3): 914-918.

Cordido, F., et al. (1993). "Massive growth hormone (GH) discharge in obese subjects after the combined administration of GH-releasing hormone and GHRP-6: evidence for a marked somatotroph secretory capability in obesity." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 76(4): 819-823.

Cordido, F., et al. (1992). "L'ormone della crescita." Monografia de Caleidoscopio. Editorial Dipesa. Genova. Italia.

Cordoba-Chacon, J., et al. (2014). "Differential impact of selective GH deficiency and endogenous GH excess on insulin-mediated actions in muscle and liver of male mice." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 307(10): E928-E934.

Cornford, A. S., et al. (2011). "Rapid suppression of growth hormone concentration by overeating: potential mediation by hyperinsulinemia." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 96(3): 824-830.

Corpas, E., et al. (1993). "Human growth hormone and human aging." Endocrine reviews 14(1): 20-39.

Costoya, J., et al. (1996). "Expression of the human growth hormone normal gene (hGH-N) in proliferating and differentiated HL-60 cells." Experimental cell research 228(1): 164-167.

Cowley, M. A., et al. (2003). "The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis." Neuron 37(4): 649-661.

Crujeiras, A., et al. (2013). "Oxidative stress associated to dysfunctional adipose tissue: a potential link between obesity, type 2 diabetes mellitus and breast cancer." Free radical research 47(4): 243-256.

Crujeiras, A. B., et al. (2014). "Longitudinal variation of circulating irisin after an energy restriction-induced weight loss and following weight regain in obese men and women." American Journal of Human Biology 26(2): 198-207.

Crujeiras, A. B., et al. (2014). "Association between circulating irisin levels and the promotion of insulin resistance during the weight maintenance period after a dietary weight-lowering program in obese patients." Metabolism 63(4): 520-531.

Cummings, D. E., et al. (2005). "Hormonal mechanisms of weight loss and diabetes resolution after bariatric surgery." Surgery for Obesity and Related Diseases 1(3): 358-368.

Cummings, D. E., et al. (2001). "A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans." Diabetes 50(8): 1714-1719.

Cummings, D. E., et al. (2002). "Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery." New England Journal of Medicine 346(21): 1623-1630.

Cuneo, R., et al. (1992). "The growth hormone deficiency syndrome in adults." Clinical endocrinology 37(5): 387-397.

Cunha, A. (2012). "Basic research: Irisin—behind the benefits of exercise." Nature Reviews Endocrinology 8(4): 195-195.

Cury, M. L. C. d. A., et al. (2009). "Non-functioning pituitary adenomas: clinical feature, laboratorial and imaging assessment, therapeutic management and outcome." Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia 53(1): 31-39.

Cushing, H. (1909). "The hypophysis cerebri clinical aspects of hyperpituitarism and of hypopituitarism." Journal of the American medical Association 53(4): 249.

Cypess, A. M., et al. (2009). "Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans." New England Journal of Medicine 360(15): 1509-1517.

Chan, J. L., et al. (2004). "Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(1): 335-343.

Chan, J. L., et al. (2003). "The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men." The journal of clinical investigation 111(9): 1409-1421.

Chanclón García, B., et al. (2012). "Role of SST, CORT and ghrelin, and its receptors at the endocrine pancreas."

Chang, G.-Q., et al. (2008). "Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity." The Journal of Neuroscience 28(46): 12107-12119.

Chanoine, J.-P. and A. C. Wong (2004). "Ghrelin gene expression is markedly higher in fetal pancreas compared with fetal stomach: effect of maternal fasting." Endocrinology 145(8): 3813-3820.

Chanoine, J.-P., et al. (2006). "Obestatin, acylated and total ghrelin concentrations in the perinatal rat pancreas." Hormone Research in Paediatrics 66(2): 81-88.

Chanson, P., et al. (1990). "Cardiovascular effects of the somatostatin analog octreotide in acromegaly." Annals of internal medicine 113(12): 921-925.

Chartoumpakis, D. V., et al. (2012). "Differential expression of microRNAs in adipose tissue after long-term high-fat diet-induced obesity in mice." PLoS ONE 7(4): e34872.

Chen, H. C., et al. (2008). "Role of islet-, gut-, and adipocyte-derived hormones in the central control of food intake and body weight: implications for an integrated neurohormonal approach to obesity pharmacotherapy." Current diabetes reviews 4(2): 79-91.

Choi, P. S., et al. (2008). "Members of the miRNA-200 family regulate olfactory neurogenesis." Neuron 57(1): 41-55.

Choi, Y.-K., et al. (2013). "Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes." Diabetes research and clinical practice 100(1): 96-101.

Christophe, J., et al. (1989). "The VIP/PHI/secretin/helodermin/helospectin/GRF family: structure-function relationships of the natural peptides, their precursors and synthetic analogues as tested in vitro on receptors and adenylate cyclase in a panel of tissue membranes." Peptide hormones as prohormones: processing, biological activity, pharmacology: 211-243.

Christopher, M., et al. (1998). "Defects of Insulin Action and Skeletal Muscle Glucose Metabolism in Growth Hormone-Deficient Adults Persist after 24 Months of Recombinant Human Growth Hormone Therapy 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 83(5): 1668-1681.

Chuang, J.-C., et al. (2011). "Ghrelin directly stimulates glucagon secretion from pancreatic α -cells." Molecular Endocrinology 25(9): 1600-1611.

Date, Y., et al. (2000). "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 141(11): 4255-4261.

Davies, J. S., et al. (2009). "Ghrelin induces abdominal obesity via GHS-R-dependent lipid retention." Molecular Endocrinology 23(6): 914-924.

de Backer, M. W., et al. (2010). "Suppressor of cytokine signaling 3 knockdown in the mediobasal hypothalamus: counterintuitive effects on energy balance." Journal of molecular endocrinology 45(5): 341-353.

De Boer, H., et al. (1995). "Clinical aspects of growth hormone deficiency in adults." Endocrine reviews 16(1): 63-86.

De Boer, H., et al. (1992). "Body composition in adult growth hormone-deficient men, assessed by anthropometry and bioimpedance analysis." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 75(3): 833-837.

De Boer, H., et al. (1994). "Serum lipid levels in growth hormone-deficient men." Metabolism 43(2): 199-203.

DeFronzo, R. A., et al. (1979). "Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 237(3): E214.

DeFronzo, R. A., et al. (2013). "Prediction of diabetes based on baseline metabolic characteristics in individuals at high risk." Diabetes care 36(11): 3607-3612.

Degen, L., et al. (2005). "Effect of Peptide YY₃₋₃₆ on Food Intake in Humans." Gastroenterology 129(5): 1430-1436.

Del Giudice, M. E., et al. (1998). "Insulin and related factors in premenopausal breast cancer risk." Breast cancer research and treatment 47(2): 111-120.

Demura, R., et al. (1982). "Prolactin Directly Inhibits Basal as well as Gonadotropin-Stimulated Secretion of Progesterone and 17 β -Estradiol in the Human Ovary*." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 54(6): 1246-1250.

Denley, A., et al. (2004). "Structural determinants for high-affinity binding of insulin-like growth factor II to insulin receptor (IR)-A, the exon 11 minus isoform of the IR." Molecular Endocrinology 18(10): 2502-2512.

Denley, A., et al. (2003). "The insulin receptor isoform exon 11-(IR-A) in cancer and other diseases: a review." Hormone and Metabolic Research 35(11/12): 778-785.

Després, J.-P., et al. (2008). "The concept of cardiometabolic risk: Bridging the fields of diabetology and cardiology." Annals of medicine 40(7): 514-523.

Devesa, J. (1990). "Hormona de crecimiento y somatomedinas." Fisiología endocrina. Tresguerres JAF (ed). EUDEMA, Madrid.

Devesa, J., et al. (1996). "Expresion de los genes de hormona de crecimiento, variantes moleculares y acciones biológicas de estas variantes." Retrasos del crecimiento: 29.

Devesa, J., et al. (1992). "Neuroendocrine control of growth hormone secretion in humans." Trends in Endocrinology & Metabolism 3(5): 175-183.

Dezaki, K., et al. (2007). "Ghrelin Uses Gai2 and Activates Voltage-Dependent K⁺ Channels to Attenuate Glucose-Induced Ca²⁺ Signaling and Insulin Release in Islet β -Cells Novel Signal Transduction of Ghrelin." Diabetes 56(9): 2319-2327.

Dezaki, K., et al. (2008). "Ghrelin is a physiological regulator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis." Pharmacology & therapeutics 118(2): 239-249.

Dickey, R. A., et al. (1998). "AACE/ACE Position statement on the prevention, diagnosis, and treatment of obesity (1998 revision)." Endocr Pract 4(5): 297-350.

Dieguez, C. and F. F. Casanueva (1995). "Influence of metabolic substrates and obesity on growth hormone secretion." Trends in Endocrinology & Metabolism 6(2): 55-59.

Drange, M. R., et al. (2000). "Pituitary Tumor Registry: A Novel Clinical Resource 1." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(1): 168-174.

Druce, M. R., et al. (2004). "Minireview: Gut peptides regulating satiety." Endocrinology 145(6): 2660-2665.

Dumortier, O., et al. (2013). "MicroRNAs and Metabolism Crosstalk in Energy Homeostasis." Cell Metab.

Dun, S. L., et al. (2006). "Distribution and biological activity of obestatin in the rat." Journal of endocrinology 191(2): 481-489.

Durnin, J. and J. Womersley (1974). "Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years." Br J Nutr 32(1): 77-97.

Dweep, H., et al. (2011). "miRWalk–database: prediction of possible miRNA binding sites by "walking" the genes of three genomes." Journal of biomedical informatics 44(5): 839-847.

Eckardt, K., et al. (2011). "Obesity-associated insulin resistance in skeletal muscle: role of lipid accumulation and physical inactivity." Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 12(3): 163-172.

Edens, A. and F. Talamantes (1998). "Alternative processing of growth hormone receptor transcripts." Endocrine reviews 19(5): 559-582.

Egido, E. M., et al. (2009). "Effect of obestatin on insulin, glucagon and somatostatin secretion in the perfused rat pancreas." Regulatory peptides 152(1): 61-66.

Enoksson, S., et al. (1998). "Various phosphodiesterase subtypes mediate the in vivo antilipolytic effect of insulin on adipose tissue and skeletal muscle in man." Diabetologia 41(5): 560-568.

Erdmann, J., et al. (2003). "Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man." Regulatory peptides 116(1): 101-107.

Eschwege, E., et al. (1984). "Coronary heart disease mortality in relation with diabetes, blood glucose and plasma insulin levels. The Paris Prospective Study, ten years later." Hormone and metabolic research. Supplement series 15: 41-46.

Esler, W. P., et al. (2007). "Small-molecule ghrelin receptor antagonists improve glucose tolerance, suppress appetite, and promote weight loss." Endocrinology 148(11): 5175-5185.

Espelund, U., et al. (2005). "Fasting unmasks a strong inverse association between ghrelin and cortisol in serum: studies in obese and normal-weight subjects." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(2): 741-746.

Esquifino, A. I., et al. (1999). "Effect of melatonin treatment on 24-hour rhythms of serum ACTH, growth hormone, prolactin, luteinizing hormone and insulin in rats injected with Freund's adjuvant." Journal of pineal research 27(1): 15-23.

Esquifino, A. I., et al. (1999). "Twenty-four hour rhythms of hypothalamic corticotropin-releasing hormone, thyrotropin-releasing hormone, growth hormone-releasing hormone and somatostatin in rats injected with Freund's adjuvant." Neurosignals 8(3): 178-190.

Facchini, F. S., et al. (2001). "Insulin resistance as a predictor of age-related diseases." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(8): 3574-3578.

Fatemi, N., et al. (2008). "Pituitary hormonal loss and recovery after transsphenoidal adenoma removal." Neurosurgery 63(4): 709-719.

Feinle, C., et al. (2002). "Carbohydrate and satiety." Nutrition reviews 60(6): 155-169.

Fernandez-Real, J.-M., et al. (2001). "Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(3): 1154-1159.

Fernandez-Vazquez, G., et al. (1995). "Corticosterone modulates growth hormone-releasing factor and somatostatin in fetal rat hypothalamic cultures." Neuroendocrinology 61(1): 31-35.

Ferrannini, E. and B. Balkau (2002). "Insulin: in search of a syndrome." Diabetic medicine 19(9): 724-729.

Ferrannini, E. and A. Mari (1998). "How to measure insulin sensitivity." Journal of hypertension 16(7): 895-906.

Ferrannini, E., et al. (1996). "Insulin action and age: European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)." Diabetes 45(7): 947-953.

Ferretti, E., et al. (1999). "Evaluation of the Adequacy of Levothyroxine Replacement Therapy in Patients with Central Hypothyroidism 1." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 84(3): 924-929.

Filipowicz, W., et al. (2008). "Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight?" Nat Rev Genet 9(2): 102-114.

Fineberg, S. K., et al. (2009). "MicroRNAs potentiate neural development." Neuron 64(3): 303-309.

Finzi, G., et al. (1990). "Myxedematous coma due to transitory secondary hypothyroidism. Description of a case." Annali italiani di medicina interna: organo ufficiale della Societa italiana di medicina interna 6(2): 248-250.

Fishman, M. A. and G. T. Peake (1970). "Paradoxical growth in a patient with the diencephalic syndrome." Pediatrics 45(6): 973-982.

Flowers, E., et al. (2013). "MicroRNA regulation of lipid metabolism." Metabolism 62(1): 12-20.

Formiguera, X. (1998). "Aspectos generales del tratamiento de la obesidad." Obesidad. Foz M, Formiguera Sala X. Ediciones Harcourt Brace de España. Madrid: 121-129.

Franco, C., et al. (2007). "Growth hormone reduces inflammation in postmenopausal women with abdominal obesity: a 12-month, randomized, placebo-controlled trial." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 92(7): 2644-2647.

Frawley, L. S., et al. (1985). "Identification by plaque assays of a pituitary cell type that secretes both growth hormone and prolactin." Endocrinology 116(2): 734-737.

Friedman, J. M. and P. A. Jones (2009). "MicroRNAs: critical mediators of differentiation, development and disease." Swiss Med Wkly 139(33-34): 466-472.

Frost, R. J. and E. N. Olson (2011). "Control of glucose homeostasis and insulin sensitivity by the Let-7 family of microRNAs." Proceedings of the National Academy of Sciences 108(52): 21075-21080.

Frühbeck, G., et al. (2001). "The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 280(6): E827-E847.

Gahete, M. D., et al. (2011). "A novel human ghrelin variant (In1-ghrelin) and ghrelin-O-acyltransferase are overexpressed in breast cancer: potential pathophysiological relevance." PLoS ONE 6(8): e23302.

Gamse, R., et al. (1980). "Release of immunoreactive somatostatin from hypothalamic cells in culture: inhibition by gamma-aminobutyric acid." Proceedings of the National Academy of Sciences 77(9): 5552-5556.

Ganzetti, I., et al. (1986). "Effect of hypophysectomy and growth hormone replacement on hypothalamic GHRH." Peptides 7(6): 1011-1014.

Garcia-Segura, L. M., et al. (1991). "Localization of insulin-like growth factor I (IGF-I)-like immunoreactivity in the developing and adult rat brain." Brain research 560(1): 167-174.

Garin, M. C., et al. (2013). "The human experience with ghrelin administration." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98(5): 1826-1837.

Gauna, C., et al. (2005). "Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(2): 1055-1060.

Gaytan, F., et al. (2004). "Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(1): 400-409.

Gaytan, F., et al. (2013). "Distinct expression patterns predict differential roles of the miRNA-binding proteins, Lin28 and Lin28b, in the mouse testis: studies during postnatal development and in a model of hypogonadotropic hypogonadism." Endocrinology 154(3): 1321-1336.

Ge, Q., et al. (2014). "microRNAs as a New Mechanism Regulating Adipose Tissue Inflammation in Obesity and as a Novel Therapeutic Strategy in the Metabolic Syndrome." Journal of immunology research 2014.

Gerich, J. E. (1993). "Control of glycaemia." Bailliere's clinical endocrinology and metabolism 7(3): 551-586.

Germain, N., et al. (2007). "Constitutional thinness and lean anorexia nervosa display opposite concentrations of peptide YY, glucagon-like peptide 1, ghrelin, and leptin." The American journal of clinical nutrition 85(4): 967-971.

Gibbons, C., et al. (2013). "Comparison of Postprandial Profiles of Ghrelin, Active GLP-1, and Total PYY to Meals Varying in Fat and Carbohydrate and Their Association With Hunger and the Phases of Satiety." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98(5): E847-E855.

Giordano, R., et al. (2004). "Somatopause reflects age-related changes in the neural control of GH/IGF-I axis." Journal of endocrinological investigation 28(3 Suppl): 94-98.

Giustina, A., et al. (1995). "Cardiopulmonary performance during exercise in acromegaly, and the effects of acute suppression of growth hormone hypersecretion with octreotide." The American journal of cardiology 75(15): 1042-1047.

Giustina, A., et al. (1994). "Reciprocal relationship between the level of circulating cortisol and growth hormone secretion in response to growth hormone-releasing hormone in man: studies in patients with adrenal insufficiency." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 79(5): 1266-1272.

Giustina, A. and J. D. Veldhuis (1998). "Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human." Endocrine reviews 19(6): 717-797.

Gómez-Pan, A. and M. D. Rodríguez-Aranao (1983). "1-Somatostatin and growth hormone releasing factor: Synthesis, location, metabolism and function." Clinics in endocrinology and metabolism 12(3): 469-507.

Gómez, R., et al. (2009). "Novel factors as therapeutic targets to treat diabetes. Focus on leptin and ghrelin."

González, C. A., et al. (2000). "Factores asociados a la acumulación de grasa abdominal estimada mediante índices antropométricos." Med Clin (Barc) 114(11): 401-406.

González, C. R., et al. (2008). "Influence of chronic undernutrition and leptin on GOAT mRNA levels in rat stomach mucosa." Journal of molecular endocrinology 41(6): 415-421.

Goodlad, R., et al. (1987). "Proliferative effects of fibre on the intestinal epithelium: relationship to gastrin, enteroglucagon and PYY." Gut 28(Suppl): 221-226.

Gouni-Berthold, I., et al. (2013). "Effects of lipid-lowering drugs on irisin in human subjects in vivo and in human skeletal muscle cells ex vivo." PLoS ONE 8(9): e72858.

Granata, R., et al. (2010). "Unraveling the role of the ghrelin gene peptides in the endocrine pancreas." Journal of molecular endocrinology 45(3): 107-118.

Granata, R., et al. (2011). "Cardiovascular actions of the ghrelin gene-derived peptides and growth hormone-releasing hormone." Experimental Biology and Medicine 236(5): 505-514.

Granata, R., et al. (2012). "Des-acyl ghrelin fragments and analogues promote survival of pancreatic β -cells and human pancreatic islets and prevent diabetes in streptozotocin-treated rats." Journal of medicinal chemistry 55(6): 2585-2596.

Granata, R., et al. (2010). "Unacylated ghrelin and obestatin increase islet cell mass and prevent diabetes in streptozotocin-treated newborn rats." Journal of molecular endocrinology 45(1): 9-17.

Grandt, D., et al. (1994). "Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1-36 and PYY 3-36." Regulatory peptides 51(2): 151-159.

Grandt, D., et al. (1994). "Characterization of two forms of peptide YY, PYY (1-36) and PYY (3-36), in the rabbit." Peptides 15(5): 815-820.

Gratas-Delamarche, A., et al. (2014). "Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammatory loop." Free radical research 48(1): 93-108.

Greenman, Y., et al. (2004). "Ghrelin secretion is modulated in a nutrient-and gender-specific manner." Clinical endocrinology 60(3): 382-388.

Grottoli, S., et al. (1997). "In Obesity, Glucose Load Loses Its Early Inhibitory, But Maintains Its Late Stimulatory, Effect on Somatotrope Secretion 1." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 82(7): 2261-2265.

Gualillo, O., et al. (2002). "Effect of food restriction on ghrelin in normal-cycling female rats and in pregnancy." Obesity research 10(7): 682-687.

Gualillo, O., et al. (2008). "Introducing GOAT: a target for obesity and anti-diabetic drugs?" Trends in pharmacological sciences 29(8): 398-401.

Guay, C., et al. (2011). "Diabetes mellitus, a microRNA-related disease?" Translational Research 157(4): 253-264.

Guillemin, R., et al. (1982). "Growth hormone-releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly." Science 218(4572): 585-587.

Gunaratne, P. H. (2009). "Embryonic stem cell microRNAs: defining factors in induced pluripotent (iPS) and cancer (CSC) stem cells?" Curr Stem Cell Res Ther 4(3): 168-177.

Guo, Y., et al. (2006). "Physiological evidence for the involvement of peptide YY in the regulation of energy homeostasis in humans." Obesity 14(9): 1562-1570.

Gutiérrez-Fisac, J. L., et al. (2005). "Prevalencia de obesidad en la población adulta española: 14 años de incremento continuado." Medicina clínica 124(5): 196-197.

Gutierrez, J. A., et al. (2008). "Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase." Proceedings of the National Academy of Sciences 105(17): 6320-6325.

Gutt, M., et al. (2000). "Validation of the insulin sensitivity index (ISI_{0,120}): comparison with other measures." Diabetes research and clinical practice 47(3): 177-184.

Guyenet, S. J. and M. W. Schwartz (2012). "Regulation of food intake, energy balance, and body fat mass: implications for the pathogenesis and treatment of obesity." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 97(3): 745-755.

Haffner, S. M., et al. (1996). "A prospective analysis of the HOMA model: the Mexico City Diabetes Study." Diabetes care 19(10): 1138-1141.

Hall, R., et al. (1973). "Action of growth-hormone-release inhibitory hormone in healthy men and in acromegaly." The Lancet 302(7829): 581-584.

Han, T., et al. (1995). "Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample." Bmj 311(7017): 1401-1405.

Handschin, C. and B. M. Spiegelman (2008). "The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease." Nature 454(7203): 463-469.

Hartford, J. T. and H. B. Bosmann (1987). "Growth hormone response to edrophonium in Alzheimer's disease." Am J Psychiatry 144: 1049-1052.

Haslam, D. and W. James "Obesity Lancet. 2005; 366: 1197-209." CrossRef, PubMed, Web of Science® Times Cited 782.

Haslam, D., et al. (2006). "Obesity—time to wake up." Bmj 333(7569): 640-642.

Hasuwa, H., et al. (2013). "MiR-200b and miR-429 Function in Mouse Ovulation and Are Essential for Female Fertility." Science.

Havel, P. J. (1997). "Glucose but not fructose infusion increases circulating leptin in proportion to adipose stores in rhesus monkeys." Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes 105(S 03): 37-38.

Havel, P. J., et al. (1996). "Gender differences in plasma leptin concentrations." Nature medicine 2(9): 949-950.

Havel, P. J., et al. (1999). "High-fat meals reduce 24-h circulating leptin concentrations in women." Diabetes 48(2): 334-341.

Hedo, J. A., et al. (1983). "Biosynthesis and glycosylation of the insulin receptor. Evidence for a single polypeptide precursor of the two major subunits." Journal of Biological Chemistry 258(16): 10020-10026.

Hee Park, K., et al. (2013). "Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98(12): 4899-4907.

Heneghan, H., et al. (2010). "Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome." Obesity reviews 11(5): 354-361.

Heneghan, H. M., et al. (2010). "Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome." Obes Rev 11(5): 354-361.

Hernández-Sánchez, C., et al. (2008). "Evolution of the insulin receptor family and receptor isoform expression in vertebrates." Molecular biology and evolution 25(6): 1043-1053.

Herrington, J. and C. Carter-Su (2001). "Signaling pathways activated by the growth hormone receptor." Trends in Endocrinology & Metabolism 12(6): 252-257.

Herzer, S., et al. (2012). "Locked Nucleic Acid-Based In Situ Hybridisation Reveals miR-7a as a Hypothalamus-Enriched MicroRNA with a Distinct Expression Pattern." Journal of neuroendocrinology 24(12): 1492-1504.

Hilton, C., et al. (2012). "MicroRNAs in adipose tissue: their role in adipogenesis and obesity." Int J Obes (Lond).

Hill, J. O. (2006). "Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective." Endocrine reviews 27(7): 750-761.

Himsworth, H. (1936). "Diabetes mellitus: its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types." The Lancet 227(5864): 127-130.

Hinney, A., et al. (2002). "Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 87(6): 2716-2716.

Ho, Y., et al. (2004). "Activation of the human GH gene cluster: roles for targeted chromatin modification." Trends in Endocrinology & Metabolism 15(1): 40-45.

Hofmann, K. (2000). "A superfamily of membrane-bound O-acyltransferases with implications for wnt signaling." Trends in biochemical sciences 25(3): 111-112.

Højlund, K. and P. Boström (2012). "Irisin in obesity and type 2 diabetes." Journal of Diabetes and its Complications 27(4): 303-304.

Holdaway, I. M., et al. (2004). "Factors influencing mortality in acromegaly." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(2): 667-674.

Holdstock, C., et al. (2003). "Ghrelin and adipose tissue regulatory peptides: effect of gastric bypass surgery in obese humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(7): 3177-3183.

Holl, R. W., et al. (1991). "Thirty-second sampling of plasma growth hormone in man: correlation with sleep stages." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 72(4): 854-861.

Hosoda, H., et al. (2004). "Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples." Clinical Chemistry 50(6): 1077-1080.

Hosoda, H., et al. (2000). "Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue." Biochemical and biophysical research communications 279(3): 909-913.

Hosoda, H., et al. (2003). "Structural Divergence of Human Ghrelin Identification Of Multiple Ghrelin-Derived Molecules Produced By Post-Translational Processing." Journal of Biological Chemistry 278(1): 64-70.

Hotamisligil, G. S., et al. (1996). "IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α -and obesity-induced insulin resistance." Science 271(5249): 665-670.

Howard, A. D., et al. (1996). "A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release." Science 273(5277): 974-977.

Hrebicek, J., et al. (2002). "Detection of insulin resistance by simple quantitative insulin sensitivity check index QUICKI for epidemiological assessment and prevention." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 87(1): 144-144.

Huang, L., et al. (2012). "The decline in pulsatile GH secretion throughout early adulthood in mice is exacerbated by dietary-induced weight gain." Endocrinology 153(9): 4380-4388.

Hubbard, V. S. (2000). "Defining overweight and obesity: what are the issues?" The American journal of clinical nutrition 72(5): 1067-1068.

Huh, J. Y., et al. (2012). "FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise." Metabolism 61(12): 1725-1738.

I Briggs, D. and Z. B Andrews (2011). "A recent update on the role of ghrelin in glucose homeostasis." Current diabetes reviews 7(3): 201-207.

Iglesia, R., et al. (2014). "Plasma irisin depletion under energy restriction is associated with improvements in lipid profile in metabolic syndrome patients." Clinical endocrinology.

Inhoff, T., et al. (2008). "Desacyl ghrelin inhibits the orexigenic effect of peripherally injected ghrelin in rats." Peptides 29(12): 2159-2168.

Inhoff, T., et al. (2009). "Is desacyl ghrelin a modulator of food intake?" Peptides 30(5): 991-994.

Irako, T., et al. (2006). "Ghrelin prevents development of diabetes at adult age in streptozotocin-treated newborn rats." Diabetologia 49(6): 1264-1273.

Iranmanesh, A., et al. (2012). "Distinct metabolic surrogates predict basal and rebound GH secretion after glucose ingestion in men." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 97(6): 2172-2179.

Iranmanesh, A., et al. (1991). "Age and relative adiposity are specific negative determinants of the frequency and amplitude of growth hormone (GH) secretory bursts and the half-life of endogenous GH in healthy men." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 73(5): 1081-1088.

Ishibashi, J. and P. Seale (2010). "Beige can be slimming." Science (New York, NY) 328(5982): 1113.

Isidori, A. M., et al. (2000). "Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(5): 1954-1962.

Isidro, M. L., et al. (2005). "Acromegaly due to a growth hormone-releasing hormone-secreting intracranial gangliocytoma." Journal of endocrinological investigation 28(4): 162-165.

Jackson, A. S. and M. L. Pollock (1978). "Generalized equations for predicting body density of men." British journal of nutrition 40(03): 497-504.

Jackson, A. S., et al. (1979). "Generalized equations for predicting body density of women." Medicine and science in sports and exercise 12(3): 175-181.

Jenab, M., et al. (2007). "Serum C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and risk of colon and rectal cancers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition." International journal of cancer 121(2): 368-376.

Jeon, T. I., et al. (2013). "An SREBP-Responsive microRNA Operon Contributes to a Regulatory Loop for Intracellular Lipid Homeostasis." Cell Metab 18(1): 51-61.

John, B., et al. (2004). "Human microRNA targets." PLoS biology 2(11): e363.

Jones, C. N., et al. (2000). "Roles of insulin resistance and obesity in regulation of plasma insulin concentrations." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 278(3): E501-E508.

Jordan, S. D., et al. (2011). "Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism." Nature Cell Biology 13(4): 434-446.

Kaaks, R., et al. (2000). "Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women." Journal of the National Cancer Institute 92(19): 1592-1600.

Kabayama, Y., et al. (1986). "Stimulation by alpha-adrenergic mechanisms of the secretion of growth hormone-releasing factor (GRF) from perfused rat hypothalamus." Endocrinology 119(1): 432-434.

Kagawa, Y., et al. (2002). "Single nucleotide polymorphisms of thrifty genes for energy metabolism: evolutionary origins and prospects for intervention to prevent obesity-related diseases." Biochemical and biophysical research communications 295(2): 207-222.

Kahn, B. B. (1996). "Glucose transport: pivotal step in insulin action." Diabetes 45(11): 1644-1654.

Kahn, S. E., et al. (2006). "Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes." Nature 444(7121): 840-846.

Kaiser, G. G., et al. (2001). "Effects of growth hormone on female reproductive organs." Anatomia, histologia, embryologia 30(5): 265-271.

Kalavalapalli, S., et al. (2007). "Silent growth hormone secreting pituitary adenomas: IGF-1 is not sufficient to exclude growth hormone excess." Annals of clinical biochemistry 44(1): 89-93.

Kanaley, J., et al. (1999). "Obesity attenuates the growth hormone response to exercise." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 84(9): 3156-3161.

Karavitaki, N., et al. (2005). "Craniopharyngiomas in children and adults: systematic analysis of 121 cases with long-term follow-up." Clinical endocrinology 62(4): 397-409.

Karlsson, H. K. and J. R. Zierath (2007). "Insulin signaling and glucose transport in insulin resistant human skeletal muscle." Cell biochemistry and biophysics 48(2-3): 103-113.

Karra, E. and R. L. Batterham (2010). "The role of gut hormones in the regulation of body weight and energy homeostasis." Molecular and cellular endocrinology 316(2): 120-128.

Katakami, H., et al. (1985). "Hypothalamic somatostatin mediates the suppression of growth hormone secretion by centrally administered thyrotropin-releasing hormone in conscious rats." Endocrinology 117(3): 1139-1144.

Katz, A., et al. (2000). "Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(7): 2402-2410.

Kawahara, H., et al. (2012). "MicroRNAs in neural stem cells and neurogenesis." Frontiers in neuroscience 6.

Kelijman, M. and L. A. Frohman (1988). "Enhanced growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone after dietary manipulation in obese and nonobese subjects." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 66(3): 489-494.

Kelly, D. P. (2012). "Irisin, light my fire." Science 336(6077): 42-43.

Kelly, P. A., et al. (1991). "The prolactin/growth hormone receptor family." Endocrine reviews 12(3): 235-251.

Kim, B.-J., et al. (2005). "Peptide YY is secreted after oral glucose administration in a gender-specific manner." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(12): 6665-6671.

Kim, M. S., et al. (2004). "The mitogenic and antiapoptotic actions of ghrelin in 3T3-L1 adipocytes." Molecular Endocrinology 18(9): 2291-2301.

Kim, S. H., et al. (2004). "Impact of degree of obesity on surrogate estimates of insulin resistance." Diabetes care 27(8): 1998-2002.

Kim, S. H. and G. M. Reaven (2008). "Insulin Resistance and Hyperinsulinemia You can't have one without the other." Diabetes care 31(7): 1433-1438.

Kineman, R. D., et al. (2007). "Identification of a mouse ghrelin gene transcript that contains intron 2 and is regulated in the pituitary and hypothalamus in response to metabolic stress." Journal of molecular endocrinology 38(5): 511-521.

King, J. A., et al. (2011). "Differential acylated ghrelin, Peptide YY3-36, appetite, and food intake responses to equivalent energy deficits created by exercise and food restriction." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 96(4): 1114-1121.

Kirwan, J. P., et al. (2001). "Clinically Useful Estimates of Insulin Sensitivity During Pregnancy Validation studies in women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus." Diabetes care 24(9): 1602-1607.

Klok, M., et al. (2007). "The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review." Obesity reviews 8(1): 21-34.

Kloosterman, W. P. and R. H. Plasterk (2006). "The diverse functions of microRNAs in animal development and disease." Developmental cell 11(4): 441-450.

Klöting, N., et al. (2009). "MicroRNA expression in human omental and subcutaneous adipose tissue." PLoS ONE 4(3): e4699.

Knudsen, S. H., et al. (2014). "Hyperglycemia abolishes meal-induced satiety by a dysregulation of ghrelin and peptide YY3-36 in healthy overweight/obese humans." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 306(2): E225-E231.

Koch, L., et al. (2008). "Central insulin action regulates peripheral glucose and fat metabolism in mice." The journal of clinical investigation 118(6): 2132-2147.

Kojima, M., et al. (1999). "Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach." Nature 402(6762): 656-660.

Kojima, M. and K. Kangawa (2005). "Ghrelin: structure and function." Physiological reviews 85(2): 495-522.

Kojima, M. and K. Kangawa (2010). "Ghrelin: more than endogenous growth hormone secretagogue." Annals of the New York Academy of Sciences 1200(1): 140-148.

Kopchick, J. J. and J. M. Andry (2000). "Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction." Molecular genetics and metabolism 71(1): 293-314.

Korner, J., et al. (2005). "Effects of Roux-en-Y gastric bypass surgery on fasting and postprandial concentrations of plasma ghrelin, peptide YY, and insulin." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(1): 359-365.

Korner, J., et al. (2009). "Prospective study of gut hormone and metabolic changes after adjustable gastric banding and Roux-en-Y gastric bypass." International Journal of Obesity 33(7): 786-795.

Kornfeld, J.-W. and J. C. Brüning (2012). "MyomiRs-133a/b turn off the heat." Nature Cell Biology 14(12): 1248-1249.

Kornfeld, J. W., et al. (2013). "Obesity-induced overexpression of miR-802 impairs glucose metabolism through silencing of Hnf1b." Nature 494(7435): 111-115.

Koutkia, P., et al. (2005). "Reciprocal changes in endogenous ghrelin and growth hormone during fasting in healthy women." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 289(5): E814-E822.

Krek, A., et al. (2005). "Combinatorial microRNA target predictions." Nature genetics 37(5): 495-500.

Krichevsky, A. M., et al. (2003). "A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development." Rna 9(10): 1274-1281.

Lamberts, S. W. (1988). "The role of somatostatin in the regulation of anterior pituitary hormone secretion and the use of its analogs in the treatment of human pituitary tumors." Endocrine reviews 9(4): 417-436.

Lane, M. D., et al. (1984). "Posttranslational processing of the insulin proreceptor." Current topics in cellular regulation 27: 279-292.

Lang, M.-F. and Y. Shi (2012). "Dynamic roles of microRNAs in neurogenesis." Frontiers in neuroscience 6.

Lansang, M. C., et al. (2001). "Correlation between the glucose clamp technique and the homeostasis model assessment in hypertension*." American journal of hypertension 14(1): 51-53.

Lanzi, R., et al. (1997). "Evidence for an inhibitory effect of physiological levels of insulin on the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in healthy subjects." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 82(7): 2239-2243.

Lawrence, C. B., et al. (2002). "Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers." Endocrinology 143(1): 155-162.

Le Roux, C., et al. (2006). "Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety." Endocrinology 147(1): 3-8.

Le Roux, C., et al. (2005). "Ghrelin does not stimulate food intake in patients with surgical procedures involving vagotomy." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(8): 4521-4524.

le Roux, C. W., et al. (2006). "Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters." Annals of surgery 243(1): 108.

le Roux, C. W., et al. (2007). "Gut hormones as mediators of appetite and weight loss after Roux-en-Y gastric bypass." Annals of surgery 246(5): 780-785.

Leal-Cerro, A., et al. (2002). "Effect of withdrawal of somatostatin plus growth hormone (GH)-releasing hormone as a stimulus of GH secretion in Cushing's syndrome." Clinical endocrinology 57(6): 745-749.

Lee, J., et al. (1997). "Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes." International Journal of Obesity 21(10): 935-940.

Lewis, B. P., et al. (2003). "Prediction of mammalian microRNA targets." Cell 115(7): 787-798.

Lichanska, A. and M. Waters (2008). "New insights into growth hormone receptor function and clinical implications." Hormone Research in Paediatrics 69(3): 138-145.

Lim, C. T., et al. (2011). "The ghrelin/GOAT/GHS-R system and energy metabolism." Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 12(3): 173-186.

Liposits, Z., et al. (1988). "Synaptic communication between somatostatinergic axons and growth hormone-releasing factor (GRF) synthesizing neurons in the arcuate nucleus of the rat." Histochemistry 89(3): 247-252.

Liu, C. and X. Zhao (2009). "MicroRNAs in adult and embryonic neurogenesis." Neuromolecular medicine 11(3): 141-152.

Liu, J.-J., et al. (2013). "Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus." Journal of Diabetes and its Complications 27(4): 365-369.

Liu, J., et al. (2008). "Novel ghrelin assays provide evidence for independent regulation of ghrelin acylation and secretion in healthy young men." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 93(5): 1980-1987.

Liu, M. and F. Liu (2010). "Transcriptional and post-translational regulation of adiponectin." Biochem. J 425: 41-52.

Lizcano, J. M. and D. R. Alessi (2002). "The insulin signalling pathway." Current Biology 12(7): R236-R238.

Loche, S., et al. (1989). "Pyridostigmine counteracts the blunted growth hormone response to growth hormone-releasing hormone of obese children." Acta endocrinologica 120(5): 624-628.

Lohman, T., et al. (1988). Anthropometric standardization reference manual. Champaign, IL: Human Kinetics, Inc.

Lopez-Legarrea, P., et al. (2014). "Higher baseline irisin concentrations are associated with greater reductions in glycemia and insulinemia after weight loss in obese subjects." Nutrition & diabetes 4(2): e110.

Lugo, G., et al. (2012). "Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly." International journal of endocrinology 2012.

Luque, R. M., et al. (2006). "Examination of the direct effects of metabolic factors on somatotrope function in a non-human primate model, *Papio anubis*." Journal of molecular endocrinology 37(1): 25-38.

Maachi, M., et al. (2004). "Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF α , leptin and IL-6 levels in obese women." International Journal of Obesity 28(8): 993-997.

Maccario, M., et al. (1996). "Effects of acipimox, an antilipolytic drug, on the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone alone or combined with arginine in obesity." Metabolism 45(3): 342-346.

Maccario, M., et al. (2001). "Effects of recombinant human insulin-like growth factor I administration on the growth hormone (gh) response to GH-releasing hormone in obesity." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(1): 167-171.

Maeda, K. and L. A. Frohman (1980). "Release of somatostatin and thyrotropin-releasing hormone from rat hypothalamic fragments in vitro." Endocrinology 106(6): 1837-1842.

Malin, S., et al. (2013). "Improved acylated ghrelin suppression at 2 years in obese patients with type 2 diabetes: effects of bariatric surgery vs standard medical therapy." International Journal of Obesity 38(3): 364-370.

Mandarino, L. J., et al. (1995). "Regulation of hexokinase II and glycogen synthase mRNA, protein, and activity in human muscle." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 269(4): E701-E708.

Maragkakis, M., et al. (2009). "DIANA-microT web server: elucidating microRNA functions through target prediction." Nucleic acids research: gkp292.

Mari, A., et al. (2001). "A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test." Diabetes care 24(3): 539-548.

Markussis, V., et al. (1992). "Detection of premature atherosclerosis by high-resolution ultrasonography in symptom-free hypopituitary adults." The Lancet 340(8829): 1188-1192.

Martí, A., et al. (2004). "Genética de la obesidad en humanos: rumbos de investigación." Revista Española de Obesidad 2(6): 351-362.

Martinez-Gonzalez, M., et al. (1999). "Physical inactivity, sedentary lifestyle and obesity in the European Union." International Journal of Obesity 23(11): 1192-1201.

Massara, F., et al. (1986). "Potentiation of cholinergic tone by pyridostigmine bromide re-instates and potentiates the growth hormone responsiveness to intermittent administration of growth hormone-releasing factor in man." Acta endocrinologica 113(1): 12-16.

Masuda, Y., et al. (2000). "Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats." Biochemical and biophysical research communications 276(3): 905-908.

Matsuda, M. and R. A. DeFronzo (1999). "Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp." Diabetes care 22(9): 1462-1470.

Matsuzawa, Y., et al. (2004). "Adiponectin and metabolic syndrome." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 24(1): 29-33.

Matthews, D., et al. (1985). "Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man." Diabetologia 28(7): 412-419.

Mayo, K. E., et al. (1994). "Growth hormone-releasing hormone: synthesis and signaling." Recent progress in hormone research 50: 35-73.

McClain, D. A. (1991). "Different ligand affinities of the two human insulin receptor splice variants are reflected in parallel changes in sensitivity for insulin action." Molecular Endocrinology 5(5): 734-739.

McCowen, K., et al. (2002). "Circulating ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents." Journal of endocrinology 175(2): R7-11.

McGauley, G. (1989). "Quality of life assessment before and after growth hormone treatment in adults with growth hormone deficiency." Acta Paediatrica 78(s356): 70-72.

McGregor, R. and M. Choi (2011). "microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity." Current molecular medicine 11(4): 304.

McLaughlin, T., et al. (2004). "Plasma ghrelin concentrations are decreased in insulin-resistant obese adults relative to equally obese insulin-sensitive controls." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(4): 1630-1635.

Mehta, A., et al. (2003). "Is the thyrotropin-releasing hormone test necessary in the diagnosis of central hypothyroidism in children." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(12): 5696-5703.

Mekala, K. C. and N. A. Tritos (2009). "Effects of recombinant human growth hormone therapy in obesity in adults: a metaanalysis." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 94(1): 130-137.

Melmed, S. (1990). "Acromegaly." New England Journal of Medicine 322(14): 966-977.

Melmed, S. (2009). "Acromegaly pathogenesis and treatment." The journal of clinical investigation 119(11): 3189.

Merola, B., et al. (1993). "Cardiac structural and functional abnormalities in adult patients with growth hormone deficiency." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 77(6): 1658-1661.

Milanski, M., et al. (2012). "Inhibition of hypothalamic inflammation reverses diet-induced insulin resistance in the liver." Diabetes 61(6): 1455-1462.

Misra, M., et al. (2005). "Secretory dynamics of ghrelin in adolescent girls with anorexia nervosa and healthy adolescents." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 289(2): E347-E356.

Misra, M., et al. (2006). "Elevated peptide YY levels in adolescent girls with anorexia nervosa." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 91(3): 1027-1033.

Mittelman, S. D., et al. (2010). "Obese Adolescents Show Impaired Meal Responses of the Appetite-Regulating Hormones Ghrelin and PYY." Obesity 18(5): 918-925.

Mohammadzadeh, G. and N. Zarghami (2013). "Serum leptin level is reduced in non-obese subjects with type 2 diabetes." International Journal of Endocrinology and Metabolism 11(1): 3.

- Mol, J. A., et al. (1995). "Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats." Journal of Clinical Investigation 95(5): 2028.
- Monckeberg, F. (2011). "Las complejas funciones del tejido graso." Rev Chil Nutr 38: 1064-1072.
- Montague, C. T., et al. (1997). "Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans." Nature 387(6636): 903-908.
- Montague, C. T. and S. O'Rahilly (2000). "The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity." Diabetes 49(6): 883-888.
- Moore, K., et al. (2003). "Disorders of water balance." Clinical medicine 3(1): 28-33.
- Moran, A., et al. (1999). "Insulin resistance during puberty: results from clamp studies in 357 children." Diabetes 48(10): 2039-2044.
- Moran, T. H., et al. (2005). "Peptide YY (3–36) inhibits gastric emptying and produces acute reductions in food intake in rhesus monkeys." American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 288(2): R384-R388.
- Moreno-Navarrete, J. M., et al. (2013). "Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98(4): E769-E778.
- Morikawa, M., et al. (1982). "Growth hormone and the adipose conversion of 3T3 cells." Cell 29(3): 783-789.
- Morton, G., et al. (2006). "Central nervous system control of food intake and body weight." Nature 443(7109): 289-295.
- Müller, E. E., et al. (1999). "Neuroendocrine control of growth hormone secretion." Physiological reviews 79(2): 511-607.
- Muoio, D. M. and T. R. Koves (2007). "Skeletal muscle adaptation to fatty acid depends on coordinated actions of the PPARs and PGC1 α : implications for metabolic disease." Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism 32(5): 874-883.
- Murase, T., et al. (1973). "A survival case of myxedema coma of pituitary origin." Endocrinologia japonica 20(3): 331-334.

Nakagawa, K., et al. (1987). "Dichotomic action of glucocorticoids on growth hormone secretion." Acta endocrinologica 116(2): 165-171.

Nakamura, S., et al. (2009). "Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria." Journal of Biological Chemistry 284(22): 14809-14818.

Nam, S. Y., et al. (1996). "Long-term administration of acipimox potentiates growth hormone response to growth hormone-releasing hormone by decreasing serum free fatty acid in obesity." Metabolism 45(5): 594-597.

Naruse, S., et al. (2002). "Feedback regulation of pancreatic secretion by peptide YY." Peptides 23(2): 359-365.

Nass, R., et al. (2013). "Age-dependent decline in acyl-ghrelin concentrations and reduced association of acyl-ghrelin and growth hormone in healthy older adults." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 99(2): 602-608.

Nass, R., et al. (2008). "Evidence for acyl-ghrelin modulation of growth hormone release in the fed state." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 93(5): 1988-1994.

Nedvídková, J., et al. (2003). "Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(4): 1678-1682.

Negro-Vilar, A., et al. (1979). "Evidence for noradrenergic involvement in episodic prolactin and growth hormone release in ovariectomized rats." Endocrinology 105(1): 86-91.

Neill, J. D. and L. S. Frawley (1983). "Detection of hormone release from individual cells in mixed populations using a reverse hemolytic plaque assay." Endocrinology 112(3): 1135-1137.

Newman, C. B. and D. L. Kleinberg (1998). "Adult growth hormone deficiency." The Endocrinologist 8(3): 178-186.

Nicholls, R. D. and J. L. Knepper (2001). "Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes." Annual review of genomics and human genetics 2(1): 153-175.

Nigro, A., et al. (2012). "MiR-30e and miR-181d control radial glia cell proliferation via HtrA1 modulation." Cell death & disease 3(8): e360.

Niiijima, A. and M. M. Meguid (1995). "An Electrophysiological Study on Amino Acid Sensors in the Hepato-Portal System in the Rat." Obesity research 3(S5): 741S-745S.

Nishi, Y., et al. (2005). "Ingested medium-chain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin." Endocrinology 146(5): 2255-2264.

Nogueiras, R., et al. (2010). "Ghrelin: new molecular pathways modulating appetite and adiposity." Obesity facts 3(5): 285-292.

O'Callaghan, T. (2012). Hormone can mimic effects of a good workout, REED BUSINESS INFORMATION LTD QUADRANT HOUSE THE QUADRANT, SUTTON SM2 5AS, SURREY, ENGLAND.

O'Neill, L. A., et al. (2011). "MicroRNAs: the fine-tuners of Toll-like receptor signalling." Nature Reviews Immunology 11(3): 163-175.

O'Rahilly, S. and I. S. Farooqi (2006). "Genetics of obesity." Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 361(1471): 1095-1105.

O'Carroll, D., et al. (2007). "A Slicer-independent role for Argonaute 2 in hematopoiesis and the microRNA pathway." Genes & development 21(16): 1999-2004.

Obici, S., et al. (2002). "Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats." Nature neuroscience 5(6): 566-572.

Oliveira, C. R., et al. (2012). "Insulin sensitivity and β -cell function in adults with lifetime, untreated isolated growth hormone deficiency." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 97(3): 1013-1019.

Orci, L. (1985). "The insulin factory: a tour of the plant surroundings and a visit to the assembly line." Diabetologia 28(8): 528-546.

Orci, L., et al. (1985). "Clathrin-immunoreactive sites in the Golgi apparatus are concentrated at the trans pole in polypeptide hormone-secreting cells." Proceedings of the National Academy of Sciences 82(16): 5385-5389.

Orci, L., et al. (1984). "Insulin, not C-peptide (proinsulin), is present in crinophagic bodies of the pancreatic B-cell." The Journal of cell biology 98(1): 222-228.

Ortega, F. J., et al. (2010). "MiRNA expression profile of human subcutaneous adipose and during adipocyte differentiation." PLoS ONE 5(2): e9022.

Ortega, R., et al. (1997). "Influencia de la cantidad y tipo de carbohidratos consumidos en la regulación del peso corporal." Revista clinica española 197(9): 635-639.

Østergård, T., et al. (2003). "Circulating ghrelin concentrations are reduced in healthy offspring of type 2 diabetic subjects, and are increased in women independent of a family history of type 2 diabetes." Diabetologia 46(1): 134-136.

Otto, B., et al. (2001). "Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa." European Journal of Endocrinology 145(5): 669-673.

Outeirino-Blanco, E., et al. (2011). "Growth hormone, ghrelin and peptide YY secretion after oral glucose administration in healthy and obese women." Hormone and Metabolic Research 43(08): 580-586.

Outeiriño-Blanco, E., et al. (2012). "Sexual Dimorphism on Growth Hormone Secretion after Oral Glucose Administration." Hormone and Metabolic Research 44(07): 533-538.

Page, K. C., et al. (2009). "Maternal and postweaning diet interaction alters hypothalamic gene expression and modulates response to a high-fat diet in male offspring." American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 297(4): R1049-R1057.

Palou, A., et al. (2004). "Nutrigenómica y obesidad." Rev Med Univ Navarra 48(2): 36-48.

Palou, A., et al. (2004). "Food safety and functional foods in the European Union: obesity as a paradigmatic example for novel food development." Nutrition reviews 62(s2): S169-S181.

Pantel, J., et al. (2009). "Recessive isolated growth hormone deficiency and mutations in the ghrelin receptor." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 94(11): 4334-4341.

Papaoannou, M. D. and S. Nef (2010). "microRNAs in the testis: building up male fertility." J Androl 31(1): 26-33.

Pardo, M., et al. (2014). "Association of Irisin with Fat Mass, Resting Energy Expenditure, and Daily Activity in Conditions of Extreme Body Mass Index." International journal of endocrinology 2014.

Parker, M. L., et al. (1962). "Studies on human growth hormone. II. The physiological disposition and metabolic fate of human growth hormone in man." Journal of Clinical Investigation 41(2): 262.

Pasarica, M., et al. (2007). "Effect of growth hormone on body composition and visceral adiposity in middle-aged men with visceral obesity." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 92(11): 4265-4270.

Patel, A., et al. (2006). "Ghrelin stimulates insulin-induced glucose uptake in adipocytes." Regulatory peptides 134(1): 17-22.

Pathania, M., et al. (2012). "miR-132 enhances dendritic morphogenesis, spine density, synaptic integration, and survival of newborn olfactory bulb neurons." PLoS ONE 7(5): e38174.

Patti, M.-E. and C. R. Kahn (1998). "The insulin receptor-a critical link in glucose homeostasis and insulin action." Journal of basic and clinical physiology and pharmacology 9(2-4): 89-110.

Patzelt, C., et al. (1978). "Detection and kinetic behavior of preproinsulin in pancreatic islets." Proceedings of the National Academy of Sciences 75(3): 1260-1264.

Pedersen, B. K. (2012). "A muscular twist on the fate of fat." New England Journal of Medicine 366(16): 1544-1545.

Pedersen, B. K., et al. (2007). "Role of myokines in exercise and metabolism." Journal of applied physiology 103(3): 1093-1098.

Pedersen, B. K. and M. A. Febbraio (2012). "Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ." Nature Reviews Endocrinology 8(8): 457-465.

Pena-Bello, L., et al. (2015). "Effect of oral glucose administration on rebound growth hormone release in normal and obese women: the role of adiposity, insulin sensitivity and ghrelin." PLoS ONE 10(3): e0121087.

Penalva, A., et al. (1990). "Effect of Enhancement of Endogenous Cholinergic Tone with Pyridostigmine on the Dose-Response Relationships of Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone-Induced GH Secretion in Normal Subjects*." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 70(2): 324-327.

Perera, R. J. and A. Ray (2007). "MicroRNAs in the search for understanding human diseases." BioDrugs 21(2): 97-104.

Perusse, L., et al. (1988). "Familial resemblance in energy intake: contribution of genetic and environmental factors." The American journal of clinical nutrition 47(4): 629-635.

Pfluger, P., et al. (2007). "Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY3-36." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 92(2): 583-588.

Pimstone, B., et al. (1975). "Disappearance of plasma growth hormone in acromegaly and protein-calorie malnutrition after somatostatin." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 40(1): 168-171.

Plotsky, P. M. and W. Vale (1985). "Patterns of growth hormone-releasing factor and somatostatin secretion into the hypophysial-portal circulation of the rat." Science 230(4724): 461-463.

Polyzos, S. A., et al. (2014). "Irisin in patients with nonalcoholic fatty liver disease." Metabolism 63(2): 207-217.

Potau, N., et al. (1997). "Pubertal changes in insulin secretion and peripheral insulin sensitivity." Hormone Research in Paediatrics 48(5): 219-226.

Pouliot, M.-C., et al. (1994). "Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women." The American journal of cardiology 73(7): 460-468.

Poy, M., et al. (2007). "microRNAs and the regulation of glucose and lipid metabolism." Diabetes, Obesity and Metabolism 9(s2): 67-73.

Poy, M. N., et al. (2009). "miR-375 maintains normal pancreatic α - and β -cell mass." Proceedings of the National Academy of Sciences 106(14): 5813-5818.

Procter, A. M., et al. (1998). "The molecular genetics of growth hormone deficiency." Human genetics 103(3): 255-272.

Qader, S. S., et al. (2008). "Proghrelin-derived peptides influence the secretion of insulin, glucagon, pancreatic polypeptide and somatostatin: a study on isolated islets from mouse and rat pancreas." Regulatory peptides 146(1): 230-237.

Radziuk, J. (2000). "Insulin Sensitivity and Its Measurement: Structural Commonalities among the Methods 1." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(12): 4426-4433.

Rajasoorya, C., et al. (1994). "Determinants of clinical outcome and survival in acromegaly." Clinical endocrinology 41(1): 95-102.

Rankinen, T., et al. (2006). "The human obesity gene map: the 2005 update." Obesity 14(4): 529-644.

Rasmussen, M., et al. (1995). "Massive weight loss restores 24-hour growth hormone release profiles and serum insulin-like growth factor-I levels in obese subjects." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 80(4): 1407-1415.

Rasmussen, M. H., et al. (2007). "Effect of Weight Loss on Free Insulin-Like Growth Factor-I in Obese Women With Hypsomatotropism." Obesity 15(4): 879-886.

Reaven, G. (2004). "The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals." Endocrinology and metabolism clinics of North America 33(2): 283-303.

Reaven, G., et al. (1993). "Plasma insulin, C-peptide, and proinsulin concentrations in obese and nonobese individuals with varying degrees of glucose tolerance." The Journal of clinical endocrinology and metabolism 76(1): 44-48.

Reaven, G. M. (1988). "Role of insulin resistance in human disease." Diabetes 37(12): 1595-1607.

Redman, L. M., et al. (2007). "Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 92(3): 865-872.

Regal, M., et al. (2001). "Prevalence and incidence of hypopituitarism in an adult Caucasian population in northwestern Spain." Clinical endocrinology 55(6): 735-740.

Reichlin, S. (1983). "Somatostatin." The New England journal of medicine 309(24): 1495.

Rice, R., et al. (1976). "Sex differences in the effects of surgical isolation of the medial basal hypothalamus on linear growth and plasma growth hormone levels in the rat." Endocrinology 98(4): 982-990.

Ring, L. E. and L. M. Zeltser (2010). "Disruption of hypothalamic leptin signaling in mice leads to early-onset obesity, but physiological adaptations in mature animals stabilize adiposity levels." The journal of clinical investigation 120(8): 2931-2941.

Rivier, J., et al. (1982). "Characterization of a growth hormone-releasing factor from a human pancreatic islet tumour."

Roberts, M. D., et al. (2013). "Elevated skeletal muscle irisin precursor FNDC5 mRNA in obese OLETF rats." Metabolism 62(8): 1052-1056.

Roca-Rivada, A., et al. (2013). "FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine." PLoS ONE 8(4): e60563.

Roden, M. (2004). "How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle." Physiology 19(3): 92-96.

Roemmler, J., et al. (2012). "Effects on metabolic variables after 12-month treatment with a new once-a-week sustained-release recombinant growth hormone (GH: LB03002) in patients with GH deficiency." Clinical endocrinology 76(1): 88-95.

Rogers, P. J. and J. E. Blundell (1994). "Reanalysis of the effects of phenylalanine, alanine, and aspartame on food intake in human subjects." Physiology & behavior 56(2): 247-250.

Rojo-Martínez, G., et al. (2004). "Patterns of insulin resistance in the general population of southeast Spain." Diabetes research and clinical practice 65(3): 247-256.

Rolls, E. (2007). "Understanding the mechanisms of food intake and obesity." Obesity reviews 8(s1): 67-72.

Rosen, T. and B.-Å. Bengtsson (1990). "Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism." The Lancet 336(8710): 285-288.

Rosen, T., et al. (1993). "Increased body fat mass and decreased extracellular fluid volume in adults with growth hormone deficiency." Clinical endocrinology 38(1): 63-71.

Rosén, T., et al. (1997). "Increased fracture frequency in adult patients with hypopituitarism and GH deficiency." European Journal of Endocrinology 137(3): 240-245.

Rosén, T., et al. (1994). "Decreased psychological well-being in adult patients with growth hormone deficiency." Clinical endocrinology 40(1): 111-116.

Roth, C. L., et al. (2005). "Peptide YY is a regulator of energy homeostasis in obese children before and after weight loss." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(12): 6386-6391.

Saad, M. F., et al. (2002). "Insulin regulates plasma ghrelin concentration." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 87(8): 3997-4000.

Saad, M. F., et al. (1998). "Physiological insulinemia acutely modulates plasma leptin." Diabetes 47(4): 544-549.

Sacca, L., et al. (1994). "Growth hormone and the heart." Endocrine reviews 15(5): 555-573.

Sacco, J. and K. Adeli (2012). "MicroRNAs: emerging roles in lipid and lipoprotein metabolism." Curr Opin Lipidol 23(3): 220-225.

Sacco, J. and K. Adeli (2012). "MicroRNAs: emerging roles in lipid and lipoprotein metabolism." Current opinion in lipidology 23(3): 220-225.

Sakata, I., et al. (2002). "Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed-and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract." Peptides 23(3): 531-536.

Salas-Salvado, J., et al. (2007). "SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria]." Medicina clínica 128(5): 184.

Salgin, B., et al. (2012). "Higher fasting plasma free fatty acid levels are associated with lower insulin secretion in children and adults and a higher incidence of type 2 diabetes." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 97(9): 3302-3309.

Salomon, F., et al. (1989). "The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency." New England Journal of Medicine 321(26): 1797-1803.

Salvador, J. and G. Frühbeck (2005). "Regulación de la ingesta alimentaria: una perspectiva clínica." Endocrinología y Nutrición 52(8): 404-430.

Salvatori, R. (2004). "Growth hormone and IGF-1." Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 5(1): 15-23.

Sanchis-Gomar, F., et al. (2014). "Inconsistency in Circulating Irisin Levels: What is Really Happening?" Hormone and Metabolic Research(EFirst).

Sanchis-Gomar, F., et al. (2014). "Circulating irisin levels are not correlated with BMI, age, and other biological parameters in obese and diabetic patients." Endocrine: 1-4.

Sanchis-Gomar, F., et al. (2012). "Irisin: a new potential hormonal target for the treatment of obesity and type 2 diabetes." Journal of diabetes 4(3): 196-196.

Sanders, E. J. and S. Harvey (2004). "Growth hormone as an early embryonic growth and differentiation factor." Anatomy and embryology 209(1): 1-9.

Sangiao-Alvarellos, S. and F. Cordido (2010). "Effect of ghrelin on glucose-insulin homeostasis: therapeutic implications." International journal of peptides 2010.

Sangiao-Alvarellos, S., et al. (2011). "Ghrelin neutralization during fasting-refeeding cycle impairs the recuperation of body weight and alters hepatic energy metabolism." Molecular and cellular endocrinology 335(2): 177-188.

Sangiao-Alvarellos, S., et al. (2013). "Changes in Hypothalamic Expression of the Lin28/let-7 System and Related MicroRNAs During Postnatal Maturation and After Experimental Manipulations of Puberty." Endocrinology 154(2): 942-955.

Sangiao-Alvarellos, S., et al. (2014). "Perturbation of Hypothalamic MicroRNA Expression Patterns in Male Rats After Metabolic Distress: Impact of Obesity and Conditions of Negative Energy Balance." Endocrinology 155(5): 1838-1850.

Sanno, N., et al. (2003). "Pathology of pituitary tumors." Neurosurgery Clinics of North America 14(1): 25-39.

Sautner, D. and W. Saeger (1991). "Invasiveness of pituitary adenomas." Pathology-Research and Practice 187(5): 632-636.

Savage, A., et al. (1987). "Effects of peptide YY (PYY) on mouth to caecum intestinal transit time and on the rate of gastric emptying in healthy volunteers." Gut 28(2): 166-170.

Savage, D. B., et al. (2007). "Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance." Physiological reviews 87(2): 507-520.

Savage, M. O., et al. (2002). "Update in growth hormone insensitivity syndrome." Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity 9(1): 21-25.

Savastano, S., et al. (2006). "Growth hormone status in morbidly obese subjects and correlation with body composition." Journal of endocrinological investigation 29(6): 536.

Schaefer, A., et al. (2010). "MicroRNAs and cancer: current state and future perspectives in urologic oncology." Urol Oncol 28(1): 4-13.

Schellekens, H., et al. (2010). "Lean mean fat reducing "ghrelin" machine: Hypothalamic ghrelin and ghrelin receptors as therapeutic targets in obesity." Neuropharmacology 58(1): 2-16.

Schiaffino, S. and C. Reggiani (2011). "Fiber types in mammalian skeletal muscles." Physiological reviews 91(4): 1447-1531.

Schneider, H. J., et al. (2007). "Hypopituitarism." The Lancet 369(9571): 1461-1470.

Schneider, H. J., et al. (2007). "Hypothalamopituitary dysfunction following traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review." Jama 298(12): 1429-1438.

Schneider, H. J., et al. (2006). "Opposite associations of age-dependent insulin-like growth factor-I standard deviation scores with nutritional state in normal weight and obese subjects." European Journal of Endocrinology 154(5): 699-706.

Schonbrunn, A. (1982). "Glucocorticoids down-regulate somatostatin receptors on pituitary cells in culture." Endocrinology 110(4): 1147-1154.

Schwartz, M. W. and G. J. Morton (2002). "Obesity: keeping hunger at bay." Nature 418(6898): 595-597.

Schwartz, M. W., et al. (2000). "Central nervous system control of food intake." Nature 404(6778): 661-671.

Seifert, H., et al. (1985). "Binding sites for growth hormone releasing factor on rat anterior pituitary cells."

Seim, I., et al. (2010). "Ghrelin gene-related peptides: Multifunctional endocrine/autocrine modulators in health and disease." Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 37(1): 125-131.

Seino, S. and G. I. Bell (1989). "Alternative splicing of human insulin receptor messenger RNA." Biochemical and biophysical research communications 159(1): 312-316.

Seoane, L. M., et al. (2007). "Sensory stimuli directly acting at the central nervous system regulate gastric ghrelin secretion. An ex vivo organ culture study." Endocrinology 148(8): 3998-4006.

Serrano Ríos, M. (2002). "Resistencia a la insulina y su implicación en múltiples factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2." Medicina clínica 119(12): 458-463.

Sesnilo, G., et al. (2000). "Effects of growth hormone administration on inflammatory and other cardiovascular risk markers in men with growth hormone deficiency. A randomized, controlled clinical trial." Annals of internal medicine 133(2): 111-122.

Shaked, I., et al. (2009). "MicroRNA-132 potentiates cholinergic anti-inflammatory signaling by targeting acetylcholinesterase." Immunity 31(6): 965-973.

Sheppard, M., et al. (1978). "Stimulation by growth hormone of somatostatin release from the rat hypothalamus in vitro." Clinical endocrinology 9(6): 583-586.

Shibasaki, T., et al. (1986). "In vitro release of growth hormone-releasing factor from rat hypothalamus: effect of insulin-like growth factor-1." Regulatory peptides 15(1): 47-53.

Shiia, T., et al. (2002). "Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 87(1): 240-244.

Shimbara, T., et al. (2004). "Central administration of ghrelin preferentially enhances fat ingestion." Neuroscience letters 369(1): 75-79.

Shoelson, S. E., et al. (2006). "Inflammation and insulin resistance." Journal of Clinical Investigation 116(7): 1793-1801.

Soffer, E., et al. (1997). "Meal-induced secretion of gastrointestinal regulatory peptides is not affected by sleep." Neurogastroenterology & Motility 9(1): 7-12.

Solomon, T. P., et al. (2008). "The effect of feeding frequency on insulin and ghrelin responses in human." British journal of nutrition 100: 810-819.

Song, L., et al. (2010). "miR-218 inhibits the invasive ability of glioma cells by direct downregulation of IKK- β ." Biochemical and biophysical research communications 402(1): 135-140.

Soonthornpun, S., et al. (2003). "Novel insulin sensitivity index derived from oral glucose tolerance test." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(3): 1019-1023.

Spiegelman, B. M. and J. S. Flier (1996). "Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture." Cell 87(3): 377-389.

Spiller, R., et al. (1984). "The ileal brake--inhibition of jejunal motility after ileal fat perfusion in man." Gut 25(4): 365-374.

Staiger, H., et al. (2013). "Common genetic variation in the human FNDC5 locus, encoding the novel muscle-derived 'browning' factor irisin, determines insulin sensitivity." PLoS ONE 8(4): e61903.

Stavrou, S. and D. L. Kleinberg (2001). "Diagnosis and management of growth hormone deficiency in adults." Endocrinology and metabolism clinics of North America 30(3): 545-563.

Stein, C. J. and G. A. Colditz (2004). "The epidemic of obesity." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(6): 2522-2525.

Steinberg, H., et al. (1994). "Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release." Journal of Clinical Investigation 94(3): 1172.

Stengel, A., et al. (2013). "Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity—correlation with body mass index." Peptides 39: 125-130.

Steyn, F., et al. (2013). "Increased adiposity and insulin correlates with the progressive suppression of pulsatile GH secretion during weight gain." Journal of endocrinology 218(2): 233-244.

Stock, S., et al. (2005). "Ghrelin, peptide YY, glucose-dependent insulintropic polypeptide, and hunger responses to a mixed meal in anorexic, obese, and control female adolescents." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(4): 2161-2168.

Strålfors, P., et al. (1984). "Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase in intact adipocytes: identification of phosphorylated sites and effects on the phosphorylation by lipolytic hormones and insulin." Proceedings of the National Academy of Sciences 81(11): 3317-3321.

Strasser-Vogel, B., et al. (1995). "Insulin-like growth factor (IGF)-I and-II and IGF-binding proteins-1,-2, and-3 in children and adolescents with diabetes mellitus: correlation with metabolic control and height attainment." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 80(4): 1207-1213.

Strasser, B. (2012). "Physical activity in obesity and metabolic syndrome." Annals of the New York Academy of Sciences.

Strobel, A., et al. (1998). "A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity." Nature genetics 18(3): 213-215.

Strobl, J. S. and M. Thomas (1994). "Human growth hormone." Pharmacological reviews 46(1): 1-34.

Stumvoll, M., et al. (2000). "Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity." Diabetes care 23(3): 295-301.

Sun, Y., et al. (2006). "Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice." Cell metabolism 3(5): 379-386.

Sun, Y., et al. (2004). "Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101(13): 4679-4684.

Suzuki, K., et al. (2009). "The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation." Endocrine journal 57(5): 359-372.

Swick, A. G., et al. (2013). "Irisin levels correlate with energy expenditure in a subgroup of humans with energy expenditure greater than predicted by fat free mass." Metabolism 62(8): 1070-1073.

Symersky, T., et al. (2005). "Effect of peptide YY on pancreatico-biliary secretion in humans." Scandinavian journal of gastroenterology 40(8): 944-949.

Takahara, J., et al. (1980). "Stimulatory effects of gamma-aminohydroxybutyric acid (GABOB) on growth hormone, prolactin and cortisol release in man." Hormone and Metabolic Research 12(01): 31-34.

Takanabe, R., et al. (2008). "Up-regulated expression of microRNA-143 in association with obesity in adipose tissue of mice fed high-fat diet." Biochemical and biophysical research communications 376(4): 728-732.

Talsania, T., et al. (2005). "Peripheral exendin-4 and peptide YY3-36 synergistically reduce food intake through different mechanisms in mice." Endocrinology 146(9): 3748-3756.

Tamaki, M., et al. (1996). "Dexamethasone Increases Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone (GRH) Receptor mRNA Levels in Cultured Rat Anterior Pituitary Cells." Journal of neuroendocrinology 8(6): 475-480.

Tannenbaum, G. S. and N. Ling (1984). "The interrelationship of growth hormone (GH)-releasing factor and somatostatin in generation of the ultradian rhythm of GH secretion." Endocrinology 115(5): 1952-1957.

Tannenbaum, G. S. and J. B. Martin (1976). "Evidence for an endogenous ultradian rhythm governing growth hormone secretion in the rat." Endocrinology 98(3): 562-570.

Tartaglia, L. A., et al. (1995). "Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R." Cell 83(7): 1263-1271.

Tatemoto, K. and V. Mutt (1980). "Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides."

Ten, S. and N. Maclaren (2004). "Insulin resistance syndrome in children." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(6): 2526-2539.

Tena-Sempere, M. (2005). "Exploring the role of ghrelin as novel regulator of gonadal function." Growth hormone & IGF research 15(2): 83-88.

Thakore, J. H. and T. G. Dinan (1994). "Growth hormone secretion: the role of glucocorticoids." Life sciences 55(14): 1083-1099.

Theill, L. E. and M. Karin (1993). "Transcriptional control of GH expression and anterior pituitary development." Endocrine reviews 14(6): 670-689.

Timmons, J. A., et al. (2012). "Is irisin a human exercise gene?" Nature 488(7413): E9-E10.

Tomlinson, J., et al. (2001). "Association between premature mortality and hypopituitarism." The Lancet 357(9254): 425-431.

Tong, J., et al. (2010). "Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans." Diabetes 59(9): 2145-2151.

Tong, J., et al. (2013). "Physiologic concentrations of exogenously infused ghrelin reduces insulin secretion without affecting insulin sensitivity in healthy humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98(6): 2536-2543.

Toogood, A. A., et al. (1997). "Preservation of growth hormone pulsatility despite pituitary pathology, surgery, and irradiation." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 82(7): 2215-2221.

Toogood, A. A. and P. M. Stewart (2008). "Hypopituitarism: clinical features, diagnosis, and management." Endocrinology and metabolism clinics of North America 37(1): 235-261.

Tovar, S. A., et al. (2004). "Regulation of peptide YY levels by age, hormonal, and nutritional status." Obesity research 12(12): 1944-1950.

Trajkovski, M., et al. (2011). "MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity." Nature 474(7353): 649-653.

Trajkovski, M. and H. Lodish (2013). "MicroRNA networks regulate development of brown adipocytes." Trends Endocrinol Metab.

Tresguerres, J. A., et al. (2000). Tratado de endocrinología básica y clínica, Síntesis.

Tripathy, D., et al. (2000). "Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance: lessons from the Botnia Study." Diabetes 49(6): 975-980.

Trout, K. K., et al. (2007). "Methods of measuring insulin sensitivity." Biological research for nursing 8(4): 305-318.

Tschöp, M., et al. (2004). "Physiology: does gut hormone PYY₃₋₃₆ decrease food intake in rodents?" Nature 430(6996).

Tschöp, M., et al. (2000). "Ghrelin induces adiposity in rodents." Nature 407(6806): 908-913.

Tschöp, M., et al. (2001). "Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity." Diabetes 50(4): 707-709.

Tyrrell, J., et al. (1975). "Inhibition by somatostatin of ACTH secretion in Nelson's syndrome." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 40(6): 1125-1127.

Uesugi, A., et al. (2011). "The tumor suppressive microRNA miR-218 targets the mTOR component Rictor and inhibits AKT phosphorylation in oral cancer." Cancer research: canres. 0368.2011.

Uysal, K. T., et al. (1997). "Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function." Nature 389(6651): 610-614.

Vamvini, M. T., et al. (2013). "Irisin mRNA and circulating levels in relation to other myokines in healthy and morbidly obese humans." European Journal of Endocrinology 169(6): 829-834.

van der Klaauw, A. A., et al. (2013). "Postprandial total ghrelin suppression is modulated by melanocortin signaling in humans." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98(2): E288-E292.

Van Der Lely, A. J., et al. (2004). "Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin." Endocrine reviews 25(3): 426-457.

van Marken Lichtenbelt, W. D., et al. (2009). "Cold-activated brown adipose tissue in healthy men." New England Journal of Medicine 360(15): 1500-1508.

Vance, M. L. (1994). "Hypopituitarism." New England Journal of Medicine 330(23): 1651-1662.

Veldhuis, J., et al. (1995). "Differential Impact of Age, Sex Steroid Hormones, and Obesity on Basal Versus Pulsatile Growth Hormone Secretion in Men as Assessed in an Ultrasensitive Chemiluminescence Assay." Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 80(11): 3209-3222.

Veldhuis, J. D., et al. (1991). "Dual defects in pulsatile growth hormone secretion and clearance subserve the hyposomatotropism of obesity in man." J Clin Endocrinol Metab 72(1): 51-59.

Veldhuis, J. D., et al. (2012). "Sex Steroids, GHRH, Somatostatin, IGF-I, and IGFBP-1 Modulate Ghrelin's Dose-Dependent Drive of Pulsatile GH Secretion in Healthy Older Men." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 97(12): 4753-4760.

Veldhuis, J. D., et al. (2011). "Gender, age, body mass index, and IGF-I individually and jointly determine distinct GH dynamics: analyses in one hundred healthy adults." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 96(1): 115-121.

Veldhuis, J. D., et al. (2006). "Somatotropic and gonadotropic axes linkages in infancy, childhood, and the puberty-adult transition." Endocrine reviews 27(2): 101-140.

Venkataraman, S., et al. (2013). "MicroRNA 218 acts as a tumor suppressor by targeting multiple cancer phenotype-associated genes in medulloblastoma." Journal of Biological Chemistry 288(3): 1918-1928.

Villarroya, F. (2012). "Irisin, turning up the heat." Cell metabolism 15(3): 277-278.

Vincent, H. K., et al. (2007). "Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity." Diabetes, Obesity and Metabolism 9(6): 813-839.

Vincent, R. and C. Le Roux (2008). "The satiety hormone peptide YY as a regulator of appetite." Journal of clinical pathology 61(5): 548-552.

Virtanen, K. A., et al. (2009). "Functional brown adipose tissue in healthy adults." New England Journal of Medicine 360(15): 1518-1525.

Volterrani, M., et al. (2000). "Role of growth hormone in chronic heart failure." Drugs 60(4): 711-719.

Wadden, D., et al. (2012). "Serum acylated ghrelin concentrations in response to short-term overfeeding in normal weight, overweight, and obese men." PLoS ONE 7(9): e45748.

Wallace, T. M., et al. (2004). "Use and abuse of HOMA modeling." Diabetes care 27(6): 1487-1495.

Wang, B. and P. Trayhurn (2006). "Acute and prolonged effects of TNF- α on the expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture." Pflügers Archiv 452(4): 418-427.

Wang, G., et al. (2002). "Ghrelin—not just another stomach hormone." Regulatory peptides 105(2): 75-81.

Ward, C. W., et al. (2001). "The three dimensional structure of the type I insulin-like growth factor receptor." Molecular Pathology 54(3): 125-132.

Warram, J. H., et al. (1990). "Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents." Annals of internal medicine 113(12): 909-915.

Webb, S. (2008). "Hipopituitarismos. Panhipopituitarismos. Deficiencias hipofisarias aisladas." Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado 10(13): 839-844.

Webb, S. M., et al. (1999). "Recovery of hypopituitarism after neurosurgical treatment of pituitary adenomas." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 84(10): 3696-3700.

Wee, C. C., et al. (1999). "Physician counseling about exercise." JAMA: the journal of the American Medical Association 282(16): 1583-1588.

Weigent, D. A., et al. (1988). "Production of immunoreactive growth hormone by mononuclear leukocytes." The FASEB journal 2(12): 2812-2818.

Weiner, H. L., et al. (1994). "Craniopharyngiomas: a clinicopathological analysis of factors predictive of recurrence and functional outcome." Neurosurgery 35(6): 1001-1011.

Weisberg, S. P., et al. (2003). "Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue." Journal of Clinical Investigation 112(12): 1796-1808.

Westwood, M., et al. (2000). "The combined pituitary function test in children: an evaluation of the clinical usefulness of TRH and LHRH stimulation tests through a retrospective analysis of one hundred and twenty six cases." Clinical Endocrinology-Oxford 52(6): 727-734.

Whittaker, J., et al. (2002). "Comparison of the functional insulin binding epitopes of the A and B isoforms of the insulin receptor." Journal of Biological Chemistry 277(49): 47380-47384.

Whittle, A. J., et al. (2012). "BMP8B increases brown adipose tissue thermogenesis through both central and peripheral actions." Cell 149(4): 871-885.

Williams, E. S., et al. (2007). "Adipose tissue arachidonic acid and the metabolic syndrome in Costa Rican adults." Clinical Nutrition 26(4): 474-482.

Williams, T., et al. (1984). "Impaired growth hormone responses to growth hormone-releasing factor in obesity: a pituitary defect reversed with weight reduction." New England Journal of Medicine 311(22): 1403-1407.

Woods, S. C., et al. (1974). "Metabolic hormones and regulation of body weight." Psychological review 81(1): 26.

Woods, S. C., et al. (1998). "Signals that regulate food intake and energy homeostasis." Science 280(5368): 1378-1383.

Wortley, K. E., et al. (2005). "Absence of ghrelin protects against early-onset obesity." Journal of Clinical Investigation 115(12): 3573-3578.

Wrann, C. D., et al. (2013). "Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway." Cell metabolism 18(5): 649-659.

Wren, A., et al. (2001). "Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans." Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86(12): 5992-5992.

Wynne, K., et al. (2005). "Appetite control." Journal of endocrinology 184(2): 291-318.

Xia, H., et al. (2012). "MiR-218 sensitizes glioma cells to apoptosis and inhibits tumorigenicity by regulating ECOP-mediated suppression of NF- κ B activity." Neuro-oncology: nos296.

Xiao, C., et al. (2008). "Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17-92 expression in lymphocytes." Nature immunology 9(4): 405-414.

Xu, H., et al. (2003). "Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance." Journal of Clinical Investigation 112(12): 1821-1830.

Yamaguchi, Y., et al. (1993). "Ligand-binding properties of the two isoforms of the human insulin receptor." Endocrinology 132(3): 1132-1138.

Yamauchi, N., et al. (1991). "In vitro release of growth hormone-releasing factor (GRF) from the hypothalamus: somatostatin inhibits GRF release." Regulatory peptides 33(1): 71-78.

Yang, J., et al. (2008). "Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone." Cell 132(3): 387-396.

Yoo, A. S., et al. (2011). "MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons." Nature 476(7359): 228-231.

Zhang, H.-J., et al. (2013). "Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults." Journal of hepatology 59(3): 557-562.

Zhang, J. V., et al. (2005). "Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake." Science 310(5750): 996-999.

Zhang, X., et al. (2008). "Hypothalamic IKK β /NF- κ B and ER stress link overnutrition to energy imbalance and obesity." Cell 135(1): 61-73.

Zhang, Y., et al. (1994). "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." Nature 372(6505): 425-432.

Zhao, C.-M., et al. (2008). "Characterization of obestatin-and ghrelin-producing cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rats: an immunohistochemical and electron-microscopic study." Cell and tissue research 331(3): 575-587.

Zhao, T.-J., et al. (2010). "Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is essential for growth hormone-mediated survival of calorie-restricted mice." Proceedings of the National Academy of Sciences 107(16): 7467-7472.

Zhou, B., et al. (2007). "miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely." Proceedings of the National Academy of Sciences 104(17): 7080-7085.

Zhu, H., et al. (2011). "The Lin28/let-7 Axis Regulates Glucose Metabolism." Cell 147(1): 81-94.

Zhu, L., et al. (2013). "MiR-335, an Adipogenesis-Related MicroRNA, is Involved in Adipose Tissue Inflammation." Cell Biochem Biophys.

Zhu, T., et al. (2001). "Signal transduction via the growth hormone receptor." Cellular signalling 13(9): 599-616.

Zhu, X., et al. (2006). "On the processing of proghrelin to ghrelin." Journal of Biological Chemistry 281(50): 38867-38870.

Zigman, J. M., et al. (2005). "Mice lacking ghrelin receptors resist the development of diet-induced obesity." Journal of Clinical Investigation 115(12): 3564-3572.

Zorrilla, E. P., et al. (2006). "Vaccination against weight gain." Proceedings of the National Academy of Sciences 103(35): 13226-13231.