

UNIVERSIDADE DA CORUÑA



REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE
HORMONA
DE CRECIMIENTO EN LA OBESIDAD Y LA
DIABETES MELLITUS TIPO 1.

PAULA ÁLVAREZ CASTRO

2008

Don Fernando Cordido Carballido, Catedrático E.U. de Fisiología de la Universidade da Coruña y Médico Especialista en Endocrinología y Nutrición del Hospital Juan Canalejo de A Coruña.

CERTIFICA QUE:

La presente tesis doctoral titulada: "Regulación de la secreción de hormona de crecimiento en la obesidad y la diabetes mellitus tipo 1", ha sido realizada por la Dra. Paula Álvarez Castro bajo su dirección en la Universidad da Coruña, estimando que se encuentra concluida y en condiciones de ser presentada para optar al grado de Doctora en Medicina.

Y para que conste, firmo la presente autorización en A Coruña a diez de marzo de 2008

Fdo.: Fernando Cordido Carballido

Fdo.: Paula Álvarez Castro.

A Carlota

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis y gran amigo, Fernando Cordido, por darme la oportunidad de formarme y descubrir la investigación clínica a su lado, por compartir conmigo su sabiduría, por su inagotable paciencia y porque sin él esta tesis no hubiera sido posible, pero sobre todo, por ser una gran persona y por su amistad.

A Luisa Isidro, por su colaboración en éste y todos mis trabajos, porque he aprendido muchísimo de ella desde el inicio de mi formación, porque siempre está dispuesta a echarme una mano cuando lo necesito, ayudándome a resolver mis múltiples dudas con sus amplios conocimientos, por ser una excelente compañera de viajes y una buena amiga.

A mis compañeros de Endocrinología de Lugo por su gran acogida y porque hacen que el trabajo diario esté lleno de buenos momentos.

A todos los pacientes que prestaron su colaboración para la realización de los estudios.

A mi familia por estar siempre a mi lado.

A Jose y Carlota que lo son todo para mí.

Parte de los estudios que se presentan en esta tesis han sido financiados por:
FIS del Instituto de Salud Carlos III PI051024 y PI070413. Xunta de Galicia
PGIDT05PXIC91605PN, Redes 2006/27 y PS07/12.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
• HORMONA DE CRECIMIENTO.	
• LA OBESIDAD	
• DIABETES MELLITUS TIPO 1.	
2. OBJETIVOS.	55
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	57
• DETERMINACIONES HORMONALES	
• FÁRMACOS Y DOSIS	
• ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	
4. RESULTADOS.....	77
5. DISCUSIÓN.....	106
6. RESUMEN DE RESULTADOS.....	121
7. CONCLUSIONES.....	124
8. PUBLICACIONES RESULTADO DE ESTA TESIS.....	126
9. BIBLIOGRAFÍA.....	129

ABREVIATURAS MÁS EMPLEADAS

ACTH: Hormona adenocorticotropa.

AUC: Área bajo la curva.

DHT: Dihidrotestosterona.

DM1: Diabetes mellitus tipo 1.

FSH: Hormona foliculoestimulante.

FFA: Ácidos grasos libres.

GH: Hormona de crecimiento.

GHD: Déficit de hormona de crecimiento del adulto

GHBP: Proteína transportadora de hormona de crecimiento.

GLP-1: Péptido similar al glucagón 1.

GHRH: Hormona liberadora de la hormona de crecimiento.

GHRP-6: Péptido liberador de la hormona de crecimiento 6.

GHS: Secretagogos de GH.

GHS-R: Receptor de los secretagogos de hormona de crecimiento.

HbA1c: Hemoglobina glicosilada.

HPA: Eje hipotálamo-hipófiso-adrenal.

IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

rhIGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 recombinante.

IGFBPs: Proteínas transportadoras del factor de crecimiento similar a la insulina.

IMC: Índice de masa corporal.

ITT: Hipoglucemia inducida por insulina.

LH: Hormona luteinizante

PD: Piridostigmina.

SS: Somatostatina.

SSIW: Cese de la administración de una perfusión de somatostatina

TSH: Tirotropina.

TRH: Hormona liberadora de tirotropina.

VEGF: Factor de crecimiento del endotelio vascular.

I. INTRODUCCIÓN:

1. HORMONA DE CRECIMIENTO:

1. BIOQUÍMICA:

La hormona de crecimiento (GH) es una hormona peptídica formada por una sola cadena de 191 aminoácidos, posee dos puentes disulfuro entre las cisteínas que ocupan los lugares 53-165 y 182-189. Es una proteína de cadena única y no presenta carbohidratos unidos a la misma^{1,2}.

La estructura cristalina de la GH revela la existencia de cuatro hélices alfa. Las moléculas de GH circulantes están formadas por varias formas heterogéneas: monómeros de 20 y 22 k, una forma acetilada de 22 k y dos moléculas de GH desaminadas. El principal componente fisiológico posee un peso molecular de 21800 daltons (22k) y representa el 75% de la secreción hipofisaria de GH. Existe otra forma de esta hormona de 20 K resultado de una recombinación alternativa del gen de la GH que causa un proceso de delección de los aminoácidos 32-46 y representa el 10% de la secreción hipofisaria de GH. El péptido 22k conserva la actividad de promoción del crecimiento pero carece de efectos diabetógenos, que son más intensos en la forma 20k^{3,4,5,6}.

El gen de GH se localiza en el brazo largo del cromosoma 17, 17q22-24. 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 en la hipófisis y es el que regula la síntesis de la GH, concretamente la forma 22K. Los otros cuatro genes se expresan también en la placenta⁷.

La regulación del gen hipofisario GH-N es compleja^{2, 8}. 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 hipofisarias¹⁰.

2. BIOSÍNTESIS Y NIVELES CIRCULANTES.

La GH es sintetizada, segregada y almacenada por las células somatotropas y somatomamotropas de la hipófisis anterior. Éstas constituyen un 50% de la población celular de la hipófisis y se localizan preferentemente en la porción lateral de la misma, son eosinófilas a la

tinción con hematoxilina-eosina y se expresan desde el inicio de la vida fetal^{11,12}.

La secreción de GH se realiza en forma de pulsos, con aproximadamente 10 pulsos intermitentes de secreción que duran aproximadamente 90 minutos y se producen cada 128 minutos, siendo más frecuentes por la noche. Se cree que los pulsos de secreción se deben a una disminución del tono somatostatinérgico asociado quizá a un aumento en la liberación de GHRH (hormona liberadora de la hormona de crecimiento)^{13,14}. 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 secretorio¹⁵. La secreción en el hombre suele ser más pulsátil y en la mujer más continúa aunque existen diferencias detectables en la amplitud de los pulsos en función del sexo¹⁶. La vida media de la GH es de 20-25 minutos¹⁷ y se metaboliza fundamentalmente en el hígado y en menor grado en el riñón.

3. TRANSPORTE:

La GH se transporta en el suero ligada a proteínas denominadas GHBP (growth hormone binding proteins). Existe una proteína de 20 kd de baja afinidad y otra de 60 kd de alta afinidad que transporta aproximadamente la mitad de la forma circulante de GH de 22 kd^{18,19}. La GH de 20 kd se fija de modo preferente a la proteína de transporte de baja afinidad.

El papel de las proteínas de transporte de la GH consiste en amortiguar las oscilaciones agudas de los niveles séricos de GH asociadas con la secreción hipofisaria pulsátil de GH. Además, la disminución del aclaramiento renal de la GH transportada prolonga la semivida plasmática de ésta. La proteína de alta afinidad también impide que la GH se fije a los receptores de superficie de GH compitiendo con el ligando de la GH²⁰.

El receptor de GH es una proteína de 130 KD y pertenece a la superfamilia de los receptores de citocinas/hemopoyetina. Es un receptor de membrana con un dominio extracelular que se une al ligando, uno transmembrana y otro intracelular citoplasmático que transmite la señal.²¹ Estructuralmente, las GHBP de alta afinidad presentan una homología con el dominio extracelular del receptor de GH²².

Se identificó inicialmente en el hígado pero posteriormente se ha visto que también se expresa en otros tejidos.²³ El receptor de GH activa a nivel intracelular una cascada de fosforilación en la que participa la vía JAK/STAT (signal transducing activators of transcription) Su acción predominante es estimular la síntesis y secreción hepática de IGF-1 (factor de crecimiento tipo insulina 1), un potente factor de crecimiento y diferenciación ²⁴. Las mutaciones en el gen del receptor de la GH se asocian con insensibilidad completa o parcial a GH y talla baja ²⁵.

La GH ejerce la mayoría de sus acciones fisiológicas a través del IGF-1. El IGF-1 es un factor de crecimiento con estructura similar a la proinsulina. Está formado por una cadena de 70 aminoácidos, se sintetiza fundamentalmente en el hígado y su síntesis depende de los niveles circulantes de GH. Actúa localmente regulando el crecimiento y la diferenciación celular. El IGF-1 ejerce un feedback negativo sobre hipotálamo e 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 ^{26,27}. Los niveles de IGFBP1 se correlacionan negativamente con los niveles de insulina, tanto en diabéticos como en normales. ²⁷

4. ACCIONES:

La GH estimula el crecimiento lineal en niños actuando de manera directa e indirecta (vía IGF-1) sobre el cartílago de crecimiento. Su efecto fundamental es promover el crecimiento longitudinal postnatal.

La GH tiene también acciones metabólicas específicas³ como:

- Aumenta la lipólisis y la oxidación de lípidos lo que contribuye a la movilización de los triglicéridos almacenados aumentando los ácidos grasos libres.
- Efecto anabolizante: estimula el transporte y captación de aminoácidos por los tejidos acelerando la síntesis de proteínas.
- Antagoniza la acción de la insulina.
- Produce retención de agua, sodio y fosfato.

5. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN:

La secreción de GH está controlada por complejos factores hipotalámicos y periféricos¹¹. La célula somatotropa expresa receptores específicos para GHRH, secretagogos de GH y los subtipos 2 y 5 del receptor de la somatostatina que median la secreción de GH^{8,12}.

- SECRECIÓN ESPONTÁNEA NORMAL

La secreción de GH se realiza en forma de picos de secreción espontáneos. Estos picos se producen fundamentalmente coincidiendo con el sueño profundo, con la presencia de ondas lentas (fases III y IV del sueño)²⁸.

La edad y el sexo también influyen en la secreción espontánea de GH. Los niveles son muy elevados al final de la vida fetal, posteriormente decrecen y permanecen bajos durante la infancia. En la pubertad la secreción es máxima, con una secreción diaria máxima de 150 µg/Kg que disminuye luego en la adolescencia tardía y permanece constante hasta los 30 años cuando empieza a disminuir de manera progresiva, siendo la secreción diaria a los 55 años de aproximadamente 25 µg/Kg^{29,30}.

- HORMONA LIBERADORA DE GH (GHRH).

La GHRH es una hormona peptídica de 44 aminoácidos. 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, siendo el que se encontró con mayor concentración el de 40^{31, 32}.

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 y péptidos glucagón-like (GLP1), VIP (péptido intestinal vasoactivo) ^{33, 34, 35,36} .

Se sintetiza en las neuronas del núcleo arcuato y ventromedial del hipotálamo. Se libera en la circulación portal pituitaria y ahí actúa sobre las somatotropas de la hipófisis anterior estimulando la liberación pulsátil de GH. Ambos péptidos de 44 y 40 aa se encuentran en el hipotálamo humano y en tumores hipofisarios de pacientes con acromegalia. GHRH se produce también en otros tejidos como gastrointestinal, testículos, ovarios y placenta ³⁷ donde puede ejercer acciones autocrinas y paracrinas ^{38, 39, 40} .

El GHRH estimula tanto la síntesis (aumentando la transcripción del gen) como la liberación de GH ⁴¹ . Las acciones estimulantes de la secreción de GH se realizan por unión a un receptor específico presente en las células hipofisarias.

El receptor de GHRH es un receptor acoplado a proteína G, su activación aumenta la síntesis de AMPc (Adenosín monofosfato cíclico) en la somatotropa. Se ha visto también que variaciones en los niveles de calcio intracelular también intervienen en el mecanismo de acción de GHRH,

actuando éste como un segundo mensajero del GHRH y parece que de manera independiente del AMPc^{42, 43, 44,45}.

- SOMATOSTATINA.

En 1973 el grupo de Guillermin y colaboradores publican en Science el aislamiento y caracterización de la somatostatina a partir de hipotálamo ovino⁴² Su estructura mostró que se trataba de un tetradecapéptido cíclico que se identifica como inhibidor fisiológico de la secreción de GH y TSH. La molécula principal es la SS-14 si bien existen otras formas moleculares como la SS-28 que se cree también tienen importancia biológica. Su prehormona está constituida por 116 aa. La SS 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 somatotropas²⁹.

Se han descrito al menos cinco receptores de SS: SSTR1(14q13); SSTR2(17q24); SSTR3(22q13.1); SSTR4(20p11.2) y SSTR5(16P13.3). Los receptores de SS conforman una familia de péptidos estructuralmente similares, con siete segmentos transmembrana capaces de acoplarse a proteína G. Los cinco subtipos unen SS-14 Y SS-28 con alta afinidad. En las células somatotropas se expresa fundamentalmente el subtipo 5 y en menor

grado el 2. Se ha detectado su presencia en muchos órganos: sistema nervioso central y periférico, intestino, páncreas y en menor cantidad en tiroides, adrenal, riñones, submandibular, próstata y placenta. Sin embargo, su concentración más alta se encuentra en el hipotálamo, principalmente en el núcleo periventricular pero también en el arcuato y ventromedial ²⁹.

La SS 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 ^{46,47,48,49}. Inhibe la respuesta de TSH a TRH ^{46, 50} y la secreción de prolactina ^{51, 52} sin tener efecto en el resto de las hormonas adenohipofisarias.

A nivel extrahipofisario ejerce numerosos efectos biológicos en intestino y páncreas: inhibe la liberación de gastrina, secretina, insulina, glucagón, ejerciendo un efecto inhibidor de casi todas las secreciones gastrointestinales tanto exocrinas como endocrinas.

- GHRELINA

Durante mucho tiempo se creía que la secreción de GH estaba regulada por dos péptidos hipotalámicos con acciones antagónicas como son la GHRH y la SS. En 1976 se descubre una serie de péptidos sintéticos, denominados secretagogos de GH (GHS), que actúan a nivel hipofisario estimulando de forma específica la secreción de GH. El más potente de estos secretagogos es el GHRP-6 ^{53, 54, 55}. El descubrimiento de estos secretagogos puso de manifiesto la existencia de una tercera vía endocrina que controlaba la secreción de GH. Posteriormente se descubre a nivel hipofisario un receptor unido a proteína G donde actúan los secretagogos de GH ⁵⁶. El ligando endógeno de este receptor se ha aislado y purificado del estómago de rata y posteriormente en humanos, es un péptido de 28 aa denominado ghrelina. Su estructura tiene una cadena de ácido graso en el tercer aminoácido del extremo N-terminal que tiene importancia para algunas de sus acciones biológicas ⁵⁷. El gen humano de ghrelina se localiza en el cromosoma 3p25-26. El gen humano del receptor de ghrelina se localiza asimismo en el cromosoma 3, en posición q26-17 ⁵⁸. El receptor de ghrelina se expresa en el núcleo arcuato y ventromedial del hipocampo y es altamente sensible a las concentraciones de GH; su expresión aumenta en ratas enanas dw-dw GH deficientes y el tratamiento de éstas ratas con GH disminuye la expresión del receptor de ghrelina ⁵⁸. Se ha visto que el receptor se expresa también en muchos tejidos periféricos como corazón,

pulmones, hígado, páncreas, intestino, tejido adiposo y sistema inmune, indicando que ghrelina tiene múltiples funciones en estos tejidos ⁵⁹.

La ghrelina estimula la secreción de GH actuando de forma directa sobre la hipófisis, sin embargo esta secreción se encuentra regulada también a nivel hipotalámico, así en pacientes con lesiones orgánicas en el hipotálamo presentan una secreción de GH estimulada por ghrelina que es insuficiente ⁶⁰.

Existen por tanto dos importantes secretagogos de GH: GHRH y ghrelina. GHRH se une al receptor de GHRH y activa la adenilato ciclasa lo cual aumenta los niveles intracelulares de AMPc, que sirve de segundo mensajero para activar una proteinkinasa A. Por otro lado, ghrelina actúa en el receptor de secretagogos de GH (GHS-R) activa fosfolipasa C para generar IP3 y diacilglicerol lo cual induce un aumento del calcio intracelular ⁵⁸.

La ghrelina tiene también acciones importantes en la regulación del apetito, es un potente estimulador del apetito. La ghrelina se produce en los órganos gastrointestinales como respuesta al hambre y sirve como señal periférica para estimular la ingesta a nivel del sistema nervioso central. Los niveles plasmáticos de ghrelina aumentan inmediatamente antes de cada comida y descienden a sus niveles más bajos una hora después. Ghrelina

es, por lo tanto, una señal de iniciación para la ingesta de alimentos. A nivel gástrico, la administración intravenosa de ghrelina induce un aumento de la secreción ácida gástrica y estimula la motilidad gástrica ^{61,62}. A nivel cardiovascular la administración intravenosa de ghrelina produce un descenso de la presión arterial sin que disminuya la frecuencia cardíaca ^{63,64}. El papel de la ghrelina en la secreción de insulina aún no está aclarado, se ha visto que inhibe la secreción de insulina en algunos experimentos y estimula su liberación en otros ^{65, 66, 67, 68,69} Los niveles plasmáticos de ghrelina e insulina se encuentran ambos influenciados por la concentración de glucosa, así niveles elevados de glucosa inhiben la secreción de ghrelina y estimulan la secreción de insulina. Los niveles de glucemia son importantes a la hora de realizar los estudios ya que se ha visto que la ghrelina estimula la secreción de insulina en presencia de niveles elevados de glucosa (8.3 mM) pero no tiene efecto en la liberación de insulina con niveles de glucosa normales (2.8 mM).

En cuanto a la regulación de la secreción de ghrelina, el factor más importante que la regula es la ingesta de alimentos. Como ya vimos anteriormente, su concentración está elevada en el ayuno y desciende tras la ingesta ^{70,71}. Los niveles de ghrelina aumentan también durante el sueño, este aumento se encuentra abolido en personas obesas o privación de sueño. La concentración plasmática de ghrelina es baja en sujetos obesos y alta en sujetos delgados ^{65,72,73,74,75,76,77}.

La estimulación de secreción de GH por ghrelina es comparable a GHRH, la coadministración de ambas moléculas tiene un efecto sinérgico en la secreción de GH y es el estímulo liberador de GH más potente conocido hasta la fecha ⁷⁸.

- NEUROPEPTIDOS Y NEUROTRANSMISORES.

Los neuropéptidos, neurotransmisores y opiáceos tienen acción sobre el hipotálamo y modulan la liberación de GHRH y SS. La administración de Levodopa produce un rápido aumento del nivel sérico de GH en menos de una hora en personas jóvenes sanas. La noradrenalina aumenta la secreción de GH a través de vías adrenérgicas alfa e inhibe la liberación de hormona a través de vías adrenérgicas beta. También actúan a través de vías adrenérgicas alfa la hipoglucemia insulínica, la clonidina, la administración de arginina, el ejercicio físico, la levodopa y la arginina-vasopresina ¹⁸. En cambio, el bloqueo adrenérgico beta aumenta la liberación de GH inducida por GHRH, probablemente a través de un acción hipofisaria directa o bien mediante una liberación hipotalámica de SS. Las endorfinas y encefalinas también estimulan la GH y pueden explicar la liberación de GH que se observa durante el estrés y el ejercicio físico intensos ²⁹. La galanina, que es un neuropéptido de 29 aminoácidos, induce la liberación de GH y las respuestas a GHRH.

El neuropéptido Y (NPY) es uno de los neurotransmisores más abundantes del cerebro de los mamíferos y es un componente esencial en la vía hipotalámica de la integración de la homeostasis energética ⁷⁹. Su acción más destacada es en la regulación de la ingesta. Las neuronas productoras de NPY así como las de leptina establecen sinapsis con las neuronas de somatostatina y los antisueros contra NPY y SS revierten la liberación de GH inducida por el ayuno.

- SEÑALES METABÓLICAS.

La privación emocional se asocia a la supresión de la secreción de GH y en la depresión endógena se observa una disminución de las respuestas de GH a los estímulos de provocación ⁸⁰. La malnutrición crónica y el ayuno prolongado se asocian a un aumento en la amplitud y frecuencia de los pulsos de GH ⁸¹. La hipoglucemia estimula la secreción de GH mientras que la hiperglucemia la inhibe, sin embargo, la hiperglucemia crónica como en una diabetes mal controlada se asocia con unos niveles aumentados de GH.

Las comidas ricas en proteínas y la administración de aminoácidos aislados como arginina y leucina estimulan la secreción de GH. El aumento de los niveles séricos de ácidos grasos libres produce una disminución de la

GH basal así como la respuesta de GH ante estímulos como ejercicio físico, clonidina, arginina, sueño, hipoglucemia insulínica y GHRH^{82,83,84,85}.

En la obesidad se encuentra disminuida la secreción de GH basal como en respuesta a estímulos hipotalámicos e hipofisarios.

- OTRAS HORMONAS.

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos que se expresa fundamentalmente en tejido adiposo blanco y parece ser la encargada de informar al cerebro del estado de los depósitos de grasa⁸⁶. En 1994 se aisló el gen ob que posteriormente se demostró codificaba la hormona⁸⁶. La leptina tiene una acción sobre la secreción de GH, se sabe que solamente la administración crónica de leptina es capaz de estimular la secreción de GH, se sabe también que la leptina endógena es capaz de revertir el efecto supresor del ayuno sobre los niveles de GH.

Los glucocorticoides son inhibidores muy potentes del crecimiento lineal en el hombre. Aunque esta inhibición es probablemente multifactorial, un componente importante es la inhibición en la secreción de GH. Se ha visto que los glucocorticoides ejercen un efecto dual sobre la secreción de GH, así la administración aguda de corticoides estimula la secreción de GH

mientras que el tratamiento esteroideo crónico la inhibe ⁸⁷. Posiblemente el efecto estimulador se realice a nivel hipofisario y el inhibidor se realice a través de la SS hipotalámica ^{87,88}.

2. LA OBESIDAD.

La obesidad es la enfermedad metabólica mas prevalente en la mayoría de los países del mundo con excepción del África subsahariana ⁸⁹. Tiene importantes consecuencias económicas y sanitarias, aumenta la prevalencia de enfermedades como diabetes tipo 2, mortalidad cardiovascular, enfermedades malignas, morbilidad músculo esquelética y mortalidad global ^{90,91}.

La obesidad se define como un exceso de grasa corporal. En función de la grasa corporal, podríamos definir como sujetos obesos aquellos presentan porcentajes de grasa corporal por encima de los valores considerados como normales que son del 12 al 20% en varones y del 20 al 30 % en mujeres adultas ⁹². Un indicador indirecto de la cantidad de grasa corporal es el Índice de masa corporal (IMC) que se calcula dividiendo el peso en kilogramos entre la talla en metros al cuadrado. En términos clínicos se define sobrepeso con un IMC de 25-29 kg/m² y se habla de obesidad con IMC mayores de 30 kg/m². Es el índice más recomendado por diversas organizaciones médicas ya que es reproducible, de fácil

utilización y capaz de reflejar la adiposidad en la mayoría de los individuos. No sería útil en individuos muy musculados como deportistas. En niños se utilizan como criterios para definir el sobrepeso y la obesidad los valores específicos por edad y sexo del percentil 85 y 97 del IMC respectivamente utilizando las tablas de Cole et al ⁹³. La obesidad abdominal, u obesidad central, refleja la cantidad de grasa visceral y se relaciona de manera directa con la resistencia a la insulina y los eventos cardiovasculares ^{94, 95,96}.

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.

Hay una epidemia de sobrepeso y obesidad en todo el mundo. La prevalencia del exceso de peso está aumentando rápidamente en todos los países. En la población infantil y juvenil españolas (2 a 24 años) se estima de acuerdo con los resultados del estudio enKid ⁹³, una prevalencia de obesidad de 13.9 % y de sobrepeso de 12.4%. En conjunto obesidad y sobrepeso suponen un 26,3%. En este grupo de edad la obesidad es significativamente más prevalente en varones (15.4%) que en mujeres (12%). En la población adulta (25 a 68 años), la prevalencia de la obesidad se estima en un 15,5%, siendo mas elevada en mujeres (17,5%) que en hombres (13,2%). ⁹⁷ En la población mayor de 65 años se estima una prevalencia de obesidad del 35% (un 30,9% en varones y un 39,8% en

mujeres), siendo mayor en población anciana no institucionalizada (36%) que en institucionalizada (21%)^{98,99}.

En un reciente estudio se ha visto que la prevalencia global de obesidad en Galicia es de 22.9%, (24% en hombres y 21.8% en mujeres)¹⁰⁰.

La obesidad, especialmente la visceral, confiere un aumento del riesgo de morbimortalidad, no sólo cardiovascular sino también de otras causas como es el caso del cáncer o la diabetes y sus complicaciones^{101, 102}. En la mayor parte de los estudios epidemiológicos¹⁰³ se observa que la mortalidad empieza a aumentar cuando el IMC supera los 25 kg/m². Las personas con un IMC superior a 30 kg/m² presentan un aumento de entre el 50 y 100% de la mortalidad total como debida a enfermedades cardiovasculares con respecto a la población con un IMC de 20 a 25 kg/m². Se ha visto que la obesidad disminuye la esperanza de vida en 7 años a la edad de 40 años¹⁰⁴. Una pérdida de peso prolonga la vida y reduce los riesgos en los individuos obesos.

La obesidad y el sobrepeso asocian una serie de alteraciones endocrinas, la mayoría de los cambios son secundarios a la obesidad ya que se pueden inducir con la sobrealimentación y se eliminan con la pérdida de peso. La obesidad se acompaña de modificaciones en los niveles

plasmáticos de determinadas hormonas y en cambios en sus patrones de secreción y/o aclaramiento. Algunas de estas alteraciones son secundarias a la obesidad mientras que otras podrían desempeñar un papel en su patogenia.

- HORMONA DE CRECIMIENTO:

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^{105, 106, 107} incluyendo la respuesta a GHRH¹⁰⁸. Se ha visto que un aumento del aclaramiento de la GH puede ser un factor¹⁰⁹ aunque el principal mecanismo en la obesidad es una alteración en la secreción de GH tanto espontánea como estimulada^{110, 111}. La alteración de la función de las somatotropas en la obesidad no es permanente y se puede revertir con la recuperación de un peso normal^{112, 113} o con una restricción calórica temporal^{112, 114}. El ejemplo más ilustrativo de ésta reversibilidad aparece cuando los sujetos obesos son tratados con GHRH y GHRP-6 a dosis altas, se produce un pico medio de respuesta de GH de 40 µg/L, una respuesta masiva para los obesos^{115, 116}. El hecho de que las somatotropas, que han estado en un descanso funcional durante años o décadas de obesidad, respondan a esos estímulos combinados indica una función hormonal trófica hipotalámica normal y que las somatotropas no se vuelven atróficas en la obesidad. Esta apreciación

nos indica también que un factor está inhibiendo la liberación de GH en la obesidad y no su síntesis ^{115,117}. 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 ambos GHRH o GHRP-6 está boqueada, descartando un déficit secretor de GHRH endógenos o del ligando natural del receptor de secretagogos de GH ^{57,118} como factores causantes.

Se ha encontrado recientemente que la administración de una dosis baja de rhIGF1 inhibe la respuesta de las somatotropas a GHRH tanto en obesos como en sujetos normales indicando que la sensibilidad de las 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 ¹¹⁹. En un estudio reciente se observa que los niveles circulantes de IGF-1 en pacientes obesas severas estaban disminuidos, esta disminución sin embargo es transitoria ya que los niveles se recuperan con la pérdida de peso ¹²⁰.

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, GHRH y GHRH + GHRP-6, restaurando el nivel de ésta secreción a un 50-70% del normal¹²¹. 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^{122, 123, 124,125}. Por otro lado, la piridostigmina, un fármaco que reduce el tono somatostatinérgico^{126,127} aumenta la secreción de GH inducida por GHRH en sujetos obesos^{108, 128}. Esto unido a la casi normal secreción de GH en respuesta a hipoglucemia en obesos¹¹¹ sugiere que un aumento del tono somatostatinérgico puede parcialmente explicar la alteración en la función de las somatotropas en la obesidad.

Este déficit relativo de GH en la obesidad puede contribuir al mantenimiento de la misma¹²⁹ y se ha estudiado el tratamiento con GH como tratamiento de la obesidad en pacientes sin déficit orgánico de GH^{130, 131,132}.

Los niveles plasmáticos de ghrelina se encuentran disminuidos en los humanos obesos si se compara con los normales^{133, 134}. Se ha visto también que los sujetos obesos no presenta el descenso en los niveles plasmáticos de ghrelina que se ven en los normales tras la ingesta alimenticia¹³⁵. El aumento en los niveles plasmáticos de ghrelina tras la pérdida de peso inducida por la

dieta es consistente con la hipótesis de que ghrelina tiene un papel en la regulación del peso corporal a largo plazo en humanos. El bypass gástrico está asociado con niveles de ghrelina suprimidos, hecho que contribuye posiblemente a la pérdida importante de peso de dicho procedimiento ¹³⁶.

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 ^{137,138}. La obesidad es probablemente el mayor factor de confusión para el diagnóstico del déficit de GH del adulto, se sabe que la alteración en 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 ¹³⁹. 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 ¹⁴⁰. Los signos son un aumento de la masa grasa, especialmente de abdomen y vísceras ¹⁴¹, así como disminución de la masa magra, del contenido de agua y de la densidad mineral ósea ^{142,143} especialmente en los pacientes con déficit grave o de evolución prolongada. Otras manifestaciones son la hiperlipemia ^{144,145}, disminución de la capacidad de realizar ejercicio físico, aumento de los factores de riesgo cardiovascular ¹⁴⁶, la adiposidad abdominal, resistencia a la insulina ¹⁴⁷, aumento del grosor de la capa íntima de la carótida ¹⁴⁸.

Para el diagnóstico de déficit de GH del adulto se necesita por tanto un alto índice de sospecha. El inicio clínico puede ser muy lento, siendo la insuficiencia subclínica a menudo no evidente ni para el médico ni para el paciente. Debe realizarse un cribado en pacientes con masas en hipotálamo o hipófisis, anomalías del desarrollo, trastornos inflamatorios, traumatismos y cirugía. Las manifestaciones clínicas dependen de varios factores, entre ellos el grado de déficit hormonal y si existen otros déficits hormonales asociados así como la rapidez de inicio del cuadro clínico. El déficit de prolactina es raro y sus niveles habitualmente se encuentran elevados a causa de una disminución de las señales inhibitorias tónicas. La disminución de la reserva hormonal suele comenzar por la GH, seguida a continuación por FSH, LH, TSH y ACTH. En pacientes con enfermedades de la hipófisis, la GH es la hormona más a menudo deficitaria. Cuando se altera la secreción de GH se produce un déficit de GH orgánico.

Las determinaciones basales de la concentración plasmáticas de GH no tienen valor para el diagnóstico del GHD debido a las grandes fluctuaciones intraindividuales en sus niveles, y los valores de IGF-1 Y IGFBP3 se superponen con los valores de los individuos normales. Por lo tanto, la mayoría de los investigadores están de acuerdo que para el diagnóstico del déficit de GH del adulto se necesitan test de estímulo ^{149, 150,151}. La hipoglucemia insulínica (ITT) es el test de elección para el diagnóstico del GHD del adulto ¹⁵². Se considera que existe un déficit profundo de GH cuando

el paciente presenta una hipoglucemia sintomática con glucosa plasmática menor de 40 mg/dl (2.2 mmol/l) y el pico de respuesta de GH es menor de 3 μ g/L ¹⁵³. Es en estos pacientes, los que tienen un pico de GH menor de 3 μ g/L durante la ITT, en los que se han observado respuestas beneficiosas del tratamiento con GH ^{142, 154,155}. Puede que la ITT no sea la mejor prueba para diagnosticar el déficit de GH del adulto. La reproducibilidad de la ITT ha sido cuestionada en adultos normales ¹⁵⁶. Una referencia para la ITT podría ser difícil de establecer, y sería difícil evaluar la posible influencia de edad, sexo, composición corporal y niveles de cortisol en los niveles de GH estimulados por ITT, ya que los pacientes consideran la prueba poco agradable. Por otro lado, la ITT es una prueba potencialmente peligrosa ¹⁵⁷, además está contraindicada en muchas situaciones clínicas comunes en las que se puede sospechar un déficit de GH como puede ser cardiopatía isquémica, epilepsia y edad avanzada. Estudios recientes han valorado diferentes pruebas alternativas para el diagnóstico del GHD del adulto ^{158, 159, 160, 161, 162} y han encontrado que esas pruebas podrían ser utilizadas para ese fin. La administración combinada de GHRH y Arginina se ha descrito recientemente como una alternativa útil a la ITT ^{153, 163, 164, 165, 166,167} y se han valorado nuevos puntos de corte para obesos mórbidos ¹³⁹.

- OTRAS ALTERACIONES NEUROENDOCRINAS:

- EJE GONADOTROPO

- i. MUJERES

La obesidad aumenta la incidencia de hiperandrogenismo y alteraciones menstruales y reduce las ovulaciones espontáneas y la probabilidad de embarazo ¹⁶⁸. Las mujeres obesas tienen mayor riesgo de desarrollar síndrome de ovario poliquístico. De todas las mujeres con hiperandrogenismo, un subgrupo está constituido por mujeres obesas, que presentan hiperinsulinismo y una ratio LH/FSH normal ¹⁶⁹.

La distribución abdominal de la grasa ^{170, 171, 172,173} parece desempeñar un papel importante en el desarrollo de estas alteraciones, ya que se asocia a modificaciones en la secreción y metabolismo de los andrógenos y su proteína transportadora (SHBG). La obesidad abdominal se caracteriza por una alta tasa de producción de andrógenos que se unen a SHBG ¹⁷⁴ y andrógenos que no se unen a SHBG ¹⁷⁵. El hiperinsulinismo se ha relacionado con el desarrollo de hiperandrogenismo en las mujeres premenopáusicas a través de sus efectos directos sobre el ovario. También como consecuencia del hiperinsulinismo los niveles plasmáticos de SHBG disminuyen ^{176, 177}. Debido a una mayor reducción de las concentraciones de SHBG, el porcentaje de

testosterona libre tiende a ser más alto en las mujeres con obesidad abdominal que en las mujeres con una distribución glúteo femoral de la grasa. La reducción de la SHBG favorece el aumento del metabolismo de los andrógenos, de manera que, en cierta medida, el aumento en la producción de andrógenos se ve compensada por un aumento en su metabolismo. A pesar de la fuerte correlación entre hiperandrogenismo e IMC, solo las mujeres que presentan un aumento en la actividad de la 5-alfa-reductasa tienen mayor riesgo de desarrollar hirsutismo ¹⁷⁸.

Las mujeres obesas también presentan un aumento en la tasa de producción de estrógenos. Esto es debido a varios factores, incluyendo la reducción de la SHBG, la disminución de la formación de metabolitos inactivos y, fundamentalmente, al aumento en la aromatización periférica de los andrógenos en el tejido adiposo. Globalmente estas modificaciones conllevan un aumento del ratio de estrógenos activos/estrógenos inactivos. Sin embargo, los niveles plasmáticos de estrógenos están habitualmente dentro de los rangos normales o sólo ligeramente elevados en las mujeres obesas, especialmente en las premenopáusicas. Este hecho podría deberse a la capacidad de la grasa de almacenar estrógenos ¹⁷⁹. Tampoco se han encontrado diferencias sistemáticas en las concentraciones plasmáticas de estrógenos entre mujeres con distintos patrones de distribución de la grasa corporal.

ii. VARONES:

En los varones obesos los niveles plasmáticos de SHBG y testosterona total y libre disminuyen progresivamente con el aumento de peso corporal ¹⁸⁰. Sin embargo, los niveles de testosterona libre se mantienen dentro del rango normal hasta que se desarrolla una obesidad severa (IMC>40). Los niveles plasmáticos de androstendiona y DHT son normales o están ligeramente disminuidos ¹⁸¹. Como consecuencia del aumento de la conversión periférica de los andrógenos de origen adrenal a estrógenos, en la obesidad masculina existe un aumento de la tasa de producción de estrógenos, si bien los niveles plasmáticos de los principales estrógenos están dentro del rango de la normalidad o sólo ligeramente elevados. También se han descrito alteraciones en la secreción de gonadotrofinas, especialmente una reducción de la secreción de LH, como consecuencia de la disminución de la amplitud de los pulsos de LH, sin que se produzcan cambios en el número de pulsos ¹⁸². Esta alteración puede deberse, al menos en parte, a la acción de los estrógenos. La disminución de la secreción de LH podría explicar la disminución de la producción de testosterona.

A pesar de estos cambios, la mayoría de los varones obesos no presentan signos clínicos de hipogonadismo. Este hecho se debe a que la obesidad disminuye fundamentalmente los niveles de testosterona ligada a

SHBG. Sin embargo, en la obesidad mórbida sí se puede producir un estado de hipogonadismo hipogonadotropo ¹⁸³.

Aunque los niveles plasmáticos de testosterona se relacionan inversamente con el IMC, no está claro que la testosterona se relacione con el patrón de distribución de la grasa corporal en los varones obesos.

- EJE CORTICOTROPO

En los sujetos con obesidad abdominal se han descrito elevaciones del cortisol libre urinario y aumento de la respuesta del cortisol a ACTH y al estrés ^{184,185}. Este aumento de la sensibilidad al estrés sugiere que la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (HPA) en la obesidad abdominal es de origen central. También se ha descrito un patrón de secreción de cortisol patológico, con una curva diaria con niveles bajos por la mañana pero un patrón rígido a lo largo del día y una pobre respuesta a la inhibición con dexametasona ^{186,187}.

El mecanismo fisiopatológico de la hiperactividad del eje HPA en la obesidad abdominal podría ser una alteración genéticamente determinada en la secreción de CRH, una respuesta neuroendocrina exagerada al estrés o una combinación de ambas. Parece que el feed-back negativo sobre el eje HPA, a través de los receptores de glucocorticoides en el sistema nervioso

central, juega un papel importante en esta alteración de la secreción de cortisol. El polimorfismo de los genes que codifican estos receptores podría determinar un rango de respuestas al estrés entre los distintos sujetos con obesidad ^{188,189}.

Se ha sugerido que el hipercortisolismo funcional juega un papel importante en el desarrollo de algunos comportamientos y alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad ¹⁹⁰. El cortisol puede aumentar la producción hepática de glucosa, aumentar la resistencia periférica a la insulina y estimular la actividad de la lipoproteinlipasa en los adipocitos de la región abdominal, con el consecuente aumento de los depósitos de grasa intraabdominales.

- EJE TIROTROPO

En la obesidad la función hipotálamo-hipófiso-tiroidea es normal ¹⁹¹. La pérdida de peso se acompaña de las mismas modificaciones en el patrón hormonal que las que se producen en cualquier situación de restricción de la ingesta calórica (disminución de T4 total, T3 total y libre y aumento de rT3) y que, probablemente, representan una adaptación para disminuir el gasto energético y preservar la masa magra ¹⁹².

- PROLACTINA

Algunos autores han encontrado asociación entre obesidad y niveles basales de PRL elevados ^{193, 194,195} y modificaciones de su ritmo circadiano de secreción ¹⁹⁶ . Es más constante, sin embargo, el hallazgo niveles basales de PRL normales pero con una disminución de su respuesta a diversos estímulos.

La evidencia de que en la obesidad puede existir alguna alteración en la regulación hipotalámica de la secreción de PRL se deduce de la alteración de su respuesta a diversos estímulos. En algunos sujetos obesos no se observa respuesta de PRL a la hipoglucemia insulínica, mientras que sí se produce en otros sujetos igualmente obesos ¹⁹⁷. Mientras algunos autores han encontrado respuestas normales de PRL a TRH en los obesos, otros han encontrado respuestas disminuidas, lo que podría ser sugestivo de la existencia de una disregulación hipotalámica más amplia ¹⁹⁸.

Un hallazgo constante en la obesidad es la normalización de los niveles plasmáticos basales de PRL en respuesta a agentes serotoninérgicos ^{199,200}. Estos y otros estudios ²⁰¹ sugieren la existencia de un defecto en regulación serotoninérgica de la secreción de PRL en las mujeres obesas.

Una posible alteración de la regulación dopaminérgica podría explicar la alteración de la secreción de PRL que se produce en algunos sujetos obesos ^{202,203}. En un estudio en pacientes con prolactinomas se encontró una clara asociación entre niveles elevados de PRL e IMC y entre normalización de PRL post-tratamiento y pérdida de peso ²⁰⁴.

Otros estudios sugieren que la hiperinsulinemia podría jugar algún papel en las alteraciones de las respuestas de PRL que se observan en la obesidad ^{205,206}. La ingesta y la composición de la dieta también podrían modificar la respuesta de PRL a distintos estímulos en los sujetos obesos.

Estos hallazgos sugieren que las modificaciones de la secreción de PRL que se han observado en algunos obesos podrían ser secundarias a otras alteraciones que se presentan en la obesidad. Se desconoce si PRL juega algún papel en la patogenia de la obesidad humana y otras comorbilidades asociadas, como la disminución de la fertilidad.

Cuadro 1: Resumen de alteraciones neuroendocrinas en la obesidad

EJE SOMATOTROPO

GH	Disminuida
IGF-1	Normal
Respuesta GH estímulos	Disminuida

EJE GONADOTROPO

	SHBG	Disminuida
	LH / FSH	Normal*
Mujeres	Estradiol	Normal
	Testosterona Libre	Normal o aumentada
	LH / FSH	Normal [#]
Hombres	Estradiol	Normal
	Testosterona libre	Normal [#]

EJE CORTICOTROPO [¶]

Cortisol basal	Disminuido
Cortisol libre urinario	Aumentado
ACTH basal	Normal
Respuesta a ACTH	Aumentada
Supresión con DXM	Disminuida

PRL

Basal	Normal
Respuesta a estímulos	Disminuida

* En ausencia de síndrome de ovario poliquístico [#] Si IMC > 40 puede presentarse hipogonadismo hipogonadotropo [¶] obesidad abdominal

3. DIABETES MELLITUS TIPO 1.

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos frecuentes que comparten el fenotipo de la hiperglucemia ²⁰⁷. Dependiendo de la causa de la DM los factores que contribuyen a la hiperglucemia pueden comprender una disminución de la secreción de insulina, una disminución del consumo de glucosa y un aumento de la producción de glucosa hepática. En la diabetes mellitus tipo 1, se produce una destrucción casi siempre de causa inmunológica de la célula beta y como consecuencia un déficit de insulina. La diabetes tipo 2, es un grupo heterogéneo que se caracteriza por grados variables de resistencia y alteración de secreción de la insulina y aumento de la producción de glucosa.

La diabetes constituye la primera causa de insuficiencia renal terminal, de amputaciones no traumáticas de extremidades inferiores y de ceguera en los adultos de los países desarrollados. Numerosos estudios han demostrado que con una mejoría del control glucémico se reduce de forma importante y significativa el desarrollo de complicaciones microvasculares ^{208,209}.

- HORMONA DE CRECIMIENTO Y CONTROL METABÓLICO.

Los pacientes diabéticos tienen concentraciones de hormona de crecimiento basales y estimuladas más elevadas que los pacientes normales ^{210,211}. Las elevaciones en los niveles circulantes de GH que presentan los pacientes diabéticos son más llamativas en los periodos de mal control metabólico. Los mecanismos responsables de esta alteración en la secreción de GH no son del todo conocidos. Los pacientes con diabetes tipo 1 y mal control metabólico se ha descrito que tienen una concentración integrada de GH en 24 horas mayor así como un aumento en la amplitud y en la frecuencia de los pulsos secretores de GH ²¹². Esta alteración en los niveles de GH se ha relacionado en diversas ocasiones con niveles de IGF-1 disminuidos que ejercerían un menor feedback negativo sobre la hipófisis ^{213, 214, 215,216}. Se ha visto que los pacientes diabéticos presentan niveles de IGF-1, IGF-2, IGFBP3 y GHBP menores en comparación con sujetos normales así como niveles de IGFBP1 y cortisol más elevados ^{26,217}. Estas alteraciones revierten progresivamente al iniciar el tratamiento con insulina ²⁶. La insulina es esencial para que se produzcan las acciones anabólicas de la GH. Se sabe que la insulina regula directamente la expresión tisular del receptor hepático de GH ²¹⁸ y por otro lado la producción hepática de IGF-1 depende en parte del flujo portal de insulina, que en diabéticos se encuentra disminuido. En la diabetes, debido a ésta insulinización portal insuficiente se produce una resistencia hepática

a la GH que se manifiesta con niveles elevados de IGFBP1, y disminución de los niveles de IGF-1 y bajada de la expresión tisular del receptor hepático de GH ²¹⁶. Se ha visto también que los pacientes diabéticos tipo 1 con secreción residual de insulina tienen niveles de GH menores que los que no segregan insulina.²¹⁸ Esta secreción anormal de GH puede contribuir al mal control metabólico de la diabetes, aunque el efecto de la elevación crónica de GH en el metabolismo y control de la diabetes se desconoce. Es ampliamente conocido que la glucemia es un potente regulador de la secreción de GH. La hipersecreción de GH en sujetos normales produce una hipersecreción compensatoria de insulina lo que hace que se produzcan pocos cambios en los niveles de glucemia ²¹⁹. En la acromegalia, donde hay niveles elevados de GH, se produce una situación de resistencia a la insulina e intolerancia glucídica en un gran número de pacientes. En los sujetos diabéticos tipo 1, sin embargo, ante un aumento de GH no se produce ese aumento compensatorio de insulina por lo que se produce un aumento en la producción hepática de glucosa que eleva la glucemia basal y postprandial ²¹⁹. Algunos estudios describen que al mejorar el control glucémico disminuía la concentración integrada de GH en 24 horas ²¹⁹. Otros autores como Miller et al ²²⁰ encontraron que durante el mal control metabólico, los pacientes tenían un aumento en los pulsos secretorios diurnos de GH por lo que la concentración de GH durante el día era mayor. Con la mejoría del control glucémico, los pulsos diurnos disminuían, sin embargo la concentración integrada de GH en 24 horas no se modificaba.

Esta hipersecreción de GH podría explicar por qué la diabetes se controla tan mal en los jóvenes en periodo de crecimiento y durante las situaciones de estrés.²¹⁹ Estas alteraciones en el eje GH/IGF-1 en la diabetes son importantes también de cara al desarrollo de nuevas modalidades terapéuticas.

Se ha estudiado el efecto del tratamiento combinado con IGF-1 recombinante subcutáneo e insulina en adolescentes diabéticos observándose una mejoría significativa en el control glucémico, con descenso en las cifras de HbA1c (hemoglobina glicosilada) sin efectos secundarios importantes tras 12²²¹ y 24 semanas de tratamiento²²². Harán falta más estudios para aclarar la relación entre la hipersecreción de GH, el mal control metabólico en la diabetes y el desarrollo de nuevas modalidades terapéuticas que no solo mejoren el control metabólico sino también que prevengan el desarrollo de complicaciones crónicas.

- HORMONA DE CRECIMIENTO Y COMPLICACIONES CRÓNICAS.

Numerosos estudios en los últimos años han relacionado el mal control metabólico con el desarrollo de complicaciones microangiopáticas en los pacientes diabéticos tipo 1 y 2 ^{209,210}. Además del control metabólico se cree que otros factores pueden influir en el desarrollo de complicaciones crónicas de la diabetes.

La patogenia de la retinopatía diabética se desconoce pero se ha especulado mucho a lo largo de los años sobre el papel de la GH en el desarrollo de la misma ²²³. La primera sospecha se produce cuando en 1954 Poulsen ²²⁴ describe un caso de recuperación de una retinopatía severa en una mujer joven tras una necrosis hipofisaria postparto. Estudios posteriores sugieren que la ablación pituitaria o la hipofisectomía enlentecen la progresión de la retinopatía proliferativa ²²⁵. Debido a la agresividad de los procedimientos se abandonaron los estudios en esta línea pero desde entonces numerosos estudios han relacionado la GH e IGF-1 con el desarrollo de complicaciones microangiopáticas en la retina. En varias ocasiones se ha descrito que en las fases iniciales de la neovascularización de la retina, los niveles de IGF-1 en plasma y vítreo se encuentran elevados ^{217, 223, 226,227}, también se ha visto que los pacientes diabéticos con déficit de GH tienen una menor incidencia de retinopatía ²²³ que los GH suficientes. Recientemente, Koller et al ²²⁸ han descrito dos casos de retinopatía

proliferativa en dos pacientes no diabéticos con déficit de GH a tratamiento sustitutivo lo que relaciona de nuevo la GH con la neovascularización retiniana, aunque estudios posteriores de mayor duración y con más pacientes no confirmaron estos datos ²²⁹. Posteriormente se ha dado más importancia a factores angiogénicos como IGF-1, IGF-2 y VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular), en el desarrollo de la retinopatía. El VEGF es una glicoproteína de 45 KD cuya expresión se estimula por la hipoxia y se ha visto que se encuentra elevado en vítreo en las fases iniciales de la enfermedad proliferativa y sus niveles descienden tras la fotocoagulación ²³⁰. Se ha visto que el VEGF estimula la angiogénesis tanto “in vivo” como “in vitro” ²³¹. Se cree que el IGF-1 puede modular la expresión y el efecto del VEGF ^{230,232}. En un estudio reciente en pacientes con resistencia a la acción de la GH de origen genético, que presentaban niveles altos de GH con niveles bajos de IGF-1 se observó que tenían un patrón de vascularización retiniana anormal, con una disminución en la densidad vascular. Con estos datos concluyen que el IGF-1 actuaría como factor permisivo para el desarrollo vascular normal en asociación con otros factores como el VEGF ²³². Se ha estudiado también los niveles de IGF-1 y VEGF en el vítreo de pacientes con retinopatía diabética proliferativa encontrándose niveles elevados de ambos en comparación con controles, si bien tras corregir por la concentración de proteínas en vítreo, las concentraciones de IGF-1 libre son significativamente menores en los pacientes diabéticos. Por el contrario, la concentración de VEGF sí

permanece elevada frente al grupo control, sin correlacionarse con el IGF-1²³³. Se ha visto también que la concentración de RNA mensajero de IGF-1 es tres veces menor en la retina de los pacientes diabéticos en comparación con voluntarios sanos²³⁴. Estudios en pacientes acromegálicos encuentran que los niveles plasmáticos de VEGF no son mayores que los del grupo control y no se encuentra relación entre VEGF e IGF-1 circulantes²³⁵. Se sabe que la retina tiene la capacidad de producir factores inductores e inhibidores de la angiogénesis así como sus receptores. La producción local de estos factores puede no relacionarse con sus concentraciones plasmáticas. Sería interesante conocer el rol de cada uno de estos factores en la homeostasis de la retina.

Se ha estudiado también la relación entre la GH e IGF-1 y la afectación renal en la diabetes. Se ha aislado un factor de crecimiento TGF-Beta (factor de crecimiento transformador beta) que se encuentra elevado en fases iniciales de la nefropatía y en cultivos celulares se ha visto que estimula la producción de colágeno y fibronectina por las células mesangiales²³⁰. En algún estudio se ha relacionado la hiperperfusión e hiperfiltrado renal con una mayor respuesta secretora de GH a GHRH²³⁶ así como con los niveles elevados de GH nocturnos y la disminución en IGF-1 que existe en la diabetes tipo 1^{237,238,239,240}.

En otros estudios, sin embargo, no se ha encontrado esa correlación entre IGF-1 libre y aumento del filtrado glomerular²¹⁷, aunque se ha hablado del posible papel de la producción local de IGF-1 en el desarrollo de nefropatía. Se sabe que sujetos con microalbuminuria presentan niveles de IGF-1 urinario mayores que los sujetos sin microalbuminuria, a pesar de que los niveles séricos de IGF-1 se encuentran disminuidos^{239,241}, aunque las concentraciones urinarias de una hormona peptídica no sólo dependen de la concentración local en el riñón sino también de la función tubular²⁴².

La causalidad de la GH podría tener importantes implicaciones terapéuticas, sobre todo en el campo de la retinopatía diabética donde se están llevando a cabo estudios con análogos de SS. Grant et al²⁴³ estudiaron el efecto del tratamiento con un análogo de SS, el octreótido, en pacientes con retinopatía diabética avanzada observando un enlentecimiento en la progresión de la misma. El efecto inhibitorio de la SS sobre la proliferación de las células endoteliales de la retina humana puede alcanzarse independientemente de la modulación de los niveles sistémicos de GH e IGF-1. La propia neurorretina puede ser una fuente local de SS en el ojo normal y por otra parte, los análogos de SS pueden inhibir directamente el crecimiento de las células endoteliales in vivo e in vitro^{244,245} o inhibir la señal postreceptor de IGF-1 o VEGF²⁴⁶. También se ha estudiado los efectos del tratamiento con el antagonista del receptor de GH

(pegvisomato) en la retinopatía diabética avanzada no observando en este caso regresión de la neovascularización retiniana ²⁴⁷.

El tratamiento con IGF-1 recombinante o bien la asociación IGF-1 recombinante con IGFBP3 con el objetivo de reestablecer las concentraciones plasmáticas de IGF-1 en pacientes adultos con diabetes tipo 1 se ha visto que aumenta la sensibilidad a la insulina y reduce los requerimientos de insulina así como disminuye la secreción nocturna de GH ^{26,248}. En estudios recientes han estudiado también el posible efecto renoprotector de dicho tratamiento sin que se observaran cambios en el filtrado glomerular ni en la proteinuria ²⁴⁹.

- SECRECIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO EN LA DM TIPO 1.

Los pacientes diabéticos tipo 1 presentan una alteración en la secreción de GH que, como ya hemos visto, se cree puede estar implicada en las complicaciones agudas y crónicas asociadas a la diabetes. En los últimos años numerosos autores han estudiado la secreción de GH en la diabetes y la respuesta ante distintos estímulos para intentar conocer los mecanismos implicados en esta alteración secretora. Desde hace años se sabe que los pacientes diabéticos tipo 1 tienen concentraciones basales de GH más elevadas que los sujetos normales así como un aumento de la respuesta secretora ante estímulos como L-dopa, arginina y

ejercicio físico ^{250,251}. La hiperglucemia aguda o crónica, incluso con hiperglucemias modestas, 150 mg/dl ²⁵² en voluntarios sanos suprime la secreción de GH así como la respuesta secretora ante estímulos como la GHRH. Se cree que el mecanismo que lo produce puede ser un aumento en el tono SS hipotalámico. La respuesta de GH ante GHRH en DM 1 se ha estudiado en varias ocasiones con resultados discordantes, describiéndose en algunos casos respuestas mayores que los voluntarios sanos ²¹⁰, mientras que otros encontraban una respuesta igual que la de los voluntarios sanos, siendo ésta inapropiadamente normal dada la hiperglucemia basal de los primeros ²⁵². Estas discrepancias de resultados pueden ser debidas a la variabilidad de respuestas que en voluntarios sanos presentan ante GHRH así como a diferencias en las características de los pacientes como sexo, edad y control metabólico. Asplin et al ²¹² describen que los DM 1 tienen concentraciones de GH mayores y de IGF-1 menores que voluntarios sanos y un aumento en la amplitud y la frecuencia de los pulsos secretores de GH, concluyendo que esta alteración se puede deber a una disminución en el tono SS de estos pacientes. Al mejorar el control glucémico la GH basal se equipara con la del grupo control ²⁵³. Giustina et al ²¹¹ estudian la respuesta de GH tras GHRH en DM tipo 1 y 2 previo tratamiento con piridostigmina (PD). La PD es un inhibidor de la acetilcolinesterasa que se ha visto que restablece la respuesta secretora de GH tras GHRH en obesos ¹⁰⁸, su mecanismo de acción se cree que es disminuyendo el tono SS hipotalámico. El efecto de PD sobre la secreción

de GH en DM 1 varía según como sea la respuesta previa de GH tras GHRH. Así los pacientes con una respuesta exagerada a GHRH la PD no aumenta la respuesta de GH a GHRH mientras que en los que tenían respuesta de GH tras GHRH normal sí que aumentan significativamente la respuesta secretora tras PD. Se cree que esta respuesta exagerada de GHRH en algunos diabéticos tipo 1 refleja una disminución en el tono SS por lo que no responderían más en presencia de PD. Posteriormente se ha estudiado la respuesta ante otros estímulos como GHRP-6 y se ha visto que los pacientes diabéticos tipo 1 mantienen la respuesta de GH a GHRP-6 y GHRH con cifras iguales ²¹³ o incluso superiores ²¹⁴ a los controles a pesar de tener niveles elevados de glucemia, lo cual en individuos normales suprimirían la respuesta secretora de GH. Ello confirma que los diabéticos tipo 1 tienen una secreción anormal de GH así como una respuesta alterada ante distintos estímulos. Se desconoce la causa de esta alteración aunque se cree que puede ser debido a una disminución en el tono SS hipotalámico así como unos niveles de IGF-1 menores que ejercerían un feedback negativo menor sobre la secreción de GH ²¹¹. Se necesitaran más estudios para aclarar las causas de esta alteración. Recientemente se ha visto que los pacientes diabéticos tipo 1 tienen una alteración en el aclaramiento plasmático de la GH lo cual también contribuye al aumento de las concentraciones plasmáticas de GH en estos pacientes ²⁵⁴.

Las alteraciones en la secreción de GH no son similares en los diabéticos tipo 1 o 2. En la diabetes tipo 2 se ha descrito una respuesta de GH ante diferentes estímulos como arginina o Ldopa disminuida frente a controles sanos ^{255,256}. Los efectos de la hiperglucemia crónica podrían ser distintos en la diabetes tipo 1 y 2. Se plantea la hipótesis de que la hiperglucemia aguda o crónica en un contexto de insulina normal o elevada produce un descenso en la secreción de GH debido a un aumento en el tono SS hipotalámico mientras que con déficit de insulina produciría los efectos contrarios. Se desconoce porque se producen estas alteraciones aunque hay hipótesis que hablan de una alteración inmunológica de las células SS en la diabetes tipo 1 ^{257,258}. Indudablemente, el déficit de insulina juega un papel importante en la génesis de estas alteraciones, ya que se ha visto que los pacientes DM 1 con secreción residual de insulina tienen niveles de GH menores que los que no segregan insulina ²¹⁸. Además la insulina juega un papel importante en la regulación de la producción hepática de IGF-1 así como en la expresión del receptor tisular hepático de GH ²¹⁸.

II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS:

Estudiar los mecanismos fisiopatológicos responsables de la alteración de la secreción de hormona de crecimiento en dos enfermedades metabólicas de elevada prevalencia, la obesidad y la diabetes mellitus tipo 1.

Para ello utilizamos diversos estímulos secretorios con los siguientes objetivos concretos:

- Evaluar la respuesta secretora de GH al estímulo con GHRH y el cese de la administración de somatostatina en pacientes obesos y normales sanos.
- Evaluar el efecto de la administración exógena de ghrelina sobre la secreción de GH basal y estimulada por GHRH en pacientes obesos y normales.
- Evaluar la respuesta comparada de cuatro diferentes estímulos secretorios de GH en la obesidad, el hipopituitarismo y sujetos normales.
- Evaluar si el aumento en la secreción de GH en los pacientes diabéticos tipo 1 puede ser debido a una alteración en el efecto inhibitorio que ejercen los ácidos grasos libres.

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

III. MATERIAL Y MÉTODOS:

Han participado un total de 23 pacientes obesos, 6 diabéticos tipo 1, 8 pacientes con hipopituitarismo y 29 voluntarios sanos como grupo control.

Todos los estudios se realizaron ajustándose a las normas internacionales de investigación en seres humanos y con el consentimiento informado de los participantes tras haber sido informados del objetivo del estudio y de los riesgos potenciales de las pruebas.

Las pruebas comenzaron a las 9:00 de la mañana con el sujeto en decúbito supino y tras una noche de ayuno. Se colocó un catéter iv. en una vena del antebrazo, que se mantuvo permeable con infusión lenta de suero salino (CLNa 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 se administró en el tiempo 0.

Las pruebas fueron realizadas en orden aleatorio y separadas entre ellas por al menos una semana. En cada extracción se obtuvo 6ml de sangre que se centrifugó a 500 g durante 10 minutos. El suero obtenido se conservó congelado a -20 grados hasta su análisis.

La obesidad se definió por un índice de masa corporal (I.M.C.) superior a 30 Kg/m². Ninguno de los pacientes obesos o normales estudiados tenían diabetes mellitus ni otra endocrinopatía o problema médico. Asimismo ningún paciente obeso estaba tomando ninguna medicación. Se indicó a los pacientes que continuaran realizando su régimen de comida habitual mientras duraban las pruebas con el fin de mantener un peso estable durante las mismas.

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. Todos los pacientes con hipopituitarismo presentaron una respuesta alterada a la hipoglucemia insulínica (ITT) (0.1 U/Kg., iv) con un pico de secreción de GH menor de 3 µg/L. Los pacientes recibieron dosis fisiológicas sustitutivas de L –tiroxina y/o glucocorticoides y/o esteroides gonadales cuando así lo precisaron. Los diagnósticos etiológicos de los pacientes con hipopituitarismo fueron los siguientes: cuatro adenomas hipofisarios no funcionantes, un macroprolactinoma hipofisario tratado con cirugía, un síndrome de Sheehan, una silla turca vacía y un hipopituitarismo idiopático.

Los pacientes diabéticos tenían una duración media de la diabetes de 8.4 ± 2.5 años. El nivel medio de HbA1c en el momento de realizar las pruebas fue de $7.6 \pm 0.6\%$ (normal $< 5.5\%$). Los pacientes estaban recibiendo dos o tres inyecciones diarias de insulina. Ningún paciente tenía evidencia clínica ni bioquímica de nefropatía. Ningún paciente estaba tomando otra medicación a parte de la insulina antes ni durante las pruebas.

EXPERIMENTO 1:

SECRECIÓN DE GH TRAS ESTÍMULO CON GHRH EN PACIENTES NORMALES.

Se estudió un grupo de siete sujetos normales (6 mujeres y 1 hombre) sanos, con una edad media de 34.5 ± 2.1 años y un IMC medio de 20.1 ± 0.6 .

Cada paciente fue sometido a dos pruebas en dos días diferentes y separados entre ellas por al menos una semana:

1. Perfusión continua de 150mmol/ NACL del minuto 0 al 90 seguida por la administración de un bolo de placebo i.v. en el minuto 90 tras la suspensión de la perfusión.
2. Perfusión continua de 150mmol/ NACL del minuto 0 al 90 seguida por la administración de un bolo de GHRH (100 µg i.v.) en el minuto 90 tras la suspensión de la perfusión.

Las extracciones sanguíneas se realizaron a intervalos regulares. Se determinó GH, Glucosa e insulina en cada tiempo.

EXPERIMENTO 2:

SECRECIÓN DE GH TRAS ESTÍMULO CON GHRH EN PACIENTES OBESOS.

Se estudió un grupo de siete pacientes obesos sanos (6 mujeres, 1 hombre), con una edad media de 34.7 ± 4.8 y un I.M.C. medio de 32.2 ± 2.3 .

Cada paciente fue sometido a dos pruebas en dos días diferentes y separados entre ellas por al menos una semana:

1. Perfusión continua de 150mmol/ NACL del minuto 0 al 90 seguida por la administración de un bolo de placebo i.v. en el minuto 90 tras la suspensión de la perfusión.
2. Perfusión continua de 150mmol/ NACL del minuto 0 al 90 seguida por la administración de un bolo de GHRH (100 μ g i.v.) en el minuto 90 tras la suspensión de la perfusión.

Las extracciones sanguíneas se realizaron a intervalos regulares. Se determinó GH, Glucosa e insulina en cada tiempo.

EXPERIMENTO 3:

SECRECIÓN DE GH TRAS ESTÍMULO CON GHRH Y SUSPENSIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN DE SOMATOSTATINA EN SUJETOS NORMALES.

En este estudio participaron 7 pacientes sanos delgados (6 mujeres y 1 hombre) con una edad media de 30.5 ± 2.9 años y un I.M.C. medio 20.3 ± 0.9 Kg/m².

Cada paciente fue sometido a las siguientes pruebas:

1. Perfusión de somatostatina (500 µg i.v. del minuto 0 al 90) y administración de bolo de placebo iv tras el cese de la perfusión.
2. Perfusión de somatostatina (500 µg i.v. del minuto 0 al 90) y administración de GHRH (100 µg) en bolo i.v. en el minuto 90 tras el cese de la perfusión.

Las extracciones sanguíneas se realizaron a intervalos regulares. Se determinó GH, Glucosa e insulina en cada tiempo.

EXPERIMENTO 4:

SECRECIÓN DE GH TRAS ESTÍMULO CON GHRH Y SUSPENSIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN DE SOMATOSTATINA EN PACIENTES OBESOS.

En este estudio participaron 7 pacientes obesos sanos (6 mujeres y 1 hombre), con una edad media de 39.9 ± 4.2 y un IMC medio de 36.1 ± 7.7 Kg/m².

Cada paciente fue sometido a las siguientes pruebas:

1. Perfusión de somatostatina (500 µg i.v. del minuto 0 al 90) y administración de bolo de placebo i.v. tras el cese de la perfusión.
2. Perfusión de somatostatina (500 µg i.v. del minuto 0 al 90) y administración de GHRH (100 µg) en bolo i.v. en el minuto 90 tras el cese de la perfusión.

Las extracciones sanguíneas se realizaron a intervalos regulares. Se determinó GH, Glucosa e insulina en cada tiempo.

EXPERIMENTO 5:

ESTUDIO DE LA SECRECIÓN DE GH TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE GHRELINA SOLA Ó COMBINADA CON GHRH EN SUJETOS NORMALES.

Estudiamos seis mujeres normales sanas con una edad media de $29 \pm 3,4$ años y un I.M.C. medio de 20.3 ± 0.9 Kg/m².

Cada paciente fue sometida a las siguientes pruebas:

1. Administración de Ghrelina 100 µg i.v. en el minuto 0.
2. Administración de GHRH 100 µg i.v. en el minuto 0.
3. Administración de Ghrelina 100 µg i.v.+ GHRH 100 µg i.v. en el minuto 0.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de GH (µg/L).

EXPERIMENTO 6:

ESTUDIO DE LA SECRECIÓN DE GH, TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE GHRELINA SOLA Ó COMBINADA CON GHRH EN PACIENTES OBESOS.

Estudiamos seis mujeres obesas, con una edad media de $31 \pm 3,4$ años y un I.M.C. medio de $37,5 \pm 2 \text{Kg/m}^2$.

Cada paciente fue sometida a las siguientes pruebas:

1. Administración de Ghrelina $100 \mu\text{g}$ i.v. en el minuto 0.
2. Administración de GHRH $100 \mu\text{g}$ i.v. en el minuto 0.
3. Administración de Ghrelina $100 \mu\text{g}$ i.v. + GHRH $100 \mu\text{g}$ i.v. en el minuto 0.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de GH ($\mu\text{g/L}$).

EXPERIMENTO 7:

ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE INSULINA Y GLUCEMIA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE GHRELINA SOLA Ó COMBINADA CON GHRH EN PACIENTES OBESOS.

Estudiamos seis mujeres obesas, con una edad media de $31 \pm 3,4$ años y un I.M.C. medio de $37,5 \pm 2 \text{Kg/m}^2$.

Cada paciente fue sometida a las siguientes pruebas:

1. Administración de Ghrelina $100 \mu\text{g}$ i.v. en el minuto 0.
2. Administración de Placebo $100 \mu\text{g}$ i.v. en el minuto 0.
3. Administración de Ghrelina $100 \mu\text{g}$ i.v.+ GHRH $100 \mu\text{g}$ i.v. en el minuto 0.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de glucemia e insulina.

EXPERIMENTO 8:

RESPUESTA A DIFERENTES ESTÍMULOS DE SECRECIÓN DE GH EN NORMALES.

Estudiamos 10 sujetos normales sanos (5 mujeres y 5 hombres) con una edad media de 48.1 ± 2.8 años.

Cada paciente fue sometido a cuatro pruebas,:

1. Hipoglucemia insulínica (0.1 U/kg, iv, 0 min; 0.15 U/kg para obesos).
2. Administración de GHRH 100 μg iv en el minuto 0.
3. Administración de Acipimox 250 mg v.o. en el minuto - 270 y - 60 y administración de GHRH 100 μg iv en el minuto 0.
4. Administración de GHRH 100 μg iv en el minuto 0 más GHRP-6 100 μg iv en el minuto 0.

La GH se determinó por RIA.

EXPERIMENTO 9:

RESPUESTA A DIFERENTES ESTÍMULOS DE SECRECIÓN DE GH EN ADULTOS CON HIPOPITUITARISMO.

Estudiamos 8 adultos con hipopituitarismo (4 mujeres y 4 hombres) con una edad media de 48.8 ± 1.4 años.

Cada paciente fue sometido a cuatro pruebas:

1. Hipoglucemia insulínica (0.1 U/kg, iv, 0 min; 0.15 U/kg para obesos).
2. Administración de GHRH 100 μ g iv en el minuto 0.
3. Administración de Acipimox 250 mg v.o. en el minuto – 270 y – 60 y administración de GHRH 100 μ g iv en el minuto 0.
4. Administración de GHRH 100 μ g iv en el minuto 0 más GHRP-6 100 μ g iv en el minuto 0.

La GH se determinó por RIA.

EXPERIMENTO 10:

RESPUESTA A DIFERENTES ESTÍMULOS DE SECRECIÓN DE GH EN OBESOS.

Estudiamos 10 pacientes obesos sanos (5 mujeres y 5 hombres) , con una edad media de 48.1 ± 2.5 años y un IMC medio de 34.2 ± 1.2 kg/m².

Cada paciente fue sometido a cuatro pruebas:

1. Hipoglucemia insulínica (0.1 U/kg, iv, 0 min; 0.15 U/kg para obesos)
2. Administración de GHRH 100 µg iv en el minuto 0.
3. Administración de Acipimox 250 mg v.o. en el minuto – 270 y – 60 y administración de GHRH 100 µg iv en el minuto 0.
4. Administración de GHRH 100 µg iv en el minuto 0 más GHRP-6 100 µg iv en el minuto 0.

La GH se determinó por RIA.

EXPERIMENTO 11:

EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES CON ACIPIMOX SOBRE LA SECRECIÓN DE GH INDUCIDA POR GHRH EN CONTROLES NORMALES SANOS.

Estudiamos 6 pacientes normales sanos (3 mujeres, 3 hombres) con una edad media de 34 ± 2.6 años y un IMC medio de 23.1 ± 1.5 kg/m².

Cada paciente fue sometido a las siguientes pruebas:

1. Administración de placebo v.o. en el minuto 0 y 120 y GHRH i.v. en el min. 180.
2. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y placebo i.v. en el minuto 180.
3. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y GHRH (1µg/Kg i.v.) en el minuto 180.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de GH.

EXPERIMENTO 12:

EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES CON ACIPIMOX SOBRE LA SECRECIÓN DE GH EN DIABÉTICOS TIPO 1.

Estudiamos 6 pacientes diabéticos tipo 1 (3 mujeres, 3 hombres) con una edad media de 30 ± 2.1 años y un IMC medio de 23.1 ± 1.5 kg/m².

Cada paciente fue sometido a las siguientes pruebas:

1. Administración de placebo v.o. en el minuto 0 y 120 y placebo i.v. en el min. 180.
2. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y placebo i.v. en el minuto 180.
3. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y GHRH (1µg/Kg i.v.) en el minuto 180.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de GH.

EXPERIMENTO 13:

EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES CON ACIPIMOX SOBRE LA GLUCEMIA, ÁCIDOS GRASOS LIBRES E IGF-1 EN CONTROLES NORMALES SANOS.

Estudiamos 6 pacientes normales sanos (3 mujeres, 3 hombres) con una edad media 34 ± 2.6 años y un IMC medio de 23.1 ± 1.5 kg/m².

Cada paciente fue sometido a la siguientes prueba:

1. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y placebo i.v. en el minuto 180.
2. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y GHRH (1µg/Kg i.v.) en el minuto 180.
3. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y GHRH (1µg/Kg i.v.) en el minuto 180.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de ácidos grasos libres, IGF 1 basal y glucemia,

EXPERIMENTO 14:

EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES CON ACIPIMOX SOBRE LA GLUCEMIA, ÁCIDOS GRASOS LIBRES E IGF-1 EN DIABÉTICOS TIPO 1:

Estudiamos 6 pacientes diabéticos tipo 1 (3 mujeres, 3 hombres) con una edad media de 30 ± 2.1 años y un IMC medio de 23.1 ± 1.5 kg/m².

Cada paciente fue sometido a la siguiente prueba:

1. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y placebo i.v. en el minuto 180.
2. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y GHRH (1µg/Kg i.v.) en el minuto 180.
3. Administración de acipimox (250 mg v.o.) en el minuto 0, 120 y GHRH (1µg/Kg i.v.) en el minuto 180.

Se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares para la determinación de ácidos grasos libres, IGF1 basal y glucemia .

- **DETERMINACIONES HORMONALES**

Las determinaciones plasmáticas hormonales de GH se realizaron mediante técnicas de inmunoquimioluminiscencia (Immulite, EURO/DPC) (factor de conversión para unidades del SI $\mu\text{g/l} \times 2.6 = \text{mIU/l}$) con una sensibilidad de $0.01 \mu\text{g/L}$ y con coeficientes de variación entre las pruebas de 5.3%, 6% y 6.5% para niveles de GH bajo, medio y alto respectivamente.

Las determinaciones plasmáticas de IGF-1 se realizaron mediante radioimmunoanálisis (Nichols Institute, San Juan Capistrano. CA, USA) con coeficientes de variación entre las pruebas de 4.8%, 5.2% y 4.4% para niveles plasmáticos de IGF-1 bajos, medios y altos respectivamente.

La glucemia plasmática (mmol/l) se determine con un método de glucosa oxidasa automático (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

La insulina (mU/L) se determinó con inmunoquimioluminiscencia (Immulite 2000 Insulin, DPC, Los Angeles, CA, USA) con coeficientes de variación intraprueba de 5.5%, 3.3% y 3.7% para niveles de insulina bajos, medios y altos respectivamente.

Los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres se determinaron por un método enzimático colorimétrico (NEFA-HA, Wako, Zaragoza, España).

Todas las muestras de cada paciente fueron analizadas en el mismo aparato. Los niveles hormonales se presentan como valores absolutos o como pico de GH medio. El área bajo la curva se calculó por el método trapezoidal.

- **FARMACOS Y DOSIS**

Somatostatina: Somiaton, ampollas 250 µg, Serono, Madrid, España.

GHRH: Geref, GRF 1-29, ampollas 50 µg, madrid, españa.

Acipimox: Olbetam, capsulas 250 mg, Marino del Tronto, Italia.

Ghrelina: Ghrelina, ampollas 90 µg, Europeptides, Argenteuil, Francia

- **ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

Los datos se presentan en forma de media +/- error estándar. El análisis estadístico se realizó por medio de pruebas no paramétricas, en el caso de muestras apareadas se utilizó el test de wilcoxon y para muestras no apareadas el test de Mann-Whitney. El nivel de significación estadística se estableció en $p < 0.05$, en algunos casos de múltiples análisis-correlaciones se estableció una $p < 0.01$ como significativa.

IV. RESULTADOS:

IV. RESULTADOS:

EXPERIMENTO 1 y 2:

EL estímulo con GHRH produce un pico medio de secreción de GH en controles normales de 25 ± 6.8 $\mu\text{g/L}$, con un área bajo la curva (AUC) media de GH ($\mu\text{g/L}\times 120$ min) de 1583.8 ± 208.1 .

La secreción de GH estimulada con GHRH se encuentra disminuida en pacientes obesos, con un pico medio de secreción de GH de 3.9 ± 1.5 $\mu\text{g/L}$. ($p < 0.05$ respecto a normales) y un AUC 292.1 ± 123.4 ($p < 0.05$ respecto a normales).

Si comparamos la respuesta de normales y obesos tras GHRH, se encuentra significativamente disminuida en obesos comparado con normales ($p < 0.05$) con un pico medio de GH de 25 ± 6.8 $\mu\text{g/L}$ y 3.9 ± 1.5 $\mu\text{g/L}$. respectivamente.

EXPERIMENTO 3 y 4:

El cese de la perfusión de somatostatina (SSIW) produjo un pico medio de secreción de GH de 3.1 ± 1.5 $\mu\text{g/L}$. en normales y un AUC de 276.1 ± 32.9 . El estímulo con GHRH tras la SSIW produce un pico medio de secreción de GH en controles normales de 23.3 ± 4.4 $\mu\text{g/L}$, con un AUC de 1111.2 ± 215.6 ., significativamente mayor que la respuesta tras SSIW (3.1 ± 1.5 $\mu\text{g/L}$. $p < 0.05$) ó GHRH (15.8 ± 2.1 $\mu\text{g/L}$ $p < 0.05$) solos.

El cese de la perfusión de somatostatina produce una mínima respuesta secretora en obesos con un pico medio de secreción de GH de 1.0 ± 0.4 $\mu\text{g/L}$, AUC 43.9 ± 11.5 . El estímulo con GHRH en obesos tras la SSIW produce un aumento en la secreción de GH, con un pico medio de 4.3 ± 0.9 $\mu\text{g/L}$ y un AUC de 137.9 ± 28.7 , significativamente mayor que la respuesta tras SSIW sola ($p < 0.05$) pero no tras GHRH solo ($p = \text{NS}$).

Si comparamos la respuesta de normales y obesos tras SSIW solo, se encuentra disminuida en ambos con un pico medio de GH de 3.1 ± 1.5 $\mu\text{g/L}$ y 1.0 ± 0.4 $\mu\text{g/L}$ para normales y obesos respectivamente y un AUC media de 276.1 ± 32.9 y 43.9 ± 11.5 para normales y obesos respectivamente ($p < 0.05$). Si comparamos la respuesta de normales y obesos tras SSIW y GHRH, se encuentra disminuida en obesos comparado con normales ($p < 0.05$) con un pico medio de GH de 23.3 ± 4.4 $\mu\text{g/L}$ y 4.3 ± 0.9 $\mu\text{g/L}$ para normales y obesos respectivamente y un AUC media de 1111.2 ± 215.6 y 137.9 ± 28.7 para normales y obesos respectivamente ($p < 0.05$).

Considerando los resultados de manera individual, el pico de secreción de GH tras SSIW está claramente disminuido en todos los pacientes obesos y ligeramente aumentados en los controles normales. Asimismo, individualmente, el pico de GH tras SSIW +GHRH se encuentra reducido en todos los pacientes obesos si lo comparamos con los normales, siendo el pico de respuesta más alto de GH para obesos 8.1 $\mu\text{g/L}$ y el más bajo para normales de 10.3 $\mu\text{g/L}$.

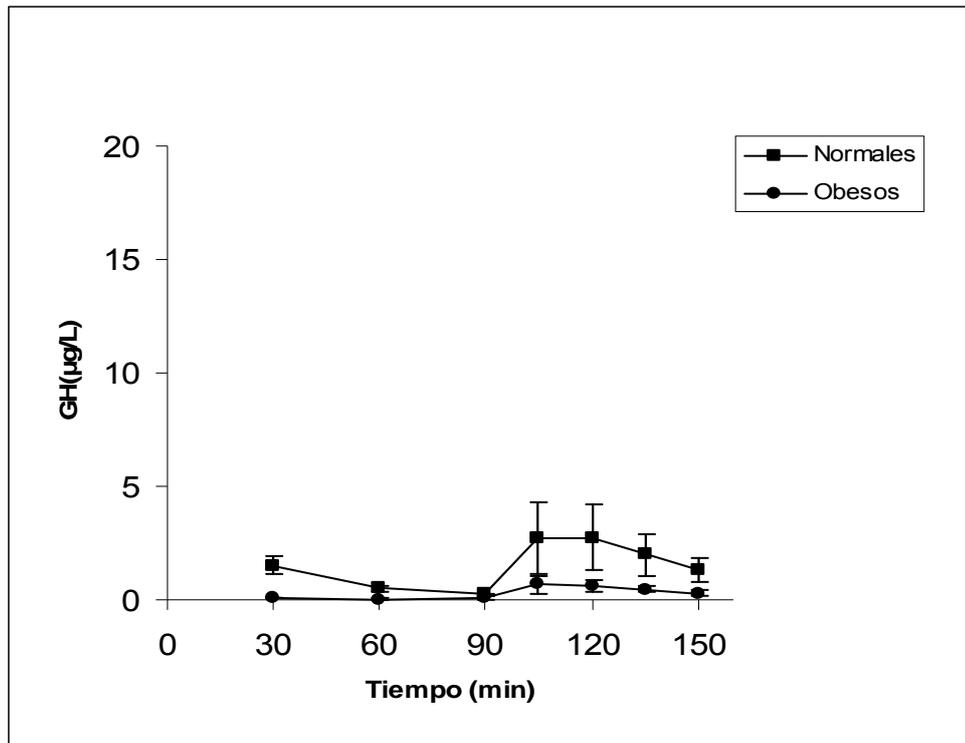


Fig 1: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en normales (■) y obesos(●) tras la administración de perfusión de SS y placebo.

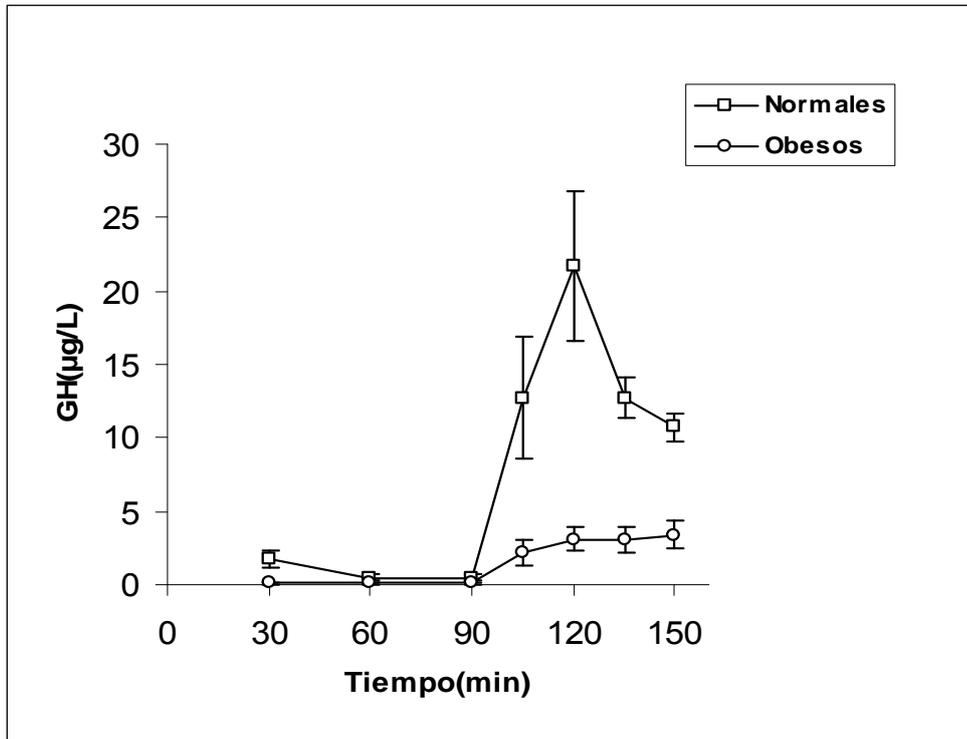


Fig 2: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en normales (\square) y obesos (\circ) tras la administración de perfusión de SS y GHRH.

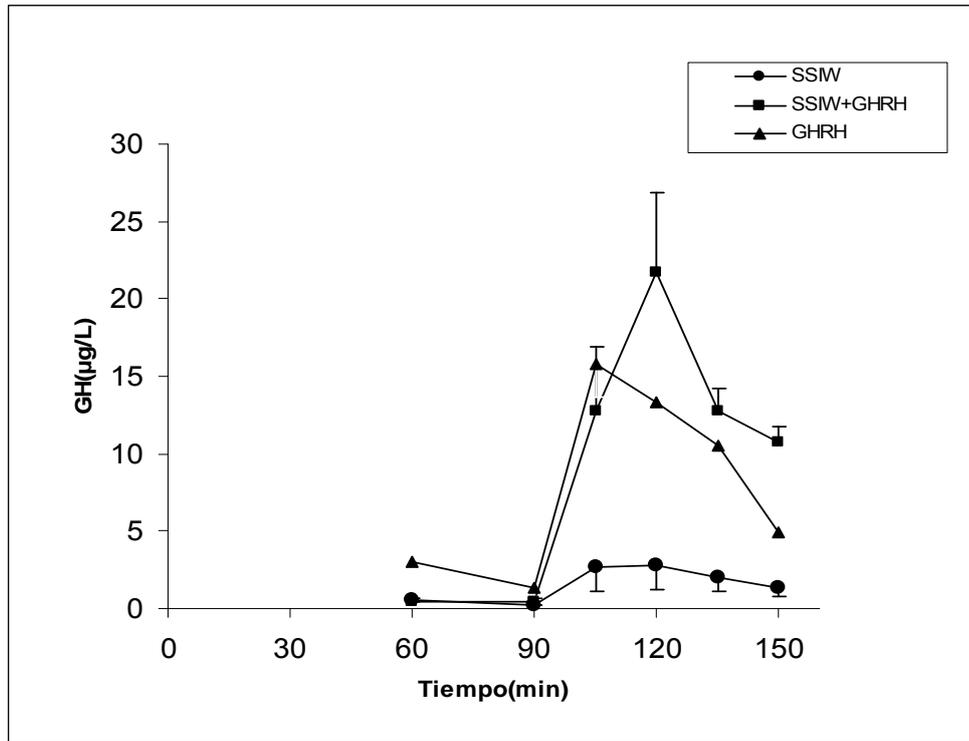


Fig 3: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en sujetos normales tras la administración de SS (SSIW) (\circ), GHRH (Δ) o SSIW+GHRH (\square)

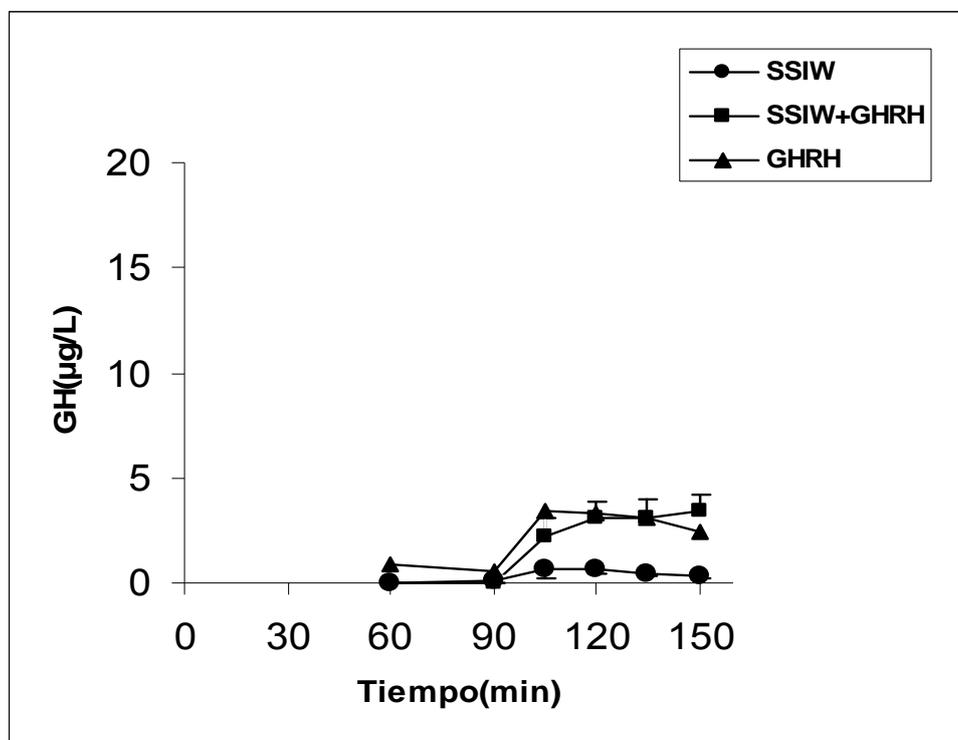


Fig 4: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en sujetos obesos tras la administración de SS (SSIW) (\bullet), GHRH (\blacktriangle) o SSIW+GHRH (\blacksquare)

EXPERIMENTO 5 Y 6:

La administración de GHRH produjo un pico medio de secreción de GH en controles normales de 25.5 ± 2.8 $\mu\text{g/L}$. El área bajo la curva (AUC) media de GH ($\mu\text{g/L} \times 120$ min) tras la administración de GHRH en normales fue de 1583.9 ± 208.1 .

La secreción de GH tras la administración de ghrelina en normales produjo un pico medio de 70.1 ± 14.4 , que fue significativamente mayor que la respuesta tras GHRH solo ($p < 0.05$). El AUC media de GH tras la administración de ghrelina en controles normales fue de 3847.2 ± 908.4 , significativamente mayor que la respuesta tras GHRH solo ($p < 0.05$).

La administración combinada de GHRH y ghrelina en controles normales produjo un pico medio de secreción de GH de 139.5 ± 29.7 significativamente mayor que la respuesta tras GHRH o ghrelina solos ($p < 0.05$). El AUC media tras la administración combinada de GHRH y ghrelina fue de 10204.5 ± 2118.8 , significativamente mayor que la respuesta tras GHRH o ghrelina solos. ($p < 0.05$).

Tras GHRH, el pico medio de secreción de GH en pacientes obesos fue de 3.9 ± 1.4 . El AUC media de GH tras la administración de GHRH en obesos fue de 292.1 ± 123.4 . La administración de ghrelina produjo un pico medio de secreción de GH en obesos de 32.7 ± 11.1 , que fue

significativamente mayor que la respuesta tras GHRH solo ($p < 0.05$). El AUC media de GH tras la administración de ghrelina en obesos fue de 1451.7 ± 434.1 , significativamente mayor que la respuesta tras GHRH sola ($p < 0.05$). La administración combinada de GHRH y ghrelina en obesos produjo un pico medio de secreción de GH de 50.5 ± 15.2 , que fue significativamente mayor que la respuesta tras GHRH ($p < 0.05$) o ghrelina ($p < 0.05$). El AUC media de GH en obesos tras la administración combinada de GHRH y ghrelina fue de 2279.3 ± 802.3 , significativamente mayor que la respuesta tras GHRH o ghrelina solos ($p < 0.05$).

Si comparamos la respuesta en controles normales y pacientes obesos tras GHRH solo, está marcadamente disminuida en obesos ($p < 0.05$) con un pico medio de GH de 25.5 ± 2.8 y $3.9 \pm 1.4 \mu\text{g/L}$ para normales y obesos respectivamente. ($p < 0.05$) y un AUC media de 1583.8 ± 208.1 y 292.1 ± 123.4 para normales y obesos respectivamente. ($p < 0.05$).

Si comparamos la respuesta de normales y obesos tras ghrelina solo, está disminuida en obesos con un pico medio de GH de 70.1 ± 14.4 y 32.7 ± 11.1 para normales y obesos respectivamente ($p < 0.05$) y un AUC media de 3847.2 ± 908.4 y 1451.7 ± 434.1 para normales y obesos respectivamente. ($p < 0.05$). Si comparamos la respuesta de normales y obesos tras GHRH y ghrelina se encuentra disminuida en obesos con un pico medio de GH de 139.5 ± 29.7 y 50.5 ± 15.2 para normales y obesos

respectivamente ($p < 0.05$) y un AUC media de 10204.5 ± 2118.5 y 2279.3 ± 802.2 para normales y obesos respectivamente ($p < 0.05$).

Los niveles de IGF-1 medios (con rango) fueron de 230 (210-270) y 212 (200-272) para normales y obesos respectivamente sin que hubiera diferencias significativas entre ambos niveles.

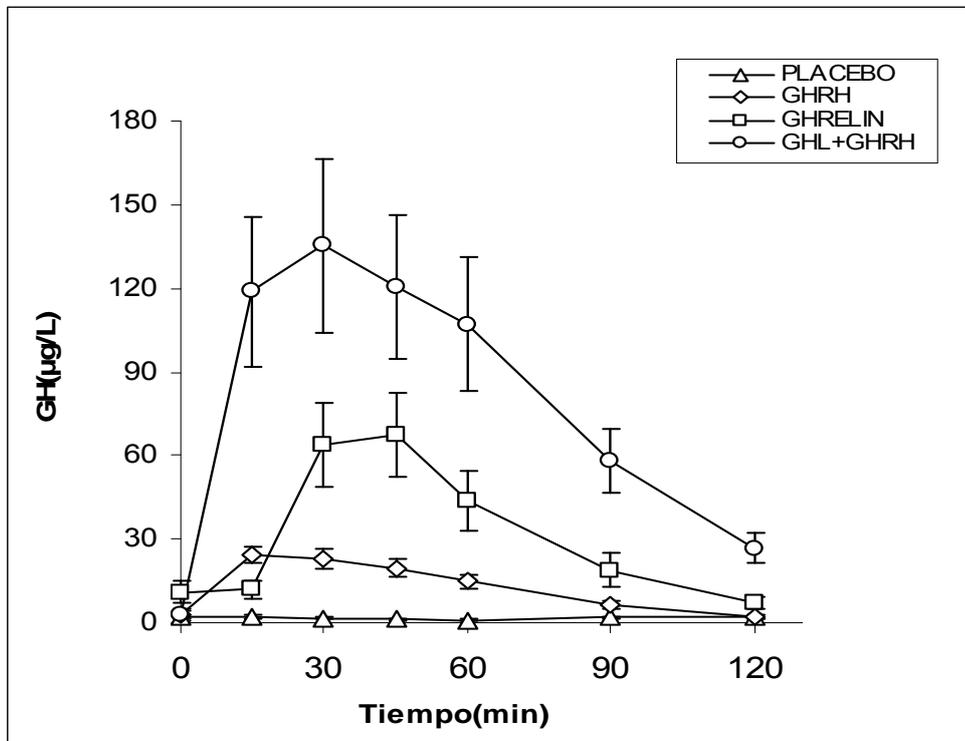


Fig 5: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en controles normales tras la administración de, placebo (Δ), GHRH(\diamond), ghrelina(\square) o ghrelina+GHRH (\circ)

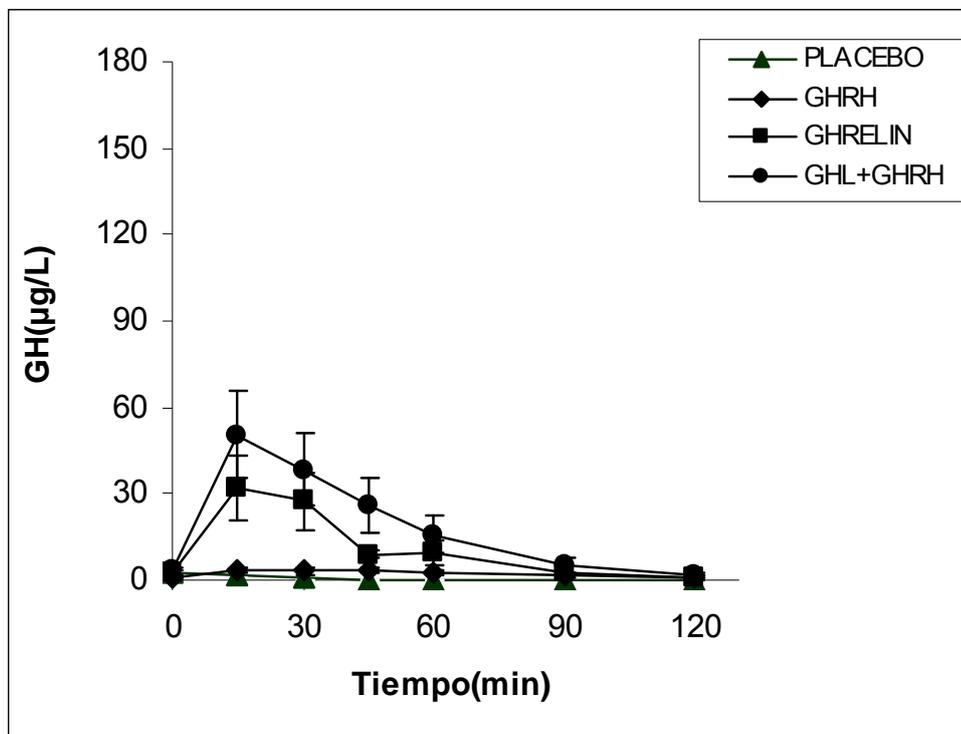


Fig 6: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en pacientes obesos tras la administración de placebo(▲), GHRH(◆), ghrelina(■) o ghrelina+GHRH (●)

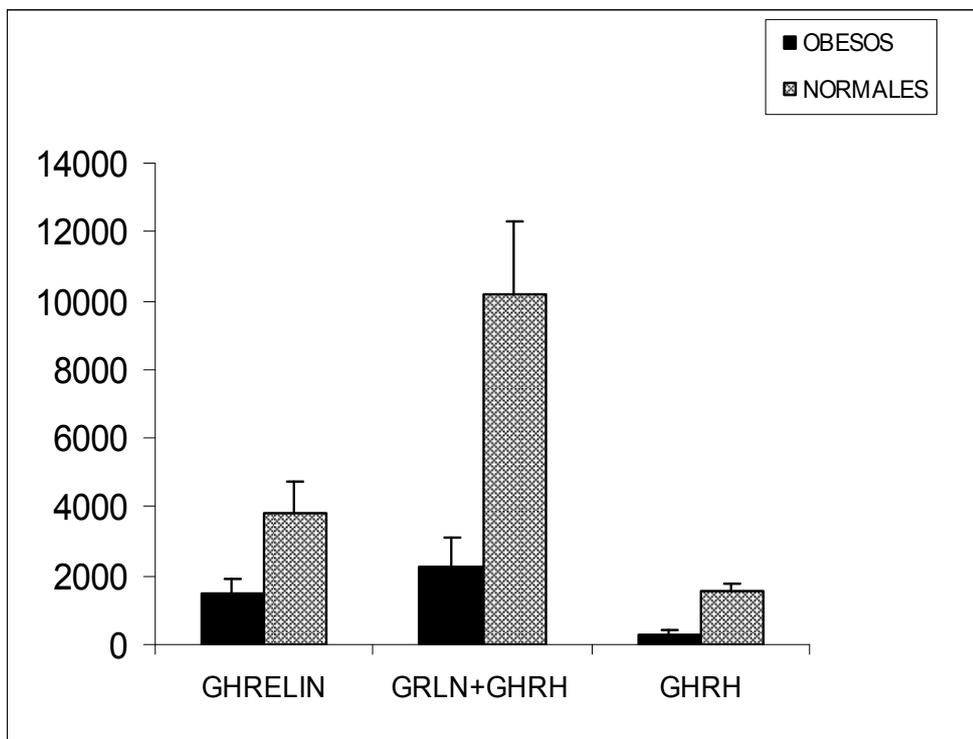


Fig 7: Área bajo la curva de GH (media±ES) tras la administración de ghrelina, GHRH y ghrelina+GHRH en normales (▨) y obesos (■)

EXPERIMENTO 7:

En pacientes obesos, los niveles de glucosa basales (mmol/l, media \pm SEM y rango) fueron 4.7 \pm 0.2 (4.2-5.4), 4.7 \pm 0.2 (4.1-5.4) y 4.9 \pm 0.3 (3.9-6.1), tras placebo, ghrelina y ghrelina+ GHRH respectivamente y similares en las tres pruebas. Los niveles de insulina basales (mU/l, media \pm SEM y rango) fueron 12.8 \pm 5.1 (4.5-22.5), 10.4 \pm 1.4 (5.5-15.5) y 10.7 \pm 2.4 (2.3-18.7), tras placebo, ghrelina y ghrelina + GHRH respectivamente, y similares en las tres pruebas. Los niveles de GH basal (μ g/l, media \pm SEM y rango) fueron 1.5 \pm 0.7 (0.1-3.8), 2.2 \pm 1.4 (0.1-3.6) y 2.9 \pm 1.3 (0.1-4.7), tras placebo, ghrelina y ghrelina + GHRH respectivamente, y similares en las tres pruebas. Los niveles de IGF-1 basales (μ g/l) fueron 237 \pm 12.

El pico medio de secreción de glucosa (mmol/l) tras placebo fue de 4.9 \pm 0.20.

El pico medio tras la administración de ghrelin fue de 5.1 \pm 0.2, sin diferencias significativas con respecto a la respuesta tras placebo.(P=NS).

El pico medio de glucosa tras la administración de ghrelina+ GHRH en obesos fue de 5.1 \pm 0.2, sin diferencias significativas con respecto a la respuesta tras placebo (p=NS). El área bajo la curva media (Δ AUC (mmol/l·min)) fue de -15.3 \pm 10.9, 18.5 \pm 13.2 y -1.1 \pm 8.4 tras placebo, ghrelina y ghrelina + GHRH respectivamente, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las distintas pruebas.(p=NS)

El pico medio de secreción de insulina (mU/l) en obesos tras placebo fue de 16.1 ± 6.1 . El pico medio de insulina tras la administración de ghrelina fue de 12.3 ± 1.6 , sin diferencias significativas con la respuesta tras placebo ($p=NS$). El pico medio de secreción de insulina tras la administración de ghrelina + GHRH fue de 11.1 ± 2.7 , sin diferencias significativas con la respuesta tras placebo ($P=NS$). El Δ AUC (mU/l·min) media fue de -196 ± 183 , -126 ± 114 y -90 ± 82 , tras placebo, ghrelina y ghrelina + GHRH respectivamente, no hubo diferencias significativas entre las distintas pruebas.

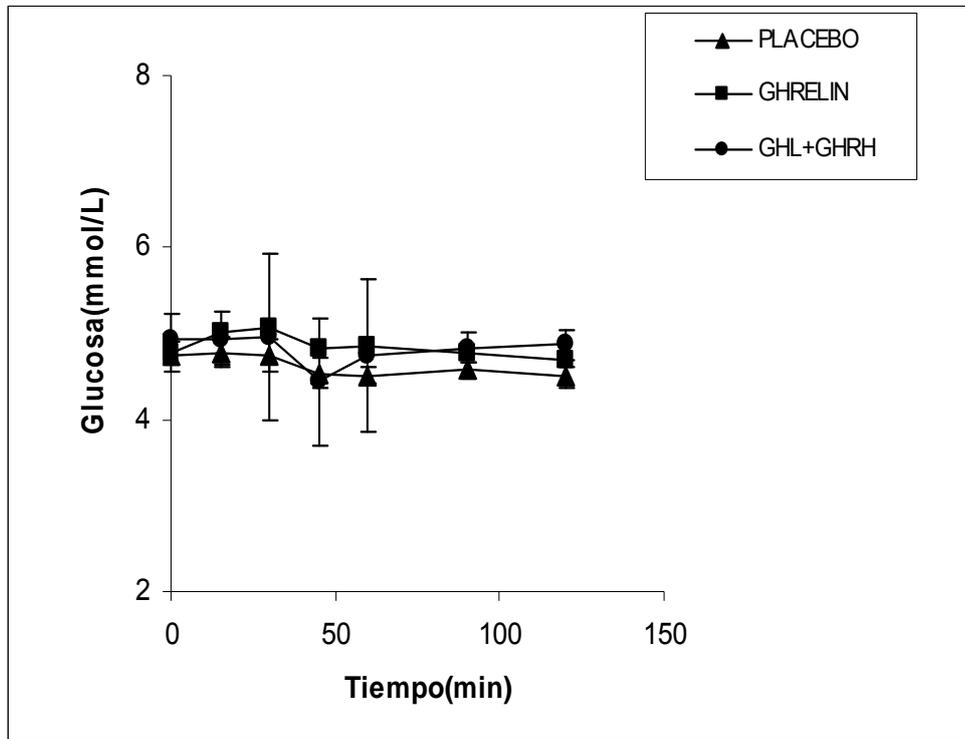


Fig 8: Niveles de glucosa (mmol/L) (media \pm ES) plasmática en pacientes obesos tras la administración de, placebo (▲), ghrelina(■) o ghrelina+GHRH (●)

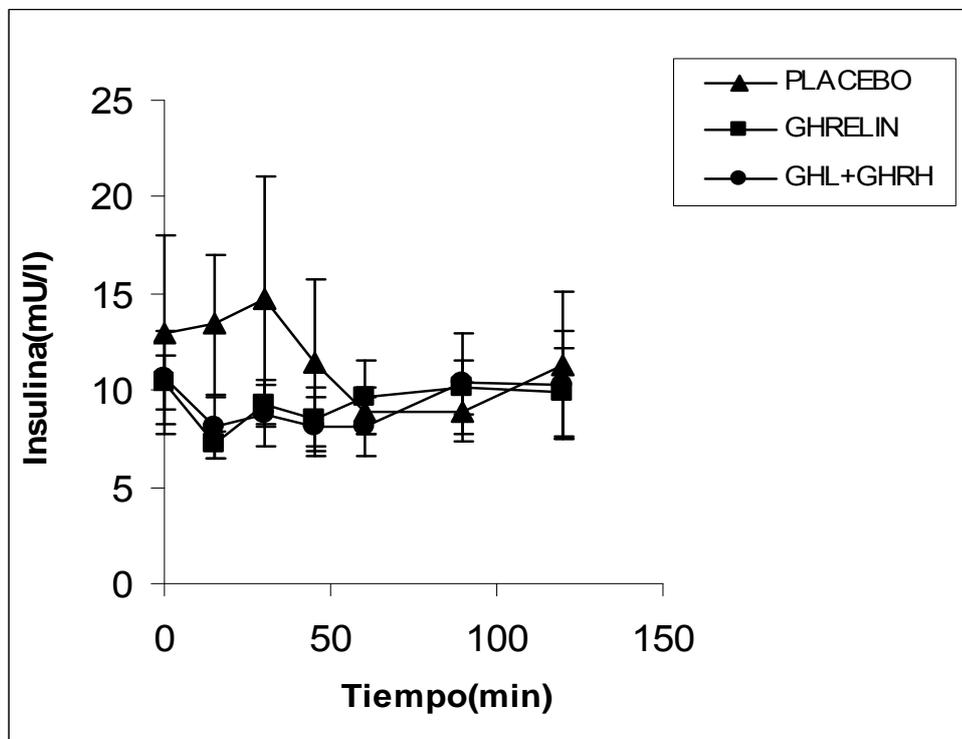


Fig 9: Niveles de insulina (mU/L) (media \pm ES) plasmática en pacientes obesos tras la administración de, placebo (▲), ghrelina(■) o ghrelina+GHRH (●)

EXPERIMENTO 8, 9 y 10:

El pico medio de secreción de GH tras la hipoglucemia insulínica (ITT) fue de 1.5 ± 0.3 $\mu\text{g/L}$ para pacientes con hipopituitarismo, 10.1 ± 1.7 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo) para obesos y 17.8 ± 2.0 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo) para normales. El pico medio de secreción de GH inducida por GHRH fue de 2 ± 0.7 $\mu\text{g/L}$ para hipopituitarismo, 3.9 ± 1.2 $\mu\text{g/L}$ ($p = \text{NS}$ sobre hipopituitarismo) para obesos y 22.2 ± 3.8 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo) para normales. Tras la administración de GHRH y acipimox, el pico medio de secreción de GH fue de 3.3 ± 1.4 $\mu\text{g/L}$ para hipopituitarismo, 14.2 ± 2.7 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo) para obesos y 35.1 ± 5.2 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo para normales). El pico medio de GH tras GHRH + GHRP-6 fue de 4.1 ± 0.9 $\mu\text{g/L}$ para hipopituitarismo, 38.5 ± 6.5 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo) para obesos y 68.1 ± 5.5 $\mu\text{g/L}$ ($p < 0.05$ sobre hipopituitarismo) para pacientes normales.

La administración de acipimox produjo una reducción de los ácidos grasos libres durante toda la prueba y de manera similar en obesos, hipopituitarismo y normales.

El diferencial entre normales y pacientes con hipopituitarismo para GHRH + GHRP-6 (64 $\mu\text{g/l}$) fue mayor ($p < 0.05$) que el de ITT (16.3 $\mu\text{g/l}$), GHRH (20.2 $\mu\text{g/l}$) y GHRP+Ac (31.8 $\mu\text{g/l}$). El diferencial entre obesos y hipopituitarios para GHRH+GHRP-6 (34.4 $\mu\text{g/l}$) fue mayor ($p < 0.05$) que el de ITT (8.6 $\mu\text{g/l}$), GHRH (1.9 $\mu\text{g/l}$) and GHRP+Ac (10.9 $\mu\text{g/l}$). Considerando los

resultados de manera individual, tras ITT la respuesta máxima en pacientes con hipopituitarismo fue de 2.5 µg/l, esta respuesta fue menor que la respuesta mínima en sujetos normales de 10.3 µg/l pero mayor que la respuesta mínima en obesos 2.3 µg/l. tras GHRH la respuesta máxima en hipopituitarismo fue de 2.7 µg/l, esta respuesta fue menor que la respuesta mínima en normales de 9.9 µg/l pero mayor que la respuesta mínima en obesos de 0.7 µg/l. Tras GHRH+acipimox, la respuesta máxima en hipopituitarismo fue de 7.1 µg/l, esta respuesta fue menor que la respuesta mínima en normales de 12.8 µg/l pero mayor que la respuesta mínima en obesos de 6.2 µg/l. Sin embargo, tras GHRH+GHRP-6 la respuesta máxima en hipopituitarismo fue de 7.5 µg/l, esta respuesta fue menor que la respuesta mínima en normales de 31.9 µg/l y también que la respuesta mínima en obesos de 14.7 µg/l.

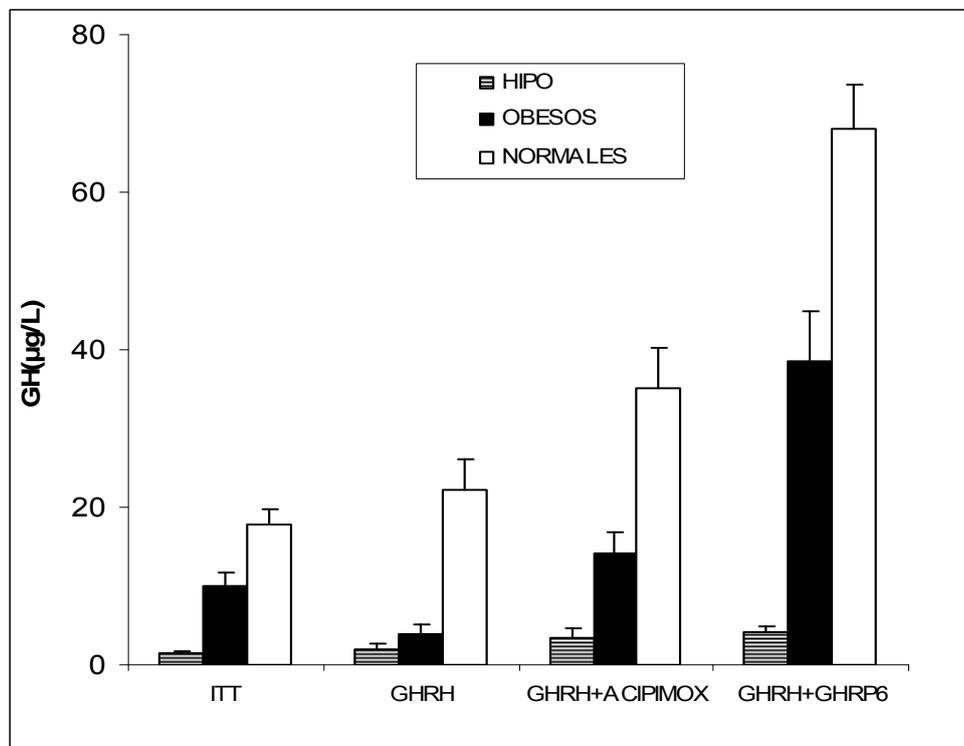


Fig 10: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática tras ITT, GHRH, GHRH+acipimox y GHRH+ GHRP6 en sujetos con hipopituitarismo(\equiv), sujetos obesos(\blacksquare) y controles normales(\square)

EXPERIMENTO 11 y 12:

En controles normales sanos, el pico medio de GH ($\mu\text{g/l}$) tras acipimox fue de 15.8 ± 3.7 . El pico medio de GH tras GHRH fue de 23.7 ± 5.1 . El AUC de GH en controles tras acipimox fue de 1339 ± 292 y tras GHRH de 1528 ± 330 . La administración de acipimox+GHRH produjo un pico medio de secreción de GH de 43.1 ± 9.8 , significativamente mayor que la respuesta tras acipimox solo ($p < 0.05$) ó GHRH solo ($p < 0.05$). El AUC de GH tras la administración combinada de GHRH + acipimox fue de 3031 ± 669 , significativamente mayor que la respuesta tras acipimox solo ($p < 0.05$) ó GHRH solo ($p < 0.05$).

En pacientes diabéticos, el pico medio de GH ($\mu\text{g/l}$) tras acipimox fue de 25.1 ± 6.8 . El pico medio de GH tras GHRH fue de 25.5 ± 3.7 . El AUC de GH en diabéticos tras acipimox fue de 2516 ± 606 y tras GHRH de 1821 ± 311 . La administración de acipimox+GHRH produjo un pico medio de secreción de GH de 89.9 ± 9.6 significativamente mayor que la respuesta tras acipimox solo ($p < 0.05$) ó GHRH solo ($p < 0.05$). El AUC de GH tras la administración combinada de GHRH + acipimox fue de 7311 ± 1154 , significativamente mayor que la respuesta tras acipimox solo ($p < 0.05$) ó GHRH solo ($p < 0.05$).

Si comparamos el AUC de GH en normales y diabéticos, la respuesta de GH a GHRH fue similar en ambos grupos, con un AUC de 1528 ± 320 y 1821 ± 311 para controles y diabéticos tipo 1 respectivamente. Sin embargo, la respuesta de GH tras acipimox está aumentada en diabéticos tipo 1 con

un AUC de 1339 ± 292 y 2515 ± 606 para normales y diabéticos respectivamente ($p < 0.05$). La respuesta de GH tras acipimox + GHRH está incrementada en diabéticos tipo 1 con un AUC para GH de 3031 ± 669 y 7311 ± 1154 para normales y diabéticos respectivamente ($p < 0.05$)

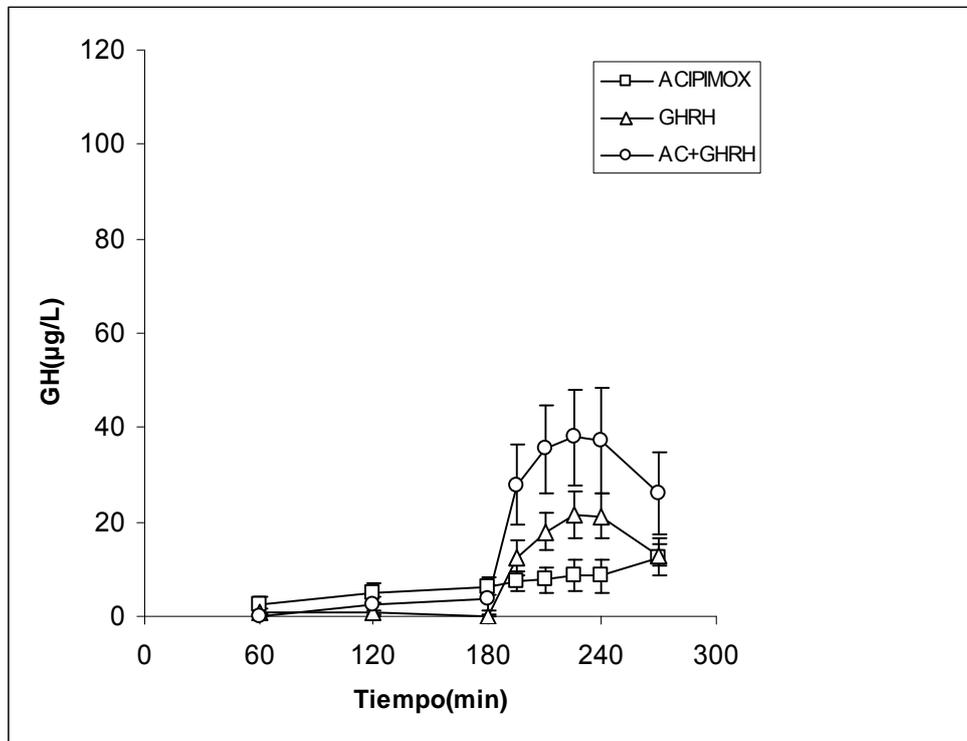


Fig 11: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en sujetos normales tras la administración de, acipimox(\square), GHRH (Δ) o acipimox+GHRH(\circ).

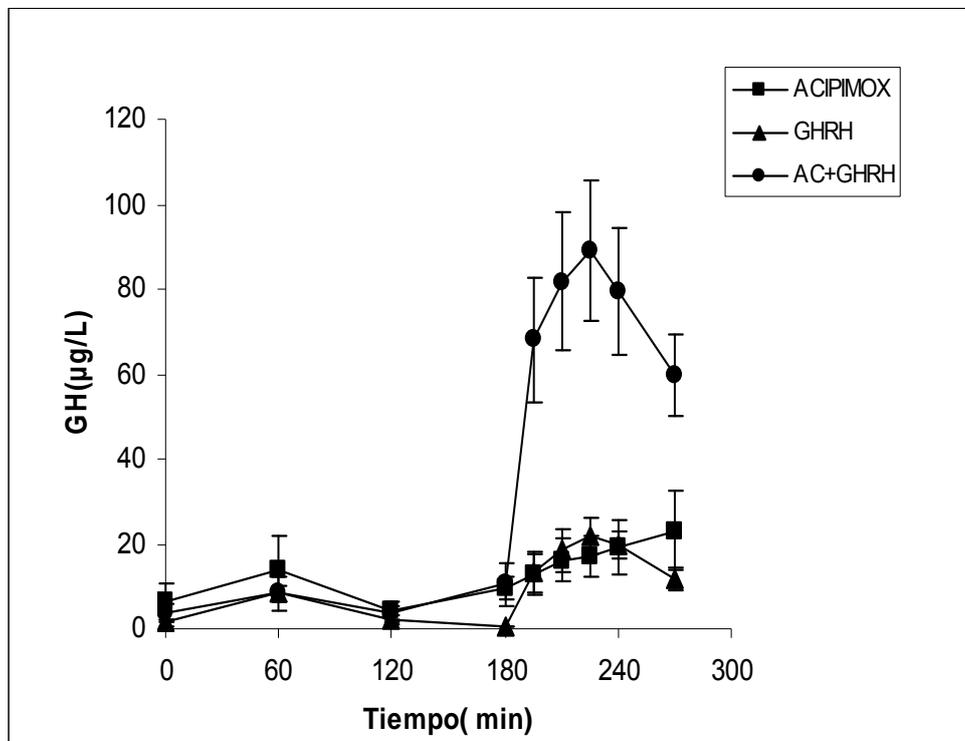


Fig 12: Niveles de GH ($\mu\text{g/L}$) (media \pm ES) plasmática en diabéticos tipo 1 tras la administración de acipimox (■), GHRH (▲) o acipimox+GHRH(●).

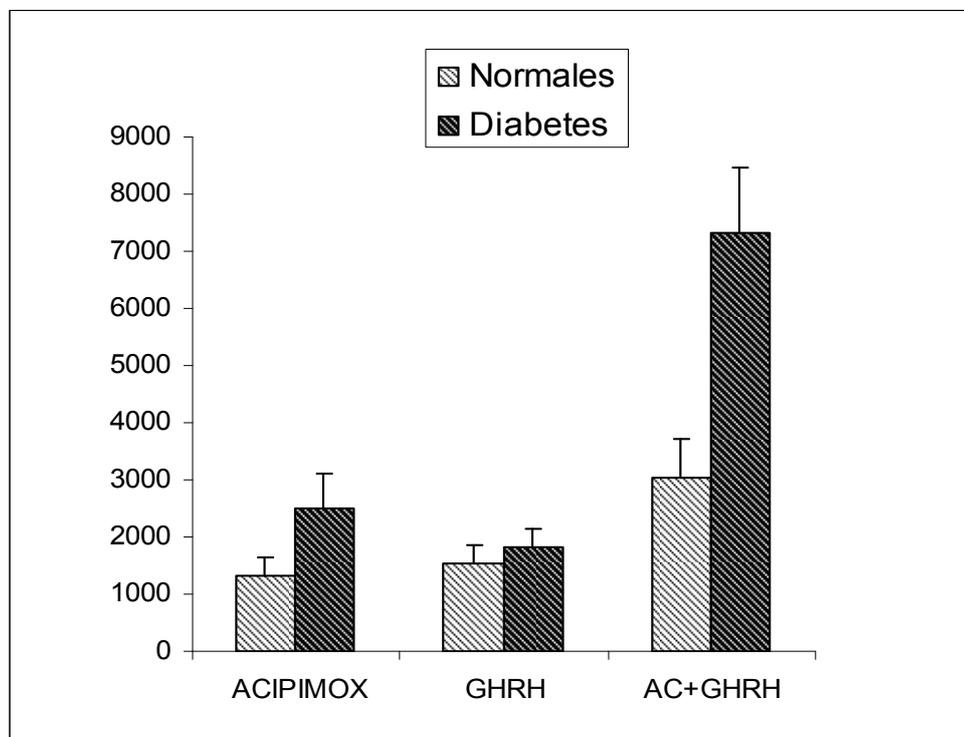


Fig 13: Área bajo la curva de GH (media \pm ES) tras la administración de acipimox, GHRH y acipimox+GHRH en normales (▨) y pacientes con diabetes tipo 1 (■)

EXPERIMENTO 13 y 14:

En controles normales sanos, los niveles medios basales de ácidos grasos libres (FFA) (mmol/L) fueron 0.54 ± 0.11 ; 0.55 ± 0.12 y 0.59 ± 0.11 antes de GHRH, GHRH + acipimox y acipimox solo respectivamente, sin diferencias significativas entre los tres días de las pruebas. En los diabéticos tipo 1, los niveles medios basales de FFA (mmol/L) fueron de 0.68 ± 0.10 ; 0.70 ± 0.12 y 0.66 ± 0.12 tras GHRH, GHRH + acipimox ó acipimox sólo respectivamente, sin diferencias significativas entre los tres días de las pruebas y sin diferencias significativas con los niveles de los normales.

La administración de acipimox indujo una reducción de los FFA durante toda la prueba. En controles normales, el área bajo la curva (AUC mmol/Lx 120 min) tras placebo + GHRH fue 107 ± 15.2 significativamente mayor que tras pretratamiento con acipimox + GHRH 25.6 ± 7.8 ($p<0.05$) o acipimox + placebo 23.9 ± 8.4 ($p<0.05$). En diabéticos tipo 1 el AUC tras placebo + GHRH fue de 136.5 ± 28.1 significativamente mayor que tras pretratamiento con acipimox + GHRH 21.8 ± 7.1 ($p<0.05$) o acipimox + placebo 24.2 ± 9.1 ($p<0.05$).

En controles normales sanos, los niveles medios de glucemia (mg/dl) tras GHRH, GHRH+acipimox y acipimox solo fueron de 92 ± 5 ; 91 ± 6 y 94 ± 6 respectivamente, sin diferencias significativas en los tres días de las pruebas. En diabéticos tipo 1 la glucemia media fue de 145 ± 13 ; 154 ± 33 y 137 ± 12 previo a GHRH, GHRH + acipimox y acipimox solo respectivamente,

sin diferencias significativas en los tres días de las pruebas y significativamente más altos que los niveles en sujetos normales ($p < 0.05$). En controles normales sanos, el nadir de glucemia fue de 90 ± 3 ; 86 ± 4 y 88 ± 5 tras GHRH, GHRH + acipimox y acipimox solo respectivamente. En diabéticos tipo 1, el nadir de glucemia medio fue de 150 ± 28 ; 144 ± 30 y 132 ± 10 tras GHRH, GHRH + acipimox y acipimox sólo respectivamente, sin diferencias significativas en los tres días de las pruebas y significativamente mayor que en sujetos normales.

Los niveles medios de IGF1 ($\mu\text{g/l}$) fueron de 244 ± 19 ; 248 ± 23 y 245 ± 20 en el grupo control previo a GHRH, GHRH+ acipimox y acipimox sólo, respectivamente, y 155 ± 23 ; 170 ± 13 y 168 ± 15 en los diabéticos previo a GHRH, GHRH+acipimox y acipimox sólo respectivamente. Los niveles basales de IGF1 fueron significativamente menores en los diabéticos que en el grupo control en los tres días de las pruebas ($p < 0.05$). Los resultados en diabéticos y controles no fueron significativamente diferentes en los tres días de las pruebas.

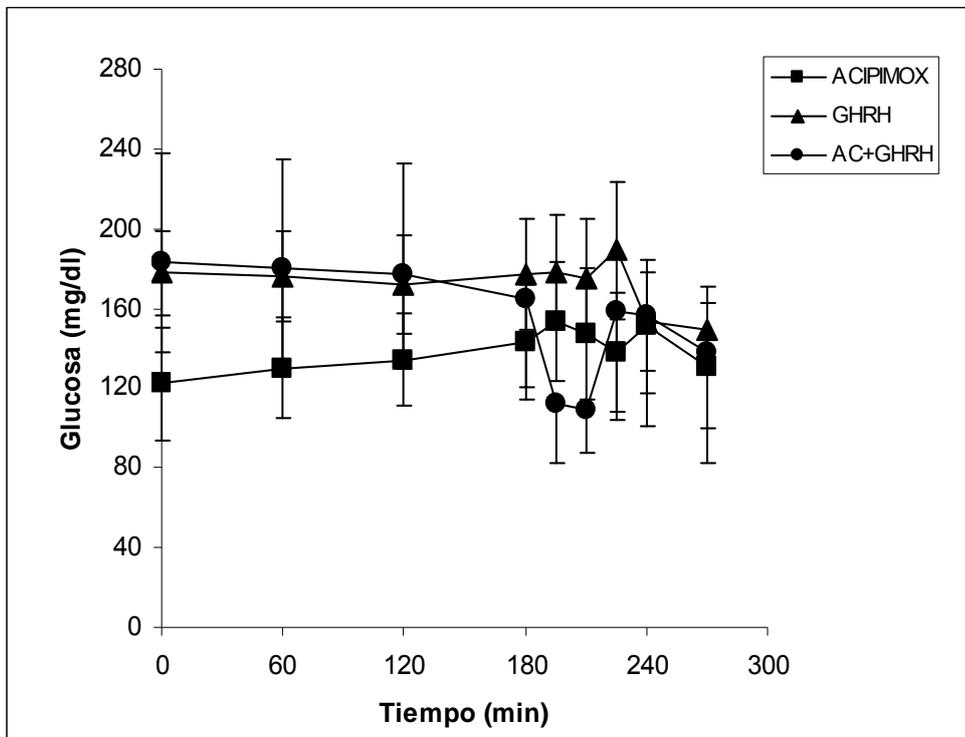


Fig 14: Niveles de glucosa (mg/dl) (media \pm ES) plasmática en diabéticos tipo 1 tras la administración de acipimox (■), GHRH(▲) o acipimox+GHRH (●).

V. DISCUSIÓN:

V. DISCUSIÓN:

En la obesidad existe una alteración en la secreción de GH con una disminución de respuesta ante diversos estímulos. En nuestros estudios, hemos encontrado que la SSIW aumenta ligeramente la secreción basal de GH en controles normales así como la respuesta de GH a GHRH y se demuestra que la SSIW y GHRH resulta en una secreción de GH menor en los obesos comparada con los controles normales de similares características. Las razones para explicar estas diferencias en la respuesta de GH a GHRH+SSIW en normales y obesos no están aclaradas hasta la fecha aunque se barajan distintas posibilidades. Podría deberse a que en la obesidad existe un elevado tono somatostatinérgico endógeno que permanece incluso tras la administración de SS exógena y el cese de la misma, sin embargo el hecho de que las dosis de SS infundidas sean de rango terapéutico hace que esta posibilidad sea poco probable. Otra hipótesis sería que los receptores de SS se encuentren regulados a la baja en los obesos, tal y como ha sido demostrado en ratas Zuker²⁵⁹. Si éste fuera el caso, una exposición continua incluso a dosis elevadas de SS podría no suprimir el tono somatostatinérgico endógeno y por tanto explicar la baja respuesta obtenida. En animales, hay evidencia de que la hipoactividad de GHRH tiene un papel en la hiposecreción de GH en la obesidad^{260,261}. En nuestro estudio se observa que incluso tras la SSIW la respuesta de GH a GHRH está disminuida lo cual va en contra de la

hipótesis de la hipoactividad de GHRH en sujetos obesos. La SSIW se ha utilizado como un estímulo para la secreción de GH en diferentes situaciones clínicas. La SSIW produce un aumento significativo en la secreción de GH en niños normales controles pero no en niños con déficit de GH. Siendo una prueba útil para diferenciar niños normales controles y niños con déficit de GH ²⁶². Se ha encontrado también una disminución importante en la respuesta de GH a la SSIW en ancianos comparado con sujetos jóvenes ²⁶³. Tzanella et al han demostrado que 5 horas tras el tratamiento con el análogo de somatostatina, octreótido, se aumenta la respuesta de GH a GHRH en la mayoría de los niños normales pero no en los que tienen un déficit de GH de cualquier etiología siendo también un prueba útil para diferenciar estos dos grupos de pacientes ²⁶⁴.

Por el contrario, nuestros resultados han demostrado que la SSIW no es efectiva para producir la liberación de GH en pacientes obesos, poniendo de manifiesto que no es una buena prueba para diagnosticar el déficit de GH en el adulto, teniendo en cuenta la elevada frecuencia de exceso de adiposidad en adultos ^{158,265}.

Estudiamos también la secreción de GH tras la administración de ghrelina. Nuestros datos indican que la respuesta secretora de GH en obesos tras ghelina o ghrelina y GHRH se encuentra disminuida si lo comparamos con los controles normales, sin embargo, la respuesta tras

GHRH se encuentra prácticamente abolida en obesos comparado con controles normales. La respuesta de GH a ghrelina fue ocho veces mayor que la de GHRH en obesos, sin embargo, en normales, la respuesta tras ghrelina es sólo dos veces mayor que la de GHRH. Se ha demostrado que la gran capacidad secretora de los secretagogos de GH sintéticos (GHS) está mediada por acciones hipofisarias y principalmente hipotalámicas, probablemente activando la secreción de GHRH y también antagonizando la acción inhibitoria de la somatostatina ^{60, 266, 267, 268, 269,270}. La ghrelina es capaz de estimular selectivamente la secreción de GH en hipófisis de rata tanto in vitro como in vivo ⁵⁷ y se ha visto que también inhibe la capacidad de unión de ¹²⁵I-Tyr-Ala-hexarelin a las membranas hipotalámicas e hipofisarias ²⁷¹. Los secretagogos de GH sintéticos se pueden considerar análogos de la ghrelina ^{266,268,272} aunque todas las acciones conocidas hasta la fecha de estos compuestos no se pueden transferir de forma automática a la ghrelina.

Nuestros resultados en obesos están de acuerdo con la evidencia de que los GHS producen una liberación de GH mayor que GHRH ^{267, 269}. De igual modo, la ghrelina libera mas GH que GHRH, lo cual sugiere que ghrelina, el ligando endógeno del GHS-R, posee una capacidad de liberación de GH mucho mayor que GHRH. Nosotros hemos estudiado anteriormente la secreción de GH en obesos tras estímulo con el GHS sintético, GHRP-6, aunque existen importantes diferencias metodológicas

entre ambos estudios, la respuesta de obesos a ghrelina fue mayor que la respuesta al secretagogo sintético GHRP6 tanto solo como en combinación con GHRH. Estos resultados sugieren que la ghrelina es un estímulo liberador de GH más potente que los GHS sintéticos. Como ya se suponía anteriormente, en base a los resultados de los GHS sintéticos^{114,115}, los efectos aditivos entre la ghrelina y GHRH indican que dichos péptidos actúan, al menos parcialmente, por mecanismos de acción diferentes. Estudios recientes sugieren que la disminución en la secreción de GH en la obesidad no se debe a un aumento en los niveles de leptina que se produce con el sobrepeso²⁷³. Estudios previos de nuestro grupo sugieren que en la hiposecreción de GH de la obesidad participan un aumento del tono somatostatinérgico hipotalámico y el aumento de los ácidos grasos libres circulantes.

Los resultados de nuestro estudio indican que en los pacientes obesos, ghrelina, la nueva hormona implicada en la regulación de la secreción de GH es el estímulo secretor más potente de los conocidos hasta la fecha y que tras la administración combinada de ghrelina y GHRH hay una secreción de GH masiva en los sujetos obesos. La persistencia de una respuesta más baja que en normales tras la administración de ghrelina solo o combinado con GHRH sugiere la existencia de otro defecto implicado en la alteración de la secreción de GH que existe en la obesidad²⁷⁴. En ese sentido, se ha encontrado que los niveles plasmáticos de GH y ghrelina se

encuentran recíprocamente relacionados con el índice de masa corporal, pero, en ese estudio, la pérdida de peso producía un aumento en la secreción de GH pero no afectó a los niveles de ghrelina ²⁷⁵.

Todos estos datos sugieren que el mecanismo fisiopatológico responsable de la hiposecreción de GH en la obesidad es probablemente multifactorial, con un tono somatostatinérgico aumentado, unos niveles de ácidos grasos libres elevados y un descenso de ghrelina. La secreción masiva de GH tras la administración de GHRH y ghrelina no se había observado con ningún estímulo previamente en la obesidad indicando claramente que la alteración en la secreción de GH en la obesidad es un estado funcional y potencialmente reversible y sugieren que la disminución en la secreción de ghrelina podría ser responsable al menos en parte de la hiposecreción de GH en la obesidad.

En cuanto a los efectos de ghrelina sobre la glucemia e insulina, la mayoría de los autores ^{70,77,276}, aunque no todos, ²⁷⁷ ha encontrado hasta la fecha una correlación inversa entre los niveles de ghrelina e insulina tanto en humanos como en animales. Esta correlación negativa entre ghrelina e insulina refleja la influencia inhibitoria que ejerce la insulina sobre la síntesis y secreción de ghrelina ^{276,278}. Nuestros resultados en éste estudio en mujeres obesas no encuentra diferencias significativas en los niveles de glucosa o insulina tras la administración de ghrelina o ghrelina + GHRH.

Por otro lado, la ghrelina se expresa en el páncreas endocrino, su expresión se ha localizado por inmunohistoquímica en células α de humanos y ratas⁶⁷, o en células β humanas²⁷⁹ e incluso en células no- α no- β en páncreas humano²⁸⁰. Con respecto a la influencia de ghrelina en la secreción de insulina en humanos, la mayoría de los estudios sugieren que la administración aguda de ghrelina modula la secreción de glucosa e insulina. La administración aguda de ghrelina acilada a once varones jóvenes a una dosis 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produce un aumento rápido en los niveles de glucosa, que va seguido por un ligero pero significativo descenso en la secreción de insulina, lo cual permite probablemente un mayor aumento de la glucemia.⁶⁶ Se ha visto también que la administración aguda de ghrelina acilada a siete varones jóvenes a una dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ específicamente bloquea el aumento en la secreción de insulina inducido por arginina, mientras que aumenta el efecto hiperglucémico de ésta, pero la administración aguda de ghrelina no modifica la respuesta de glucosa e insulina a una sobrecarga de glucosa²⁸¹. Por otro lado, ghrelina muestra un efecto inhibitorio transitorio sobre la secreción de insulina, unido a un aumento en los niveles de glucosa que permanece intacto tras la infusión de lípidos²⁸¹. Estudios realizados en nueve mujeres obesas con obesidad abdominal han encontrado que la administración aguda de ghrelina a una dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ va seguida de un aumento en los niveles plasmáticos de glucosa unido a un descenso transitorio en la secreción de insulina²⁸².

En contraste con los estudios previos, nuestros resultados, aunque realizados en un grupo pequeño de mujeres obesas, son similares a los de Akamizu et al ²⁸³. Ellos no encontraron diferencias en los niveles de glucosa o insulina tras la administración de ghrelina a dieciocho varones normales a una dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Igualmente en alguno de los estudios previos ²⁷⁰ no se observa una diferencia significativa en los niveles de insulina tras la administración de ghrelina en mujeres jóvenes, además la respuesta de la insulina varía dependiendo del grupo estudiado. Existen también diferencias metodológicas entre nuestro estudio y el de Tassone et al ²⁸² que podrían explicar nuestros resultados diferentes. Por ejemplo, nosotros utilizamos una dosis de ghrelina de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, similar a las dosis utilizadas en los estudios que encontraron una respuesta de glucosa e insulina al ghrelina, pero nuestra dosis máxima fue de 100 μg por paciente, la cual es menos de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en un paciente. Aún así no creemos que sea un problema de dosis insuficiente, ya que Akamizu et al ²⁸³, con dosis de hasta 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, tampoco encontraron respuesta de glucemia e insulina al ghrelina. Algunos estudios recientes encuentran nuevos resultados contradictorios en este campo. La administración de ghrelina (activo o acilado) a sujetos con déficit de GH pero por otro lado sanos, produce un aumento directo en las concentraciones de glucosa e insulina. Es interesante que el pretratamiento de estos pacientes con su dosis sustitutiva de GH previene estos cambios hiperglucémicos ²⁸⁴. Además, estudios en animales reportan resultados contradictorios con respecto a la influencia de ghrelina en la secreción de

insulina^{67, 68,285}. La ghrelina fue capaz de estimular la secreción de insulina de islotes pancreáticos de rata⁶⁷ e in vivo^{65,68}. Por otro lado, la secreción de insulina por páncreas de rata aislado se ha visto bloqueada tras exponerla a ghrelina²⁸⁵ y éste ejerce un efecto inhibitorio dosis dependiente sobre la secreción de insulina estimulada por glucosa in vivo en el ratón⁶⁹.

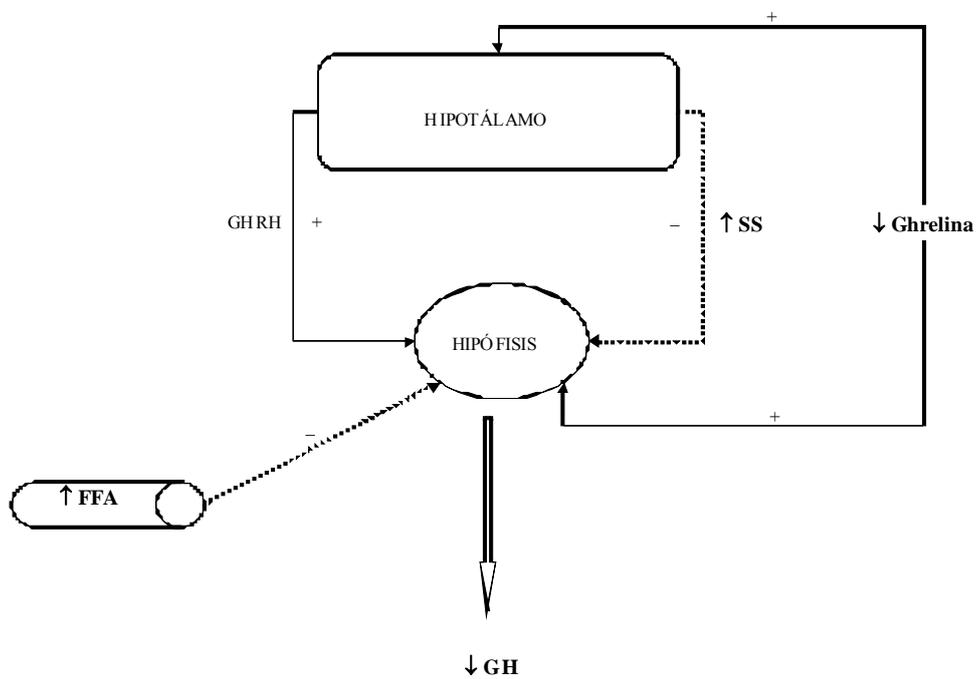


FIG 15: Mecanismos implicados en el déficit de secreción de GH en la obesidad.

En relación con la respuesta comparada de cuatro estímulos secretorios de GH en la obesidad y el hipopituitarismo, como hemos visto previamente, en la obesidad existe una alteración en la secreción de GH tanto basal como estimulada ^{110,111}. Esta alteración en la secreción de GH podría confundirse con el síndrome de déficit de GH del adulto. La obesidad es probablemente el mayor factor de confusión para el diagnóstico del déficit de GH del adulto. Se ha visto que el test de estímulo con GHRH+GHRP-6 es una prueba útil, segura y reproducible para el diagnóstico del GHD del adulto y no está influenciada por factores clínicos que se sabe alteran la secreción de GH. En el estudio de Popovic et al ¹⁵⁸ una concentración de GH estimulada $>15 \mu\text{g/L}$ distingue con precisión los pacientes normales sanos de los que tienen GHD del adulto. No existen estudios que comparen diferentes test alternativos para el diagnóstico del GHD del adulto. Como sugiere Ho ²⁸⁶, probablemente el problema de los falsos negativos no está del todo resuelto. Como GHRH y GHRP6 actúan directamente en la hipófisis, es posible que su administración restablezca la secreción de GH en pacientes que han tenido un déficit de estos secretagogos debido a un problema hipotalámico. Esta posibilidad se basa en que se ha visto que algunos pacientes con déficit idiopático de GH, identificados por una falta de respuesta a la hipoglucemia insulínica, muestran una gran respuesta a la administración combinada de GHRH y un análogo GHRP ^{287,288} por tanto, el test combinado se podría utilizar para

valorar pacientes con patología hipofisaria. Entre los pacientes con déficit de GH que puedan tener una patología hipotalámica, la ITT sigue siendo la prueba de elección ya que estimula la secreción de GH de una manera indirecta vía hipotalámica ²⁸⁶. Sin embargo, se ha sugerido que los secretagogos de GH tendrían un papel en el diagnóstico del déficit de GH incluso en acromegalias tratadas ¹⁶¹.

Hemos estudiado la respuesta de pacientes obesos normales y comparados con la respuesta de pacientes obesos con hipopituitarismo ante diferentes estímulos. La respuesta en ambos pacientes tras la administración de GHRH es similar. Sin embargo, la respuesta de GH tras la administración de GHRH y acipimox está marcadamente disminuida en adultos obesos con hipopituitarismo comparado con obesos normales. Con estos resultados se puede concluir que la secreción de GH tras GHRH y acipimox está disminuida en adultos obesos con hipopituitarismo comparado con obesos normales, la prueba de GHRH y acipimox es segura y no tiene efectos secundarios por lo que se podría utilizar para el diagnóstico del déficit de GH del adulto ^{120,124}. Tras la administración de GHRH +GHRP-6 la respuesta máxima encontrada en pacientes con hipopituitarismo fue menor que la respuesta mínima en pacientes normales y menor que la respuesta mínima en obesos normales. Sin embargo, tras ITT, GHRH o GHRH + acipimox la respuesta máxima en hipopituitarismo fue menor que la mínima respuesta en sujetos normales pero mayor que la

mínima respuesta en obesos. El test de GHRH +GHRP-6 es el que mejor diferencia la secreción alterada de GH de la obesidad del déficit de GH del adulto. Hemos encontrado también que el diferencial entre sujetos normales u obesos e hipopituitarios para GHRH + GHRP-6 fue mayor que para ITT, GHRH ó GHRH+acipimox.

En relación con los pacientes diabéticos tipo 1, éstos tienen una alteración en la secreción de GH, con unos niveles tanto basales como estimulados superiores a la de los controles normales así como un aumento de la respuesta secretora ante diferentes estímulos ^{250,251}. La secreción de GH está estrechamente ligada a las alteraciones metabólicas así como a las variaciones en el consumo o la viabilidad de lípidos, aminoácidos y carbohidratos ^{88,110} Estudios realizados con acipimox, un análogo del ácido nicotínico que bloquea la lipólisis y carece de efectos secundarios ^{289,290} ha supuesto la mejor herramienta para entender de una manera más completa el papel de la disminución de los ácidos grasos libres en la secreción de GH. Se ha visto que la disminución de FFA mediada por acipimox per se estimula la secreción de GH en sujetos normales y potencia la respuesta de GH ante otros estímulos ²⁹¹. La alteración en la secreción de GH inducida por GHRH de la obesidad ^{108,114} se revierte parcialmente por acipimox en pacientes obesos normales pero no en pacientes obesos con hipopituitarismo ^{120,124}. Nosotros hemos visto con este nuevo estímulo,

reducción de FFA con acipimox , un aumento de respuesta en pacientes con diabetes tipo 1. En este grupo de pacientes, la reducción de los FFA per se estimula la secreción de GH y aumenta de una manera importante la secreción de GH inducida por GHRH. La respuesta no es sólo aditiva sino que se observa una clara potenciación de secreción de GH con ambos estímulos. Por el contrario, en sujetos normales, la respuesta de acipimox y GHRH es sólo aditiva ²⁹¹. La respuesta de GH a estímulos combinados como acipimox más GHRH está aumentada en diabéticos si lo comparamos con normales. Algunos de nuestros resultados se podrían explicar por una disminución del feedback negativo ejercido por el IGF-1 sobre la secreción hipofisaria de GH. Nosotros encontramos niveles plasmáticos de IGF-1 menores en diabéticos tipo 1 comparado con normales. Esto indica un déficit parcial del control negativo ejercido sobre la secreción hipofisaria de GH. De todas formas, nosotros creemos que la disminución en los niveles de IGF-1 no explican por qué la respuesta de GH al estímulo combinado de acipimox con GHRH no es aditiva, sino que como ya comentamos antes se observa una potenciación del efecto si lo comparamos con normales, especialmente cuando este grupo de pacientes muestran una secreción de GH inducida por GHRH similar a la de los normales. Estos datos sugieren que los FFA endógenos juegan un papel inhibitorio importante en la secreción de GH en los pacientes diabéticos y que los mecanismos de transducción de FFA a nivel hipofisario se encuentran preservados en diabéticos tipo 1. Hay datos experimentales que sugieren un posible defecto

hipofisario en la secreción de GH de la diabetes tipo 1, en efecto, en ratas diabéticas, la expresión hipofisaria del receptor de GH se encuentra reducida.²⁹² Los pacientes diabéticos tipo 1 tienen una respuesta de GH aumentada ante GHRH + GHRP-6. La administración combinada de éstos dos péptidos tiene un efecto aditivo y constituye un estímulo muy potente de secreción de GH en diabéticos tipo 1. La administración combinada de acipimox y GHRH induce una respuesta secretora de GH que es incluso mayor que la respuesta tras GHRH + GHRP6.²⁹³ Como los FFA actúan a nivel hipofisario, esto nos indica que la célula somatotropa es hipersensible a la disminución de FFA en pacientes diabéticos tipo 1, aunque la presencia de una respuesta adecuada indica que los mecanismos de transducción de FFA a nivel hipofisario están preservados en la diabetes tipo 1.

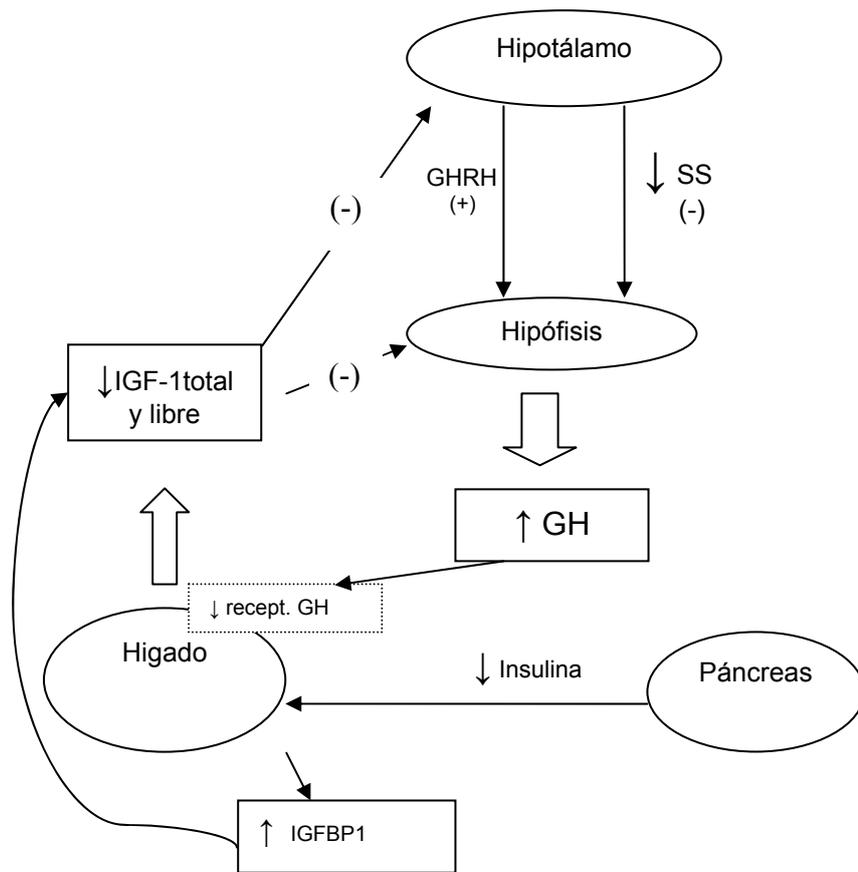


FIG 16: Esquema de los posibles mecanismos por los que se altera la secreción de hormona de crecimiento en la diabetes tipo 1.

VI. RESUMEN DE RESULTADOS:

VI. RESUMEN DE RESULTADOS:

1. En los controles normales sanos, el cese de la administración de una perfusión de SS aumenta el pico de secreción de GH inducida por GHRH.
2. Los pacientes obesos tienen una respuesta de GH disminuida de forma significativa comparado con normales tras el estímulo combinado de cese de administración de una perfusión de SS y GHRH.
3. En pacientes obesos presentan una respuesta secretora de GH masiva tras la administración de ghrelina solo o combinado con GHRH.
4. No encontramos diferencias significativas en los niveles de glucosa o insulina tras la administración de ghrelina solo o combinado con GHRH en mujeres obesas.
5. En pacientes con hipopituitarismo, la administración de ambos acipimox ó GHRP6 revierte el hiposomatotropismo funcional de la obesidad tras GHRH pero no son capaces de revertir el hiposomatotropismo orgánico del hipopituitarismo.
6. La administración combinada de GHRH y GHRP6 es la prueba que mejor diferencia ambas situaciones, sin los efectos secundarios de la hipoglucemia insulínica.

7. La reducción de los ácidos grasos libres con acipimox es un estímulo para la secreción de GH en pacientes diabéticos tipo 1.
8. La administración combinada de GHRH y acipimox induce un marcado aumento en la secreción de GH en pacientes diabéticos tipo 1 comparado con controles normales.
9. Los pacientes diabéticos tipo 1 tienen una capacidad secretora de GH mayor que los controles normales, a pesar de que los niveles de ácidos grasos libres ejercen un efecto inhibitorio potente sobre la secreción de GH de estos pacientes.

VII. CONCLUSIONES:

VII. CONCLUSIONES:

- La hiposecreción de GH en la obesidad se debe a un mecanismo multifactorial. La hipersecreción crónica de somatostatina y la elevación de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres juegan un papel fundamental y, posiblemente, coexista alguna alteración menor en las células somatotropas así como en la secreción de ghrelina, siendo la mejor probabilidad un descenso de los niveles de ghrelina.
- El estímulo combinado GHRH-GHRP6 permite diferenciar el hiposomatotropismo orgánico del hipopituitarismo del funcional de la obesidad.
- Los mecanismos fisiopatológicos responsables de la alteración de la secreción de GH en la diabetes son multifactoriales, entre ellos los niveles elevados de ácidos grasos libres juegan un papel importante ya que ejercen un efecto inhibitorio potente sobre la secreción de GH.

VIII. PUBLICACIONES RESULTADO DE ESTA TESIS

VIII. PUBLICACIONES RESULTADO DE ESTA TESIS

1. P.Álvarez, L.Isidro, A.Leal-Cerro, FF.Casanueva, C.Diequez, F.Cordido. Effect of withdrawal of somatostatin plus growth hormone (GH)-releasing hormone as a stimulus of GH secretion in obesity. Clin Endocrinol (ISSN: 0300-0664) 2002; 56: 487-492.
2. P.Álvarez-Castro, M.L.Isidro, F.Cordido. Secreción de hormona de crecimiento en la diabetes mellitus. Endocrinol Nutr 2003 (ISSN: 1575-0922); 50: 156-161.
3. F.Cordido, P.Álvarez-Castro, L.Isidro, F.Casanueva, C.Diequez. Comparison between insulin tolerance test, growth hormone (GH)-releasing hormone (GHRH), GHRH plus acipimox, and GHRH plus GH-releasing peptide-6 for the diagnosis of adult GH deficiency in normal subjects, obese and hypopituitary patients Eur J Endocrinol (ISSN: 0804-4643) 2003; 149:117-122.
4. P.Álvarez, L.Isidro, R.Peinó, A.Leal-Cerro, F.Casanueva, C.Diequez, F.Cordido. Effect of acute reduction of free fatty acids by acipimox on growth hormone-releasing hormone-induced GH secretion in type 1 diabetic patients. Clin Endocrinol (ISSN: 0300-0664) 2003; 59:431-6.
5. ML.Isidro, P.Álvarez, T.Martinez, F.Cordido. Alteraciones neuroendocrinas en la obesidad. Rev Med Univ Navarra (ISSN: 0556-6177) 2004; 48:24-29.

6. P.Álvarez, L.Isidro, J.Garcia-Buela, A.Leal-Cerro, F.Broglio, F.Tassone, E.Ghigo, C.Diequez, F.Casanueva, F.Cordido. Marked GH secretion after ghrelin administration alone or combined with growth hormone-releasing hormone (GHRH) in obese patients. Clin Endocrinol (ISSN: 0300-0664) 2004; 61:250-255.
7. P.Álvarez-Castro, M.L.Isidro, J.Garcia-Buela, C.Diequez, F.F. Casanueva, F.Cordido. Effect of acute ghrelin administration on glycaemia and insulin levels in obese patients. Diabetes Obes Metab (ISSN: 1462-8902) 2006; 8:555-560.
8. P.Álvarez-Castro, M.L.Isidro, J.Garcia-Buela, C.Diequez, F.F. Casanueva, F.Cordido. Efectos de la administración de una dosis única de ghrelina sobre la glucemia y las concentraciones de insulina en pacientes obesos. Diabetes Obes Metab (Ed español. ISSN: 1669-9479) 2006; 2:231-237.

IX. BIBLIOGRAFIA:

IX. BIBLIOGRAFÍA:

1. Daughaday WH. A personal history of the origin of the somatostatin hypothesis and recent challenges to its validity. *Perspect Biol Med* 1989;32:194-211.
2. Kopchick JJ, Andry JM. Growth hormone (GH), GH receptor and signal transduction. *Mol Genet Metab* 2000;71:293-314.
3. Melmed S, Kleinberg D. Adenohipofisis. En: Williams tratado de endocrinología. Larsen, Kronenberg, Melmed, Polonsky Eds. 10^a edición en español. Saunders . Elsevier Science 2004 p193-307.
4. Melmed S. Acromegaly. *N Engl J Med* 2006; 355:2558-73.
5. Cunninham BC, Ultsch M, De Vosan et al. Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecula. *Science* 1991;254:821-825.
6. Baumann G, McCart JC, Amburn K . The mollecular nature of circulating growth hormone in normal and acromegalic man: Evidence for a principal and minor monomeric form .*J Clin Endocrinol Metab* 1983;456:946-950.
7. Cooke NE; Ray J, Watson MA et al. Human growth hormone gene and the highly homologous growth hormone variant gene display different splicing patterns.*J Clin Invest* 1988;82:270-275.

8. Ho Y, Liebhaber SA, Cooke NE. Activation of the human GH gene cluster : roles for targeted chromatin modification. Trends Endocrinol Metab 2004; 15:40-45.
9. Voss JV, Rosenfeld MG. Anterior pituitary development : short tales from drawf mice. Cell 1992; 70:527-530.
10. Procter AM, Phillips JA 3rd, Loper DN. The mollecular genetic of growth hormone deficiency . Hum Genet 1998 ;103:255-272.
11. Miller WL; Ederhardt NL. Structure and evolution of the growth hormone gene family. Endocr Rev 1983;4:97-130.
12. Leung KC, Ho KK. Measurement of growth hormone, insulin-like growth factor I and their binding proteins : the clinical aspects . Clin Chim Acta 2001; 313:119-123.
13. Hartman ML, Velhuis JD, Thorner MO. Normal control of growth hormone secretion . Horm Res 1993; 40:37-47.
14. Van Cauter E, Leprou R, Plat L. Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. JAMA 2000; 284:861-868.
15. Toogood AA, Nass RM, Pezzol SS et al. Preservation of growth hormone pulsatile despite pituitary pathology , surgery and irradiation. J Clin Endocrinol Metab 1997; 82:2215-2221.
16. Veldhuis JD, Liem AY, South S et al. Differential impact of age , sex-steroid hormones and obesity on basal vs pulsatile growth hormone

- secretion in men assessed in an ultrasensitive chemiluminescence assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3209-3222.
17. Parker ML, Utiger RD, Daughaday WH. Studies in human growth hormone: II the physiology disposition and metabolic fate of human growth hormone in man. *J Clin Invest* 1962;41:262-268.
 18. Herrington AC, Ymer S, Stevenson J. Identification and characterization of specific binding proteins for growth hormone in normal human sera. *J Clin Invest* 1986;77:1817-1823.
 19. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G et al. Growth hormone receptor and serum binding protein : purification, cloning and expression. *Nature* 1987;330:537-543.
 20. Baumann G, Shaw MA, Amburn K. Regulation of plasma growth hormone binding proteins in health and disease. *Metabolism* 1989;38:683-689.
 21. Banard R, Waters MJ. The serum growth hormone binding protein: pregnant with possibilities. *J Endocrinol* 1997;153:1-14.
 22. Baumann G. Growth hormone binding protein 2001. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001;14:355-375.
 23. Kelly PA, Djiane J, Postel-Vinay MC, Ederly M. The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr Rev* 1991;12:235-251.
 24. Herrington J, Carter-Su C. Signaling pathways activated by the growth hormone receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12:252-257.

25. Savage MO, Blair JC, Clark AJ. Update in growth hormone insensitivity syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2002;9:21-28.
26. Bereket A, Lang CH, Blethen SL et al. Effect of insulin on the insulin-like growth factor system in children with new-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1312-1317.
27. Strasser-Vogel B, Blum WF, Past R et al. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:1207-1213.
28. Quabbeu HJ, Schilling E, Helge H. Pattern of growth hormone secretion during a 24-hour fast in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab* 1966;26:1173-1177.
29. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 1998;19:717-797.
30. Rudman D, Kutner MH, Rogers M, Rubin GA, Fleming GA, Baine RP. Impaired growth hormone secretion in the adult population. *J Clin Invest* 1981;67:1361-1369.
31. Guillermin R, Brazeau P, Bohlen P, Esch F, Ling N, Wehrenberg WB. Growth hormone releasing factor from human pancreatic tumor that caused acromegaly. *Science* 1982; 218:585-587.

32. Rivier J, Spiess J, Thorner M, Vale W. Characterization of a growth hormone releasing factor from a human pancreatic islet tumor. *Nature* 1982;300:276-278.
33. Christopher J, Svododa M, Dehaye J-P et al. The VIP/PHI/secretin/helodermin/helospetin/GRF family. Structure-function relationships of the natural peptides, their precursors and synthetic analogues as tested in vitro on receptors and adenylated cyclase in a panel of tissue membranes. In Martínez J (ed): *Peptide Hormones as Prohormones: Processing, Biological Activity, Pharmacology*. E. Horwood Chichester, England, Halstead Press, 1989, pp 211-243.
34. Bell GI: The glucagon superfamily: Precursor structure and gene organization. *Peptides* 1986;7(suppl 1):27-36.
35. Campbell RM, Scanes CG: Evolution of the growth hormone - releasing factor (GRF) family of peptides. *Growth Regulation* 1992; 2(4):175-191.
36. Campbell RM, Lee Y, Rivier J, Heime EP, Felix AM, Mowles TF. GRF analogs and fragments: correlation between receptor binding, activity and structure. *Peptides* 1982;12:569-574.
37. Muller EE. Neuronal control of somatotrophic function. *Physiol Rev* 1987;67:962-1053.
38. Bloch B, Gaillard RC, Brazeau P, Lin HD, Ling N. Topographical and ontogenetic study of the neurons producing growth hormone-

- releasing factor in human hypothalamus. *Regul Peptides* 1984; 8:21-31.
39. Frohman LA. Growth hormone releasing factor-A neuroendocrine perspective. *J Lab Clin Med* 1984; 103:819-832.
40. Braid A, Wehrenberg WB, Bohlen P, Ling N. Immunoreactive and biologically active growth hormone-releasing factor in the rat placenta. *Endocrinology* 1985;117:1598-1602.
41. Barinaga M, Bilezikjian LM, Vale WW, Rosenfeld MG, Evans RM. Independent effects of growth hormone releasing factor on growth hormone release and gene transcription. *Nature* 1985;314:279-281.
42. Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N et al. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973; 179:77-79.
43. Mayo KE, Miller TL, DeAlmeida V, et al. The growth-hormone-releasing hormone receptor : signal transduction, gene expression and physiological function in growth regulation. *Ann N Y Acad Sci* 1996;805:184-203.
44. Judd AM, Koike MK, MacLeod RM. GRF increases release of growth hormone and arachidonate from anterior pituitary cells. *Am J Physiol* 1985; 248:E438-442.
45. Schettini G, Cronin MJ, Hewlett EL, Thorner MO, MacLeod RM. Human pancreatic tumor growth hormone –releasing factor stimulates anterior pituitary adenylate cyclase activity, adenosine 3,5'

- monophosphate accumulation and growth hormone release via a calmodulin-dependent manner. *Endocrinology* 1984;115:1308-1314.
46. Hall R, Besser GH, Schally AV et al. Action of growth hormone-release inhibiting hormone in healthy men and acromegaly. *Lancet* 1973; II:581-584.
 47. Pimstone BL, Becker D, Kronheim S. Disappearance of plasma growth hormone in acromegaly and protein-calorie malnutrition after somatostatin. *J Clin Endocrinol Metab* 1975;40:168-171.
 48. Gomez-Pan A, Rodriguez-Arno MD. Somatostatin and Growth hormone releasing factor: Synthesis, location, metabolism and function. *Clin Endocrinol Metab* 1983;12:469-507.
 49. Reichlin S. Somatostatin. *N Engl J Med* 1983;309:1556-1563.
 50. Wecke J, Prange-Hansen AA, Lundbaek K. Inhibition by somatostatin of basal levels of serum thyrotropin in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 41:168-172.
 51. Lamberts SWJ. 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. *Endocr Rev* 1988;9:417-436.
 52. Tyrrel JB, Lorenzi M, Gerich JE, Forsham PH. Inhibition by somatostatin of ACTH secretion in Nelson's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1975;40:1125-1127.
 53. Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary

- to specifically release growth hormone. *Endocrinology* 1984; 114:1537-1545.
54. Sartor O, Bowers CY, Chang D. Parallel studies of His-D Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂ and human pancreatic growth hormone releasing factor-44-NH₂ in rat primary pituitary cell monolayer culture. *Endocrinology* 1985; 116:952-957.
55. Momany FA, Bowers CY, Reynolds GA, Hong A, Newlander K. Conformational energy studies and in vitro and in vivo activity data on growth hormone-releasing peptides . *Endocrinology* 1984;114:1531-1536.
56. Howard AD, Feighner SD, Cully DF et al . A receptor in the pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996;273:974-977.
57. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-660.
58. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005;85:495-522.
59. Broglio F, Gottero C, Arvat E and Ghigo E. Endocrine and non-endocrine actions of ghrelin. *Horm Res* 2003;59:109-117.
60. Popovic V, Miljic D, Micic D et al. Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3450–3453.

61. Dornonville De La Cour C, Lindstrom E, Norlen P, and Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004;120: 23–32.
62. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276: 905–908.
63. Nagaya N and Kangawa K. Ghrelin improves left ventricular dysfunction and cardiac cachexia in heart failure. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3: 146–151.
64. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E et al. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 669–673.
65. Adeghate E and Ponery AS. Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 2002;14: 555–560.
66. Broglio F, Arvat E, Benso A et al. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86: 5083–5086.
67. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S et al. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002;51:124–129.

68. Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, and Greeley GH Jr. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 2002;143:185–190.
69. Reimer MK, Pacini G, and Ahren B. Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2003;144: 916–921.
70. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, and Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001 ;50: 1714–1719.
71. Tschop M, Wawarta R, Rielpl RL et al. Postprandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001;24:19-21.
72. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002;346: 1623–1630.
73. Hansen TK, Dall R, Hosoda H et al. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clin Endocrinol* 2002;56: 203–206.
74. Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:174–178.

75. Rosicka M, Krsek M, Matoulek M et al. Serum ghrelin levels in obese patients: the relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. *Physiol Res* 2003; 52: 61–66.
76. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87: 240–244.
77. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, and Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001;50: 707–709.
78. Hataya Y, Akamizu T, Takaya K et al. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4552-4555.
79. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 1999;20:68-100.
80. Sachar EJ, Mushrush G, Perlow M et al. Growth hormone responses to L-dopa in depressed patients. *Science* 1972;178:1304-1305.
81. Ho KY, Veldhuis JD, Johnson ML et al. Fasting enhances growth hormone secretion and amplifies the complex rhythms of growth hormone secretion in man. *J Clin Invest* 1988;81:968-975.
82. Blackard WG, Hull EW, Lopez A. Effect of lipids on growth hormone secretion in humans. *J Clin Invest* 1971;50:1439-1443.

83. Fineberg SE, Horland AA, Merimee TJ. Free fatty acid concentration and growth hormone secretion in man. *Metabolism* 1972;21:491-498.
84. Casanueva FF, Villanueva L, Peñalva A, Vila T, Cabezas Cerrato J. Free fatty acids inhibition of exercise-induced growth hormone secretion. *Horm Metab Res* 1981;13:348-350.
85. Imaki T, Shibasaki T, Masuda A et al. The effect of glucose and free fatty acids on growth hormone(GH)-releasing factor-mediated GH secretion in rats. *Endocrinology* 1986; 118:2390-2394.
86. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-432.
87. Casanueva FF, Bruguera B, Tomé MA et al. Depending on the time of administration, dexamethasone potentiates or blocks GHRH-induced GH release in man. *Neuroendocrinology* 1988;47:46-49.
88. Dieguez C, Page MD, Scanlon MF. Growth hormone neuroregulation and its alterations in disease states. *Clin Endocrinol* 1988;28:109-143.
89. Haslam DW, James wpt, Obesity. *Lancet* 2005;366:1197-209.
90. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity and mortality from cancer in a prospectively studies cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003;348:1625-38.

91. Hu FB, Willett WC, Li T, Stampfer MJ, Colditz GA, Manson JE. Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med* 2004; 351:2694-703.
92. Bray G, Bouchard C, James WPT. Definitions and proposed current classifications of obesity. En: Bray G, Bouchard C, James WPT, editors. *Handbook of obesity*. New York: Marcel Dekker; 1998. p. 31-40.
93. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ* 2000;320:1240-1243.
94. Larsson B, Svardsudd K, Welin L et al. Abdominal adipose tissue distribution , obesity and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. *Br Med J Clin Res Ed* 1984;288:1401-1404.
95. Lapidus L, Bengtsson C, Larson B et al. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *BMJ* 1984;289:1257-1261.
96. Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willet WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am J Clin Nutr* 2005;81:555-563.

97. Aranceta Bartrina J, Serra Majem L, Pérez Rodrigo C, Foz Sala M, Moreno Esteban B y Grupo Colaborativo SEEDO. Prevalencia de obesidad en España. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:460-466.
98. Gutierrez-Fisac JL, López E, Banegas JR, Graciani A, Rodríguez-Artalejo F. Prevalence of overweight and obesity in elderly people in Spain. *Obes Res*. 2004;12:710-715.
99. Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Muñoz M. Perfil nutricional de los ancianos institucionalizados en España. En: Muñoz M, Aranceta J, Guijarro JL, editores. Libro blanco de la alimentación del anciano en España. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2004.
100. Botana MA, Mato JA, Cadarso-Suarez C et al. Overweight, obesity and central obesity prevalences in the region on Galicia in northwest Spain. *Obesity and Metabolism* 2007;3(3):106-115.
101. Salas –Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B, y grupo colaborativo de la SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)*2007;128(5):184-196.
102. Haslam D, James WPT. Obesity. *Lancet* 2005;366:1197-209.
103. Troiano RP, Fronguillo EA Jr, Sobal J, Levitsky DA. The relationship between body weight and mortality: a quantitative analysis of combined information from existing studies. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996;20:63-75

104. Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Marnun A, Bonneux L. NEDCOM, the Netherlands Epidemiology and Demography Compression of Morbidity Research Group. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med* 2003;138:24-32.
105. Kanaley JA, Weatherup-Dentes MM, Jaynes EB, Hartman ML. Obesity attenuates the growth hormone response to exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:3156-3161.
106. Cordido F, de la Cruz LF, Casanueva F, Dieguez C. Growth hormone and obesity. *Int Clin Nutr Rev* 1992;12:136-146.
107. Cordido F, Peñalva A, de la Cruz LF, Casanueva F, Dieguez C. L'ormone della crescita. *Caleidoscopio* 1992;72:5-46.
108. Cordido F, Casanueva FF, Dieguez C. Cholinergic receptor activation by pyridostigmine restores GH responsiveness to GH-releasing hormone administration in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68: 290-293.
109. Veldhuis JD, Iranmanesh A, Ho KK, Waters MJ, Johnson ML, Lizarralde G. Dual defects in pulsatile GH secretion and clearance subserve the hyposomatotropism of obesity in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72:492-495.
110. Dieguez C, Casanueva FF. Influence of metabolic substrates and obesity on growth hormone secretion. *Trends Endocrinol Metab* 1995; 6: 55-59.

111. Cordido F, Dieguez C Y Casanueva FF. Effect of central cholinergic neurotransmission enhancement by piridostigmine on the growth hormona secretion elicited by clonidine, arginine or hypoglycaemia in normal and obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1361-1370.
112. Williams T, Berelowitz M, Joffe SN et al. Impaired growth hormone responses to growth hormone-releasing factor in obesity. *N Engl J Med* 1984; 311: 1403-1407
113. Rasmussen MH, Hvidberg A, Juul A et al. Massive weight loss restores 24-hour growth hormone release profiles and serum Insulin-like growth factor I levels in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:1407-1415.
114. Kelijman M, Frohman LA. Enhanced growth hormone responsiveness to GH releasing hormone after dietary manipulation in obese and non-obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66: 489-494.
115. Cordido F, Peñalva A, Dieguez C, Casanueva FF. Massive Growth Hormone discharge in obese subjects after the combined administration of Growth Hormone releasing hormone and GHRP-6. Evidence for a marked somatotroph secretory capability in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76: 819-823.

116. Bowers C. Editorial: a new dimension on the induced release of growth hormone in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 66: 489-494.
117. Muruais C, Cordido F, Morales M, Casanueva FF, Dieguez C. Corticosteroid-induced Growth Hormone secretion in normal and obese subjects. *Clinical Endocrinol* 1991;35: 485-490.
118. Howard HD, Feighner SD, Cully DF, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*, 1996;273:974-976.
119. Maccario M, Tassone F, Gianotti L et al. Effects of recombinant human insulin-like growth factor I administration on the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in obesity. *J Clin Endocrino Metab* 2001;86: 167-171.
120. Rasmussen MH, Juul A, Hilsted J. Effect of weight loss on free insuline-like growth factor-I in obese women with hiposomatotropism. *Obesity (Silver Spring)* 2007 Apr;15(4):879-86
121. Cordido F, Peino R, Peñalva A, Alvarez CV, Casanueva FF, Dieguez C. Impaired growth hormone secretion in obese subjects is partially reversed by acipimox-mediated plasma free fatty acid depression. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81, 914-918.
122. Maccario M, Procopio M, Grottoli S et al. Effects of acipimox, an antylipolytic drug, on the growth hormone response to GH-

- releasing hormone alone or combined with arginine in obesity. *Metabolism* 1996 ;45: 342-346.
123. Andreotti AC, Lanzi R, Manzoni MF, Caumo A, Moreschi A, Pontiroli AE. Acute pharmacologic blockade of lipolysis normalizes nocturnal growth hormone levels and pulsatility in obese subjects. *Metabolism*,1994; 43: 1207-1213.
124. Nam SY, Lee EJ, Kim KR et al. Long term administration of acipimox potentiates growth hormone response growth hormone-releasing hormone by decreasing serum free fatty acid in obesity. *Metabolism* 1996;45: 594-597
125. Cordido F, Fernandez T, Martinez T, Peinó R, Dieguez C, Casanueva FF. Effect of acute pharmacological reduction of plasma free fatty acids on GHRH-induced GH secretion in obese adults with and without hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4350-4354.
126. Massara F, Ghigo E, Molinati P et al. 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 (Copenh)* 1986;113:12-16.
127. Peñalva A, Muruais C, Casanueva FF, Dieguez C. Effect of enhancement of endogenous cholinergic tone with pyridostigmine on the dose-response relationships of growth hormone-releasing

- hormone-induced growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70: 324-328.
128. Loche S, Pintor C, Cappa M et al. Pyridostigmine counteracts the blunted growth hormone response to growth hormone-releasing hormone of obese children. *Acta Endocrinologica (Copenh)*1989; 120: 624-628.
129. Stein CJ, Colditz GA. The epidemic of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(6): 2522-5.
130. Pasarica M, Zachwieja JJ, Dejonge L, Redman S, Smith SR. Effect of growth hormone on body composition and visceral adiposity in middle-aged men with visceral obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(11):4265-70.
131. Franco C, Andersson B, Lönn L, Bengtsson BA, Svensson J, Johannsson G. Growth hormone reduces inflammation in postmenopausal women with abdominal obesity: a 12-month, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(7):2644-2647
132. Attallah H, Friedlander AL, Hoffman AR. Visceral obesity, impaired glucose tolerance , metabolic syndrome and growth hormone therapy. *Growth Horm IGF Res* 2006;16 suppl A:S62-67.
133. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-244.

134. Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S et al. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88: 174-178.
135. English PJ, Ghatei MA, Malik IA, Bloom SR, Wilding JP. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2984-2987.
136. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002; 346:1623-1630.
137. de Boer H, Blok GJ, Van der Veen EA. Clinical aspects of growth hormone deficiency in adults. *Endocr Rev* 1995;16:63-86.
138. Starvov S, Kleinberg DL. Diagnosis and management of growth hormone deficiency in adults. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30:545-563.
139. Savastano S, DiSomma C, Belfiore A et al. Growth hormone status in morbidly obese subjects and correlation with body composition. *J Endocrinol Invest* 2006;29:536-554.
140. Newmann CB, Kleinberg DL. Adult growth hormone deficiency. *Endocrinologist* 1998;8:178-186.
141. Rosen T, Bosaeuss I, Tolli J et al. Increased body fat mass and decreased extracellular fluid volumen in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 1993;38:63-71.

142. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *N Engl J Med* 1989;321:1197-1803.
143. Colao A, Di Somma C, Pivonello R et al. Bone loss is correlated to the severity of growth hormone deficiency in adult patients with hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1919-1924.
144. Sesmilo G, Biller BM, Llevadot J et al. Effects of growth hormone administration on inflammatory and other cardiovascular risk markers in men with growth hormone deficiency: a randomized, controlled clinical trial. *Ann Intern Med* 2000;133:111-122.
145. Atanasio AF, Lamberts SWJ, Matranga AMC et al. Adult growth hormone (GH)-deficiency patients demonstrate heterogeneity between childhood onset and adult onset before and during human GH treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:82-88.
146. Bulow B, Hagmar L, Eskilsson J, Erfurth EM. Hypopituitary females have a high incidence of cardiovascular morbidity and increased prevalence of cardiovascular risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85: 574-584.
147. Christopher M, Hew FL, Oakley M et al. Defects of insulin action and skeletal muscle glucose metabolism in growth hormone-

- deficient adults persist after 24 month of recombinant human growth hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1668-1681.
148. Borson-Charzot F, Serusclat A, Kalfallah Y et al. Decrease in carotid-intima-media thickness after one year growth hormone(GH) treatment in adults with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1329-1333.
149. Petersenn S, Jung R&Beil FU. Diagnosis of GH deficiency in adults by testing with GHRP6 alone or in combination with GHRH: Comparison with the insuline tolerance test. *Eur J Endocrinol* 2002;146:667-672.
150. Toogood AA, Colin G, Beardwell , Shalet SM. The severity of growth hormone deficiency in adults with pituitary disease is related to the degree of hypopituitarism. *Clin Endocrinol* 1994; 41:511-516.
151. Hartmann ML, Crowe BJ, Biller BM, Ho KY, Clemmons DR & Chipman JJ. Which patients do not require a GH stimulation test for the diagnosis of adult GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:477-485.
152. Hoffman DM, O'Sullivan AJ, Baxter RC, Ho KKY. Diagnosis of growth hormone deficiency in adults. *Lancet* 1994; 343:1064-1068.
153. Maghnie M, Cavigioli F, Tinelli C et al. GHRH plus arginine in the diagnosis of acquired GH deficiency of childhood-onset. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2740-2744.

154. Jorgensen JOL, Pedersen SA, Thuesen L et al. Beneficial effects of growth hormone treatment in GH-deficient adults. *Lancet* 1989; 1:1221-1225.
155. Ho KKY, Hoffman DM. Defining growth hormone deficiency in adults. *Metabolism (suppl 4)* 1995; 44:91-96.
156. Hoeck HC, Vestergaard P, Jakobson PE, Laurberg P. Test of growth hormone secretion in adults: poor reproducibility of the insulin tolerance test. *Eur J Endocrinol* 1995;133:305-312.
157. Baum HBA, Biller BMK, Katznelson L et al. Assessment of GH secretion in men with adult-onset GH deficiency compared with that in normal men-A clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:84-92.
158. Popovic V, Leal A, Micic D et al. GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults. *Lancet* 2000; 356:1137-1142.
159. Aimaretti G, Baffoni C, Bellone S et al. Retesting young adults with childhood-onset growth hormone (GH) deficiency with GH-releasing hormone-plus arginine test. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3693-3699.
160. Schutz F, Wuster C, Heilman P, Ziegler R, Hadji P. No advantage of the new combined octreotide-GHRH test over established GH-stimulation tests in the diagnosis of growth hormone deficiency (GHD) in adults. *Clin Endocrinol* 2000; 53:667-674.

161. Murray RD, Peacey SR, Rahim A, Toogood AA, Thorner MO, Shalet SM. The diagnosis of growth hormone deficiency (GHD) in successfully treated acromegalic patients. *Clin Endocrinol* 2001; 54:37-44.
162. Rahim A, Toogood AA, Shalet SM. The assessment of growth hormone status in normal young males using a variety of provocative agents. *Clin Endocrinol* 1996; 45:557-562.
163. Growth Hormone Research Society (GRS). Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:379-381.
164. Fisker S, Jorgensen JO, Christiansen JS. Variability in growth hormone stimulation tests. *Growth horm IGF Res* 1998;83:379-381.
165. Aimaretti G, Corneli G, Razzore P et al. Comparison between insulin-induced hypoglycemia and growth hormone (GH)-releasing hormone plus arginine as provocative tests for the diagnosis of GH deficiency in adults. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1615-1618.
166. Aimaretti G, Baffoni C, Di Vito L, et al. Comparisons among old and new provocative tests of GH secretion in 178 normal adults. *Eur J Endocrinol* 2000;142:347-52.
167. Cornelli G, Gasco V, Prodam F, Grottoli S, Aimaretti G, Ghigo E. Growth hormone levels in the diagnosis of growth hormone deficiency in adulthood. *Pituitary* 2007;10(2):141-149.

168. Gambineri A, Pelusi C, Vicennati V, Pagotto U y Pasquali R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes* 2002; 26: 883-896.
169. Dale PO, Tanbo T, Vaaler S y Abyholm T. Body weight, hyperinsulinemia and gonadotropin levels in the polycystic ovary syndrome: evidence of two distinct populations. *Fertil Steril* 1992; 58: 487-491.
170. Evans DJ, Barth JH y Burke CW. Body fat topography in women with androgen excess. *Int J Obes* 1988; 12: 157-162.
171. Seidel JC, Cigolini M, Charzewska J et al. Androgenicity in relation to body fat distribution and metabolism in 38-year-old women. The European Fat Distribution Study. *J Clin Epidemiol* 1990; 43: 21-34.
172. Leenen R, van der Kooy, Seidell JC, Deurenberg P y Koppeschaar HP. Visceral fat accumulation in relation to sex hormones in obese men and women undergoing weight loss therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1515-1520.
173. Seidell JC, Cigolini M, Deurenberg P, Oosterlee A y Doornbos G. Fat distribution, androgens and metabolism in nonobese women. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 269-273.
174. Samojlik E, Kirschner MA, Silber D, Schneider G y Ertel NH. Elevated production and metabolic clearance rates of androgens in morbidly obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 949-954.

175. Kirschner MA, Samojlik E, Drejka M, Szmaj E, Schneider G y Ertel NH. Androgen-estrogen metabolism in women with upper body versus lower body obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 473-479.
176. Preziosi P, Barret-Connor E, Papoz L et al. Interrelation between plasma sex hormone-binding globulin and plasma insulin in healthy adult women: The Telecom Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 283-287.
177. Nader S, Charles MA, Saad MF, Berkowitz AS y Bogardus C. Serum androgens in hyperinsulinemic Pima Indian and obese Caucasian women and their response to short-term insulin infusion. *J Endocrinol Invest* 1993; 16: 403-406.
178. Giagulli VA, De Pergola G, Giorgino F et al. Increased free testosterone but normal 5 alpha-reduced testosterone metabolites in obese premenopausal women. *Clin Endocrinol* 1992; 36: 553-558.
179. Azziz R. Reproductive endocrinologic alterations in female asymptomatic obesity. *Fertil Steril* 1989; 52:703-25.
180. Zumoff B, Strain G, Miller LK et al. Plasma free and non-sex-hormone-binding-globulin-bound testosterone are decreased in obese men in proportion to their degree of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 929-931.

181. Pasquali R y Vicennati V. Obesity and hormonal abnormalities. En: Björntorp P, John Wiley & Sons eds. International Textbook of obesity. Chichester, 2001; 225.
182. Vermeulen A, Kaufman JM, Deslypere JP y Thomas G. Attenuated luteinizing hormone (LH) pulse amplitude but normal LH pulse frequency, and its relation to plasma androgens in hypogonadism of obese men. J Clin Endocrinol Metab 1993; 76: 1140-1146.
183. Smith SR. The endocrinology of obesity. Endocr Metab Clin North Am 1996; 25: 921-942.
184. Marin P, Darin N, Amemiya T, Andersson B, Jern S y Bjorntorp P. Cortisol secretion in relation to body fat distribution in premenopausal women. Metabolism 1992; 41: 882-886.
185. Pasquali R, Contobelli S, Casimirri F et al. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in obese women with different patterns of body fat distribution. J Clin Endocrinol Metab 1993; 77: 341-346.
186. Ljun T, Andersson B, Bengtsson BA, Björntorp P y Marin P. Inhibition of cortisol secretion by dexamethasone in relation to body fat distribution: a dose-response study. Obes Res 1996; 4: 277-282.
187. Björntorp P y Rosmond R. Neuroendocrine abnormalities in visceral obesity. Int J Obes 2000; 24 (Suppl 2) S80-S85.

188. Buemann B, Vohl MC, Chagnon M et al. Abdominal visceral fat is associated with a BclI restriction fragment length polymorphism at the glucocorticoid receptor gene locus. *Obes Res* 1997; 5: 186-192.
189. Rosmond R, Chagnon Y, Holm G et al. A glucocorticoid receptor gene is associated with abdominal obesity, leptin and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Obes Res* 2000; 8: 211-218.
190. Björntorp P y Rosmond R. The metabolic syndrome-a neuroendocrine disorder. *Br J Nutr* 2000; 83 (Suppl 1): S50-S55.
191. Roti E, Minelli R y Salvi M. Thyroid hormone metabolism in obesity. *Int J Relat Metab Disord* 2000; 24 Suppl 2: S 113-115.
192. Kaptein EM, Fisler JS, Duda MJ, Nicoloff JT y Drenick EJ. Relationship between the changes in serum thyroid hormone levels and protein status during prolonged protein supplemented caloric deprivation. *Clin Endocrinol* 1985; 22: 1-15.
193. Rojdmarm S y Rossner S. Decreased dopaminergic control of prolactin secretion in male obesity: normalization by fasting. *Metabolism* 1991; 40: 191-195.
194. Hankinson SE, Willet WC, Manson JE al. Alcohol, height and adiposity in relation to estrogen and prolactin levels in postmenopausal women. *J Nat Cancer Inst* 1995; 87: 1297-1302.
195. Baptista T, Lacruz A, Meza T et al. Antipsychotic drugs and obesity: is prolactin involved?. *Can J Psychiatry*. 2001; 46: 829-834.

196. Copinschi G, Dehaet MH, Brian JP et al. Simultaneous study of cortisol, growth hormone and prolactin nycthemeral variations in normal and obese subjects. Influence of prolonged fastin in obesity. *Clin Endocr* 1978; 9: 15-23.
197. Kopelman PG, Pilkington TRE, White N y Jeffcoate SL. Impaired hypothalamic control of prolactin secretion in massive obesity. *Lancet* 1979; 7: 747-749.
198. Donders SHJ, Pieters GF, Heeval JG, Ross HA, Smals AG y Kloppenborg PW. Disparity of thyrotrophin (TSH) and prolactin responses to TSH-releasing hormone in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 56-59.
199. Altomonte L, Zoli A, Alessi F, Ghirlanda G, Manna R y Greco AV. Effect of fenfluramine on growth hormone and prolactin secretion in obese subjects. *Horm Res* 1987; 27: 190-194.
200. Pijl H, Koppeschaar HP, Willekens FL, Frolich M y Meinders AE. The influence of serotonergic neurotransmission on pituitary hormone release in obese and non-obese females. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993; 128: 319-324.
201. Scaglione R, Averna MR, Dichiaro MA et al. Thyroid function and release of thyroid-stimulating hormone and prolactin from the pituitary in human obesity. *J Int Med Res.* 1991; 19: 389-94.
202. Guzzaloni G, Grugni G, Moro D et al. Thyroid-stimulating hormone and prolactin responses to thyrotropin-releasing hormone in

- juvenile obesity before and after hypocaloric diet. *J Endocrinol Invest*. 1995; 18: 621-629.
203. Kopelman PG, Finer N, White N et al. Impaired hypothalamic control of prolactin secretion in obesity. *J Obes Weight Regul* 1983; 2: 172-180.
204. Greenman Y, Tordjman K y Stern N. Increased body weight associated with prolactin secreting pituitary adenomas: weight loss with normalisation of prolactin levels. *Clin Endocr* 1998; 48: 447-453.
205. Weaver JU, Noonan K y Kopelman PG. An association between hypothalamic-pituitary dysfunction and peripheral endocrine function in extreme obesity. *Clin Endocr* 1991; 35: 97-102.
206. Weaver JU, Noonan K y Kopelman PG. Impaired prolactin secretion and body fat distribution in obesity. *Clin Endocr* 1990; 32: 641-646.
207. American diabetes association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2002;25(suppl. 1):S5-S24
208. Diabetes control and complications trial (DCCT). *New Engl J Med* 1993; 329:977-986.
209. United Kingdom Prospective Diabetes Study Group (UKPDS) .Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet* 1998;352:837-853.

210. Press M, Tamborlane WV, Thorner MO et al. Pituitary response to growth hormone-releasing factor in diabetes. Failure of glucose-mediated suppression. *Diabetes* 1984;33:804-806.
211. Giustina A, Bresciani E, Tassi C, Girelli A, Valentini U. Effect of pyridostigmine on the growth hormone-releasing hormone in lean and obese type II diabetic patients. *Metabolism* 1994;43:893-898.
212. Asplin CM, Faria AC, Carlsen EC et al. Alterations in the pulsatile mode of growth hormone release in men and women with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;69:239-245
213. Villas-Boas RF, Ramos-Dias JC, Chipoch C, Lengyel A-M. Growth hormone (GH) response to GH-releasing peptide-6 in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1997;46:706-710.
214. Catalina PF, Mallo F, Andrade A, García-Mayor RV, Diéguez C. Growth hormone (GH) response to GH-releasing peptide-6 in type 1 diabetic patients with exaggerated GH-releasing hormone-stimulated GH secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3663-3667.
215. Wurzbürger MI, Sonksen PH. Natural course of growth hormone hypersecretion in insulin-dependent diabetes mellitus. *Med Hypotheses* 1996;46:145-9.

216. Bereket A, Lang CH, Wilson TA. Alterations in the growth hormone –insuline-like growth factor axis in insulin dependent diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 1999;31:172-81.
217. Janssen JAMJL, Jacobs ML, Derkx FHM, Weber RFA, Lely AJ, Lamberts SWJ. Free and total insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding protein-1(IGFBP-1) and IGFBP-3 and their relationships to the presence of diabetic retinopathy and glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2809-2815.
218. Wurzburger MI, Prelevic GM, Sonksen PH, Balint-Peric LA, Wheeler M. The effect of recombinant human growth hormone on regulation of growth hormone secretion and blood glucose in insulin-dependent diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:267-272.
219. Press M., Tamborlane WV, Sherwin RS. Importance of raised growth hormone levels in mediating the metabolic derangements of diabetes. *N Engl J Med* 1984;310:810-815.
220. Miller JD, Wright NM, Lester SE et al. Spontaneous and stimulated growth hormone release in adolescents with type I diabetes mellitus: effect of metabolic control. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1087-1091.
221. Thrailkill KM, Quattrin T, Baker L, Kuntze JE, Compton PG, Martha PM Jr. Cotherapy with recombinant human insulin-like growth

- factor I and insulin improves glycemic control in type 1 diabetes. RhIGF-1 in IDDM study group. *Diabetes Care* 1999;22:585-592.
222. Acerini CL, Patton CM, Savage MO, Kernell A, Westphal O, Dunger D. Randomised placebo-controlled trial of human recombinant insulin-like growth factor I plus intensive insulin therapy in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1997;350:1199-1204.
223. Alzaid AA, Melton LJ, Dinneen SF, Rizza RA. The role of growth hormone in the development of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1994;17:531-534.
224. Poulsen JE. Recovery from retinopathy in a case of diabetes with Simmonds' disease. *Diabetes* 1953;2:7-12.
225. Luft R, Olivercrona H, Sjogren B: Hypophysectomy in man: experiences in severe diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1955;15:391-408.
226. Merimee TJ, Zapt J, Froesch ER. Insulin-like growth factors. Studies in diabetics with and without retinopathy. *N Engl J Med* 1983; 309:527-530.
227. Grant M, Russell B, Fitzgerald C, Merimee TJ. Insulin-like growth factors in vitreous. *Diabetes* 1986;35:416-420.
228. Koller EA, Green L, Gertner JM, Bost M, Malozowski SN. Retinal changes mimicking diabetic retinopathy in two nondiabetic,

- growth hormone-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2380-2383.
229. Blank D, Riedl M, Reitner A et al. Growth hormone replacement therapy is not associated with retinal changes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:634-636.
230. King GL, Brownlee M. The cellular and molecular mechanism of diabetic complications. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996;25:255-270.
231. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E et al. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994;93:662-670.
232. Hellstrom A, Carlsson B, Niklasson A et al. IGF-1 is critical for normal vascularization of the human retina. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3413-3416.
233. Simo R, Lecube A, Segura RM, García Arumi J, Hernández C. Free insulin growth factor-1 and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2002;134:376-382.
234. Gerhardinger C, McClure KD, Romeo G, Podesta F, Lorenzi M. IGF-I mRNA and signaling in the diabetic retina. *Diabetes* 2001;50:175-183.

235. Nagai Y, Ando H, Nohara E, Yamashita H, Takamura T, Kobayashi K. Plasma levels of vascular endothelial growth factor in patients with acromegaly. *Horm Metab Res* 2000;32:326-9.
236. Blankestijn PJ, Derkx FHM, Birkenhager JC et al. Glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetes mellitus is correlated with enhanced growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:498-502.
237. Moran A, Jacobs DR, Jr, Steinberger J et al. Association between the insulin resistance of puberty and the insulin-like growth factor-I/GH axis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4817–4820.
238. Dohm GL, Elton CW, Raju MS et al. IGF-I–stimulated glucose transport in human skeletal muscle and IGF-I resistance in obesity and NIDDM. *Diabetes* 1990; 39:1028–1032.
239. Hussain MA, Schmitz O, Mengel A, Keller A, Christiansen JS, Zapf J, Froesch ER: Insulin-like growth factor I stimulates lipid oxidation, reduces protein oxidation, and enhances insulin sensitivity in humans. *J Clin Invest* 1993; 92:2249–2256.
240. Simpson HL, Jackson NC, Shojaee-Moradie F et al. Insulin-like growth factor I has a direct effect on glucose and protein metabolism, but no effect on lipid metabolism in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:425–432.

241. Saukkonen T, Amin R, Williams RM et al. Dose-dependent effects of recombinant human insulin-like growth factor (IGF)-I/IGF binding protein-3 complex on overnight GH secretion and insulin sensitivity in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:4634–4641.
242. Daughaday WH, Phillips LS, Mueller MC: The effects of insulin and GH on the release of somatomedin by the isolated rat liver. *Endocrinology* 1976; 98:1214–1219.
243. Grant MB, Mames RN, Fitzgerald C et al. The efficacy of octreotide in the therapy of severe nonproliferative and early proliferative diabetic retinopathy: a randomized controlled study. *Diabetes Care* 2000;23:504-509.
244. Wilson SH, Davis MI, Caballero S, Grant MB. Modulation of retinal endothelial cell behaviour by insulin-like growth factor I and somatostatin analogues: implications for diabetic retinopathy. *Growth hormone IGF Res* 2001;11 Suppl A:S53-59.
245. Grant MB, Caballero S, Millard WJ. Inhibition of IGF-1 and b-FGF stimulated growth of human retinal endothelial cells by the somatostatin analogue, octeotride: a potential treatment for ocular neovascularization. *Regul Pept* 1993;48:267-278.

246. Davis MI, Wilson SH, Grant MB. The therapeutic problem of proliferative diabetic retinopathy: targeting somatostatin receptors. *Horm Metab Res* 2001;33:295-299.
247. Growth hormone antagonist for proliferative diabetic retinopathy study group. The effect of a growth hormone receptor antagonist drug on proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2001;108:2266-2272.
248. Shishko PI, Dreval AV, Abugova IA, Zajarny IU, Goncharov VC: Insulin-like growth factors and binding proteins in patients with recent-onset type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: influence of diabetes control and intraportal insulin infusion. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; 25:1–12.
249. Ekström K, Salemyr J, Zachrisson I, Carlsson-Skwirut C, Örtqvist E and Bang P. Normalization of the IGF-IGFBP axis by sustained nightly insulinization in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2007;30(6):1357-1363.
250. Hansen AP. Abnormal serum growth hormone response to exercise in juvenile diabetics. *J Clin Invest* 1970; 49:1467-1478.
251. Lorenzi M, Karam JH, McIlroy MB, Forsham PH. Increased growth hormone response to dopamine infusion in insulin-dependent diabetic subjects: indication of possible blood-brain barrier abnormality. *J Clin Invest* 1980;65:146-153.

252. Krassowski J, Felber JP, Rogala H, Jeske W, Zgliczynski S. Exaggerated growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in type 1 diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (COPENH)* 1988;117:225-229.
253. Johansen K, Hansen AP. Diurnal serum growth hormone levels in poorly and well-controlled juvenile diabetics. *Diabetes* 1971;20:239-45.
254. Catalina PF, Andrade MA, García-Mayor RV, Mallo F. Altered GH elimination kinetics in type 1 diabetes mellitus can explain the elevation in circulating levels: bicompartimental approach. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1785-1790.
255. Merimee TJ, Burgess JA, Rabinowitz D. Arginine infusion in maturity onset diabetes mellitus. Defective output of insulin and of growth hormone. *Lancet* 1966;1:1300-1301.
256. Holland PM, Landers MB, Lebovitz HE, Wolbarsht ML. Levo dopa stimulated growth hormone secretion and diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1976;82:612-618.
257. Williams G, Ghatei MA, Diani AR, Gerritsen GC, Bloom SR. Reduced hypothalamic somatostatin and neuropeptide Y concentrations in the spontaneously-diabetic Chinese hamster. *Horm Metab Res* 1988;20:668-670.
258. Solimena M, Folli F, Denis-Donini S et al . Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patient with stiff-man syndrome,

- epilepsy, and type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988;318:1012-1020.
259. Abribat T, Finkelstein JA, Gaudreau P. Alteration of somatostatin but not growth hormone-releasing factor pituitary binding sites in obese Zucker rats. *Regul Pept* 1991; 36: 263-270.
260. Tannenbaum GS, Lapointe M, Gurd W & Finkelstein JA. Mechanisms of impaired growth hormone secretion in genetically obese Zucker rats: roles of growth hormone-releasing factor and somatostatin. *Endocrinology* 1990;127:3087-3095.
261. Tannenbaum GS, Epelbaum J, Videau C & Dunuis JM. Sex-related alterations in hypothalamic growth hormone releasing hormone mRNA-expressing cells in genetically obese Zucker rats. *Neuroendocrinology* 1996;64:186-193.
262. Cappa M, Rigamonti AE, Bizarri C et al. Somatostatin infusion withdrawal: Studies in normal children and in children with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4426-4430.
263. Degli Uberti EC, Ambrosio MR, Cella SG et al. Defective hypothalamic growth hormone (GH)-releasing hormone activity may contribute to declining GH secretion with age in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2885-2888.
264. Tzanella M, Guyda H, Van Vliet G, Tannenbaum GS. Somatostatin pretreatment enhances growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone: A potential new diagnostic

- approach to GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81: 2487-2494.
265. Anonimous. Consensus Guidelines for the diagnosis and treatment of adults with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:379-381.
266. Smith RG, Van der Ploeg LXT, Howard AD et al. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 1997;18: 621-645.
267. Korbonits M, Grossman AB. Growth hormone-releasing peptide and its analogues. Novel stimuli to growth hormone release. *Trend Endocrinol Metab* 1995;6: 43-49.
268. Dieguez C, Casanueva FF. Ghrelin: a step forward in the understanding of somatotroph cell function and growth regulation. *Eur J Endocrinol* 2000;142:913-917.
269. Arvat E, Maccario M, Di Vito L et al. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1169-1174.
270. Broglio F, Benso A, Castiglioni C et al. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in human young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1537-1542.

271. Papotti M, Ghé P, Cassoni P et al. Growth hormone secretagogues (GHS) binding sites in peripheral human sites. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3803-3807.
272. Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin: the link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocrinol Metab Disord* 2002;3: 325-338.
273. Ozata M, Dieguez C, Casanueva FF. The inhibition of growth hormone secretion presented in obesity is not mediated by the high leptin levels: A study in human leptin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88: 312-316.
274. Tassone F, Broglio F, Destefanis S et al. Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5478-5483.
275. Lindeman JH, Pijl H, Van Dielen FM, Lentjes EG, Van Leuven C, Kooistra T. Ghrelin and the hyposomatotropism of obesity. *Obes Res* 2002;10:1161-1166.
276. Saad MF, Bernaba B, Hwu C et al. Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 397-400.
277. Caixas A, Bashore C, Nash W, Pi-Sunyer X, Laferrere B. Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1902-1905.

278. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto G et al. Ghrelin is not necessary for adequate hormonal counterregulation of insulin-induced hypoglycemia. *Diabetes* 2002; 51: 2911-2914.
279. Volante M, Allia E, Gugliotta P et al. Expression of ghrelin and the GH secretagogue receptor by the pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1300-1308.
280. Wierup N, Svensson H, Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002; 107: 63-69
281. Broglio F, Gottero C, Benso A et al. Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine, or free fatty acids load in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4268-4272.
282. Tassone F, Broglio F, Destefanis S et al. Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5478-5483.
283. Akamizu T, Takaya K, Irako T et al. Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Eur J Endocrinol* 2004; 150: 447-455
284. Gauna C, Meyler FM, Janssen J et al. Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity, whereas the combination of acylated plus unacylated ghrelin strongly improves insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5035-5042.

285. Egido EM, Rodriguez-Gallardo J, Silvestre RA, Marco J. Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 241-244.
286. Ho KKY. Diagnosis of adult GH deficiency. *Lancet* 2000; 356:1125-1126.
287. Leal-Cerro A, Garcia E, Astorga R et al. Growth hormone (GH) responses to the combined administration of GH-releasing peptide 6 in adults with GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 1995; 132:712-715.
288. Mahajan T, Lightman SL. A simple test for growth hormone deficiency in adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1473-1476.
289. Pontiroli AE, Lanzi R, Monti LD, Pozza C. Effect of acipimox, a lipid lowering drug on growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in normal subjects. *J Endocrinol Invest* 1990;13: 539-542.
290. Pontiroli AE, Lanzi R, Monti LD, Sandoli E and Pozza C. Growth hormone (GH) auto feedback on GH response to GHRH. Role of free fatty acids and somatostatin. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72: 492-495.
291. Peino R, Cordido F, Peñalva A, Alvarez C, Dieguez C y Casanueva FF. Acipimox-mediated plasma free fatty depression per se stimulates growth hormone (GH) secretion in normal subjects and potentiates the response to other GH releasing stimuli. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:909-913.

292. Busiguina S, Argente J, García-Segura LM y Chowen J. Anatomically specific changes in the expression of somatostatin, growth hormone-releasing hormone and growth hormone receptor mRNA in diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 2000;12:29-39.
293. Catalina PF, Mallo F, Andrade MA, García-Mayor R, y Diéguez C. Growth hormone (GH) response to GH-releasing peptide-6 in type 1 diabetic patients with exaggerated GH-releasing hormone-stimulated GH secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;83: 3663-3667.

