



Universidade da Coruña
Departamento de Medicina

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA SECRECIÓN DE GHRELINA Y PÉPTIDO YY EN SUJETOS SANOS Y CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

Trabajo para la obtención del grado de doctor presentado por

Manuel Penín Álvarez

Directores:

Dr. Fernando Cordido Carballido

Dr. Miguel Pérez Fontán



Universidade da Coruña
Departamento de Medicina

D. Fernando Cordido Carballido, catedrático (EU) de fisiología del departamento de Medicina de la Universidade da Coruña, y facultativo especialista de área de Endocrinología y Nutrición del Complejo Hospitalario Universitario da Coruña; y D. Miguel Pérez Fontán, profesor asociado de Medicina del departamento de Medicina de la Universidade da Coruña, y facultativo especialista de área de Nefrología del Complejo Hospitalario Universitario da Coruña

Certifican:

Que la presente tesis doctoral, titulada **“Estudio comparativo de la secreción de ghrelina y péptido YY en sujetos sanos y con insuficiencia renal crónica”**, elaborada por Manuel Penín Álvarez, ha sido realizada bajo su dirección, en la universidad de A Coruña; estimando que se encuentra concluida y en condiciones de ser presentada para optar al grado de doctor.

Y para que conste, firman la presente autorización en A Coruña. Septiembre de 2008

Fdo: Fernando Cordido Carballido

Fdo: Miguel Pérez Fontán

Fdo: Manuel Penín Álvarez

A Alejandro, Ignacio e Isabel

Agradecimientos

A Fernando Cordido, compañero en la labor clínica diaria, maestro en el ámbito de la investigación clínica, y apoyo siempre. Me honra poder llamarle amigo.

A Miguel Pérez Fontán, por su permanente respaldo a este proyecto, sus consejos siempre atinados y por haber compartido conmigo sus (aparentemente ilimitados) conocimientos de estadística.

A Luisa Isidro San Juan, que siempre fomentó mi participación en sus proyectos de investigación. Inigualable como clínico y como persona.

A Belén Ruano Viéitez, que creyó en mí, ayudándome especialmente en los momentos más difíciles.

Al conjunto del servicio de Endocrinología y Nutrición del Complejo Hospitalario Universitario da Coruña, donde me sentí siempre en casa.

A mi esposa, Rosa Rodríguez Ferro, que multiplicando sus horas de trabajo me ha regalado tiempo para escribir esta tesis.

A mis padres, mi hermano y mis hijos, que me quieren y se les nota.

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	1
1.1. Visión de conjunto	3
1.2. Ghrelina	11
1.2.1. Perspectiva histórica	11
1.2.2. Estructura y síntesis	12
1.2.3. Mecanismo de acción	15
1.2.4. Efectos de la hormona	16
1.2.4.1. Encefálicos	16
1.2.4.1.1. Efectos sobre la ingesta	16
1.2.4.1.2. Otros efectos centrales	17
1.2.4.2. Hipotálamo-hipofisarios	17
1.2.4.2.1. Estímulo de la síntesis de GH	17
1.2.4.2.2. Estímulo de la síntesis de prolactina y ACTH	18
1.2.4.3. Efectos periféricos	18
1.3. Péptido YY	21
1.3.1. Estructura y síntesis	21
1.3.2. Mecanismo de acción	22
1.3.3. Efectos de la hormona	22
1.4. Nutrición en la insuficiencia renal crónica	25
1.4.1. Malnutrición urémica. Definición, diagnóstico y prevalencia	25
1.4.2. Impacto de la malnutrición urémica en la morbimortalidad	30
1.4.3. Factores que condicionan el estado nutricional en la uremia	31
1.4.4. Prevención y tratamiento de la malnutrición urémica	40
2. Objetivos	43
3. Sujetos y métodos	47
3.1. Diseño general del estudio	49
3.2. Sujetos	50
3.3. Protocolo	51
3.4. Manejo de las muestras y métodos de laboratorio	52
3.5. Cálculos secundarios	54
3.6. Estadística	54
4. Resultados	57
4.1. Resultados en sujetos sanos	59
4.1.1. Concentraciones plasmáticas en ayunas	59
4.1.2. Concentraciones plasmáticas postestímulo	63
4.2. Resultados en pacientes con IRC	71
4.2.1. Concentraciones plasmáticas en ayunas	71

4.2.2. Concentraciones plasmáticas postestímulo	75
4.3. Comparación de los resultados	91
4.3.1. Concentraciones plasmáticas en ayunas	91
4.3.2. Concentraciones plasmáticas postestímulo	97
4.4. Correlación entre variables	103
4.4.1. En el grupo de sujetos sanos	103
4.4.2. En el grupo de pacientes IRC	104
5. Discusión	105
5.1. Ghrelina	109
5.2. PYY	113
5.3. Otras moléculas	115
5.4. Correlación entre los parámetros estudiados y estadística	120
6. Resumen de resultados	125
7. Conclusiones	129
8. Publicaciones producto de esta tesis	133
9. Bibliografía	137

Abreviaturas¹

ACTH: Hormona adrenocorticotropa	IGF-1: Factor de crecimiento insulínico 1
ADMA: dimetil L-arginina asimétrica	IL-1: Interleucina 1
AgRP: Péptido relacionado con Agouti	IL-6: Interleucina 6
AUC: Área bajo la curva	IRC: Insuficiencia renal crónica
BHE: Barrera hematoencefálica	LHRH: Hormona liberadora de gonadotropinas
BIA: Impedancia bioeléctrica	MCH: Hormona concentradora de melatonina
CART: Péptido transcrito relacionado con cocaína y anfetamina	MC4-R: Receptor melanocortina 4
CCK: Colecistocinina	NPY: Neuropeptido Y
CCK 1R: Receptor 1 de colecistocinina	OB-R: Receptor de leptina
CCK 2R: Receptor 2 de colecistocinina	PCR: Proteína C reactiva
CRH: Hormona liberadora de corticotropina	PET: Test estándar de equilibrio peritoneal
CV: Coeficiente de variación	POMC: Proopiomelanocortina
DXA: Absorciometría de rayos X de energía dual	PP: Polipéptido pancreático
DPP4: Dipeptidil peptidasa 4	PTH: Paratohormona
ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay	PYY: Péptido YY
GABA: Ácido gammaaminobutírico	RIA: Radioinmunoensayo.
GH: Hormona del crecimiento	SNC: Sistema nervioso central
GHRH: Hormona liberadora de GH	TNF: Factor de necrosis tumoral
GHRP: Péptidos liberadores de GH	T3: Triyodotironina
GHS: Secretagogos de GH	YR: Receptor de PYY
GHS-R: Receptor de los secretagogos de GH	Y1R: Receptor 1 de PYY
GHS-R1a: Receptor 1a de ghrelina	Y2R: Receptor 2 de PYY
GHS-R1b: Receptor 1b de ghrelina	Y3R: Receptor 3 de PYY
GLP-1: Glucagón-like peptide 1	
GLP1R: Receptor de GLP-1	
HDL: Lipoproteínas de alta densidad	
hsCRP: Proteína C reactiva de alta sensibilidad	

¹ En las unidades de medida se utilizó el sistema internacional

RESUMEN

Introducción:

Los tejidos adiposo, pancreático y gastrointestinal son el origen de un grupo de moléculas que parecen jugar un papel notable en el control a corto y largo plazo del aporte y gasto energético en humanos. La forma biológicamente activa de varias de ellas (incluyendo ghrelina y péptido YY) es la consecuencia de la modificación de la molécula nativa. El objetivo del presente estudio fue analizar la concentración plasmática de varias de estas hormonas, tanto en ayunas como en respuesta a distintos estímulos, (incluyendo una comida mixta y una diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico) en un grupo de sujetos sanos y otro de pacientes IRC sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria.

Sujetos y métodos:

Mediante un estudio cruzado, en un grupo formado por 8 sujetos sanos y 10 pacientes IRC, se estudió la concentración plasmática en ayunas, y su respuesta a una comida mixta, a un dializado con líquido glucosado hipertónico, y a un placebo oral, de ghrelina total, ghrelina acilada, PYY₁₋₃₆, PYY₃₋₃₆, leptina, glucosa, insulina y GH. También se midió la concentración plasmática en ayunas de IL-6 y hsCRP.

Resultados:

La IRC produce un incremento en la concentración plasmática en ayunas de leptina, ghrelina y PYY, una atenuación de la respuesta de ghrelina total, y una supresión de la respuesta de PYY a la ingesta; mientras que en los sujetos sanos la respuesta a la ingesta de ghrelina acilada y PYY₃₋₃₆ es similar a la de la forma nativa de ambos péptidos.

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico produce una respuesta mínima de ghrelina y una ausencia de respuesta de la concentración plasmática de PYY.

Conclusiones:

El patrón hormonal asociado a la IRC favorece la supresión del apetito

Palabras clave: Ghrelina, PYY, leptina, Insuficiencia renal crónica. Diálisis peritoneal

RESUMO

Introducción:

Os tecidos adiposo, pancreático e gastrointestinal son a orixe dun grupo de moléculas que parecen xogar un papel notable no control a curto e longo prazo do aporte e o gasto enerxético en humanos. A forma biolóxicamente activa de varias delas (incluíndo ghrelina e péptido YY) é a consecuencia da modificación da molécula nativa. O obxectivo do presente estudo foi analiza-la concentración plasmática de varias destas hormonas, tanto en xexún coma en resposta a distintos estímulos (incluíndo unha comida mixta e unha diálise peritoneal con líquido glucosado hipertónico) nun grupo de suxeitos sans e outro de pacientes IRC sometidos a diálise peritoneal ambulatoria.

Suxeitos e métodos:

Mediante un estudo cruzado nun grupo formado por 8 suxeitos sans e 10 pacientes IRC, estudouse a concentración plasmática en xexún, e a súa resposta a unha comida mixta, a un dializado con líquido glucosado hipertónico, e a un placebo oral, de ghrelina total, ghrelina acilada, PYY₁₋₃₆, PYY₃₋₃₆, leptina, glucosa, insulina e GH. Tamén se mediu a concentración plasmática en xexún de IL-6 e hsCRP.

Resultados:

A IRC produce un aumento na concentración plasmática en xexún de leptina, ghelina e PYY, unha atenuación da resposta de ghrelina total, e unha supresión da resposta de PYY á inxesta; mentres que nos suxeitos sans a resposta á inxesta de ghrelina acilada e PYY₃₋₃₆ é similar á da forma nativa de ambos péptidos.

A diálise peritoneal con líquido glucosado hipertónico produce unha resposta mínima de ghelina e unha ausencia de resposta da concentración plasmática de PYY.

Conclusions:

O entorno hormonal asociado á IRC favorece a supresión do apetito.

Palabras clave: Ghrelina, PYY, leptina, Insuficiencia renal crónica. Diálisis peritoneal

ABSTRACT

Background:

The adipose, pancreatic and gastrointestinal cells appear to be the main sources of a group of substances which seemingly play an essential role in the short and long-term control of energy intake and expenditure in humans. For some of them, including ghrelin and peptide YY, a modification of the originally secreted molecule appears to be necessary to attain full biologic activity. The aim of the present study was to analyze plasma levels of some of these factors, both fasting and in response to some specific stimuli, including a mixed meal and intraperitoneal glucose-based dialysate, in two groups, one of them composed by healthy individuals, and the other by patients with chronic renal failure undergoing peritoneal dialysis therapy.

Subjects and methods

Following a crossover design, 8 healthy people and 10 chronic renal failure patients were tested for total ghrelin, acylated ghrelin, PYY₁₋₃₆, PYY₃₋₃₆, leptin, glucose, insulin and GH responses to a standard meal, hypertonic glucose-based dialysate, and orally administered placebo. Fasting concentrations of IL-6 and hsCRP were also measured.

Results:

Chronic renal failure is associated with increased fasting plasma levels of leptin, ghrelin, and PYY, an attenuated response of total ghrelin, and a lack of response of PYY to meals; while in healthy people, the response to meals of acylated ghrelin and PYY₃₋₃₆ is similar to the response of the native forms of both peptides.

Intraperitoneal glucose-based dialysate results in a minimal response of ghrelin and a null response of PYY plasma levels.

Conclusions:

The hormonal milieu of CRD patients favours the suppression of appetite

Keywords: Ghrelin, PYY, leptin, chronic renal disease, peritoneal dialysis

1-INTRODUCCIÓN

1.1 Visión de conjunto

Que el peso corporal pueda mantenerse estable a pesar de la variabilidad en la ingesta es señal indudable de la existencia de un equilibrio energético en el organismo, que se consigue mediante modificaciones en el aporte y el gasto calóricos, coordinadas desde varios centros encefálicos (Aguilera A, 2004).

La ingesta de alimentos tiene, además de un componente voluntario, otro independiente de la voluntad del individuo, que actúa a través de las sensaciones opuestas de apetito y saciedad, y que puede dividirse en 3 fases:

1-Gástrica: Comienza cuando el alimento alcanza el interior del estómago, estimulando, mediante la distensión de su pared, los barorreceptores existentes en la mucosa gástrica, lo que genera una señal saciante que se transmite al encéfalo a través del nervio vago. La composición del alimento estimula también (primero en el estómago, y posteriormente a lo largo de todo el tracto gastrointestinal) la síntesis de varias hormonas con efecto saciante e inhibe la producción de otras con efecto orexigénico (Mendieta, 2008).

2-Postabsortiva: En esta fase, es la concentración plasmática (absoluta y relativa) de los nutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas) absorbidos en el tracto gastrointestinal, la principal responsable de la sensación de apetito o saciedad (Stricker EM, 1984).

3-Central: Las señales periféricas son integradas en varios centros encefálicos, donde estimulan la síntesis de varios péptidos y neurotransmisores implicados en el control del apetito. En condiciones patológicas, el aumento de concentración plasmática de determinadas moléculas relacionadas con la inflamación (como el factor de necrosis tumoral alfa (alfa-TNF), interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y proteína C reactiva

(PCR)) puede suprimir el apetito actuando directamente sobre el sistema nervioso central (SNC).

Gordon Kennedy fue el primero en proponer la existencia de moléculas circulantes capaces de modificar la ingesta y el gasto calóricos (Kennedy, 1953). Desde entonces se ha descrito un número notable de moléculas con un efecto endocrino similar, sintetizadas preferentemente en tres lugares: tejido adiposo, tracto gastrointestinal y páncreas endocrino (Coll, 2007). Tradicionalmente, se ha atribuido a las moléculas de origen adipocitario un efecto a largo plazo sobre el metabolismo, mientras que aquellas de origen gastrointestinal o pancreático tendrían un efecto más inmediato, a través de su influencia sobre el apetito y la saciedad. Esta separación persiste en cierta medida en la actualidad, aunque hoy se sabe que los péptidos sintetizados en el tejido adiposo modulan también la respuesta hipotalámica a las moléculas pancreáticas e intestinales (Schwartz M. 2000; Morton GJ. 2006).

1-Moléculas sintetizadas en el tejido adiposo: Leptina, adiponectina e interleucinas.

Leptina es un péptido que transmite al encéfalo una señal saciante (Pérez Fontan M, 1999; Casanueva FF, 1999; Rodríguez-Carmona, 2000; Aguilera A, 2002), y cuya concentración plasmática es proporcional a la cantidad de grasa corporal (mayor en situaciones de exceso de grasa y menor en aquellas en las que la cantidad de grasa corporal disminuye). Aunque la obesidad severa provocada por su déficit genético es reversible mediante la administración exógena del péptido (Friedman, 1998), esta respuesta no se produce en los casos de obesidad secundaria a una alimentación

hipercalórica, una condición que se ha atribuido a una resistencia a la acción de la hormona en este grupo mayoritario de obesos.

Adiponectina es una proteína estructuralmente próxima al factor C1q del complemento, y a los tipos VIII y X de colágeno. Al contrario de lo que ocurre con leptina, su concentración plasmática se correlaciona negativamente con la cantidad de grasa corporal. Se ha demostrado que posee un efecto protector contra el desarrollo de insulin resistencia, intolerancia a la glucosa y dislipemia (Nawrocki, 2006). Aunque su efecto sobre la ingesta es más dudoso, se ha comprobado que la sobreproducción ectópica de adiponectina reduce la ingesta en ratas obesas.

Las interleucinas, aunque sintetizadas mayoritariamente por células de la serie blanca, son moléculas también producidas en los adipocitos (en el caso de IL-6, hasta un tercio del total de la molécula circulante tiene este origen). Aunque su efecto más relevante es la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria, se ha demostrado una asociación del déficit de IL-1 e IL-6 con la obesidad (Lee JH, 2008; Chida, 2006)

2-Moléculas sintetizadas en el tracto gastrointestinal: El conjunto de hormonas sintetizadas en la mucosa gastrointestinal implicadas en la regulación del apetito incluye moléculas que tienen un efecto supresor del apetito y otras que lo estimulan.

Colecistocinina (CCK) es el principal péptido con efecto saciante producido en el intestino proximal. Los lípidos y proteínas del alimento son el principal estímulo de su síntesis, que genera varias formas bioactivas de la molécula (que comparten el mismo octapéptido carboxi-terminal), siendo las más abundantes las que tienen 8, 22, 33 y 58

átomos de carbono. Se han descrito dos receptores para esta molécula, llamados respectivamente CCK1R (especialmente abundante en las terminales aferentes del nervio vago procedentes del tracto gastrointestinal) y CCK2R (más abundante en el interior del cerebro).

La supresión del apetito que produce CCK se ha demostrado en numerosas especies, incluido el ser humano, en el que su administración exógena disminuye la duración de la ingesta y el volumen del alimento ingerido (Kissileff HR, 1981); aunque este efecto es indetectable si el péptido se inyecta más de 30 minutos antes de la ingesta, y desaparece al cabo de 24 horas si la molécula se perfunde de forma continua. En ratas, la supresión del gen que codifica CCK1R, o la administración de antagonistas de dicho receptor produce un aumento del volumen de alimento ingerido, con el consiguiente desarrollo de obesidad en el animal.

Las células L de la mucosa del intestino delgado distal y colon producen 3 péptidos con un efecto saciante demostrado: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), Oxintomodulina y péptido YY (PYY)

GLP-1 es un péptido sintetizado a partir de proglucagón en respuesta a los nutrientes (especialmente carbohidratos y grasas) que acceden a la luz intestinal (Brubaker, 2003). Existen dos formas bioactivas de la molécula (GLP-1₇₋₃₆ y GLP-1₇₋₃₇), inactivadas rápidamente en la circulación por el enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP4). El receptor sobre el que actúa (llamado GLP1R) es especialmente abundante en el hipotálamo, tronco cerebral y aferentes vagales de origen intestinal.

Aunque tanto la administración exógena de GLP-1 como la de su agonista sintético exenatide producen una disminución de la ingesta en varias especies (incluido el ser

humano), los ratones que carecen del gen de GLP1R tienen una ingesta y peso corporal normales.

Oxintomodulina, que deriva también de proglucacón, es un péptido que actúa, probablemente, a través del mismo receptor GLP1R (Baggio LL, 2004), aunque se ha sugerido la existencia de un receptor específico.

Se ha demostrado su efecto saciante tanto en roedores como en humanos (en los que su administración produce una disminución del apetito, del volumen de la ingesta y del peso; así como un aumento del gasto energético); y su concentración plasmática es especialmente elevada en ciertas patologías asociadas con disminución del apetito (Besterman, 1979)

PYY es un péptido con una estructura común a polipéptido pancreático (PP) y neuropéptido Y (NPY). Todos ellos tienen, en su forma nativa, 36 átomos de carbono, requieren una amidación carboxi-terminal para ser biológicamente activos, y comparten una estructura peculiar llamada pliegue PP. PYY se sintetiza en respuesta a los nutrientes del interior de la luz de intestino distal, siendo más potentes para estimular dicha síntesis los lípidos que los carbohidratos, y éstos más que las proteínas. DPP4 cataliza la degradación de la forma nativa del péptido (PYY₁₋₃₆), aunque la molécula resultante (PYY₃₋₃₆) es también biológicamente activa. Esta hormona ejerce sus efectos uniéndose a una familia de receptores llamados YR.

La importancia que se le atribuye a PYY en la regulación del apetito ha ido en aumento, siendo en la actualidad el péptido al que se concede una mayor relevancia en la regulación precoz de la ingesta. Su administración periférica, tanto en ratas como en humanos, produce una disminución del apetito, de la ingesta y del peso corporal.

Además de las moléculas con efecto anorexígeno previamente citadas, la mucosa intestinal produce un péptido con actividad supresora del apetito: Ghrelina, la única hormona conocida hasta la fecha con este efecto, sintetizada en el estómago e intestino proximal, su concentración aumenta inmediatamente antes de las comidas (en respuesta a un estímulo de origen cefálico), y disminuye tras el contacto de los nutrientes con la luz del aparato digestivo (los carbohidratos son más efectivos que las proteínas, y éstas más que los lípidos en la consecución de dicho efecto).

Su administración exógena aumenta el consumo de alimentos mediante un incremento en la frecuencia de la ingesta, sin producir un aumento en el volumen de cada comida.

3-Moléculas sintetizadas en el páncreas endocrino: Polipéptido pancreático, amilina e insulina

Polipéptido pancreático (PP) es una molécula estructuralmente similar a PYY, sintetizada proporcionalmente al aporte calórico en células de los islotes del páncreas. Actúa a través del grupo de receptores (YR) de PYY. Aunque su papel en la regulación del apetito ha sido puesta en duda, su administración periférica disminuye el apetito y la ingesta, independientemente del vaciado gástrico, tanto en ratas como en humanos.

Amilina es un péptido sintetizado en las células beta pancreáticas. Cosecretada con la insulina, su administración tanto central como periférica disminuye el volumen de la ingesta (Rushing PA, 2000). Un análogo de esta molécula, pramlintide, diseñado

inicialmente para el tratamiento de la diabetes mellitus, produce un descenso de peso que se ha documentado en un estudio de 26 semanas de duración (Hollander P, 2004)

Aunque efecto de la insulina en el control de la distribución periférica de nutrientes es ampliamente reconocido, su efecto regulador del apetito sobre el cerebro es menos conocido y no siempre aceptado. Existen receptores para insulina en todo el cerebro, especialmente en hipotálamo, bulbo olfatorio, hipocampo y córtex.

Su administración central tiene un efecto anorexígeno demostrado, aunque de dudosa importancia fisiológica. La ablación del gen productor de la insulina en ratones tiene escasos efectos sobre la ingesta y el peso de los roedores (Bruning, 2000).

Existen, además de las hormonas citadas con origen en tejido adiposo, tracto gastrointestinal y páncreas endocrino, un grupo de moléculas, sintetizadas en otros lugares del organismo, con un efecto sospechado o demostrado sobre la ingesta. Es el caso de los glucocorticoides (sintetizados en glándulas suprarrenales), estradiol (gónadas), hormonas tiroideas (tiroides) y proteína C reactiva (PCR) (hígado).

Las señales periféricas relacionadas con el apetito, de tipo neurológico (transmitidas a través del nervio vago), metabólico (nutrientes circulantes) y humoral (hormonas), alcanzan el encéfalo. Del conjunto de áreas cerebrales implicadas en la nutrición, se conoce de forma especialmente detallada la estructura del núcleo arcuato del hipotálamo, en el que existen dos poblaciones celulares distintas (Cummings, 2007): un grupo de neuronas que sintetiza péptidos que estimulan el apetito (neuropéptido Y (NPY) y péptido relacionado con Agouti (AgRP)); y un segundo grupo que expresa moléculas que suprimen dicha sensación (péptido transcrito relacionado con cocaína y

anfetamina (CART) y proopiomelanocortina (POMC)). Ambas poblaciones neuronales proyectan sus axones hacia territorios cerebrales en los que existen neuronas que expresan el receptor melanocortina 4 (MC4-R). La relevancia de ambos grupos neuronales en la regulación del apetito se demuestra al comprobar los efectos producidos por su ablación selectiva: la destrucción de aquellas neuronas productoras de NPY/AgRP produce una hipofagia severa (Flier, 2006); y la eliminación de las neuronas POMC/CART produce hiperfagia y obesidad (Coll, 2004). Se ha estudiado especialmente la respuesta de las neuronas del núcleo arcuato a la administración de leptina (Cone, 2005). Esta molécula inhibe la actividad de las neuronas productoras de NPY/AgRP; y estimula la de aquellas productoras de POMC/CART.

Del conjunto de hormonas, previamente citadas, relacionadas con la regulación de las sensaciones de apetito y saciedad, dos de ellas tienen ciertas características que las hacen especialmente relevantes: Ghrelina es la única que tiene un efecto estimulante del apetito; y, entre todas aquellas con actividad anorexígena, a PYY se le atribuye en la actualidad un efecto especialmente relevante en la finalización de la ingesta. Las páginas que siguen son una descripción más extensa de ambos péptidos.

1.2. Ghrelina

1.2.1. Perspectiva histórica

El descubrimiento de la molécula de ghrelina fue el paso final de un proceso que comenzó con la síntesis de análogos sintéticos, que permitieron conocer la estructura del receptor, y finalmente la estructura del péptido nativo (Kojima M, 1999).

Año de síntesis	Moléculas peptídicas	Moléculas no peptídicas
1977	D-Trp2-metencefalina	
1984	GHRP-6	
1991	GHRP-1	
1992		L-692,429
1993	GHRP-2	
1994	Hexarelina	L-692,585
1995		MK-0677
1996	EP-51389	
1998	Ipamorelina	
1999		NN-703
2000		CP-424,391
2001		SM-130686
2002		EP-01572

Tabla 1: Análogos sintéticos de ghrelina (GHS)

A los análogos sintéticos se les llamó, genéricamente, secretagogos de GH (GHS) o péptidos liberadores de GH (GHRP), por su capacidad común de inducir la síntesis de hormona de crecimiento in vivo (Casanueva FF, 1999b). Aunque los primeros análogos sintetizados fueron péptidos (Momany FA, 1981), la búsqueda de moléculas activas por vía oral y con mayor biodisponibilidad condujo a la síntesis de moléculas no peptídicas

(Peñalva A, 2001) (Tabla 1). Una de ellas (MK-0677) facilitó el descubrimiento, y posterior clonado del receptor de ghrelina (al que, inicialmente, se denominó receptor de los secretagogos de GH (GHS-R)) (Muccioli G, 1998).

1.2.2. Estructura y síntesis

Ghrelina es un péptido de 28 aminoácidos, con una estructura lineal, carga eléctrica ligeramente negativa y un peso molecular de 3314; acilado en uno de sus residuos Serina (Van der Lely AJ, 2004) por un ácido decanoico, decenoico u octanoico (siendo esta última la fracción acilada más abundante en el plasma) (Hosoda H, 2003). Dicha acilación es esencial para su unión al receptor; aunque la molécula sin acilar ejerce ciertas acciones no endocrinas de tipo cardiovascular y antiproliferativo, probablemente a través de un receptor todavía no identificado (Cassoni P, 2001). Los cuatro primeros aminoácidos de ghrelina (Gly-Ser-Ser(n-octanoilo)-Phe) activan el receptor de forma tan eficaz como la molécula completa (Bednarek NA, 2000).

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

Su síntesis se produce especialmente en las células X/A-like de la mucosa gastrointestinal; especialmente abundantes en la mucosa oxíntica, y cuya densidad disminuye a medida que la mucosa intestinal se aleja del estómago (Date Y, 2000; Sakata I, 2002). La relevancia de este tipo de células en la síntesis de ghrelina la demuestra el descenso en la concentración plasmática del péptido (aproximadamente un 80%) que se

produce tras la gastrectomía o tras la realización de un by pass gástrico (Cummings DE, 2002), mientras que dicha concentración no se modifica tras la cirugía en Y de Roux (Holdstock C, 2003).

Además de la mucosa gastro-intestinal, otros lugares en los que se ha documentado la síntesis de ghrelina son el páncreas (en una subpoblación celular del páncreas endocrino llamadas células H (Volante M, 2002)), placenta (especialmente en células citotrofoblásticas (Peñalva A, 2001; Gualillo O, 2001)), riñón (en células mesangiales y podocitos (Mori K, 2000)), células hemáticas (linfocitos y neutrófilos), hipófisis (células corticotropas, lactotropas y tiotropas de la hipófisis normal, y en varios tipos de adenomas hipofisarios) (Peñalva A, 2001; Korbonits M, 2001) e hipotálamo (Cowley MA, 2003). Se han encontrado también pequeñas cantidades de ghrelina en glándula suprarrenal, esófago, tejido adiposo, vesícula biliar, miocitos, miocardio, ovario, próstata, testículos (Tena-Sempere M, 2002), piel, bazo e hígado (Gnanapavan S, 2002).

Su concentración plasmática sigue un ritmo circadiano, con un nadir en torno a las 9:00 AM, y un cénit sobre la 1:00 AM (Cummings DE, 2002). Dicha concentración disminuye durante la infancia, a medida que la edad del niño avanza (Bellone S, 2002), pero en el individuo adulto existe una correlación positiva entre la ghrelinemia y la edad (Cummings DE, 2001).

La ghrelinemia se correlaciona negativamente con la proporción de grasa corporal, siendo su concentración en ayunas y la magnitud de su descenso postprandial notablemente menores en pacientes obesos que en aquellos con normopeso (Shiia T, 2002; Tschop M, 2001; le Roux CW, 2005) (con la excepción de la obesidad secundaria al síndrome de Prader-Willi, en la que ocurre lo contrario (Cummings DE, 2002)); y es

mayor en los pacientes con anorexia nerviosa que en los sujetos sanos (Shiyya T, 2002; Nedvidkova J, 2003).

No existen diferencias de concentración entre ambos sexos (Tschöp M, 2001), excepto durante los períodos de ayuno prolongado, en los que la concentración de ghrelina es significativamente superior en las mujeres (Ostergard T, 2003), y el final de la fase folicular del ciclo menstrual, momento en el que la concentración de ghrelina también aumenta de forma notable (Barkan AL, 2003).

El ayuno es el principal estímulo para su síntesis (con incrementos próximos al 80% en los instantes previos a una comida); y su concentración disminuye en los 60 minutos que siguen al inicio de la ingesta (Cummings DE, 2001; Casanueva FF, 2002; Gualillo O, 2002; Seoane LM, 2007) de forma proporcional al aporte de carbohidratos en el alimento (Cummings DE, 2002; le Roux CW, 2005; Erdmann J, 2003). La administración intraperitoneal de glucosa produce un efecto sobre ghrelina similar al de la misma cantidad del azúcar administrada oralmente. La ingesta de líquido acalórico no modifica su concentración plasmática (Tschöp M, 2000).

Además del ayuno y la ingesta, se han descrito otros factores que, de forma menos intensa, regulan la secreción de ghrelina: insulina (Saad MF 2003), glucosa (Erdmann J, 2004), somatostatina (Barkan AL, 2003; Broglio F, 2002); y con menos seguridad GH (Freda PU, 2003; Tschöp M, 2002), leptina (Geloneze B, 2003; Cummings DE, 2001), melatonina (Mustonen AM, 2001), tiroxina (Riis AL, 2003), glucagón (Kishimoto M, 2003), interleucina-1 β (Shintani M, 2001; Lee HM, 2002) y la actividad del sistema nervioso parasimpático (Masuda Y, 2000; Sugino T, 2003).

1.2.3. Mecanismo de acción

El receptor de ghrelina, perteneciente a la familia de los receptores de membrana acoplados a proteínas G, es un péptido producido por un gen único localizado en 3q26.2, del que se han identificado dos variantes (producto del distinto procesamiento de un pre-mRNA común), llamadas respectivamente receptor 1a (366 aminoácidos) y 1b (289 aminoácidos) (Mc Kee KK, 1997a; McKee KK, 1997b). Se ha demostrado su existencia en la hipófisis (células somatotropas), hipotálamo (especialmente en neuronas del núcleo arcuato), y varias áreas encefálicas extrahipotálamicas (hipocampo, pars compacta de la sustancia negra, área ventral tegmental, y los núcleos dorsal y medial del rafe, núcleo de Edinger-Westphal, el puente y la médula oblonga); así como en múltiples órganos periféricos (tracto gastrointestinal (estómago, intestino (Cassoni P, 2001), páncreas (Guan XM, 1997)), riñón (Mori K, 2000), corazón, cava (Papotti M, 2000) y aorta) (Nagaya N, 2001); y en varios tejidos tumorales como adenomas hipofisarios (Korbonits M, 2001a; Korbonits M, 2001b), tumores pulmonares (de Keyzer Y, 1997), gástricos (Papotti M, 2001) y pancreáticos (Korbonits M, 1998. Curiosamente, el tejido mamario y tiroideo normales no expresan receptores para ghrelina, pero dichos receptores sí están presentes en los carcinomas de tiroides (Volante M, 2002) y de mama (Cassoni P, 2001)

La unión de ghrelina acilada al receptor 1a activa la vía de fosfolipasa C, que produce un aumento de la concentración intracitoplasmática de calcio mediante su liberación de los almacenes intracelulares y la entrada a la célula de calcio extracelular a través de canales tipo L. El receptor 1b no produce esta respuesta, y está por determinar cuál sea su función (Howard AD, 1996; Gnanapavan S, 2002; Smith LG, 2001).

1.2.4. Efectos de la hormona

Los efectos de ghrelina son de tres tipos: Encefálicos, hipotálamo-hipofisarios y periféricos.

1.2.4.1. Encefálicos

1.2.4.1.1. Efectos sobre la ingesta

La administración de ghrelina o GHS sintéticos a roedores, tanto intraventricular (Locke W, 1995) como periférica (Kalra SP, 1999; Gehlert DR, 1999; Bowers CY, 2001), produce un aumento de la ingesta en un plazo de 60 minutos; que da lugar a un aumento de peso del animal significativo a las 48 horas, y evidente a las 2 semanas (Tschop M, 2000; Nakazato M, 2001; Wren AM, 2001; Tschop M, 2002), especialmente a expensas de un aumento masa grasa (De Vriese C, 2007), con una disminución de la masa magra, y sin modificación alguna en el gasto energético, aunque con un incremento en el cociente respiratorio (que se interpreta como una tendencia a la oxidación preferente de los carbohidratos frente a la grasa) (Tschop M, 2000).

El efecto de ghrelina sobre el apetito está mediado a través de su acción sobre los dos grupos de neuronas existentes en el núcleo arcuato (Nakazato M, 2001; Shintani M, 2001; Tschop M, 2002): las neuronas productoras de NPY/AGRP (péptidos cuya producción aumenta tras la administración aguda o crónica de ghrelina) (Kojima M, 1999; Seoane LM, 2003; Hewson AK, 2000); , y aquellas que producen POMC/CART (cuya síntesis disminuye tras la administración del péptido).

La respuesta descrita de las neuronas del núcleo arcuato se produce tanto cuando ghrelina se administra central periféricamente (Bowers CY, 2001). Esto no significa que el péptido (una molécula acilada) pueda atravesar la barrera hematoencefálica (BHE): se sospecha que la región ventromedial del núcleo arcuato pudiera no estar totalmente protegida por la BHE, y ser, por lo tanto, accesible a ghrelina y otras moléculas circulantes (Merchenthaler I, 1991; Hovarth TL, 2001).

1.2.4.1.2. Otros efectos centrales

Ghrelina induce el sueño en humanos (Weikel JC, 2003), y la administración de GHS peptídicos sintéticos modifica el patrón de sueño en sujetos sanos (Copinschi G, 1997; Frieboes RM, 1995; Frieboes RM, 1999). El tratamiento a largo plazo con el GHS no peptídico MK-0677 en ancianos aumenta la duración de las fases REM, y disminuye la latencia del movimiento ocular (Moreno-Reyes R, 1998)

La administración, tanto central como periférica de ghrelina, produce un efecto ansiogénico, a través de la activación del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal (efecto que se suprime administrando antagonistas del receptor de CRH).

1.2.4.2. Hipotálamo-hipofisarios

1.2.4.2.1. Estímulo de la síntesis de GH

Ghrelina estimula la síntesis y secreción de la hormona del crecimiento (GH), de forma de forma dosis dependiente (Smith RG, 1997; Kojima M, 1999; Arvat E, 2000; Takaya K, 2000; Peñalva A, 2001; Arvat E, 2001; Ghigo E, 2001) y variable en función

de la edad (el efecto aumenta hasta la pubertad, se mantiene durante la edad adulta, y decrece durante la ancianidad) (Bowers CY, 1999; Ghigo E, 2001).

Aunque la adición de ghrelina o GHS sintéticos a cultivos celulares aumenta la síntesis (Goth MI, 1992) y la secreción (Sartor O, 1985; Bowers, 1991) de GH, este efecto es especialmente intenso *in vivo* (Clark RG, 1989; Cordido F, 1993; Martul P, 1993), y está mediado a través de neuronas hipotalámicas productoras de LHRH (Mallo F, 1993, Leal-Cerro, 1995), un péptido con el que ghrelina tiene una acción sinérgica (Smith RG, 1997; Ghigo E, 2001; Tannenbaum GS, 2001; Bluet-Pajot MT, 2001), habiéndose utilizado la combinación de ghrelina y LHRH como prueba diagnóstica del déficit de GH en adultos con una sensibilidad y especificidad comparables a las de la hipoglucemia insulínica (Cordido F, 1990; Cordido F, 1995; Pombo M, 1995; Pombo M, 1996; Popovic V, 2000). Existe también, evidencia de que, *in vivo*, ghrelina se comporta como un antagonista de somatostatina (Cordido F, 1989; Peñalva A, 1989; Peñalva A, 1993; Di Vito L, 2002)

1.2.4.2.2. Estímulo de la síntesis de prolactina y ACTH

Ghrelina, y con alguna excepción (Broglia F, 2002) los GHS sintéticos estimulan la actividad de los sistemas lactotrofo y corticotrofo (Muller EE, 1983; Peñalva A, 2001; Ghigo E, 2001). El efecto sobre el cortisol, especialmente intenso, es dependiente de la edad (se intensifica en la pubertad, disminuye durante la edad adulta, y muestra un nuevo incremento en la ancianidad), y está mediado por CRH, vasopresina, NPY y GABA (Dickson SL, 1997; Thomas GB, 1997; Korbonits M, 1999).

1.2.4.3. Efectos periféricos

Ghrelin estimula (en un efecto mediado por el sistema colinérgico sólo en roedores (Broglia F, 2003) la secreción ácida y la motilidad gástrica en ratas (Masuda Y, 2000; Trudel L, 20029), y su concentración se correlaciona con el tiempo de vaciado gástrico en humanos.

En el páncreas exocrino, inhibe la secreción de CCK, tanto *in vivo* como *in vitro*. En páncreas endocrino, ghrelin tiene un efecto tónico inhibitor de la secreción de insulina (Cummings DE, 2001; Tolle V, 2002; Ariyasu H, 2002; Pagotto U, 2002; Saad MF, 2003; Chan JL, 2004).

La administración de GHS sintéticos (no así la de ghrelin) confiere protección contra el daño miocárdico (en ratas, su administración ha demostrado proteger contra el infarto de miocardio inducido (de Gennaro Colonna V, 1997a; de Gennaro Colonna V, 1997b)), aumenta el volumen sistólico y disminuye la resistencia vascular periférica (efectos ambos demostrados tanto en roedores como en humanos) (Bisi G, 1999a; Bisi G, 1999b; Nagaya N, 2001).

El receptor a través del que se realizan los efectos cardiovasculares de los GHS no es el receptor clásico GHS-R1a, sino un receptor con una masa molecular mayor (84 kDa) y una secuencia de aminoácidos distinta.

Ghrelin (tanto en su forma acilada como en la forma no acilada) ejerce, con alguna excepción (Murata M, 2002; Jeffery PL, 2002), un efecto supresor del crecimiento tumoral. Se ha descrito la existencia de receptores (distintos del receptor GHS-R 1a) para ghrelin en tumores tiroideos (tanto foliculares como no foliculares) (Cassoni P,

2000; Kanamoto N, 2001; Cassoni P, 2002), mamarios (Cassoni P, 2001) y pulmonares (Ghe C, 2002).

1.3. Péptido YY

1.3.1. Estructura y síntesis

Descrito por primera vez en 1980 (Takemoto K, 1980), PPY es una molécula estructuralmente similar a PP y a NPY (con los que comparte su estructura terciaria, llamada pliegue PP), cuya forma nativa, de 36 aminoácidos (PYY₁₋₃₆), es hidrolizada en el plasma por el enzima DPP4, lo que la convierte en PYY₃₋₃₆, que es la variante más abundante de la molécula en el plasma (Grandt D, 1994a; Grandt D, 1994b), y la forma del péptido con un efecto anorexígeno demostrado (Pfluger PT, 2007)

Aunque se ha descrito su síntesis a lo largo de toda la mucosa intestinal, páncreas, y varios grupos neuronales del sistema nervioso central (Broome M, 1985; Batterham RL, 2002), el principal lugar de síntesis de esta molécula son las células L de la mucosa de intestino delgado distal y colon (Adrian TE, 1985)

Su concentración plasmática, que es independiente de la edad (Pfluger PT, 2007), sigue un ritmo circadiano, con un nadir por la mañana (Soffer EE, 1997); aunque existe cierta controversia sobre el valor de la concentración de PYY en ayunas, dada la influencia que sobre dicha concentración tiene la mayor o menor duración del tiempo de ayuno previo (Tovar SA, 2004)

La concentración de PYY aumenta tras la ingesta (especialmente la variante 3-36), de forma proporcional al aporte calórico (Adrian TE, 1985) y a la composición del alimento, siendo las grasas el estímulo más potente para esta respuesta (Goodlad RA, 1987; Degen L, 2005), que comienza a los 15 minutos del consumo de alimentos,

alcanza un cénit a los 90 minutos, y se prolonga (disminuyendo progresivamente) durante 6 horas (Batterham RL, 2002; Adrian TE, 1985).

En obesos, su concentración plasmática en ayunas es menor (Batterham RL, 2003; Korner J, 2005; Stock S, 2005; Le Roux CW, 2006; Pfluger PT, 2007), y su respuesta a la ingesta menos intensa que la existente en individuos con normopeso (Le Roux CW, 2006; le Roux CW, 2006b). En la anorexia nerviosa, por el contrario, su concentración en ayunas es mayor que en sujetos sanos con normopeso (Stock S, 2005; Pfluger PT, 2007), aunque, en estos pacientes, la ganancia de peso no modifica sustancialmente la concentración del péptido (Misra M, 2006; Pfluger PT, 2007).

1.3.2. Mecanismo de acción

Existen 3 variantes del receptor de PYY, llamadas respectivamente Y1R, Y2R e Y3R. Aunque PYY₁₋₃₆ se une a las 3 isoformas del receptor (Tschop M, 2004), PYY₃₋₃₆, que es la forma activa de la molécula, lo hace de forma selectiva a Y2 (Le Roux CW, 2006), un receptor especialmente abundante en el núcleo arcuato. La unión de PYY a Y2R produce cambios en la actividad de las neuronas NPY/AGRP y POMC/CART (Batterham RL, 2002)

1.3.3. Efectos de la hormona

La administración periférica de PYY tiene un efecto saciante (Talsania T, 2005; Moran TH, 2005), que se ha demostrado tanto en roedores como en humanos (Batterham RL, 2002; Halatchev IG, 2004; Cox JE, 2004), en los que se prolonga hasta 12 horas después de la suspensión de su perfusión.

Su administración intracerebral (en ventrículos cerebrales o núcleo paraventricular) produce, por el contrario, un aumento del apetito. Esta aparente paradoja (un efecto orexigénico tras la administración central del péptido, y un efecto anorexígeno al administrarlo periféricamente) se ha explicado por la unión selectiva de PYY₃₋₃₆ (que es la variante mayoritaria de PYY circulante) a los receptores Y2 del núcleo arcuato (receptores cuya activación tiene un efecto saciante). Sin embargo, la activación de Y1R e Y3R, predominantes en el núcleo paraventricular (a los que no tiene acceso, y a los que se une con menos afinidad PYY₃₋₃₆) tiene un efecto estimulante del apetito.

1.4. Nutrición en la insuficiencia renal crónica

1.4.1. Malnutrición urémica. Definición, diagnóstico y prevalencia

La definición clásica de malnutrición (un estado nutricional deficiente como consecuencia de un aporte inadecuado de nutrientes (Sardesai VM, 1998)) no se ajusta al estado nutricional de la insuficiencia renal crónica. Aunque durante décadas se ha asumido que las alteraciones metabólico-nutricionales observadas en pacientes IRC eran una malnutrición energético-proteica típica, existen datos en la actualidad que sugieren la existencia de otros factores (más allá de un déficit en la ingesta) que favorecen el desarrollo de dichos trastornos en la nutrición; y que conducen a alteraciones en la concentración plasmática de proteínas a pesar de que su consumo diario sea el adecuado. Especialmente relevante es la asociación de esta patología a un estado de inflamación crónica, que influye en el estado nutricional de los pacientes (Pecoits-Filho R, 2004). Es probable, por tanto, que el término “malnutrición” no sea el más adecuado para definir las alteraciones metabólicas complejas que se asocian a la IRC. Este conjunto de alteraciones ha sido llamado “malnutrición urémica”

Las peculiaridades de la uremia hacen que los métodos habitualmente utilizados para la evaluación de la malnutrición tengan sólo una validez relativa cuando se aplican a estos pacientes (Lowrie EG, 1990; Kopple JD, 1997; Duenhas MR, 2003); siendo su utilidad mayor en los estadios más avanzados de la uremia. Los párrafos siguientes incluyen una descripción somera de los distintos métodos usados para la evaluación nutricional de un individuo, y las limitaciones de su aplicación en el caso de los pacientes IRC.

1-Métodos bioquímicos

La concentración plasmática de varias moléculas se ha utilizado como marcador del estado nutricional. De todas ellas, la albúmina es la más habitual; habiéndose demostrado una asociación negativa entre su concentración plasmática y el riesgo de hospitalización y de muerte (Guarnieri G, 1980).

En IRC existen, sin embargo, varias causas de hipoalbuminemia no relacionadas con la malnutrición (como la hepatopatía uremica, la sobrecarga de volumen y el estado inflamatorio crónico propio de la uremia); que hacen que la albuminemia sea un parámetro mediocre de evaluación nutricional en esta patología (Kaysen GA, 1995; Ballmer PE, 1992).

La prealbuminemia es también un predictor reconocido de morbimortalidad; y su sensibilidad en la detección de cambios en los depósitos corporales de proteínas es mayor que la de la albúmina, debido a su vida media más corta y a sus reservas corporales menores (Neyra NR, 2000; Kaysen GA, 2000). Su concentración plasmática se ve, sin embargo, condicionada por los mismos factores previamente descritos para la albúmina en la insuficiencia renal, y tiene, por tanto, las mismas limitaciones que aquella (Ingenbleek, 1972).

La concentración plasmática de transferrina se modifica también en función de los cambios en el aporte proteico (Neyra NR, 2000; Chertow GM, 2000), y la influencia que sobre dicha concentración ejercen los factores previamente descritos asociados a la uremia son menores, pero es una molécula que depende notablemente del metabolismo

del hierro, frecuentemente alterado en IRC (Qureshi AR, 1998), lo que limita su utilidad en esta patología.

Varias otras moléculas se han utilizado para evaluar, a través de su concentración plasmática, el estado nutricional de un individuo. Creatinina, colesterol, nitrógeno ureico y proteína C reactiva (PCR) son varias de ellas.

Sin embargo, las alteraciones notables en la concentración plasmática de creatinina y nitrógeno ureico (que, en cierta medida definen el estado de insuficiencia renal) las inutilizan como marcadores nutricionales en esta patología. La dislipemia frecuentemente asociada a la uremia hace que la colesterolemia tampoco sea útil en esta circunstancia. La concentración plasmática de varios marcadores inflamatorios (y muy en particular de PCR) está notablemente aumentada en la IRC, independientemente de la situación nutricional de estos pacientes, y por ello esta molécula tampoco es un marcador nutricional útil en estos pacientes (Stenvinkel P, 2002).

El balance nitrogenado (en el que se mide la homeostasis de las proteínas corporales durante 5-10 días (Reifenstein EC, 1945; Kopple JD, 1973)) y las técnicas de infusión isotópica (que cuantifican el intercambio proteico del organismo usando como trazador un aminoácido marcado) (Garlick P; 1987) son procesos que evalúan la homeostasis proteica del organismo. Aunque más fiables que la simple medición de la concentración plasmática de una molécula, son más caras y exigen personal especializado para su realización, lo que limita su uso.

2-Métodos Antropométricos y de evaluación de la composición corporal

La antropometría es la medición de peso, talla y grosor de los pliegues cutáneos (tricipital, subescapular y abdominal). Se ha demostrado su correlación con el estado nutricional aunque, por sus características, presenta una gran variabilidad tanto intra como interobservador (Hall JC, 1980; Pollock ML, 1984).

El análisis de activación de neutrones, la absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) y la impedancia bioeléctrica (BIA) son métodos de evaluación de la composición corporal. Han demostrado su fiabilidad en la evaluación del estado nutricional incluso en pacientes urémicos (Cohn SH, 1983). Su uso está, sin embargo, limitado por su alto coste.

3-Métodos de evaluación del aporte y el gasto energético

El registro (semanal o mensual) de las comidas y la historia alimentaria son medidas directas y simples (aunque poco fiables) de la ingesta (Kloppenburger, 1999). Más fiable para evaluar el aporte calórico es la medición de la excreción del nitrógeno ureico en orina de 24 horas (o el equivalente proteico del nitrógeno total en el caso de pacientes dializados); aunque es una técnica que sobreestima la ingesta en pacientes en los que existe un estado catabólico (en el que la degradación proteica aumenta la cantidad de nitrógeno ureico), una situación frecuente en los pacientes con IRC (Ikizler, 1996)

El gasto energético puede estimarse utilizando ecuaciones predictivas, de las que la de Harris-Benedict es la más común (Harris J, 1919). El método más fiable para su evaluación es, sin embargo, la calorimetría indirecta (que mide el gasto energético en reposo basándose en el consumo de oxígeno y la producción de CO₂). La gran

variabilidad del gasto energético en reposo secundaria a las distintas comorbilidades que se asocian a la uremia la hace menos fiable en los pacientes con esta patología.

4-Métodos compuestos

La evaluación global subjetiva, un método inicialmente desarrollado para establecer el pronóstico en pacientes quirúrgicos (Detsky AS, 1987) incluye parámetros de antecedentes clínicos, síntomas y un examen físico. Es una técnica que puede realizarse en un tiempo breve y evalúa si hay o no una correcta asimilación de los nutrientes (disminución de la ingesta, descensos de peso), la presencia de síntomas gastrointestinales (maladigestión o malabsorción), la capacidad funcional del paciente y su estado físico (atrofia muscular y signos de carencia de vitaminas) (Harty JC, 2004). Aunque se ha utilizado en pacientes con IRC (Steiber AL, 2004), su fiabilidad en esta patología es dudosa (Jones CH, 2004). El índice nutricional compuesto (Harty JC, 1994) y el método de la puntuación malnutrición-inflamación (especialmente útil en la uremia (Kalantar-Zadeh K, 2004) son variantes de la evaluación global subjetiva.

La prevalencia de la malnutrición en la uremia es muy variable; y depende no sólo del método diagnóstico utilizado, sino también del tratamiento recibido, y, muy especialmente, del estadio de la insuficiencia renal.

En los pacientes dializados, tanto en aquellos sometidos a hemodiálisis como aquellos en los que se utiliza la diálisis peritoneal (Marckmann P, 1998; Nelson EE, 1990) se ha descrito una prevalencia de malnutrición en torno al 40% (Kopple JD, 1997b). Tras la realización de un trasplante, al cabo de 1 año, la prevalencia de malnutrición es de, aproximadamente, el 15% de los pacientes (Djukanovic L, 2003; Williams ED, 1984; Miller DG, 1986; Heaf J, 2004).

La malnutrición urémica es especialmente evidente, e independiente del método diagnóstico usado, en el estadio 5 de la IRC; especialmente en aquellos pacientes a los que no se ha dado previamente el consejo de reducir la ingesta de proteínas (Feiten SE, 2005). Existe, no obstante, evidencia de un empeoramiento progresivo del estado nutricional, a medida que la insuficiencia renal avanza, en niveles previos de IRC (Ikizler TA, 1996b; Duenhas MR, 2003); y en los pacientes con un filtrado glomerular inferior a 15 mL/min, la prevalencia de malnutrición urémica evaluada mediante evaluación global subjetiva está ya en torno al 40% (Stenvinkel P, 1999; Caravaca F, 2001).

1.4.2. Impacto de la malnutrición urémica en la morbimortalidad

La malnutrición en pacientes urémicos aumenta la mortalidad (Verdery, 1994; Law MR, 1994), especialmente por causas cardiovasculares e infecciosas (Owen W, 1993), e independientemente del método que se utilice para diagnosticar malnutrición: bioquímico (en IRC, una albuminemia inferior a 2,5 g/dL aumenta 20 veces el riesgo de fallecimiento (Lowrie EG, 1990), antropométrico (la mortalidad de los pacientes urémicos con un IMC inferior a 21,1 kg/m² es hasta un 60% más alta que la de los mismos pacientes con un IMC superior a 28,1 kg/m² (Leavey SR, 1998)), de composición corporal (la disminución de la masa grasa corporal medida con DXA aumenta la mortalidad a los 5 años en pacientes dializados (Kato A, 2003), de evaluación del aporte energético (la mortalidad en pacientes hemodializados es mayor cuanto menor es el equivalente proteico de nitrogeno total (Parker TFI, 1983) o compuesto (Group C-UCPDS, 1996; Kalantar -Zadeh K, 2001; Pifer TB, 2002)

1.4.3. Factores que condicionan el estado nutricional en la uremia

La fisiopatología de la malnutrición en la uremia está condicionada por un grupo amplio de factores que se solapan a lo largo de los varios estadios de la IRC, lo que la hace especialmente compleja (Aguilera A, 2004). Los párrafos que siguen son una descripción de dichos factores, que favorecen el desarrollo y mantenimiento de la malnutrición en los pacientes urémicos.

1-Alteraciones de la ingesta

Se ha demostrado que la IRC produce modificaciones en las preferencias alimentarias, en la motivación para la ingesta, y en el apetito (Hakim RM, 1989; Kopple JD, 1989; Knochel JP, 1991; Ikizler TA, 1996c; Pollock CA, 1997; Hakim RM, 1989)

Los pacientes dializados muestran, comparados con los sujetos sanos, una preferencia hacia la ingesta de las carnes más blancas (pescados, pavo) frente a aquellas más rojas (cerdo, cordero); y una atracción por los cítricos y los sabores fuertes en general (Dobell E, 1993; Fernström A, 1996). Algunas preferencias alimentarias en la uremia se han relacionado con la concentración plasmática de compuestos moduladores del apetito (el aumento de concentración plasmática de CCK existente en la IRC se asocia a una saciedad precoz para los carbohidratos (Mamoun AH, 1997)) y con las alteraciones del gusto (incluido un permanente sabor salado de la saliva (Drewnowski A, 1997; Mathey MF, 2001) asociadas a esta patología.

Se ha comprobado, utilizando escalas validadas para su utilización en la uremia (Mamoun AH, 1996; Fernström A, 1996b; Hylander B, 1997), que la motivación para la

ingesta de los pacientes con IRC es significativamente menor que la de los sujetos sanos (Aguilera A, 2004).

La anorexia es condición prácticamente universal en la IRC avanzada (Knochel JP, 1991), y conduce a un menor aporte calórico, paralelo al empeoramiento de la función renal (Pollock CA, 1989; Ikizler TA, 1996; Kopple JD, 1997c), especialmente a expensas de una disminución en el consumo de carbohidratos (Aguilera A, 2004).

Los factores que favorecen la falta de apetito en la uremia son los siguientes:

Desequilibrio en la concentración plasmática de moléculas con efecto saciante y orexigénico: Desde hace aproximadamente una década, la literatura científica recoge trabajos que describen la concentración plasmática de varias de las moléculas implicadas en la regulación del apetito (tabla 2)

Molécula	Situación en IRC
CCK	Elevada
GLP-1	Elevada
Oxintomodulina	No estudiada
PYY	Elevada
NPY	Variable
AgRP	No estudiada
POMC	No estudiada
CART	No estudiada
Alfa-TNF	Elevada
IL-1	Elevada
IL-6	Elevada
PCR	Elevada
Ghrelina	Elevada

Tabla 2: Concentración plasmática en IRC de moléculas relacionadas con el apetito

De aquellas moléculas implicadas en la fase central de la regulación del apetito, existen publicaciones en pacientes urémicos de la concentración plasmática de NPY (Bald M, 1997; Aguilera A, 1998; Aguilera A, 1999), y de los marcadores inflamatorios IL-1, IL-6 y PCR (McDonald, 1993; Aguilera A, 1998; Aguilera A, 1999). Sobre las moléculas implicadas en la fase gástrica del apetito se han publicado datos, en IRC, sobre CCK (Owyang C, 1979; Aguilera A, 1998), ghrelina (Heimburger O, 1997; Isidro ML, 2006) Yoshimoto A, 2002; Pérez-Fontán M, 2004; Rodríguez-Ayala E, 2004; Pérez-Fontán M, 2005), GLP-1 (Meier JJ, 2004) y PYY (Pérez-Fontán M, 2008

No es casual que sean, precisamente CCK, ghrelina y PYY las moléculas sobre las que existe un mayor número de publicaciones en la uremia: CCK fue el primero de los péptidos de origen intestinal del que se demostró un efecto hormonal sobre la regulación del apetito; esta circunstancia lo ha convertido en objeto de estudio desde mucho antes que el resto de las moléculas aquí citadas. Ghrelina y PYY son, desde hace unos años, moléculas a las que se atribuye una influencia especialmente relevante en la regulación del apetito; el interés que ambas despiertan ha llevado al desarrollo de técnicas comerciales fiables para la determinación de su concentración plasmática, tanto en sujetos sanos como en varias patologías (le Roux CW, 2005).

Sin embargo, con excepciones, la mayor parte de las publicaciones existentes hasta la fecha sobre concentración plasmática de ghrelina o PYY presentan 3 limitaciones:

- Muestran datos sobre la concentración plasmática de los péptidos en ayunas, aunque en ambas moléculas sea, por su respuesta a los principios inmediatos, especialmente relevante su respuesta a la ingesta.

- Son trabajos sobre la concentración plasmática de las moléculas nativas (ghrelina total y PYY₁₋₃₆), aunque, en ninguno de los dos casos su forma activa sea

dicha molécula nativa, sino un péptido (ghrelina acilada y PYY₃₋₃₆) consecuencia de la modificación postranslacional de aquella.

-En el caso de las publicaciones en pacientes dializados, raramente se tiene en cuenta la influencia del tipo de diálisis al que están sometidos los pacientes; aunque la administración parenteral de un líquido rico en glucosa que provoca la diálisis peritoneal podría alterar la concentración plasmática de dos péptidos cuya concentración sí se modifica tras la administración oral de carbohidratos.

Alteraciones en la concentración de aminoácidos: En la uremia existe un incremento en la concentración plasmática de los aminoácidos aromáticos, y en particular de triptófano (Leibowitz SF, 1998); que es un precursor de la serotonina, implicada en la transmisión de señales saciantes en el interior del encéfalo (Beverly JL, 1993; Cangiano C, 1996). El exceso de triptófano en el plasma aumenta así la disponibilidad del precursor necesario para la síntesis de este neurotransmisor saciante en el cerebro.

Factores relacionados con la diálisis: Se ha demostrado una correlación entre la dosis de diálisis y la ingesta proteica diaria (Ikizler TA, 1996b; Kopple JD, 1997; Pollock CA, 1997), lo que sugiere que una diálisis insuficiente favorece el acúmulo de una o varias moléculas con capacidad supresora del apetito. El tipo de diálisis también condiciona el apetito: en la diálisis peritoneal, la distensión abdominal (Mamoun AH, 1996) y el aporte de aminoácidos y glucosa al plasma producidas por el líquido de dializado (Mellinkoff SM, 1956; Anderson GH, 1994) contribuyen a la disminución del apetito en este tipo de pacientes.

2-Alteraciones endocrino-metabólicas

La acidosis metabólica asociada a la uremia disminuye la síntesis y aumenta el catabolismo proteico (May RC, 1987), un efecto parcialmente reversible con la administración de bicarbonato sódico (Reaich D, 1993).

La insulín-resistencia asociada a IRC es consecuencia de un defecto postreceptor que afecta a la actividad de fosfatidilinositol-3 cinasa (Price SR, 2001). Dado que los efectos anabólicos de la insulina se realizan a través de dicho enzima, este bloqueo es un factor relevante en la disminución de la síntesis y el aumento de la degradación de las proteínas musculares

El hiperparatiroidismo secundario al déficit de síntesis de 1-25 OH vitamina D por el riñón es la norma en la uremia. El aumento de la concentración plasmática de paratohormona (PTH) inhibe la secreción plasmática de insulina por la célula beta (Mak RHK, 1985; Bergstrom J, 1993) y es otro de los factores que estimulan el catabolismo muscular en este grupo de pacientes (Garber AJ, 1983).

La uremia produce (a través de la disminución de la expresión de receptores hepáticos de GH e IGF-1 (Tonshoff B, 1994)) una resistencia a la acción de la hormona de crecimiento (un péptido que estimula la síntesis proteica, movilización de grasa e incremento de la gluconeogénesis (Chwals WJ, 1991).

Aunque no está probado, es posible que la disminución de la concentración plasmática de tiroxina y triyodotironina asociadas a la uremia (Kaptein EM, 1982) faciliten también el desarrollo de la malnutrición urémica.

3-Comorbilidades

La prevalencia de diabetes mellitus (que es la principal causa de uremia en el mundo) es especialmente elevada en IRC, y favorece el desarrollo de malnutrición de varias formas:

-La insulín resistencia (universal en la diabetes tipo 2) facilita el catabolismo proteico (Lee SW, 2004; Du J, 2004; Mitch WE, 1999; Mitch WE, 1999b)

-La gastropatía diabética, una de las manifestaciones de la neuropatía autonómica asociada a la diabetes, empeora la digestión y la posterior absorción de los alimentos.

-La proteinuria (frecuentemente en el rango de macroalbuminuria) y la glucosuria son manifestaciones frecuentes de la diabetes; y ambas provocan una pérdida de nutrientes que agrava la malnutrición (Hakim RM, 1993; Cano RH, 2002).

La depresión, una patología frecuente en IRC produce disminución del apetito; y las molestias intestinales provocadas por varios de los fármacos utilizados en la uremia (suplementos de hierro y quelantes de fostato, entre otros) contribuyen también al desarrollo de malnutrición en la uremia.

4-Aumento de las necesidades energético-proteicas

El dializado aumenta las necesidades de proteínas. Las necesidades de aporte proteico de un paciente sometido a diálisis (en torno a 1,4 g/kg/día) son mayores que las de una persona sana con sus mismas características (próximas a 0,6 g/kg/día (Maroni BJ, 1991)); especialmente en los días en los que se realiza el proceso de diálisis (Borah MF, 1978).

5-Factores relacionados con la diálisis y el trasplante renal

Los pacientes sometidos a diálisis (independientemente del tipo utilizado) tienen un riesgo aumentado de sufrir problemas médicos adicionales, y ocasionales ingresos hospitalarios, que empeoran su estado nutricional (Sanders NH, 1991)

En diálisis, se denomina bioincompatibilidad al conjunto de alteraciones físicas y/o biológicas desencadenadas al ponerse en contacto la sangre con el material extraño utilizado durante el dializado. Varios marcadores biológicos permiten medir el grado de biocompatibilidad de una membrana de diálisis (siendo las menos compatibles aquellas derivadas del celofán). Uno de los efectos que produce la bioincompatibilidad de la membrana de diálisis es un aumento de la degradación y disminución de la síntesis proteica (Gutiérrez A, 1992; Lim VS, 1993), tanto en el tiempo de la diálisis como durante la postdiálisis (Gutiérrez A, 1990; Lindsay R, 1992; Ikizler TA, 2002; Veeneman JM, 2003)

Cuando la diálisis es peritoneal, la inflamación crónica del peritoneo, utilizado como membrana de intercambio, favorece la pérdida proteica (en torno a 5,5-11,8 g/día (Kopple JD, 1993)) en el líquido de diálisis.

Durante las 6 primeras semanas tras la realización de un trasplante renal, existe un aumento de las necesidades de aporte energético, provocado por el estrés de la propia cirugía, el posible rechazo, y la dosis, habitualmente elevada de la medicación inmunosupresora y corticoides (que estimulan la gluconeogénesis hepática y el catabolismo proteico (Horber FF, 1986; Seagraves A, 1991). En el tiempo que sigue a esas 6 semanas, es además frecuente la realización de dietas bajas en proteínas que favorecen el desarrollo de malnutrición (Feehally J, 1986), y ricas en carbohidratos y

grasas (que estimulan un acúmulo excesivo de grasa corporal) (Qureshi AR, 1994; El Haggan W, 2002)

6-Inflamación: La IRC provoca un estado de inflamación sistémico (Stenvinkel P, 1999; Pecoits-Filho R, 2003), reflejado en el aumento de la concentración plasmática de varias moléculas que son marcadores de inflamatorios (PCR, alfa-TNF, IL-1 e IL-6), tanto en las fases prediálisis de la enfermedad (cuando la evidencia serológica de inflamación se demuestra en un 30-50% de los pacientes), como durante la diálisis (en la que la prevalencia es todavía mayor).

Varias circunstancias asociadas a IRC favorecen el estado proinflamatorio en estos pacientes:

-Pérdida de la función renal residual: Se ha demostrado un aumento de la concentración plasmática y una disminución de la excreción urinaria de varias citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6 y alfa-TNF), a medida que la función renal se deteriora (Descamps-Latscha, 1995). El déficit de aclaramiento renal de productos de glicación avanzada presentes en el plasma de los pacientes también contribuye al desarrollo de una respuesta inflamatoria.

-Sobrecarga de volumen: La retención de volumen, una complicación frecuente en IRC, especialmente en los pacientes sometidos a diálisis peritoneal (Konings CJ, 2002) podría activar el sistema inmune a través de la translocación de endotoxinas a través de una mucosa intestinal edematosa.

-Alteraciones de la composición corporal: Una ingesta excesiva (frecuente en un intento de compensar el habitual déficit nutricional en estos pacientes), y el aporte calórico extra de la glucosa que aporta la diálisis peritoneal son dos causas habituales de exceso de masa grasa en los pacientes IRC. Y ese tejido adiposo es

el origen de varias citocinas, como IL-1, IL-6 y alfa-TNF, todas ellas marcadores inflamatorios.

-Factores relacionados con la diálisis: Los marcadores inflamatorios son especialmente prevalentes en los pacientes sometidos a diálisis peritoneal (Wang AY, 2003) o a hemodiálisis (Qureshi AR, 2002); circunstancia que se ha achacado a la alta prevalencia de infecciones en los pacientes dializados y por el uso de material no biocompatible en el proceso de diálisis.

Varios de los marcadores inflamatorios previamente citados tienen un efecto complejo sobre el metabolismo, suprimiendo el apetito (mediante la facilitación del acceso de triptófano al SNC (Plata-Salaman C, 1995), y estimulando el catabolismo proteico mediante un aumento en la resistencia a la acción de la insulina (Moller DE, 2000); agravando así el estado hipercatabólico de la uremia, lo que produce una pérdida, frecuentemente intensa, de la masa muscular que acerca en ocasiones la malnutrición urémica al estado de malnutrición consuntiva severa (wasting syndrome), antaño frecuente en los pacientes con SIDA.

Los efectos deletéreos de la inflamación asociada a IRC no se limitan, sin embargo al metabolismo. Varias publicaciones recientes le atribuyen un papel relevante en el aumento de la mortalidad (tanto de origen cardiovascular como global), de la disfunción endotelial, y de la aterogénesis acelerada tan habituales en estos pacientes (Stenvinkel, 2000; Stenvinkel, 2002; Pecoits-Filho, 2004). En particular, se está prestando especial atención a la mortalidad cardiovascular, que es hasta 20 veces superior en los pacientes IRC que en la población general, y de la que varios marcadores inflamatorios son factores de riesgo independientes (Stenvinkel, 2002b)

1.4.4. Prevención y tratamiento de la malnutrición urémica

El amplio número de factores que favorecen el desarrollo de malnutrición en la uremia ha hecho que los tratamientos probados para solucionar este problema hayan sido, igualmente, dispares; y sobre algunos de ellos, la evidencia científica existente es limitada:

Monitorización de la ingesta y signos de malnutrición: El aporte calórico (que no ha de ser inferior a 20 kcal/kg/día) y proteico (no inferior a 0,75 g/kg/día) diarios; y la aparición de signos de malnutrición (descenso en la concentración de albúmina, prealbúmina o transferrina plasmáticas) han de evaluarse con frecuencia en este grupo de pacientes (Pupim LB, 2006)). La instauración precoz de diálisis ante una disminución del aporte calórico o la existencia de signos de malnutrición mejora el pronóstico de la enfermedad (Hakim RM, 1994).

Estimulantes del apetito: Varios fármacos (megestrol, ciproheptadina, dronabinol, melatonina, talidomida) han demostrado un efecto estimulante del apetito. De todos ellos, el más utilizado (aunque limitado por sus efectos secundarios), y que ha demostrado su eficacia en pacientes IRC (Lien YH, 1996; Boccanfuso JA, 2000) es el acetato de megestrol, un progestágeno desarrollado inicialmente para el tratamiento del cáncer de mama (Tchekmedyian NS, 1986) que produce una disminución en la concentración plasmática de IL-6 y TNF-alfa (Lambert CP, 2003).

Antiinflamatorios: Aunque la mayoría de los estudios realizados con estas moléculas en IRC no evaluaron específicamente su efecto sobre la nutrición, sino su repercusión sobre el riesgo vascular, la relación estrecha entre inflamación y malnutrición permite

tener esperanzas sobre su efecto positivo sobre la malnutrición urémica. Tanto las estatinas (Seliger SL, 2002; Tonelli M, 2003) como los IECA (Stenvinkel P, 1999; Mann JF, 2001) y la vitamina E (Boaz M, 2000) son moléculas con efecto antiinflamatorio que han demostrado disminuir el riesgo vascular en pacientes urémicos.

Factores de crecimiento: La administración de GH a pacientes dializados aumenta el volumen de ingesta y disminuye el nitrógeno ureico (Mehls, 1988). Los estudios preliminares realizados utilizando IGF-1 sugieren un efecto similar (Peng S, 1993).

Medidas relacionadas con la diálisis: El aporte de suplementos nutricionales por vía oral (mediante concentrados de proteínas y tabletas de aminoácidos), enteral (usando sondas nasogástricas o de gastrostomía) o parenteral revierte parcialmente el estado hipercatabólico asociado a la hemodiálisis (Foulkes CJ, 1991; Eustace JA, 2000; Caglar K, 2002); especialmente cuando se complementa con la administración de insulina, que estimula el anabolismo (Flakoll PJ, 2000; Pupim LB, 2002; Lim VS, 2003).

Existe una correlación entre la dosis de diálisis y el estado nutricional en IRC (Lindsay RM, 1993; Ikizler, 1995; Acchiardo, 1995); aunque una dosis excesiva de diálisis también tiene efectos nocivos (lo que impide su incremento sin límite) (Eknoyan G, 2002).

En hemodiálisis, el uso de membranas biocompatibles (que, aunque en desuso, todavía se utilizan en algunos lugares) aumenta la concentración plasmática de albúmina e IGF-1, y del peso corporal seco (Parker Spaceiiqq TF, 1996); y disminuye la mortalidad (Hakim RH, 1994b).

Medidas utilizadas en pacientes transplantados: En el período precoz postransplante conviene evitar el uso de fármacos con efecto estimulante del catabolismo. En aquellos pacientes con rechazo crónico, una pronta instauración de la diálisis mejora su estado nutricional, y permite reducir la dosis de tratamiento glucocorticoide.

2-OBJETIVOS

Objetivos

1. Comprobar el valor de la concentración plasmática en ayunas de ghrelina y PYY (tanto en la forma nativa de ambas moléculas como en su forma activa) en sujetos sanos y en pacientes IRC, y establecer si existen o no diferencias significativas entre ambos grupos.
2. Conocer la respuesta a la ingesta de la concentración plasmática de las hormonas citadas, tanto en sujetos sanos como en aquellos con IRC, y establecer la existencia o no de diferencias en dicha respuesta en los sujetos sanos con la observada en pacientes IRC.
3. Determinar si, en los pacientes IRC, existen o no diferencias en la respuesta de la concentración plasmática de dichas hormonas según la vía (oral o parenteral) de administración de nutrientes.

3-SUJETOS Y MÉTODOS

3. Sujetos y métodos

3.1. Diseño general del estudio

Todos los estudios realizados en humanos se hicieron conforme a los principios de la declaración de Helsinki. El comité ético local del Complejo Hospitalario Universitario da Coruña aprobó la realización de las pruebas descritas. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes.

	Pacientes	Controles	p
Edad años (rango)	56 (36-65)	53 (36-61)	0,36
Séxo (masculino/femenino)	5/5	4/4	1
Índice de masa corporal kg/m ²	24,7 (20,7-32,0)	25,7 (20,1-31,3)	0,63
Meses en diálisis	11 (3-63)	----	----
D/P240' creatinina ^a	0,62 (0,47-0,80)	----	----

Tabla 3: La tabla expresa mediana (rango) (en variables numéricas) y número de casos (en el sexo) Comparaciones realizadas con el test de Fischer y U de Mann-Witney
^aTest estándar de equilibrio peritoneal 2,27%

Utilizando un diseño de estudio cruzado, en un grupo de 10 pacientes con IRC sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria continua, y un grupo 8 sujetos sanos (tabla 3) ajustados para la edad, sexo e índice de masa corporal, se estudió la concentración plasmática en ayunas, y su respuesta a tres estímulos diferentes (comida estándar, dializado rico en glucosa y placebo) de ghrelina total, ghrelina acilada, PYY₁₋₃₆, PYY₃₋₃₆, leptina, glucosa, insulina y GH.

Siguiendo un orden aleatorio, se sometió a cada uno de los pacientes a la realización de las 3 pruebas citadas, y a cada uno de los sujetos sanos a 2 de ellas (comida estándar y

placebo). El conjunto de las pruebas realizadas a cada uno de los componentes de la muestra se hizo en un tiempo máximo de 40 días.

3.2. Sujetos

Los pacientes fueron seleccionados aleatoriamente entre la población de pacientes con IRC sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria continua en el Complejo Hospitalario Universitario da Coruña, aplicando los siguientes criterios de exclusión: Edad inferior a 30 o superior a 70 años, alteraciones del metabolismo de la glucosa (diabetes mellitus, intolerancia a la glucosa o glucemia basal alterada), acontecimientos clínicos agudos importantes en los 3 meses previos al estudio, e incapacidad para la comprensión de las condiciones del estudio o para cooperar en su realización. Ninguno de ellos sufrió patología aguda reseñable ni mostró anorexia franca durante la realización de este estudio. El tiempo de utilización de la diálisis peritoneal en este grupo de pacientes previo al inicio del estudio fue (mediana) de 11 meses (rango 3-63 meses).

Los sujetos sanos se seleccionaron de una población de voluntarios sanos del servicio de Endocrinología y Nutrición del mismo hospital. Ninguno tenía patología activa ni tomaba fármaco alguno, y todos ellos realizaron una alimentación encaminada al mantenimiento de un peso estable en las semanas previas al estudio.

Ambos grupos (tabla 3) fueron similares en edad (con una mediana de 56 años (rango 36-65) para los pacientes vs 53 (36-61) para los controles), sexo (50% de varones en cada grupo) e índice de masa corporal (24,7 Kg/m² (20,7-32,0) en pacientes vs 25,7 (20,1-31,3) en controles). Uno de los pacientes y uno de los sujetos sanos eran obesos (índice de masa corporal >30).

Se realizó un test estándar de equilibrio peritoneal (PET) a cada uno de los pacientes antes (mediana 3 meses, rango 1-6) del inicio del estudio.

3.3. Protocolo

El día previo a la realización de cada prueba, cada paciente realizó, en su domicilio, una diálisis peritoneal; utilizando bien una solución de glucosa al 1,36%, o líquido de dializado con base de icodextrina (Baxter®, Deerfield, IL, USA). Cada una de las pruebas se inició (tras un ayuno nocturno), entre las 8:00 y las 9:00 am. Previo al comienzo de cada una de ellas (durante las que permanecieron sentados) se obtuvo una venoclisis periférica a los participantes, a los que, tras 30 minutos de reposo, se administró, en 3 días distintos:

Una dieta estándar, oral, de 400 mL del producto Isosource Energy® (Novartis®, Zurich, Suíza), compuesto por 5,7 g de proteínas, 6,2 g de lípidos y 20 g de carbohidratos por cada 100 mL; y con un contenido calórico de 158,8 kcal/100 mL (14% de proteínas; 35,1% de lípidos; 50,4% de carbohidratos).

En el caso de los pacientes, la primera diálisis peritoneal del día se retrasó hasta la conclusión de esta prueba.

Una diálisis peritoneal, utilizando 2 litros de dializado (Baxter®) con una concentración de glucosa de 3,86 g/dL (esta prueba se realizó sólo en los pacientes, que estuvieron en ayunas hasta su conclusión).

El líquido peritoneal se drenó al final de la prueba (120 minutos tras la infusión), y utilizando ese líquido drenado se calculó la absorción peritoneal de glucosa.

Placebo. Administrado oralmente, y consistente en 400 mL de agua del grifo.

Los individuos estuvieron en ayunas hasta el final de esta prueba; y en el caso de los pacientes, la realización de la primera diálisis peritoneal del día se retrasó hasta su terminación; del mismo modo que se hizo con la prueba de la dieta estándar.

Se obtuvo muestra de sangre para ghrelina total, ghrelina acilada, PYY₁₋₃₆, PYY₃₋₃₆, leptina, insulina, glucosa y hormona de crecimiento (GH) en estado basal (previo a la aplicación del estímulo), y a los minutos 30, 45, 60 y 120 desde su aplicación.

Se midió también, utilizando la muestra en ayunas del día de la administración de la comida mixta, la concentración plasmática de interleucina 6 (IL-6), y proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP).

3.4. Manejo de las muestras y métodos de laboratorio

Todas las muestras de sangre obtenidas fueron inmediatamente centrifugadas, separadas y congeladas a -80°C. Para aquellas destinadas a la determinación de ghrelina y PYY se utilizaron, expresamente, tubos con aprotinina y EDTA-Na.

La concentración plasmática de las hormonas previamente citadas se realizó utilizando las siguientes técnicas comerciales:

-Ghrelina total (RIA, Phoenix Pharmaceuticals, Belmont, CA. USA).

Coeficiente de variación (CV) intra e interensayo de 5,3 y 13,6% respectivamente

-Ghrelina acilada (RIA. Linco, St Charles, Missouri. USA). CV intra e interensayo de 6,5 y 9,6% respectivamente.

-PYY₁₋₃₆ (RIA. Linco, St Charles, Missouri. USA). CV intra e interensayo de 2,9 y 5,5% respectivamente.

-PYY₃₋₃₆ (RIA. Linco, St Charles, Missouri. USA). CV intra e interensayo de 6,4 y 7% respectivamente

-Leptina (RIA. Mediagnost, Tübingen. Germany). CV intra e interensayo de 5,3 y 13,6% respectivamente.

-Insulina (RIA. CIS Bio International, Cedex. France). CV intra e interensayo de 5,3 y 13,6% respectivamente

-GH (Ensayo inmunométrico quimioluminiscente. Inmulite. EURO/DPC). CV intraensayo: 3,5; 3,4 y 4,2% para concentraciones de GH bajas, intermedias y elevadas, respectivamente. CV interensayo: 6,5%, 5,5 y 6,6 % para concentraciones de GH bajas, intermedias y elevadas, respectivamente.

-Interleukin-6 (Enzyme-linked immunosorbent assay. (ELISA). R&D systems, Minneapolis. USA). CV intraensayo: 4,2; 1,6 y 2,0% para concentraciones de IL-6 bajas, intermedias y elevadas, respectivamente. CV interensayo: 6,4; 3,3 y 3,8% para concentraciones de IL-6 bajas, intermedias y elevadas, respectivamente.

-hsCRP (Método inmunoturbidimétrico. Roche Diagnostics, Mannheim. Germany). CV intra e interensayo de 5 y 6,5% respectivamente

-La concentración de glucosa plasmática y del líquido de dializado se estimó utilizando la técnica de la glucosa-oxidasa.

3.5. Cálculos secundarios

La evolución tras cada uno de los estímulos de la concentración plasmática de ghrelina total, ghrelina acilada, PYY₁₋₃₆, PYY₃₋₃₆, leptina, glucosa, insulina y GH se expresa en este trabajo de dos formas: como valor absoluto, y como cambio porcentual respecto a la concentración preestímulo (tomando ésta como 100%); esta última para evitar los sesgos que pudieran producirse por las diferencias existentes entre pacientes y controles en la concentración basal de las hormonas.

La absorción de glucosa durante la prueba de diálisis peritoneal se calculó mediante diferencia simple de masa (pre y post dializado) de glucosa en el líquido de diálisis.

La resistencia a la insulina se estimó de acuerdo con el modelo HOMA: Insulin resistencia = insulina plasmática ($\mu\text{UI/ml}$) x glucosa plasmática (mmol/L)/22,5 (Matthews DR, 1985)

3.6. Estadística

Todas las comparaciones se realizaron utilizando test univariantes, no paramétricos. Las áreas bajo las curvas (AUC) se calcularon mediante el método trapezoidal.

Las comparaciones dentro de cada uno de los grupos (pacientes o controles) se hicieron utilizando el test de Wilcoxon; tanto aquellas de las concentraciones en ayunas con las concentraciones postestímulo de cada una de las tres pruebas (comida estándar,

diálisis con líquido glucosado hipertónico y placebo oral), como las comparaciones de las respuestas obtenidas en cada una de las tres pruebas con la respuesta a las otras dos.

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

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

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

Se consideraron significativas las diferencias con una $p \leq 0,05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el software SPSS 15.0 (Chicago, IL, USA).

4-RESULTADOS

4.1. Resultados en sujetos sanos

4.1.1. Concentraciones plasmáticas en ayunas

La concentración plasmática de cada una de las moléculas analizadas en los sujetos sanos, antes de la aplicación de cada uno de los dos estímulos (comida mixta y placebo) fue la siguiente:

Ghrelina total (pg/ml)

-Antes de comida mixta: 731 (399-1016)

-Antes de placebo: 669 (411-1023)

Ghrelina acilada (pg/ml)

-Antes de comida mixta: 140 (43-193)

-Antes de placebo: 112 (39-227)

La proporción de ghrelina acilada en el grupo de sujetos sanos fue el 19,4% (7,7-29,8) del total

PYY₁₋₃₆ (pg/mL)

-Antes de comida mixta: 99,5 (61-179)

-Antes de placebo: 72,5 (52-164)

PYY₃₋₃₆ (pg/mL)

-Antes de comida mixta: 72 (51-89)

Resultados

-Antes de placebo: 56 (37-71)

Leptina (ng/mL)

-Antes de comida mixta: 9,3 (3,0-24,1)

-Antes de placebo: 11,1 (2,7-30,5)

Glucosa (mg/dl)

-Antes de comida mixta: 90,5 (80-116)

-Antes de placebo: 97 (80-115)

Insulina (mcU/mL)

-Antes de comida mixta: 9,5 (3,7-16,1)

-Antes de placebo: 9,7 (2,8-15)

GH (ng/mL)

-Antes de comida mixta: 0,72 (0,01-2,20)

-Antes de placebo: 1,35 (0,01-6,53)

IL-6 (pg/ml)

La concentración plasmática basal de IL-6 (medida, como se ha citado previamente, antes de la comida mixta) en el grupo de sujetos sanos fue de 0,0 (0,0-8,0)

hsCRP (mg/L)

La concentración plasmática en ayunas (medida antes de la comida mixta) de hsCRP en el grupo de sujetos sanos fue de 0,7 (0,2-1,4)

La concentración plasmática en ayunas de PYY₃₋₃₆ en sujetos sanos antes de la comida mixta fue significativamente superior a su concentración en ayunas antes del placebo. No encontramos otras diferencias significativas en la concentración basal de ninguno de los parámetros medidos en el grupo de sujetos sanos antes de los distintos estímulos realizados.

4.1.2. Concentraciones plasmáticas postestímulo

Ghrelina total

La concentración plasmática de ghrelina total no se modificó de forma apreciable tras la administración del placebo (figura 1).

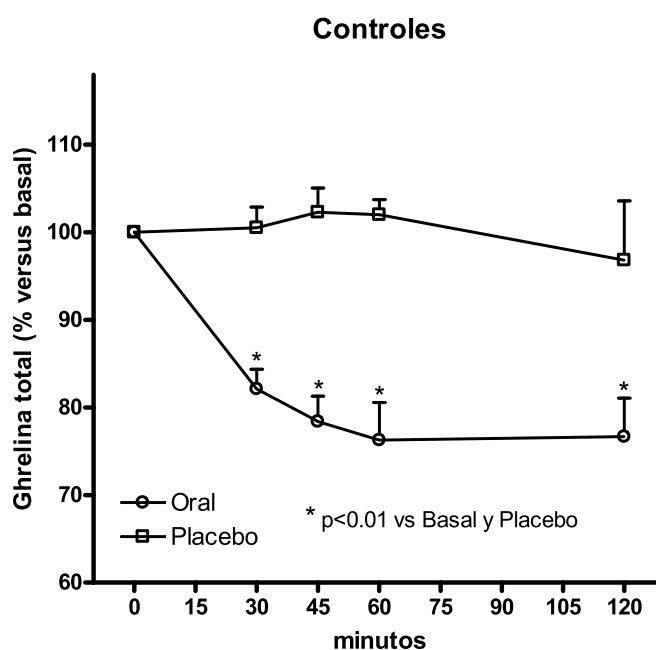


Figura 1: Ghrelina total (%) en sujetos sanos

Tras la comida mixta, se produjo un descenso significativo en su concentración plasmática (figura 1), con un nadir que fue:

- En valor absoluto: 543 pg/ml (330-688)

- Como porcentaje de su concentración basal: 73,8% (56,1-89,1)

$p < 0,05$ al comparar el nadir de la concentración de ghrelina total tras la comida mixta en valor absoluto con su concentración previa a la ingesta. Y $p < 0,01$ cuando la comparación se hizo usando el porcentaje de la concentración basal.

Ghrelina acilada

La administración del placebo no modificó la concentración plasmática de ghrelina acilada (figura 2)

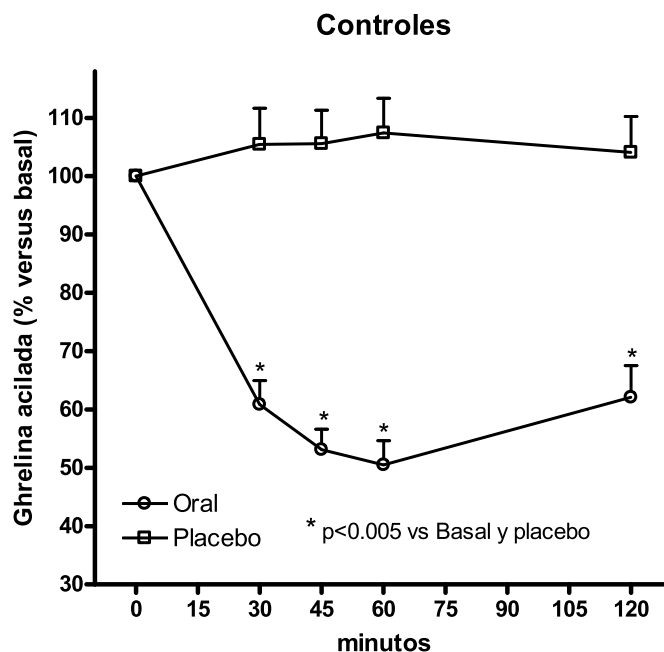


Figura 2: Ghrelina acilada (%) en sujetos sanos

Tras la comida mixta se produjo un descenso en la concentración plasmática de la molécula (figura 2), cuyo nadir fue:

-En valor absoluto: 61,5 pg/ml (34-111)

-Como porcentaje de su concentración basal: 45,4% (30,3-65,2)

$p < 0,005$ cuando se comparó el nadir de la concentración (tanto en valor absoluto como porcentual) de ghrelina acilada tras la ingesta con su concentración basal .

Resultados

PYY₁₋₃₆

La concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ no sufrió modificaciones significativas tras la administración del placebo (figura 3)

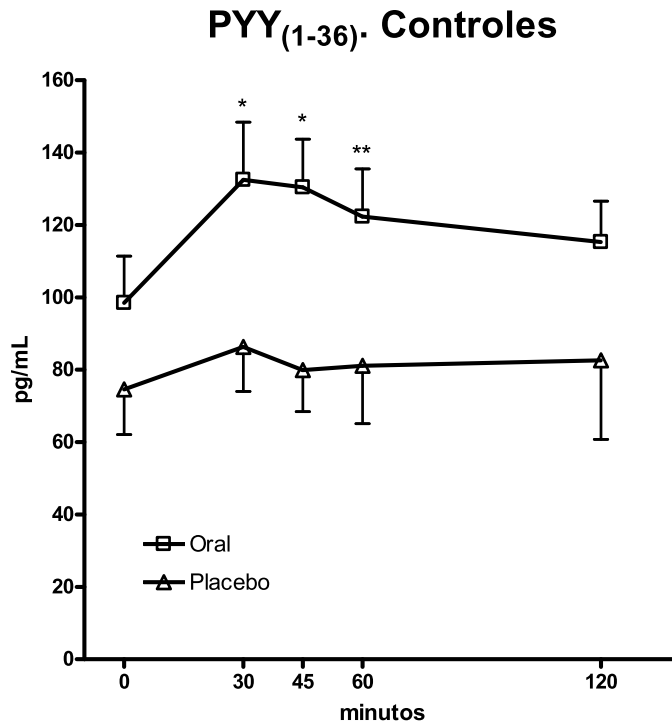


Figura 3: PYY₁₋₃₆ en sujetos sanos

La ingesta de la comida mixta provocó un aumento en la respuesta de la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ (figura 3), con un cénit:

-En valor absoluto: 141 pg/ml (81-198)

-Como porcentaje de su concentración basal: 130,1% (100-251,2)

p=0,04 cuando se comparó el cénit (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración post-comida mixta de PYY₁₋₃₆ con su concentración pre-estímulo.

Resultados

PYY₃₋₃₆

El placebo no modificó significativamente la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ (figura 4)

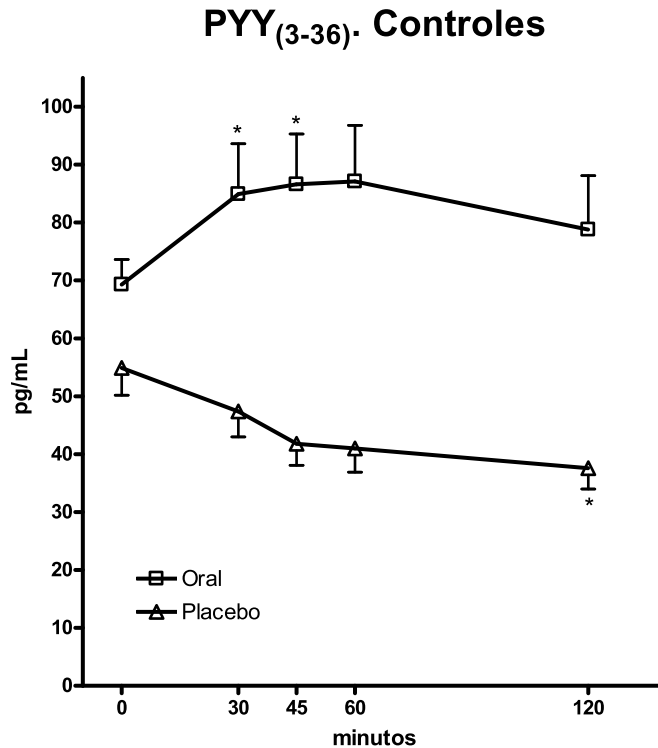


Figura 4: PYY₁₋₃₆ en sujetos sanos

La ingesta de la comida mixta produjo un incremento significativo en la concentración plasmática de la molécula, con un cénit:

-En valor absoluto: 92,5 pg/ml (59-135)

-Como porcentaje de su concentración basal: 121,7% (100-177,6)

$p=0,02$ al comparar el cénit (tanto en valor absoluto como porcentual) alcanzado por la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ tras la comida mixta con su concentración previa al estímulo.

Leptina

La concentración plasmática de leptina no se modificó de forma significativa tras la administración del placebo (figura 5)

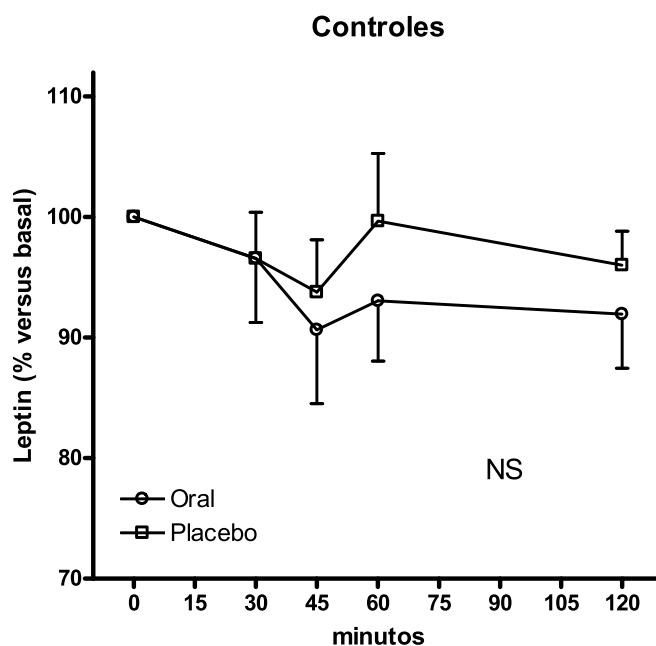


Figura 5: Leptina en sujetos sanos

La comida mixta produjo un descenso en la concentración de leptina (figura 5), con un nadir

-En valor absoluto: 5,2 ng/ml (1,9-21,5)

-Como porcentaje de su concentración basal: 83% (62,5-100)

p no significativa al comparar el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración post comida mixta de leptina con su concentración basal.

Glucosa

La glucemia no mostró alteraciones significativas tras la administración del placebo (figura 6).

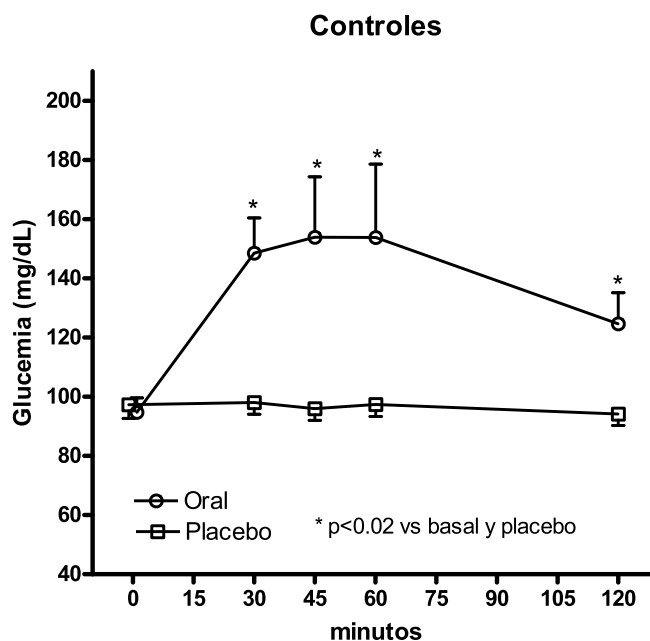


Figura 6: Glucosa en sujetos sanos

La comida mixta produjo el siguiente incremento en la glucemia:

-En valor absoluto: 148 mg/dl (114-281)

-Como porcentaje de su concentración basal: 159,9% (139-242,2)

$p < 0,02$ al comparar el cénit de la respuesta a la comida mixta (tanto en valor absoluto como porcentual) con la glucemia preestímulo.

Insulina

La administración del placebo no produjo modificaciones en la concentración plasmática de insulina (figura 7).

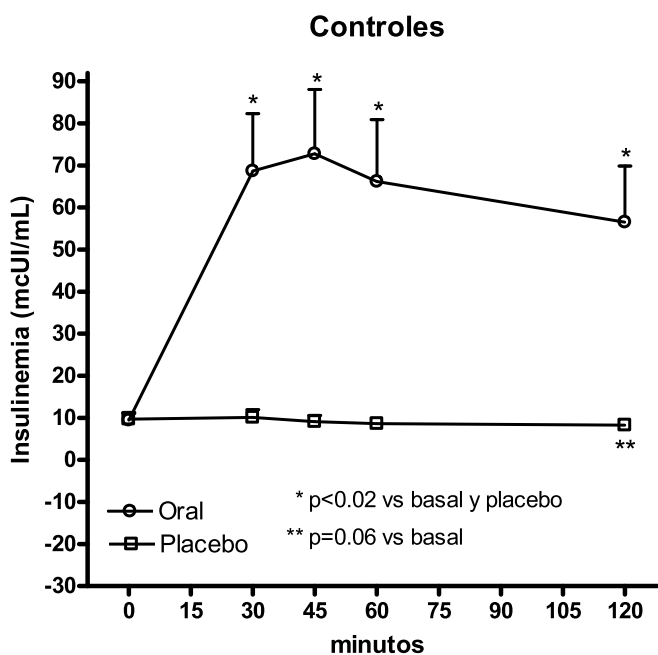


Figura 7: Insulina en sujetos sanos

La comida mixta produjo un incremento en la insulinemia (figura 7), con un cénit que fue:

-En valor absoluto: 75,1 mcU/ml (31,2-146)

-Como porcentaje de su concentración basal: 944,8% (655,4-1460)

$p < 0,02$ tanto cuando la comparación con la concentración basal se hizo usando el valor absoluto como cuando se hace utilizando el valor porcentual del cénit de la insulinemia post comida mixta.

Resultados

GH

El placebo produjo un descenso significativo en la concentración plasmática de GH, significativo a los 120 minutos de la ingesta (figura 8).

$p < 0,05$ al comparar la concentración plasmática de GH a los 120 min (tanto en valor absoluto como porcentual) con su concentración basal.

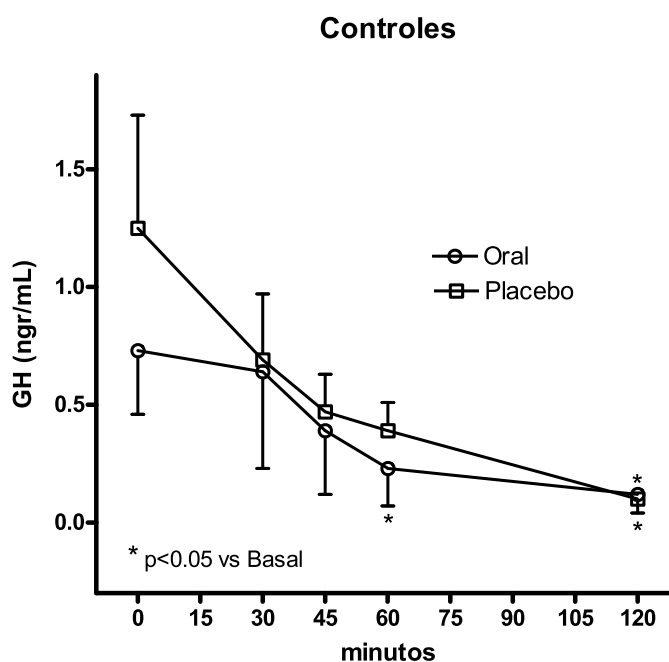


Figura 8: GH en sujetos sanos

La comida mixta produjo un descenso en la concentración plasmática de GH (figura 8), con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 0,06 ng/ml (0-0,64)

-Como porcentaje de su concentración basal: 6,05% (0-49,2)

$p < 0,05$ tanto cuando la comparación con la concentración basal se hizo usando el valor absoluto como cuando se hizo utilizando el valor porcentual del nadir.

4.2. Resultados en pacientes con IRC

4.2.1. Concentraciones plasmáticas en ayunas

La concentración plasmática de cada una de las moléculas analizadas en los pacientes con IRC, antes de la aplicación de cada uno de los tres estímulos (comida mixta, diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico, y placebo) fue la siguiente:

Ghrelina total (pg/ml)

-Antes de comida mixta: 960 (782-1302)

-Antes de diálisis: 1022 (696-1238)

-Antes de placebo: 933 (784-1252)

Ghrelina acilada (pg/ml)

-Antes de comida mixta: 97 (35-185)

-Antes de diálisis: 128 (28-211)

-Antes de placebo: 106 (19-188)

La proporción de ghrelina acilada en pacientes IRC fue del 11,4% (2,3-23,9) del total

PYY₁₋₃₆ (pg/ml)

-Antes de comida mixta: 406 (237-1244)

-Antes de diálisis: 460 (265-910)

-Antes de placebo: 431 (312-1247)

Resultados

PYY₃₋₃₆ (pg/ml)

-Antes de comida mixta: 266,5 (161-521)

-Antes de diálisis: 235,5 (138-542)

-Antes de placebo: 244 (153-358)

Leptina (ng/ml)

-Antes de comida mixta: 41,4 (3,6-170,8)

-Antes de diálisis: 36,2 (3,3-94,9)

-Antes de placebo: 36,0 (0,7-103,6)

Glucosa (mg/dl)

-Antes de comida mixta: 97,5 (72-135)

-Antes de diálisis: 91,5 (62-133)

-Antes de placebo: 91 (76-138)

Insulina (mcU/mL)

-Antes de comida mixta: 14,5 (5,1-25,3)

-Antes de diálisis: 13,5 (6,7-22,5)

-Antes de placebo: 13,1 (6,9-20,4)

GH (ng/mL)

-Antes de comida mixta: 3,52 (0,18-9,50)

-Antes de diálisis: 2,19 (0,16-5,30)

-Antes de placebo: 2,51 (0,19-5,80)

IL-6 (pg/ml)

La concentración plasmática en ayunas de IL-6 (medida, como se ha citado previamente, antes de la comida mixta) en el grupo de pacientes fue de 7,5 (0-32,9)

hsCRP (mg/L)

La concentración plasmática en ayunas (medida antes de la comida mixta) de hsCRP en el grupo de pacientes fue de 2,1 (0,2-13,8)

No encontramos diferencias significativas en la concentración en ayunas de ninguna de las moléculas analizadas en el grupo de pacientes antes de los distintos estímulos realizados.

4.2.2. Concentraciones plasmáticas postestímulo

Ghrelina total

La concentración plasmática de ghrelina total no se modificó de forma apreciable tras la administración del placebo (figura 9).

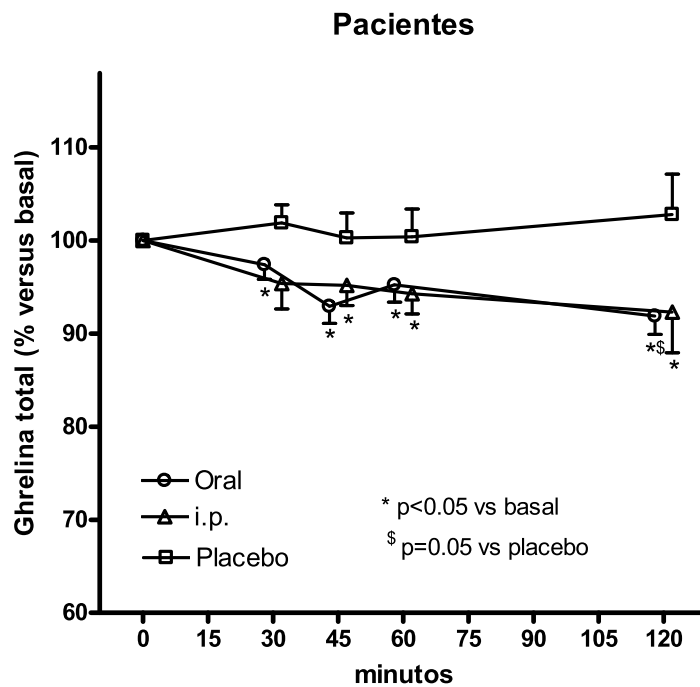


Figura 9: Ghrelina total (%) en pacientes IRC

La comida mixta produjo un descenso en la concentración plasmática de ghrelina total (figura 9), con un nadir que fue:

- En valor absoluto: 840 pg/ml (667-1230)
- Como porcentaje de su concentración basal: 88,9% (84,1-94,5)

$p < 0,05$ cuando se comparó el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración de ghrelina total tras la comida mixta con su concentración previa a la ingesta.

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico provocó un descenso en la concentración plasmática de ghrelina total (figura 9), con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 927 pg/ml (461-1190)

-Como porcentaje de su concentración basal: 91,8% (58,7-100)

$p < 0,05$ cuando se comparó el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración plasmática de ghrelina total tras la diálisis con su concentración previa a la realización de la diálisis.

No encontramos diferencias significativas al comparar la respuesta de ghrelina total tras la comida mixta con la respuesta del mismo péptido tras la diálisis peritoneal; tanto cuando la comparación se hizo con los valores absolutos como cuando se hizo utilizando los porcentajes de variación de la concentración plasmática de ghrelina total.

Ghrelina acilada

La administración del placebo no modificó la concentración plasmática de ghrelina acilada (figura 10)

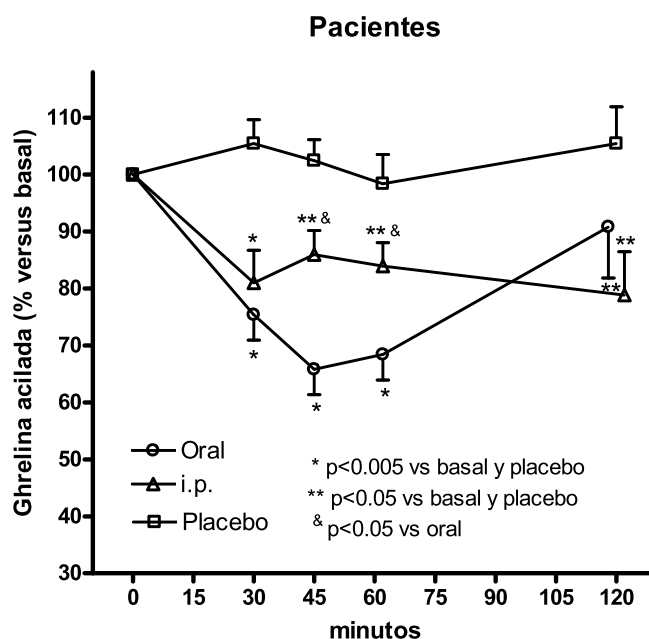


Figura 10: Ghrelina acilada (%) en pacientes IRC

Tras la ingesta de la comida mixta se produjo un descenso en la concentración plasmática de ghrelina acilada (figura 10), con un nadir:

-En valor absoluto: 79 pg/ml (55-96)

-Como porcentaje de su concentración basal: 64,4% (45,6-82,3)

$p < 0,005$ al comparar el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración plasmática de ghrelina acilada tras la comida mixta con su concentración basal.

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico provocó un descenso en la concentración plasmática de ghrelina acilada (figura 10), con un nadir que fue:

Resultados

-En valor absoluto: 62 pg/ml (43-75)

-Como porcentaje de su concentración basal: 80,4% (55,1-96,3)

$p < 0,05$ cuando se comparó el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración plasmática de ghrelina acilada tras la diálisis con su concentración basal.

Al comparar la respuesta de ghrelina acilada tras la comida mixta con su respuesta tras la diálisis peritoneal, las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$) al comparar las respuestas porcentuales. Al realizar la comparación utilizando las concentraciones absolutas del péptido, las diferencias tendieron a la significación estadística, aunque sin alcanzarla ($p = 0,093$).

PYY₁₋₃₆

La concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ no sufrió modificaciones significativas tras la administración del placebo (figuras 11 y 12)

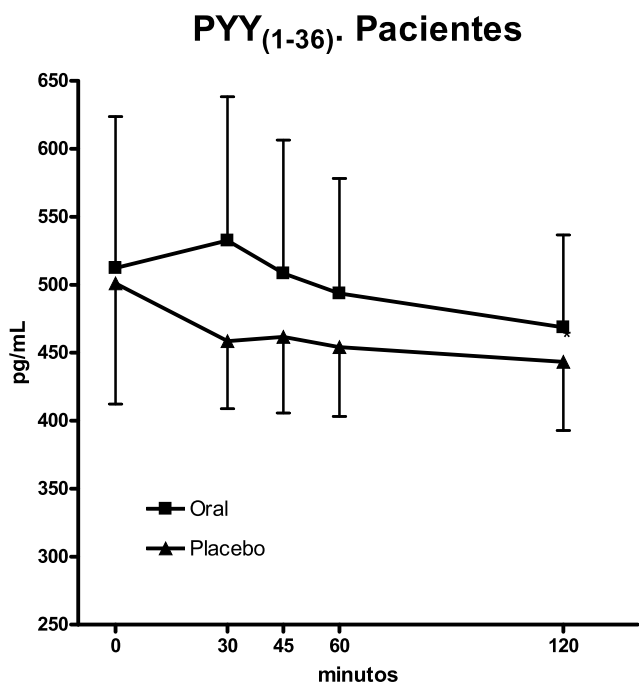


Figura 11: PYY₁₋₃₆ en pacientes IRC

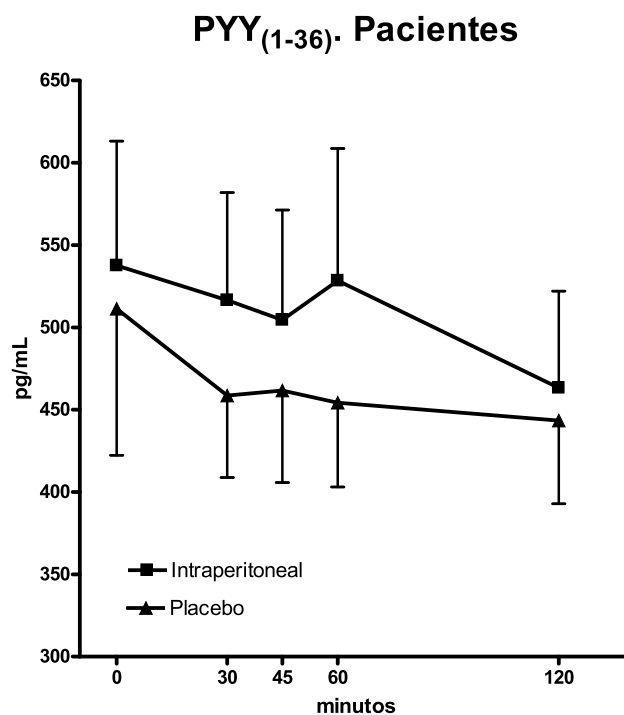


Figura 12: PYY₁₋₃₆ en pacientes IRC

La comida mixta produjo un descenso en la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ (figuras 11 y 12), con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 416,5 pg/ml (90-637)

-Como porcentaje de su concentración basal: 97% (66,7-100)

Esta disminución en la concentración plasmática del péptido no fue, sin embargo, estadísticamente significativa. $p=ns$ tanto cuando la comparación del nadir de la concentración de PYY₁₋₃₆ post comida mixta se hizo usando el valor absoluto como cuando se hizo usando el valor porcentual de la concentración.

Resultados

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico dio lugar a un descenso en la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ (figuras 11 y 12), con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 371,5 pg/ml (235-677)

-Como porcentaje de su concentración basal: 73,9% (63,7-100)

p=ns al comparar el nadir de dicha concentración con la concentración basal del péptido, tanto cuando se utilizó para la comparación el valor absoluto como cuando se usó el porcentual de la concentración de PYY₁₋₃₆

No encontramos diferencias significativas al comparar la respuesta de PYY₁₋₃₆ tras la comida mixta con la respuesta del mismo péptido tras la diálisis peritoneal; tanto si la comparación se hace con los valores absolutos como si se hace utilizando los porcentajes de variación de la concentración plasmática del péptido.

PYY₃₋₃₆

El placebo no modificó significativamente la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ (figuras 13 y 14)

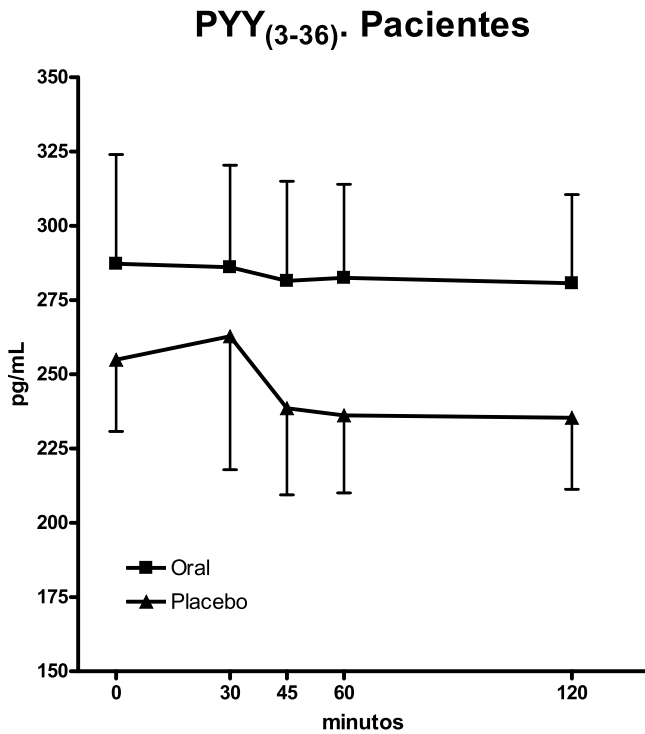


Figura 13: PYY₃₋₃₆ en pacientes IRC

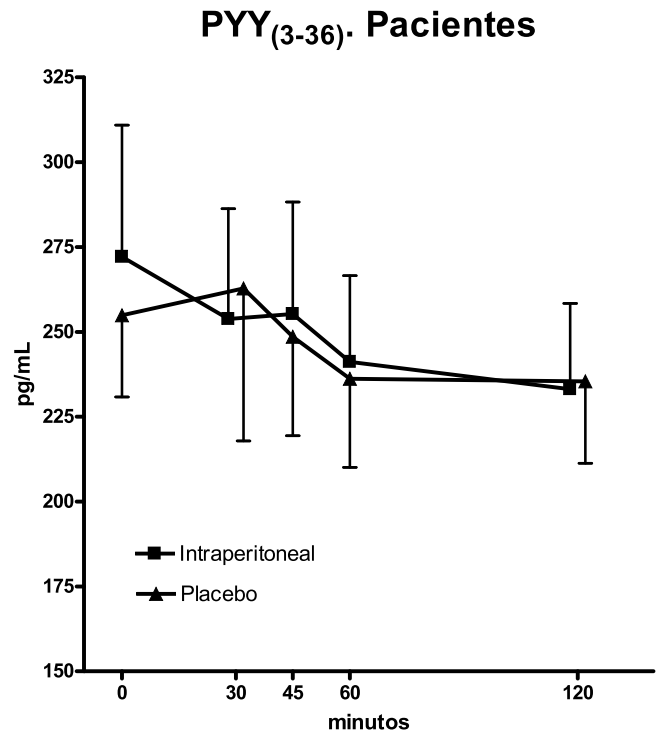


Figura 14: PYY₃₋₃₆ en pacientes IRC

La ingesta de la comida mixta produjo un descenso en la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ (figuras 13 y 14), con un nadir:

- En valor absoluto: 250 pg/ml (164-473)
- Como porcentaje de su concentración basal: 92,2% (44,2-100)

p=ns tanto cuando la comparación del nadir de la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ post comida mixta con su concentración preestímulo se hizo usando el valor absoluto como cuando se hizo utilizando el valor porcentual de dicha concentración.

La diálisis peritoneal provocó un descenso en la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ (figuras 13 y 14), con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 220 pg/ml (113-324)

-Como porcentaje de su concentración basal: 87,3% (56,8-99,4)

p=ns al comparar el nadir de dicha concentración postestímulo con la concentración basal del péptido, tanto cuando se comparó el valor absoluto como el porcentual de la concentración de PYY₃₋₃₆

No encontramos diferencias significativas al comparar la respuesta de PYY₃₋₃₆ tras la comida mixta con la respuesta del mismo péptido tras la diálisis peritoneal; tanto si la comparación se hace con los valores absolutos como si se hace utilizando los porcentajes de variación de la concentración plasmática del péptido.

Leptina

La concentración plasmática de leptina no se modificó de forma significativa tras la administración del placebo (figura 15)

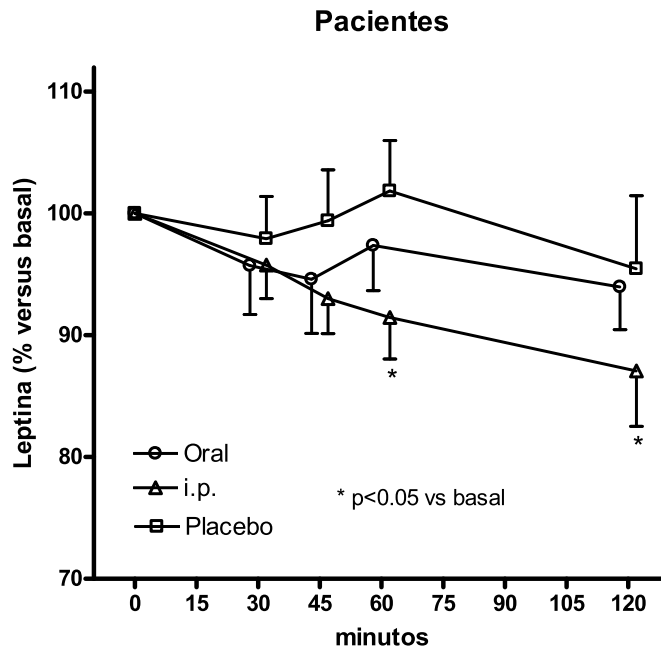


Figura 15: Leptina en pacientes IRC

La comida mixta produjo un descenso en la concentración plasmática de leptina (figura 15), con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 27,4 ng/ml (3-151,9)

-Como porcentaje de su concentración basal: 87,2% (75,7-100)

p no significativa al comparar el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración post comida mixta de leptina con su concentración basal.

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico provocó un descenso en la concentración plasmática de leptina (figura 15), con un nadir:

Resultados

-En valor absoluto: 19,9 ng/ml (2-87,5)

-Como porcentaje de su concentración basal: 85,9% (60,6-97,7)

$p < 0,05$ cuando se comparó el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración de leptina tras diálisis peritoneal con su concentración prediálisis.

No encontramos, sin embargo, diferencias significativas al comparar la respuesta de leptina tras la comida mixta con la respuesta del mismo péptido tras la diálisis peritoneal; tanto cuando la comparación se hizo con los valores absolutos como cuando se hizo utilizando los porcentajes de variación de la concentración plasmática de leptina.

Glucosa

La glucemia no sufrió alteraciones significativas tras la administración del placebo (figura 16).

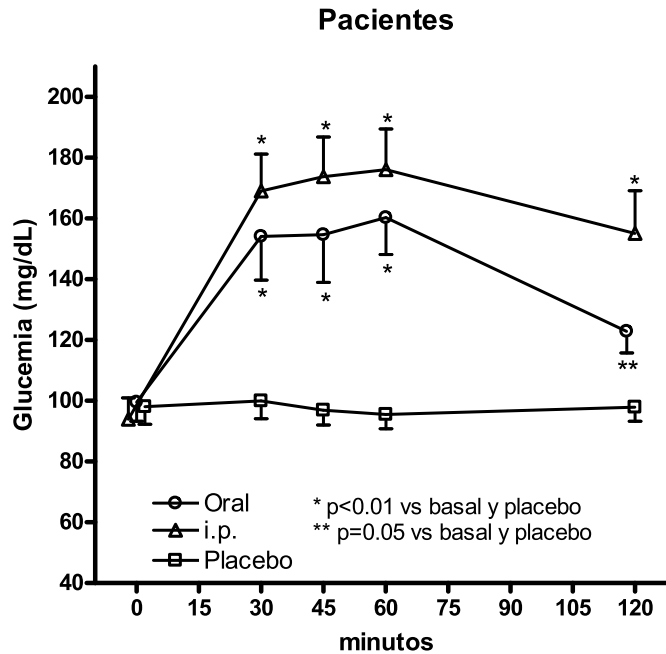


Figura 16: Glucosa en pacientes IRC

La comida mixta produjo un aumento en la concentración plasmática de glucosa (figura 16), con un cénit que fue:

-En valor absoluto: 166 mg/dl (116-264)

-Como porcentaje de su concentración basal: 167,4% (144-211)

p<0,01 cuando se comparó el cénit de la concentración de glucosa postingesta (tanto en valor absoluto como porcentual) con su concentración basal.

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico produjo un aumento en la concentración plasmática de glucosa (figura 16), con un cénit que fue:

Resultados

-En valor absoluto: 183 mg/dl (126-242)

-Como porcentaje de su concentración basal: 176,3% (152,6-325,8)

$p < 0,05$ cuando se comparó el cénit de la concentración de glucosa post diálisis (tanto en valor absoluto como porcentual) con su concentración basal.

No encontramos diferencias significativas al comparar la respuesta de glucosa tras la comida mixta con la respuesta de la misma molécula tras la diálisis peritoneal; tanto cuando la comparación se hizo utilizando los valores absolutos como cuando se hizo usando los porcentajes de variación de la concentración plasmática de glucosa.

Insulina

La administración del placebo no produjo modificaciones en la concentración plasmática de insulina (figura 17).

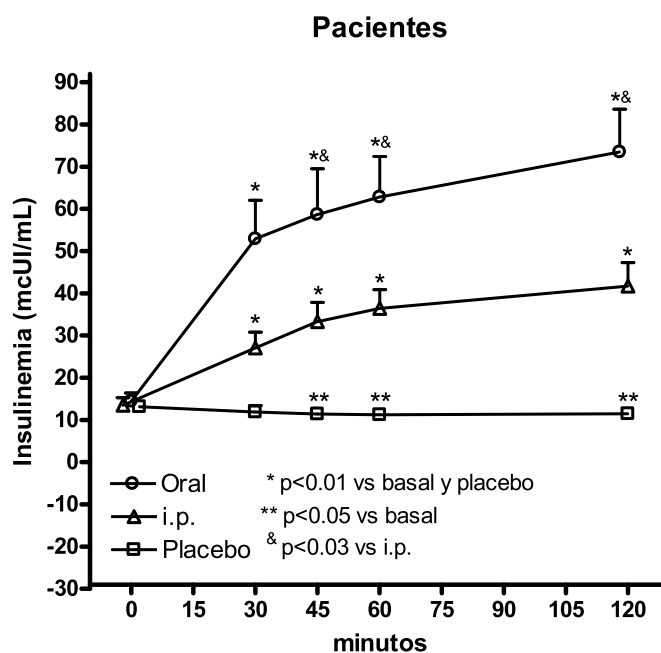


Figura 17: Insulina en pacientes IRC

La comida mixta produjo un aumento en la concentración plasmática de insulina (figura 17), con un cénit que fue:

-En valor absoluto: 72,25 mcU/mL (33,6-142)

-Como porcentaje de su concentración basal: 517% (321,7-1386,2)

p<0,05 cuando se comparó el cénit de la insulinemia post comida mixta con su concentración pre-estímulo

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico provocó un aumento en la concentración plasmática de insulina (figura 17), con un cénit:

Resultados

-En valor absoluto: 42,6 mcU/mL (13,8-67,5)

-Porcentual: 350,9% (190,7-524,3)

$p < 0,05$ al comparar el cénit de la insulinemia post diálisis con su concentración previa a la realización de la diálisis.

No hemos encontrado diferencias significativas al comparar la respuesta de insulina tras la comida mixta con la respuesta de la misma molécula tras la diálisis peritoneal; tanto cuando la comparación se hizo con los valores absolutos como cuando se hizo utilizando los porcentajes de variación en la concentración plasmática de insulina.

Resultados

GH

El placebo produjo un descenso significativo en la concentración plasmática de GH, significativo a los 120 minutos de la ingesta (figura 18), similar al producido en el grupo de sujetos sanos.

$p < 0,05$ al comparar la concentración plasmática de GH a los 120 min (tanto en valor absoluto como porcentual) con su concentración basal.

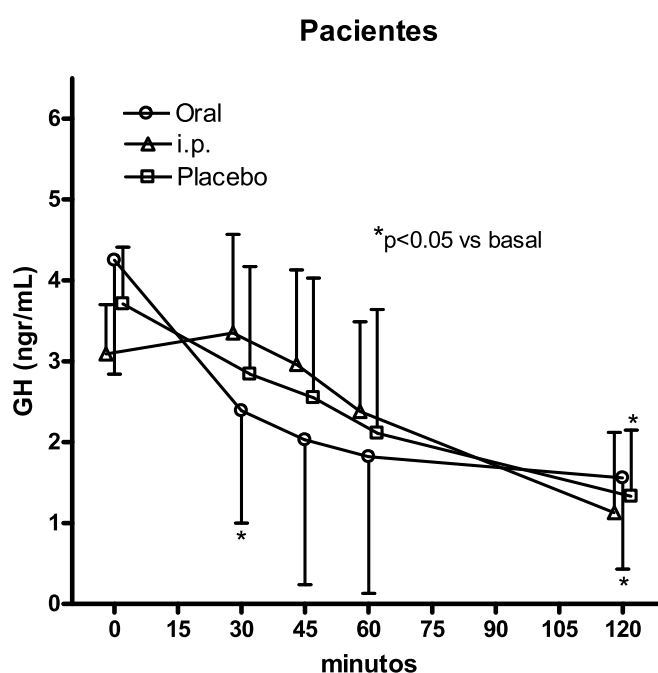


Figura 18: GH en pacientes IRC

La comida mixta produjo un descenso en la concentración plasmática de GH, con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 0,3 ng/mL (0,05-13,9)

-Como porcentaje de su concentración basal: 33,9% (1,9-83,5)

$p < 0,05$ cuando se comparó el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración post comida mixta de GH con su concentración basal.

Resultados

La diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico provocó un descenso en la concentración plasmática de GH, con un nadir que fue:

-En valor absoluto: 0,4 (0,06-3,6)

-Como porcentaje de su concentración basal: 46 (2-100)

p=ns cuando se comparó el nadir (tanto en valor absoluto como porcentual) de la concentración post diálisis de GH con su concentración basal.

No hemos encontrado diferencias significativas al comparar la respuesta de GH tras la comida mixta con la respuesta de la misma molécula tras la diálisis peritoneal; tanto cuando la comparación se hizo con los valores absolutos como cuando se hizo utilizando los porcentajes de variación de la concentración plasmática de GH.

4.3. Comparación de los resultados

4.3.1. Concentraciones plasmáticas en ayunas

La tabla 4 incluye el valor de la concentración plasmática, antes de cada uno de los distintos estímulos realizados, de las distintas moléculas analizadas, tanto en los sujetos sanos como en los pacientes con IRC; y el valor de la p para cada comparación.

Ghrelina total

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina total fue mayor en los pacientes con IRC que en los sujetos sanos.

Dicha diferencia alcanzó significación estadística en las mediciones realizadas antes de la administración del placebo ($p=0,02$); y mostró una tendencia notable a la significación, sin alcanzarla ($p=0,06$) cuando la comparación se hizo utilizando las concentraciones plasmáticas medidas antes de la comida mixta.

Ghrelina acilada

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina acilada fue mayor en los sujetos sanos que en los pacientes IRC.

En nuestros datos, la diferencia descrita en la concentración de esta molécula mostró una tendencia a la significación estadística (aunque sin alcanzarla) en la comparación realizada entre las concentraciones medidas antes de la administración de la comida mixta ($p=0,07$); aunque está lejos de dicha significación en la comparación realizada antes del placebo ($p=0,97$)

Resultados

	Sujetos sanos	Pacientes con IRC	p
Ghrelin total (pg/mL)			
Antes de comida mixta	731 (399-1016)	960 (782-1302)	0,06
Antes de placebo	669 (411-1023)	933 (784-1252)	0,02
Antes de diálisis	----	1022 (696-1238)	
Ghrelin acilada (pg/mL)			
Antes de comida mixta	140 (43-193)	97 (35-185)	0,07
Antes de placebo	112 (39-227)	106 (19-188)	ns
Antes de diálisis	----	128 (28-211)	
PYY₁₋₃₆ (pg/mL)			
Antes de comida mixta	99,5 (61-179)	406 (237-1244)	<0,001
Antes de placebo	72,5 (52-164)	431 (312-1247)	<0,001
Antes de diálisis	----	460 (265-910)	
PYY₃₋₃₆ (pg/mL)			
Antes de comida mixta	72 (51-89)	266,5 (161-521)	<0,001
Antes de placebo	56 (37-71)*	244 (153-358)	<0,001
Antes de diálisis	----	235,5 (138-542)	
Leptina (ng/mL)			
Antes de comida mixta	9,3 (3,0-24,1)	41,4 (3,6-170,8)	0,04
Antes de placebo	11,1 (2,7-30,5)	36,0 (0,7-103,6)	0,08
Antes de diálisis	----	36,2 (3,3-94,9)	
Glucosa (mg/dL)			
Antes de comida mixta	90,5 (80-116)	97,5 (72-135)	ns
Antes de placebo	97 (80-115)	91 (76-138)	ns
Antes de diálisis	----	91,5 (62-133)	
Insulina (mcU/mL)			
Antes de comida mixta	9,5 (3,7-16,1)	14,5 (5,1-25,3)	0,04
Antes de placebo	9,7 (2,8-15)	13,1 (6,9-20,4)	0,09
Antes de diálisis	----	13,5 (6,7-22,5)	
GH (ng/mL)			
Antes de comida mixta	0,72 (0,01-2,20)	3,52 (0,18-9,50)	0,08
Antes de placebo	1,35 (0,01-6,53)	2,51 (0,19-5,80)	ns
Antes de diálisis	----	2,19 (0,16-5,30)	
IL-6 (pg/mL)	0,0 (0,0-8,0)	7,5 (0,0-32,9)	0,006
hsCRP (mg/L)	0,7 (0,2-1,4)	2,1 (0,2-13,8)	0,08

Tabla 4: Concentración de hormonas en ayunas previo a cada estímulo. Las cifras expresan mediana (rango). Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.
*p=0,04 vs comida mixta. Otras diferencias intragrupo no fueron significativas.

Proporción ghrelina acilada/ghrelina total

La proporción que la ghrelina acilada supone del total de la molécula fue significativamente superior ($p=0,001$) en el caso de los sujetos sanos a la de los pacientes IRC.

También observamos una mejor correlación entre ghrelina total y acilada en sujetos sanos ($r = 0,56$, $p = 0,03$) que en pacientes IRC ($r = 0,31$; $p = 0,11$).

PYY₁₋₃₆

La concentración plasmática en ayunas de PYY₁₋₃₆ fue significativamente mayor en los pacientes IRC que en los sujetos sanos.

$p<0,001$ cuando se comparó la concentración plasmática en ayunas de PYY₁₋₃₆ de ambos grupos.

PYY₃₋₃₆

La concentración plasmática en ayunas de PYY₃₋₃₆ fue significativamente mayor en los pacientes IRC que en los sujetos sanos

$p<0,001$ cuando se comparó la concentración plasmática en ayunas de PYY₃₋₃₆ de ambos grupos.

Concordancia de las concentraciones de PYY

En el grupo de sujetos sanos, existió una correlación entre la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ y PYY₃₋₃₆ antes de la comida mixta con una $r=0,38$ ($p=0,31$), y antes de la administración de placebo la correlación fue con $r=0,78$ ($p=0,03$).

En el grupo de pacientes IRC, la correlación entre la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ y la de PYY₃₋₃₆ fue positiva con $r > 0,70$ ($p < 0,02$) antes de todos los estímulos utilizados.

Leptina

La concentración plasmática de leptina en ayunas fue mayor en los pacientes que en los sujetos sanos

En nuestros datos, la significación estadística de la diferencia citada se alcanzó, únicamente cuando se compara la concentración de leptina de sujetos sanos y pacientes IRC antes de la administración de la comida mixta ($p = 0,04$); existiendo una tendencia notable a la significación, aunque sin alcanzarla ($p = 0,08$) al realizar la comparación usando concentraciones de leptina antes de la administración del placebo.

Insulina

La concentración plasmática basal de insulina fue mayor en los pacientes que en los sujetos sanos

Igual que ocurre en el caso de la leptina, la diferencia en la concentración plasmática en ayunas de insulina en el grupo de sujetos sanos y el de pacientes con IRC fue significativa ($p = 0,04$) en el caso de las mediciones realizadas antes de la administración de comida mixta, con una tendencia notable a la significación, aunque sin alcanzarla, ($p = 0,09$) cuando se compararon las concentraciones plasmáticas antes de la administración del placebo.

IL-6

La concentración plasmática basal de IL-6 fue significativamente mayor en pacientes que en sujetos sanos.

$p=0,006$ al comparar la concentración plasmática de IL-6 en ambos grupos.

hsCRP

Una tendencia similar a la de IL-6, pero menos marcada, se observó para hsCRP basal, con una concentración mayor en los pacientes que en los sujetos sanos, y una $p=0,08$ al comparar su concentración en ambos grupos.

Otras moléculas

No encontramos diferencias en la concentración en ayunas del resto de las moléculas analizadas (glucosa o GH) cuando comparamos el grupo de pacientes IRC con el de sujetos sanos.

4.3.2. Concentraciones plasmáticas postestímulo

No encontramos diferencias significativas al comparar la respuesta al placebo del grupo de pacientes IRC con la respuesta al placebo del grupo de sujetos sanos, en ninguna de las moléculas analizadas.

La tabla 5 muestra la variación porcentual de la concentración plasmática de cada una de las moléculas tras la administración de la comida mixta en el grupo de pacientes IRC y el grupo de sujetos sanos; así como el valor de la p de cada comparación.

La tabla 6 muestra el valor extremo (cénit o nadir, según el caso) de la concentración plasmática de cada una de las moléculas analizadas, en pacientes IRC, tras la administración de la comida mixta y tras la realización de la diálisis peritoneal; así como el valor de la p de cada comparación.

Ghrelina total

Tras la comida mixta, el nadir de la concentración plasmática de ghrelina total en los sujetos sanos fue significativamente menor que el alcanzado por la concentración de la misma hormona en los pacientes IRC.

$p=0,001$ cuando se compararon ambos valores, tanto al utilizar la concentración absoluta del péptido como al usar el porcentaje de su concentración basal. Las diferencias alcanzaron significación estadística 30 minutos tras la administración de la comida mixta; momento en el que la concentración plasmática de ghrelina total

(mediana) en el grupo de sujetos sanos era de 631 pg/ml, y en el grupo de pacientes IRC de 915,7

No encontramos diferencias significativas dentro del grupo de pacientes IRC al comparar el nadir de la concentración plasmática de ghrelina total tras la comida mixta y el nadir de la concentración del mismo péptido tras la diálisis peritoneal.

Ghrelina acilada

Tras la ingesta de la comida mixta, el nadir de la concentración plasmática de ghrelina acilada en los sujetos sanos fue significativamente menor que el alcanzado por la misma hormona en los pacientes IRC.

$p < 0,05$ al comparar ambos valores, tanto al usar la concentración absoluta del péptido, como cuando se utilizó el porcentaje de su concentración basal.

En pacientes IRC, el nadir de la concentración plasmática de ghrelina acilada tras la comida mixta es menor que el nadir de la concentración de esta molécula tras la diálisis peritoneal.

Aunque la diferencia existente tendió a la significación estadística sin alcanzarla ($p = 0,093$) cuando se usaron para hacer la comparación los valores absolutos del péptido, dichas diferencias sí fueron significativas ($p < 0,05$) cuando se usaron sus concentraciones expresadas como porcentaje de la basal.

Resultados

	Sujetos sanos	Pacientes con IRC	p
Ghrelin total tras comida mixta	73,8 (56,1-89,1)	88,9 (84,1-94,5)	0,001
Ghrelin acilada tras comida mixta	45,4 (30,3-65,2)	64,4 (45,6-82,3)	<0,05
PYY₁₋₃₆ tras comida mixta	130,1 (100-251,2)	97 (66,7-100)	<0,0005
PYY₃₋₃₆ tras comida mixta	121,7 (100-177,6)	92,2 (44,2-100)	<0,0005
Leptina tras comida mixta	83 (62,5-100)	87,2 (75,7-100)	ns
Glucosa tras comida mixta	159,9 (139-242,2)	167,4 (144-211)	ns
Insulina tras comida mixta	944,8 (655,4-1460)	517 (321,7-1386,2)	ns
GH tras comida mixta	6,05 (0-49,2)	33,9 (1,9-83,5)	ns

Tabla 5: Variación porcentual de hormonas tras la comida mixta. Las cifras expresan mediana (rango). Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney. Las diferencias intragrupo no fueron significativas

	En pacientes IRC tras comida mixta	En pacientes IRC tras diálisis	p
Ghrelin total (pg/ml)	840 (667-1230)	927 (461-1190)	ns
Ghrelin acilada (pg/ml)	62 (44-79)	79 (55-96)	0,093
PYY₁₋₃₆ (pg/ml)	416,5 (90-637)	371,5 (235-677)	ns
PYY₃₋₃₆ (pg/ml)	250 (164-473)	220 (113-324)	ns
Leptina (ng/ml)	27,4 (3-151,9)	19,9 (2-87,5)	ns
Glucosa (mg/dl)	166 (116-264)	183 (126-242)	ns
Insulina (mcU/ml)	72,25 (33,6-142)	42,6 (13,8-67,5)	ns
GH (ng/ml)	0,3 (0,05-13,9)	0,4 (0-06-3,6)	ns

Tabla 6: Concentración hormonal extrema (cénit o nadir) tras estímulos en pacientes con IRC. Las cifras expresan mediana (rango). Comparaciones utilizando el test U de Mann-Whitney.

PYY₁₋₃₆

Tras la administración de la comida mixta, el cénit de la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ en los sujetos sanos fue significativamente mayor que el alcanzado por la concentración plasmática del mismo péptido en los pacientes IRC.

$p < 0,0005$ al comparar ambos valores, tanto cuando se utilizaron para la comparación los valores absolutos de la concentración del péptido como cuando se usaron las concentraciones como porcentaje de la basal.

No encontramos diferencias significativas al comparar el cénit de la concentración plasmática de PYY₁₋₃₆ tras la comida mixta en pacientes IRC con el cénit de la misma molécula tras la diálisis en el mismo grupo de pacientes; independientemente de que las concentraciones del péptido se utilizasen como valor absoluto o como porcentaje de su concentración basal.

PYY₃₋₃₆

Tras la comida mixta, el cénit que alcanzó la concentración plasmática de PYY₃₋₃₆ en el grupo de sujetos sanos fue significativamente superior al alcanzado por el mismo péptido en los pacientes IRC.

$p < 0,0005$ al comparar ambos valores, tanto al utilizar la concentración absoluta del péptido como al usar el porcentaje de su concentración basal.

En pacientes IRC, no encontramos diferencias significativas entre el cénit de la concentración de PYY₃₋₃₆ tras la comida mixta y el cénit de la concentración de dicho péptido tras la realización de la diálisis peritoneal; independientemente de que las

concentraciones del péptido se utilizasen como valor absoluto o como porcentaje de su concentración basal.

Leptina

No encontramos diferencias significativas al comparar el nadir de la concentración plasmática de leptina tras la comida mixta en sujetos sanos con el nadir de dicha molécula tras la administración de la comida mixta en pacientes IRC.

$p=ns$ tanto al usar los valores absolutos de la concentración del péptido como al utilizar porcentajes de su concentración basal.

En los pacientes IRC, no encontramos diferencias al comparar la respuesta de leptina tras la comida mixta con la respuesta de este péptido tras la realización de diálisis peritoneal.

$p=ns$ al usar los valores absolutos de la concentración del péptido y al utilizar los porcentajes de su concentración basal.

Glucosa

No encontramos diferencias significativas al comparar el cénit de la glucemia tras la comida mixta en sujetos sanos y el cénit de la glucemia tras la comida mixta en pacientes IRC; independientemente de la forma (valor absoluto o porcentaje de la concentración basal) en la que se utilizasen las concentraciones de la molécula.

En pacientes IRC, no encontramos diferencias al comparar la respuesta de la glucemia a la comida mixta con su respuesta a la diálisis peritoneal.

p=ns tanto al hacer la comparación con los valores absolutos de la concentración de glucosa como cuando se hizo usando porcentajes de la glucemia basal.

Insulina

No encontramos diferencias significativas cuando se comparó la respuesta de la insulinemia a la ingesta de una comida mixta en sujetos sanos con su respuesta al mismo estímulo en pacientes IRC.

p=ns tanto al usar las concentraciones plasmáticas en valor absoluto como al usarlas como porcentaje de su concentración basal.

En pacientes IRC, no encontramos diferencias al comparar la respuesta de la insulinemia a la comida mixta con su respuesta a la diálisis peritoneal.

p=ns tanto al hacer la comparación usando los valores absolutos de la concentración de la molécula como cuando se hizo usando el porcentaje de su concentración basal.

GH

No encontramos diferencias significativas cuando se comparó la respuesta de la concentración plasmática de GH a la comida mixta en sujetos sanos con su respuesta a la comida mixta en el grupo de pacientes IRC, ni al comparar la respuesta de este péptido tras la comida mixta en IRC con su respuesta en el mismo grupo de pacientes a la diálisis

p=ns tanto al usar para la comparación los valores absolutos de la concentración del péptido como cuando se utilizaron valores que eran el porcentaje de su concentración en ayunas.

4.4. Correlación entre variables

4.4.1 En el grupo de sujetos sanos

Las correlaciones más relevantes que encontramos entre los parámetros analizados en el grupo de los sujetos sanos fueron las siguientes:

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina total se correlacionó negativamente con la edad de los sujetos sanos. $r = -0,76$; $p = 0,03$

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina acilada mostró una tendencia, sin llegar a la significación estadística, a la correlación negativa con la edad de los sujetos sanos. $r = -0,69$; $p = 0,06$)

En los sujetos sanos, la concentración plasmática en ayunas de ghrelina total mostró también una tendencia a la correlación negativa, sin alcanzar la significación estadística, con la resistencia a la acción de la insulina (medida utilizando la puntuación HOMA). $r = -0,60$; $p = 0,09$

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina acilada mostró una correlación negativa, estadísticamente significativa, con la resistencia a la acción de la insulina, medida ésta con la puntuación HOMA. $r = -0,76$; $p = 0,03$

4.4.2. En el grupo de pacientes IRC

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina total tuvo una tendencia (no significativa) a la correlación negativa con la edad de los pacientes IRC. $r = -0,52$; $p = 0,09$.

La concentración plasmática en ayunas de ghrelina acilada y la edad de los pacientes con IRC mostraron también una tendencia (sin alcanzar la significación estadística) a la correlación negativa. $r = -0,51$; $p = 0,10$

No encontramos, sin embargo, en ninguno de los dos grupos estudiados (sujetos sanos y pacientes IRC), ya fuese en ayunas o tras la administración de algún estímulo, correlación de la concentración plasmática de ghrelina total o acilada con la glucemia o la insulinemia. Tampoco encontramos que exista correlación entre los marcadores inflamatorios (IL-6 y hsCRP) y la concentración plasmática de ghrelina o de leptina.

5-DISCUSIÓN

5. Discusión

La concentración plasmática en ayunas de cada una de las moléculas analizadas en este estudio coincidió, con los matices comentados más adelante, con la descrita en publicaciones precedentes; tanto en el caso de personas sanas como en el caso de pacientes IRC (Owyang C, 1979; McDonald, 1993; Cumin F, 1996; Bald M, 1997; Heimbürger O, 1997; Sharma K, 1997; Aguilera A, 1998; Aguilera A, 1999; Yoshimoto A, 2002)

Cuando se comparó, en cada uno de los individuos estudiados (tanto sujetos sanos como pacientes IRC), las diferencias en la concentración plasmática en ayunas de cada molécula; comprobamos que las diferencias existentes fueron escasas (y, desde luego, no significativas). Esto nos permite suponer la existencia de una similitud en las condiciones en las que se realizó cada uno de los estímulos en un determinado individuo (que fue, precisamente, nuestra intención cuando decidimos que, en cada persona, éstos se hiciesen en un plazo máximo de 40 días).

En cada uno de los dos grupos de nuestra muestra (sujetos sanos y pacientes IRC), el rango de la concentración plasmática en ayunas de cada molécula fue notablemente estrecho (tabla 4); lo que sugiere una homogeneidad notable en la composición de cada uno de los grupos.

De los tres estímulos cuya respuesta se analizó en este trabajo (comida mixta, diálisis peritoneal y agua), aquel que se utilizó como placebo (el agua) ha demostrado efectivamente ser un placebo. Entre todas las moléculas analizadas, sólo la GH sufrió

modificaciones significativas en su concentración plasmática tras su administración; y este péptido es una hormona que, de forma similar al cortisol o la prolactina, sufre un elevación en situaciones de estrés, de forma que es previsible un aumento de su concentración plasmática en el momento de la venoclisis, seguida de una progresiva disminución a medida que pasa el tiempo.

La ausencia de respuesta al placebo de las hormonas estudiadas no es irrelevante. Aunque, teóricamente, la concentración de ninguna de estas moléculas se modifica en respuesta a variaciones de volumen intestinal o vascular, sí se ha comprobado en algunos casos variaciones en la concentración de alguna de ellas tras la administración oral de algunas sustancias acalóricas (en particular, la fibra (Nedvidkova J, 2003)). Así, la falta de respuesta al placebo de los péptidos analizados refuerza las conclusiones obtenidas al analizar las variaciones en su concentración plasmática tras la administración de la comida mixta y tras la realización de la diálisis peritoneal.

La comida mixta utilizada fue líquida. Varios estudios previos demostraron que la concentración plasmática de las moléculas analizadas en este estudio depende del aporte calórico y la composición química de las sustancias ingeridas, pero no de su consistencia. Asumimos que la consistencia del alimento no influyó en los resultados obtenidos. A cambio, el uso de una comida líquida nos permitió usar agua del grifo como placebo, y el tener la ventaja de la rapidez de su ingesta: los 400 mL del preparado tenían el volumen de dos vasos, que cada individuo ingirió en, aproximadamente, 1 minuto; lo que hizo más fácil el identificar el momento exacto de la administración del estímulo (si el alimento hubiese sido sólido, el tiempo necesario para su ingesta sería más largo, y la decisión sobre el momento que se marca como inicio del estímulo producido más difícil).

La administración intraperitoneal de glucosa, que se utilizó sin complicaciones en publicaciones previas, provoca (Tschop, 2000) una respuesta de ghrelina similar a la producida por la misma cantidad del carbohidrato por vía oral. La cantidad de glucosa absorbida tras la realización de la diálisis en nuestro trabajo estuvo en torno a los 39 g. Ésta es una cantidad sensiblemente inferior a la que aportó la comida mixta (80 g. de carbohidratos)

5.1. Ghrelina

Que la concentración plasmática de ghrelina total en pacientes IRC es mayor que la de los sujetos sanos es algo ya conocido (Yoshimoto A, 2002; Pérez-Fontán M, 2004; Rodríguez-Ayala E, 2004), y que, ocasionalmente, se interpretó como un intento del organismo de los pacientes urémicos de compensar (mediante el aumento de la concentración de una molécula que estimula el apetito) un estado general tendente a la anorexia.

Nuestro trabajo, sin embargo, muestra que tal diferencia no existe cuando se compara ghrelina acilada en ambos grupos. De hecho, aunque sin alcanzar significación estadística ($p=0,07$ antes de placebo), la concentración plasmática de ghrelina acilada es mayor en los sujetos sanos que en los pacientes IRC; y no podemos asumir, por tanto, que ghrelina actúe de forma especialmente intensa en los pacientes urémicos. Es posible que la incapacidad de varios estudios precedentes para establecer (en varias patologías) una correlación entre ghrelinemia total y el grado de malnutrición sea consecuencia de que, en dichas enfermedades, como ocurre en la uremia, existan alteraciones en la concentración de ghrelina total pero no en las de la forma activa del péptido. Se necesitan estudios que confirmen o desmientan esta sospecha.

Desconocemos la causa que provoca, en IRC, un aumento de la concentración plasmática de ghrelina total, pero no de ghrelina acilada; pero dado que la forma activa de la molécula es la consecuencia de la acilación de la forma nativa del péptido, podemos suponer que la uremia producirá, mediante un mecanismo no descrito, un descenso en la tasa de acilación de ghrelina nativa, un aumento de la tasa de desacilación de la molécula activa, o ambas; y que esto ocurre por un aumento en la concentración de los enzimas implicados, de un incremento de su actividad, o por un contacto más intenso de la molécula de ghrelina con dichos enzimas. En particular, el catalizador de la desacilación de ghrelina es una esterasa plasmática relacionada con HDL. Es posible (aunque sólo podemos suponerlo, y no demostrarlo) que la dislipemia que se asocia a IRC tenga cierta relevancia en la concentración y/o actividad de dicha esterasa, y secundariamente en la proporción de ghrelina total y acilada.

Aunque la disminución de la concentración plasmática de ghrelina en respuesta a la administración oral (Cummings DE, 2002; le Roux CW, 2005; Erdmann J, 2003) o parenteral (Tschöp M, 2000) de carbohidratos en sujetos sanos está ampliamente documentada (Cummings DE, 2001; Casanueva FF, 2002; Gualillo O, 2002; Seoane LM, 2007), no son tan abundantes los estudios que hayan probado la misma respuesta de la fracción acilada de la molécula. En una fecha tan próxima como el año 2004, Van der Lely escribía “Aunque los inmunoensayos de ghrelina existentes en el mercado reflejan fielmente la concentración total de ghrelina, todavía no existen métodos fiables para la cuantificación rutinaria de las distintas formas del péptido” (Van der Lely, 2004). Nuestro trabajo prueba que el aporte de carbohidratos es un estímulo supresor de la concentración de la molécula de ghrelina también en su forma acilada, y que la velocidad de la respuesta de la concentración de ghrelina acilada al estímulo aplicado es

similar a la descrita en el caso de ghrelina total; siendo el descenso en la concentración de la molécula en ambos casos significativo a los 30 minutos de la aplicación del estímulo.

Nuestros datos prueban también que la respuesta de ghrelina se produce también en el caso de pacientes con uremia, tanto cuando la absorción de los hidratos de carbono se produce desde el tracto gastrointestinal como cuando lo hace desde el peritoneo; que la velocidad de la respuesta del péptido al estímulo es similar en los sujetos sanos y en aquellos con IRC; y que, en estos últimos, la respuesta se produce sea cual fuere la vía de administración (oral o intraperitoneal) del los carbohidratos.

La ingesta de alimentos es el principal estímulo supresor de la concentración plasmática de ghrelina (Cummings DE, 2001; Casanueva FF, 2002; Gualillo O, 2002; Seoane LM, 2007). En la IRC, la intensidad de la respuesta de ghrelina (tanto total como acilada) a la ingesta es significativamente menor que la que se produce en sujetos sanos (tabla 5).

Desconocemos la causa que provoca esta atenuación de la respuesta de ghrelina a la ingesta en la IRC. No podemos achacarla a alteraciones en la absorción intestinal de glucosa, porque no hemos encontrado diferencias en la respuesta de la glucemia tras la comida mixta en los sujetos sanos y los pacientes IRC (tabla 5). Dado que en la uremia es frecuente la resistencia a la acción de varias moléculas (como insulina y GH, por ejemplo), no es imposible que exista una cierta resistencia a la acción de algún factor favorecedor de la respuesta de ghrelina a los carbohidratos. Tampoco es imposible que la técnica utilizada para la medición (RIA) pierda fiabilidad en su aplicación postingesta en los pacientes IRC (una situación en la que su uso se ha descrito sólo esporádicamente). En cualquier caso, si aceptamos (como alguna vez se ha propuesto)

que el aumento de la concentración plasmática de ghrelina en ayunas asociado a la IRC puede ser un intento del organismo de compensar la anorexia asociada a esta patología, tendremos que añadir que, también después de las comidas, en esta patología, la situación es similar.

Aunque en el grupo de pacientes IRC tanto la comida mixta como la diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico produjeron un descenso significativo en la concentración plasmática de ghrelina total y acilada, y el tiempo que tardó en producirse esta respuesta fue similar tras ambos estímulos, el descenso en la concentración de la molécula fue más intenso tras la comida mixta que tras la diálisis (tabla 6). Esta diferencia en la respuesta, que sólo alcanzó significación estadística en el caso de ghrelina acilada cuando la comparación se hizo utilizando el valor porcentual de la concentración plasmática de la molécula; y estuvo próxima a dicha significación al comparar el valor absoluto de su concentración, puede explicarse de varias formas:

-Los carbohidratos son el principal estímulo para la supresión de la concentración plasmática de ghrelina (Cummings DE, 2002; le Roux CW, 2005; Erdmann J, 2003). La mediana de la cantidad de glucosa absorbida del líquido de diálisis fue 36,9 g; y la concentración de carbohidratos en la comida mixta fue de 80 g en los 400 mL ingeridos, una cantidad superior a la aportada por la diálisis y de la que cabe esperar, por tanto, un efecto supresor más intenso sobre la ghrelinemia.

-La composición de la comida mixta incluye, además de los hidratos de carbono, una cantidad de lípidos y proteínas; moléculas con capacidad supresora (aunque menos intensa) de la concentración de ghrelina

-El contacto de los carbohidratos con la mucosa gástrica suprime de forma más intensa la producción de ghrelina por las células de la mucosa gastrointestinal, y dicho contacto no se produce cuando la administración de la glucosa se hace por una vía parenteral.

5.2. PYY

Nuestros resultados demuestran una mayor concentración plasmática en ayunas de PYY (tanto de su fracción 1-36 como de la fracción 3-36) en los pacientes IRC que en los sujetos sanos. La diferencia al comparar la concentración de este péptido en ambos grupos fue la más notable de todas las existentes en este estudio, con una significación estadística indudable (tabla 4); y a pesar de las limitaciones que implica un tamaño muestral tan reducido como el nuestro, la homogeneidad de la muestra (en la que se ha buscado de forma expresa una similitud en las características del grupo de sujetos sanos con el de IRC) y lo significativo de la diferencia nos permiten asumir que esta diferencia en la concentración de PYY es real. Además, el incremento que la IRC provoca en la concentración plasmática de PYY en ayunas afecta no sólo a la fracción nativa del péptido (PYY₁₋₃₆) sino también a su forma biológicamente activa (PYY₃₋₃₆), que por su efecto anorexígeno reconocido (Batterham RL, 2002; Halatchev IG, 2004; Cox JE, 2004) puede ser un factor importante en la falta de apetito asociada a esta patología.

El principal estímulo para el aumento de la concentración de PYY es la ingesta (Goodlad RA, 1987; Degen L, 2005). Nuestros datos confirman que la concentración plasmática de ambas fracciones del péptido aumenta de forma significativa tras la ingesta en las personas sanas (figuras 3 y 4). Sin embargo, en los pacientes IRC, la comida mixta no sólo no produjo un aumento la concentración de este péptido, sino que

se comprobó una tendencia evidente (aunque sin significación estadística) a su disminución, tanto el en caso de PYY₁₋₃₆ como en el caso de PYY₃₋₃₆ (figuras 11 y 13); una respuesta significativamente distinta a la existente en los sujetos sanos (tabla 5). Por lo tanto, a través de algún mecanismo que desconocemos, la IRC produce no sólo una mayor concentración plasmática en ayunas de ambas fracciones de PYY sino también una abolición de la respuesta habitual de este péptido a la ingesta.

PYY es un péptido anorexígeno. El principal inductor de la finalización de una comida. Nosotros no podemos demostrarlo, pero tenemos la tentación de identificar esa falta de aumento de PYY tras comida en la uremia como un intento del organismo de aumentar el aporte calórico (prolongando la duración de la ingesta) en una situación (la IRC) en la que dicho aporte está crónicamente reducido.

Las variaciones en la concentración plasmática de PYY son proporcionales al aporte calórico de la ingesta (Adrian TE, 1985), y dependen también de la composición de los nutrientes (siendo los lípidos el principal estímulo de su síntesis) (Goodlad RA, 1987; Degen L, 2005) . Dado que el aporte calórico y la proporción de lípidos notablemente superior en la comida mixta que en la diálisis peritoneal realizada, nosotros esperábamos una respuesta de PYY significativamente más intensa tras la ingesta que tras la diálisis (como sí ocurrió con la respuesta de ghelina); sin embargo, no ha sido así. Dado que no existen publicaciones que analicen la respuesta de PYY tras la administración de glucosa intraperitoneal en sujetos sanos, no podemos saber si esta diferencia en la respuesta depende de la vía de administración, o si es la presencia de IRC la que condiciona una abolición preferente de la respuesta de PYY a la ingesta (en cuyo caso podría suponerse la existencia de algún factor en IRC que impide el contacto

del alimento con las células productoras de PYY en el tracto gastrointestinal o bien la respuesta de las células a este estímulo).

5.3. Otras moléculas

Varios trabajos precedentes demostraron una mayor concentración plasmática de leptina en ayunas en los pacientes con IRC que en las personas sanas (Cumin F , 1996; Heimbürger O, 1997). Las diferencias de nuestros datos sólo alcanzaron significación estadística cuando la comparación entre las concentraciones de leptina en ayunas se hizo antes de la comida mixta; y se mostraron próximas a la significación, sin alcanzarla, cuando se compararon dichas concentraciones antes de la administración de placebo (tabla 4).

Dado que leptina no es una molécula que sufra variaciones notables en su concentración plasmática de forma aguda, nosotros achacamos la falta de significación estadística en las diferencias en su concentración plasmática en ayunas antes del placebo al pequeño tamaño de nuestra muestra.

Si así fuese (si el tamaño muestral impidiese demostrar estadísticamente diferencias que son notables entre pacientes IRC y personas sanas), esto reforzaría el valor de aquellas diferencias en las que, con la misma muestra, sí se alcance la significación estadística.

La ausencia de respuesta de la concentración plasmática de leptina a la administración de una comida mixta es razonable, teniendo en cuenta que este péptido actúa realmente como un marcador de la cantidad de masa grasa corporal; aumentando su concentración plasmática cuando la masa grasa aumenta, y disminuyendo cuando lo hace aquella. Y la cantidad de grasa corporal no se modifica sustancialmente después de

una sola comida. Su falta de respuesta confirma que, tanto en sujetos sanos como en pacientes urémicos, la concentración plasmática de este péptido no está influido por la ingesta a corto plazo, sino por las modificaciones en la grasa corporal consecuencia de modificaciones en la alimentación a más largo plazo. Aunque existen estudios que sugieren que la concentración plasmática de leptina aumenta significativamente tras la ingesta, nuestros resultados no avalan estos hallazgos.

Es sorprendente, sin embargo, que el aporte de una cantidad de glucosa al plasma a través del peritoneo produzca modificaciones sustanciales en la concentración de leptina, que sin embargo no se consiguen cuando el aporte de carbohidratos (en una cantidad sensiblemente superior, como se ha indicado previamente), se hace por vía oral. No podemos invocar, para explicar esta circunstancia, diferencias en la cinética de paso de los carbohidratos al plasma al utilizar técnicas distintas, porque, como se ha descrito previamente, la respuesta de la glucemia ha sido similar tras la comida mixta y tras la diálisis. Puede, por tanto, que tenga que ver con la composición del líquido de dializado, con efectos que produzca el contacto de un líquido con el peritoneo, o con un ritmo circadiano de la leptinemia. Serán necesarios otros estudios para aclararlo.

Nosotros no creemos que la diferencia en la respuesta de la concentración plasmática de leptina tras una comida mixta y tras una diálisis peritoneal con líquido glucosado hipertónico sea consecuencia de la presencia de IRC, sino que está, más bien, relacionada con la técnica de diálisis. Si no fuese así, habría que esperar una diferente respuesta también de leptina a la comida mixta en pacientes y controles; cosa que no ha sucedido.

Queremos resaltar sin embargo que, aunque, en IRC, la administración intraperitoneal de glucosa produjo modificaciones significativas en la concentración plasmática de leptina respecto a su concentración basal, que no encontramos cuando la

administración de glucosa se hizo oral; cuando comparamos leptinemias post-comida con leptinemias post-diálisis en pacientes IRC las diferencias (que suponen un descenso más intenso de leptina tras diálisis) no alcanzaron significación estadística.

No encontramos diferencias en ayunas en la glucemia de los sujetos sanos y la de los pacientes IRC, porque aunque la insulín-resistencia que acompaña a la IRC hace que en estos pacientes sea frecuente la existencia de intolerancia a la glucosa y diabetes; uno de los criterios de exclusión de los componentes de nuestra muestra (que se aplicó tanto al grupo de pacientes con IRC como al de sujetos sanos) fue la existencia de alteraciones en el metabolismo de la glucosa (glucemia basal alterada, intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus); de forma que, de forma premeditada, el grupo de pacientes con IRC de nuestra muestra se formó con pacientes en los que, a pesar de la insulín-resistencia propia de la IRC (como demuestra el aumento de su insulinemia), no existen alteraciones en la glucemia en ayunas.

La no existencia de diferencias en la intensidad del incremento de glucosa tras la comida mixta en el grupo de pacientes urémicos y el grupo de sujetos sanos sugiere que la absorción intestinal de carbohidratos no está alterada en IRC (algo, por otra parte, perfectamente razonable, teniendo en cuenta que la afectación intestinal no es la norma en este tipo de pacientes).

Es lógico que cualquiera de los dos estímulos (comida mixta y diálisis) produzca un aumento en la glucemia en el grupo de pacientes, porque ambos son, en el fondo, un aporte de glucosa al torrente vascular (uno de ellos desde el tracto gastrointestinal, el otro desde el peritoneo). Sorprende, sin embargo, que la respuesta de la glucemia sea

similar tras la comida y tras la diálisis (cuando el aporte de hidratos de carbono es notablemente superior en el primer caso). Una posibilidad es que la absorción de la glucosa sea más efectiva desde el peritoneo; otra es que el efecto incretina (estímulo de la producción de hormonas hipoglucemiantes por el contacto del alimento con la mucosa intestinal) suprima parcialmente el aumento de la concentración plasmática de glucosa. La distinta respuesta de la insulinemia a los dos estímulos (ver más adelante) refrenda esta última posibilidad.

La IRC es una causa reconocida de insulín resistencia. En esta patología, la cantidad de insulina circulante necesaria para mantener un nivel de glucemia es superior a la que necesita una persona sana. La hiperinsulinemia es, por tanto, norma en la IRC. Los resultados de nuestro estudio también lo ponen de manifiesto (tabla 4).

Probablemente debido al tamaño de la muestra, la significación estadística al comparar la concentración en ayunas de insulina de los sujetos sanos con la de los pacientes IRC en nuestro estudio sólo se alcanzó al comparar dichas concentraciones antes de la comida mixta, y no (aunque existe una tendencia notable hacia la significación) cuando se comparan concentraciones antes de placebo.

La respuesta de la insulina a los carbohidratos es lógica, dado que estas moléculas son el determinante principal de la producción de insulina por el páncreas. La mayor intensidad de dicha respuesta a la comida mixta no puede achacarse a un mayor incremento de la glucemia tras la ingesta, porque tal cosa no ocurre (figura 16). Es probable que el contacto de los nutrientes con la mucosa intestinal desencadene la secreción de hormonas con efecto incretina, responsables de la mayor respuesta de la concentración plasmática de insulina.

La respuesta de la concentración plasmática de insulina en pacientes y controles al mismo estímulo (comida mixta) no es significativamente distinta aunque tiende a ser mayor en el grupo de sujetos sanos. Encontramos este hallazgo razonable, porque aunque la respuesta de glucosa a la comida mixta en ambos grupos es similar, y que la IRC no es una patología en la que las alteraciones en la mucosa intestinal (que podrían reducir la respuesta de las incretinas) sean habituales, la insulín resistencia es la norma en IRC, y el páncreas de estos pacientes, estimulado de forma crónica (como demuestra una insulinemia en ayunas superior a la de los sujetos sanos) tendrá un margen de respuesta menor, que justifica esa tendencia a la diferencia, que nuestro tamaño muestral no ha podido confirmar como significativa.

El descenso de la concentración plasmática de GH tras el aporte de glucosa al plasma (sea éste via oral o parenteral) era también esperable. El aumento de la glucemia es un factor supresor reconocido de dicha concentración (la sobrecarga oral de glucosa es la prueba estándar para estimular la secreción de GH en el diagnóstico del déficit de esta hormona). La elevada desviación estándar de la concentración plasmática de GH (como consecuencia de la variabilidad de la secreción diurna del péptido) impidieron que fuese significativa la diferencia de la concentración plasmática de GH antes y después de la diálisis.

La concentración plasmática de GH disminuye de forma significativa incluso tras la administración de un placebo, tanto en sujetos sanos (figura 8) como en los pacientes con IRC (figura 18). Esto es la consecuencia de que GH es una hormona de estrés, en la que el descenso lento de su concentración tras una situación que genera ansiedad (como es una venopunción) es la norma.

Tanto IL-6 como hsCRP son marcadores inflamatorios. La IRC es una patología en la que existe un estado proinflamatorio reconocido, en la que es lógico que esté significativamente aumentada la concentración plasmática de reactantes de fase aguda. Nosotros achacamos la falta de significación estadística de la diferencia en la concentración de hsCRP (con $p = 0,08$ (tabla 3)) entre los pacientes y los controles al tamaño de nuestra muestra.

5.4. Correlación entre los parámetros estudiados y estadística

Reconociendo las limitaciones que un tamaño muestral como el de este estudio puede provocar en la significación de las correlaciones halladas, queremos señalar varias cuestiones observadas al correlacionar los parámetros analizados.

Se ha descrito una correlación positiva de la concentración plasmática de ghrelina con la edad (Cummings DE, 2001). Nuestros datos no corroboran dicha correlación; y al contrario nos muestran una correlación negativa entre la ghrelinemia y la edad, tanto en los individuos sanos como en aquellos con IRC (correlación que sólo alcanza significación estadística para ghrelina total en el grupo de sujetos sanos). A pesar de la falta de significación estadística, nuestros datos muestran una tendencia a la correlación negativa entre edad y ghrelinemia, y no apoyan, por tanto, la posibilidad, sugerida en publicaciones previas, de que sea ghrelina la responsable de la tendencia al acúmulo de grasa corporal en el organismo con el paso del tiempo; ni en sujetos sanos, ni el aquellos con IRC.

Nosotros hemos utilizado el modelo HOMA-IR para cuantificar la insulín-resistencia porque este instrumento ha demostrado ser un índice fiable para su medición, con una buena correlación con el clamp euglucémico-hiperinsulinémico (Wallace TM, 2004). Nuestros datos sugieren que la insulín-resistencia en ayunas es un modulador de la ghrelinemia postprandial. Estos datos concuerdan con observaciones previas de una disminución en la intensidad de la supresión postprandial de ghrelina en individuos obesos insulín-resistentes (Broglia, 2001). Estas conclusiones refuerzan los hallazgos previos en estudios realizados en pacientes insulinopénicos, en los que existe una atenuación en la respuesta postprandial de ghrelina cuando se les compara con personas sin alteraciones en la reserva insulínica (Murdolo, 2003).

No hemos encontrado correlación alguna entre la concentración plasmática de ghrelina (total o acilada) y la concentración plasmática de GH.

El incremento de la secreción de GH es uno de los efectos reconocidos de ghrelina. El hipotético hallazgo de una correlación positiva de la concentración de ambos péptidos no hubiera sido sorprendente. Sin embargo, varios estudios previos (Barkan AL, 2003; Espelund U, 2005) coincidieron con nuestros datos, que sugieren que los efectos de ghrelina sobre el apetito no se realizan a través de modificaciones en la concentración de GH.

La falta de correlación de la concentración plasmática de los marcadores de inflamación (IL-6 y hsCRP) con la concentración plasmática de ghrelina (total o acilada) y PYY (1-36 y 3-36) sugiere que los efectos que sobre la nutrición tienen los estados proinflamatorios (en este caso, la IRC) no se producen a través de modificaciones en la ingesta a corto plazo. Tampoco hemos encontrado correlación entre estos marcadores y

leptina o insulina; lo que sugiere que los citados efectos de la inflamación sobre la nutrición del individuo tampoco se expresan a través de modificaciones en la ingesta a largo plazo (a pesar de que se ha sugerido que la leptina es una molécula que actúa como una citocina proinflamatoria, y que, por lo tanto, su concentración aumentaría en los estados proinflamatorios).

Estos datos refuerzan las explicaciones que describen que los estados proinflamatorios conducen a malnutrición fundamentalmente a través de incrementos del catabolismo, y no tanto por modificaciones de la ingesta de alimento.

En este estudio se analizó no sólo la modificación en la concentración en valor absoluto de las hormonas que se han citado tras cada uno de los tres estímulos, sino también la modificación porcentual de su concentración respecto a su basal (tomando, en cada caso, la concentración basal de cada hormona como 100%). Se hizo así para evitar el posible sesgo de las diferentes concentraciones en ayunas de las hormonas.

En dos casos hemos encontrado diferencias en la significación estadística cuando se utilizaron para la comparación las diferencias porcentuales de la concentración de la molécula.

-Uno de ellos fue la evolución de la concentración plasmática de ghrelina total tras la comida mixta en el grupo de sujetos sanos. La probabilidad de error en la respuesta de dicha molécula al estímulo citado era $p < 0,05$ cuando se utilizó la concentración en valor absoluto, y $p < 0,01$ cuando se usó el valor porcentual. Respuesta significativa, por tanto, en ambos casos, pero con una probabilidad de error menor cuando se usa el valor porcentual.

-El segundo caso fue la respuesta de ghrelina acilada postestímulo en el grupo de pacientes IRC. Al comparar la respuesta en la concentración plasmática de

esta molécula tras la administración de la comida mixta con su respuesta a la diálisis peritoneal, las diferencias no fueron significativas cuando se utilizó la concentración absoluta de la hormona, pero sí ($p < 0,05$) cuando se usó su concentración porcentual.

En ambas situaciones, por tanto, el uso de la concentración porcentual de la molécula demostró mayor sensibilidad que su concentración absoluta. La utilización de este parámetro nos ha permitido descubrir la existencia de diferencias que de otra forma no habríamos probado. Aún así, en la mayoría de las mediciones realizadas, las conclusiones obtenidas por cualquiera de los dos métodos fueron idénticas. La concordancia de las respuestas medidas de dos formas diferentes no hace sino reforzar los resultados obtenidos con cada una de ellas por separado.

6-RESUMEN DE RESULTADOS

6. Resumen de resultados

1-En ayunas, la concentración plasmática de ghrelina total, pero no así la de ghrelina acilada, es mayor en pacientes IRC que en las personas sanas (tabla 4).

2-Tras la administración de glucosa, se utilice la vía oral o intraperitoneal, la concentración plasmática de ambas fracciones de ghrelina (total y acilada) disminuye de forma significativa, tanto en los sujetos sanos como en los pacientes con uremia (figuras 1, 2, 9 y 10).

3-Tras la ingesta, el descenso de la concentración plasmática de ghrelina (tanto total como acilada) es más intenso en los sujetos sanos que en los pacientes IRC (tabla 5).

4-En la IRC, la ingesta de una comida mixta produce un descenso en la concentración plasmática de ghrelina más intenso que el que se produce tras la realización de la diálisis peritoneal (aunque la diferencia sólo ha sido significativa al analizar la respuesta de ghrelina acilada, y no la de ghrelina total) (figura 10 y tabla 6).

5-La concentración plasmática en ayunas de PYY (tanto de la fracción 1-36 como de la fracción 3-36) es mayor en los pacientes IRC que en los sujetos sanos

6-La ingesta de la comida mixta produce un incremento significativo en la concentración plasmática de ambas fracciones de PYY en el grupo de los sujetos sanos. Esta respuesta no se produce, sin embargo, en ninguna de las fracciones del péptido tras

la ingesta en pacientes IRC, en los que existe una tendencia (no significativa) a la disminución de su concentración.

7-En los pacientes IRC, no encontramos diferencias al comparar la magnitud del incremento de la concentración plasmática de ambas fracciones de PYY tras la administración de la comida mixta con su respuesta tras la realización de diálisis peritoneal.

8-En ayunas, la leptinemia de los pacientes IRC es mayor que la de las personas sanas (aunque no siempre hemos podido demostrar significación estadística) (tabla 4). La ingesta de una comida mixta no modifica la concentración plasmática de leptina, ni en sujetos sanos (figura 5) ni en pacientes con IRC (figura 15). En los pacientes IRC, la administración intraperitoneal de glucosa produce un descenso significativo en la concentración plasmática de leptina, detectable 60 minutos después de la aplicación del estímulo (figura 15)

9-La concentración plasmática de glucosa aumenta de forma significativa y similar tras la comida mixta en el grupo de sujetos sanos y el de pacientes. No hemos encontrado diferencias en esta respuesta en el grupo de pacientes IRC al comparar la respuesta de glucemia tras la comida mixta con su respuesta tras la diálisis.

10-La insulinemia en ayunas es más elevada en los pacientes IRC que en los sujetos sanos (con diferencias que no siempre alcanzaron significación estadística en nuestro trabajo); y aumenta significativamente tras la administración de glucosa oral o parenteral, tanto pacientes con IRC como en sujetos sanos.

11-La concentración de GH sufre un descenso progresivo tanto tras la comida mixta (en pacientes y controles) como tras la diálisis peritoneal.

12-La concentración plasmática de IL-6 y de hsCRP en ayunas es mayor en los pacientes con IRC que en los sujetos sanos. Las diferencias, aunque notables en ambos casos, sólo alcanzaron significación estadística en nuestro estudio en el caso de IL-6.

7-CONCLUSIONES

7. Conclusiones

1-En los sujetos sanos, la ingesta produce un descenso de la concentración plasmática de ghrelina (tanto total como acilada), y un incremento en la concentración de PYY (tanto de la fracción 1-36 como 3-36)

2-En los pacientes IRC, y en comparación con los individuos sanos, existe, en ayunas, un entorno hormonal que favorece la supresión del apetito, resumible en un incremento de la concentración plasmática de la hormona anorexígena PYY, sin diferencias respecto a los sujetos sanos en la concentración de la fracción activa de la hormona estimulante del apetito ghrelina.

3-Por el contrario, en dichos pacientes IRC, tras la ingesta se produce un patrón mixto, con una abolición de la respuesta del péptido saciante PYY (tanto en su fracción 1-36 como 3-36), y una disminución menos pronunciada de la concentración del péptido orexigénico ghrelina (tanto total como acilada).

4-Evaluando de forma global (tanto en ayunas como tras la ingesta) la concentración plasmática de ghrelina y PYY, los pacientes con IRC presentan un entorno hormonal supresor del apetito, que puede ser un factor condicionante más de la anorexia y malnutrición frecuentemente asociadas a esta patología.

8-PUBLICACIONES PRODUCTO DE ESTA TESIS

1. Penín M, Pérez Fontán M, García Buela J, Isidro ML, Martínez T, Outeiriño E, Rodríguez Carmona A, Sangiao-Alvarellos S, Vidal O, Cordido F. 2008 Respuesta secretora de PYY₁₋₃₆ y PYY₃₋₃₆ en sujetos normales tras la ingesta de una comida mixta. *Endocrinol Nutr* 55:335-41
2. Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodríguez-Carmona A, Penín M, Díaz-Cambre H, López-Muñiz A, Sangiao-Alvarellos S, García-Buela J. 2008 Short-term regulation of peptide YY secretion by a mixed meal or peritoneal glucose-based dialysate in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* (Epub ahead of print)

9-BIBLIOGRAFÍA

1. Acchiardo SR, Moore K, Smith SO. 1995 Increased dialysis prescription improved nutrition. *J Am Soc Nephrol* 6:571
2. Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR. 1985 Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 89:1070-77
3. Aguilera A, Codoceo R, Selgas R, Garcia P, Picornell MD, Díaz C, Sánchez C, Bajo MA. 1998 Anorexigen (TNF-alfa, cholecystokinin) and orexigen (neuropeptide Y) plasma levels in peritoneal dialysis (PD) patients: their relationship with nutritional parameters. *Nephrol Dial Transplant* 13:1476-83
4. Aguilera A, Bajo MA, Díez J, Codoceo R, Bajo MA, Jara MC, Hernaz A, Grande C. 1999 Appetite modulator disorder condition the abnormalities in food intake behavior of peritoneal dialysis (PD) patients. *Perit Dial Int* 19(suppl 1):S59
5. Aguilera A, Bajo MA, Rebollo FD, Díez JJD, Díaz C, Paiva A, Codoceo R, Selgas R. 2002 Leptin as nutritional and cardiovascular risk marker in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial Transplant* 18:212-7
6. Aguilera A, Codoceo R, Bajo M, Iglesias P, Díez J, Barril G, Cigarrán S, Álvarez V, Celadilla O, Fernández-Perpén A, Montero A, Selgas R. 2004 Eating behavior disorders in uremia: A question of balance in appetite regulation. *Semin Dial* 17:44-52
7. Anderson GH, Li ETS, Anthony SP, Ng LT, Bialik R. 1994 Dissociation between plasma and brain amino acid profiles and short-term food intake in the rat. *Am J Physiol* 35:R1675-86
8. Ariyasu H, Takaya K, Hosoda H, Iwakura H, Ebihara K, Mori K, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. 2002 Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: evidenced by a specific RIA for the active form of ghrelin. *Endocrinology* 143:3341-50
9. Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E. 2000 Preliminary evidence that ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 23:493-5
10. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E. 2001 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* 86:1169-74

11. Baggio LL, Huang Q, Brown TJ, Drucker DJ. 2004 Oxyntomodulin and glucagon-like peptide-1 differentially regulate murine food intake and energy expenditure. *Gastroenterology* 127:546-58
12. Bald M, Gerigk M, Rascher W. 1997 Elevated plasma concentrations of neuropeptide Y in children and adults with chronic and terminal renal failure. *Am J Kidney Dis* 30:23-7
13. Ballmer PE, Ballmer-Hofer K, Repond F, Kohler H, Studer H. 1992 Acute suppression of albumin synthesis in systemic inflammatory disease: An individually graded response of rat hepatocytes. *J Histochem Cytochem* 40:201-6
14. Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA. 2003 Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2180-4
15. Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR. 2002 Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 418:650-4
16. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR. 2003 Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med* 349:941-8
17. Beaumont NJ, Skinner VO, Tan TM, Ramesh BS, Byrne DJ, MacColl GS, Keen JN, Bouloux PM, Mikhailidis DP, Bruckdorfer KR, Vanderpump MP, Srai KS. 2003 Ghrelin can bind to a species of high-density lipoprotein associated with paraoxonase. *J Biol Chem* 278:8877-80
18. Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, Warren VA, Howard AD, Van der Ploeg LH, Heck JV. 2000 Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 43:4370-6
19. Bellone S, Rapa A, Vivenza D, Castellino N, Petri A, Bellone J, Me E, Broglio F, Prodham F, Ghigo E, Bona G. 2002 Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 25:RC13-5
20. Bergstrom J. 1993 Nutritional requirements on hemodialysis patients, in Mitch WE, Klahr S (eds): *Nutrition and the kidney* (ed 2). Boston, Little Brown, pp 263-89
21. Besterman HS, Cook GC, Sarson DL, Christofides ND, Bryant MG, Gregor M, Bloom SR. 1979 Gut hormones in tropical malabsorption. *Br Med J* 2:1252-5

22. Beverly JL, Hrupka BI, Gietzen DW, Rogers QR. 1993 Timing and dose of amino acids injection into the prepyriform cortex influence food intake. *Physiol Behav* 53:899-903
23. Bisi G, Podio V, Valetto MR, Broglio F, Bertuccio G, Aimaretti G, Pelosi E, Del Rio G, Muccioli G, Ong H, Boghen MF, Deghenghi R, Ghigo E 1999a Cardiac effects of hexarelin in hypopituitary adults. *Eur J Pharmacol* 381:31-8
24. Bisi G, Podio V, Valetto MR, Broglio F, Bertuccio G, Del Rio G, Arvat E, Boghen MF, Deghenghi R, Muccioli G, Ong H, Ghigo E. 1999b Acute cardiovascular and hormonal effects of GH and hexarelin, a synthetic GH-releasing peptide, in humans. *J Endocrinol Invest* 22:266-72
25. Bluet-Pajot MT, Tolle V, Zizzari P, Robert C, Hammond C, Mitchell V, Beauvillain JC, Viollet C, Epelbaum J, Kordon C. 2001 Growth hormone secretagogues and hypothalamic networks. *Endocrine* 14:1-8
26. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafer U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten Y, Brunner D, Fainaru M, Green MS. 2000 Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 356:1213-8
27. Boccanfuso JA, Hutton M, McAllister B. 2000 The effects of megestrol acetate on nutritional parameters in a dialysis population. *J Ren Nutr* 10:36-43
28. Borah MF, Schoenfeld PY, Gotch FA, Sargent JA, Wolfsen M, Humphreys MH. 1978 Nitrogen balance during intermittent dialysis therapy of uremia. *Kidney Int* 14:491-500
29. Bowers CY, Sartor AO, Reynolds GA, Badger TM. 1991 On the actions of the growth hormone-releasing hexapeptide, GHRP. *Endocrinology* 128:2027-35
30. Bowers CY. 1999 GHRP: unnatural toward the natural. In: Dieguez C, Ghigo E, Boghen M, Casanueva FF, eds. *Growth hormone secretagogues*. Amsterdam: Elsevier Science; 5-18
31. Bowers CY. 2001 Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1464-9
32. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, Van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. 2001 Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5083-6

33. Broglio F, Koetsveld PP, Benso A, Gottero C, Prodam F, Papotti M, Muccioli G, Gauna C, Hofland L, Deghenghi R, Arvat E, Van der Lely AJ, Ghigo E. 2002 Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4829-32
34. Broglio F, Boutignon F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Arvat E, Ghe C, Catapano F, Torsello A, Locatelli V, Muccioli G, Boeglin D, Guerlavais V, Fehrentz JA, Martinez J, Ghigo E, Deghenghi R. 2002 EP1572: a novel peptido-mimetic GH secretagogue with potent and selective GH-releasing activity in man. *J Endocrinol Invest* 25:RC26-8
35. Broglio F, Gottero C, Benso A, Prodam F, Casanueva FF, Dieguez C, Van der Lely AJ, Deghenghi R, Arvat E, Ghigo E. 2003 Acetylcholine does not play a major role in mediating the endocrine response to ghrelin, a natural ligand of the GH secretagogue receptor, in humans. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58:92-8
36. Broome M, Hokfelt T, Terenius L. 1985 Peptide YY (PYY)-immunoreactive neurons in the lower brain stem and spinal cord of rat. *Acta Physiol Scand* 125:349-52
37. Brubaker PL, Anini Y. 2003 Direct and indirect mechanisms regulating secretion of glucagon-like peptide-2. *Can J Physiol Pharmacol* 81:1005-12
38. Bruning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillete J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Muller-Wieland D, Kahn CR. 2000 Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 289:2122-5
39. Caglar K, Fedje L, Dimmitt R, Hakim RM, Shyr Y, Ikizler TA. 2002 Therapeutic effects of oral nutritional supplementation during hemodialysis. *Kidney Int* 62:1054-9
40. Cangiano C, Laviano A, Muscaritoli M, Meguid MM, Cascino A, Fanelli FR. 1996 Cancer anorexia: new pathogenic and therapeutic insights. *Nutrition* 12:S48-50
41. Cano NH, Roth H, Aparicio M, Azar R, Canaud B, Chauveau P, Combe C, Fouque D, Laville M, Leverve XM. 2002 Malnutrition in hemodialysis diabetic patients: Evaluation and prognostic influence. *Kidney Int* 62:593-601
42. Caravaca F, Arrobas M, Pizarro JL, Sanchez-Casado E. 2001 Uraemic symptoms, nutritional status and renal function in pre-dialysis end-stage renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 16:776-82
43. Casanueva FF, Diéguez C. 1999 Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Front Neuroendocrinol* 20:317-63
44. Casanueva FF, Dieguez C. 1999b Growth hormone secretagogues: physiological role and clinical utility. *Trends Endocrinol Metab* 10:30-8

- 45.Casanueva FF, Diéguez C. 2002 Ghrelin: the link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocr Metab Disord* 3:325-38
- 46.Cassoni P, Papotti M, Catapano F, Ghe C, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G. 2000 Specific binding sites for synthetic growth hormone secretagogues in non-tumoral and neoplastic human thyroid tissue. *J Endocrinol* 165:139-46
- 47.Cassoni P, Papotti M, Ghe C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, Deghenghi R, Reissmann T, Ghigo E, Muccioli G. 2001 Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1738-45
- 48.Cassoni P, Muccioli G, Marrocco T, Volante M, Allia E, Ghigo E, Deghenghi R, Papotti M. 2002 Cortistatin-14 inhibits cell proliferation of human thyroid carcinoma cell lines of both follicular and parafollicular origin. *J Endocrinol Invest* 25:362-8
- 49.Chan JL, Bullen J, Lee JH, Yiannakouris N, Mantzoros CS. 2004 Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 89:335-43
- 50.Chertow GM, Ackert K, Lew NL, Lazarus JM; Lowrie EG. 2000 Prealbumin is as important as albumin in the nutritional assessment of hemodialysis patients. *Kidney Int* 58:2512-7
- 51.Chida D, Osaka T, Hashimoto O, Iwakura Y. 2006 Combined interleukin-6 and interleukin-1 deficiency causes obesity in young mice. *Diabetes* 55:971-7
- 52.Chwals WJ, Bistrian BR. 1991 Role of exogenous growth hormone and insulin-like growth factor 1 in malnutrition and acute metabolic stress: a hypothesis. *Crit Care Med* 19:1317-22
- 53.Clark RG, Carlsson MS, Trojnar J, Robinson IC. 1989 The effects of a growth hormone-releasing peptide and growth hormone releasing factor in conscious and anaesthetized rats. *J Neuroendocrinol* 1:249-55
- 54.Coll AP, Farooqi I, O'Rahilly S. 2007 The hormonal control of food intake. *Cell* 129(2):251-62
- 55.Coll AP, Farooqi IS, Challis BG, Yeo GS, O'Rahilly S. 2004 Proopiomelanocortin and energy balance: insights from human and murine genetics. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2557-62

- 56.Cone RD. 2005 Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nat Neurosci* 8:571-8
- 57.Copinschi G, Leproult R, Van Onderbergen A, Caufriez A, Cole KY, Schilling LM, Mendel CM, De Lepeliere I, Bolognese JA, Van Cauter E. 1997 Prolonged oral treatment with MK-677, a novel growth hormone secretagogue, improves sleep quality in man. *Neuroendocrinology* 66:278-86
- 58.Cordido F, Casanueva FF, Dieguez C. 1989 Cholinergic receptor activation by pyridostigmine restores growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone administration in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 68:290-3
- 59.Cordido F, Dieguez C, Casanueva FF. 1990 Effect of central cholinergic neurotransmission enhancement by pyridostigmine on the growth hormone secretion elicited by clonidine, arginine, or hypoglycemia in normal and obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 70:1361-70
- 60.Cordido F, Peñalva A, Dieguez C, Casanueva FF. 1993 Massive growth hormone (GH) discharge in obese subjects after the combined administration of GH-releasing hormone and GHRP-6: evidence for a marked somatotroph secretory capability in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 76:819-23
- 61.Cordido F, Peñalva A, Peino R, Casanueva FF, Dieguez C. 1995 Effect of combined administration of growth hormone (GH)-releasing hormone, GH-releasing peptide-6, and pyridostigmine in normal and obese subjects. *Metabolism* 44:745-8
- 62.Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. 2003 The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 649-6
- 63.Cox JE, Randich A. 2004 Enhancement of feeding suppression by PYY(3-36) in rats with area postrema ablations. *Peptides* 25:985-9
- 64.Cumin F, Baum HP, Levens N. 1996 Leptin is cleared from the circulation primarily by the kidney. *Int J Obes Relat Metab Disord* 20:1120-6
- 65.Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. 2001 A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50:1714-9

66. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JW. 2002a Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 346:1623-30
67. Cummings DE, Clement K, Purnell JQ, Vaisse C, Foster KE, Frayo RS, Schwartz MW, Basdevant A, Weigle DS. 2002b Elevated plasma ghrelin levels in Prader Willi syndrome. *Nat Med* 8:643-4
68. Cummings DE, Overduin J. 2007 Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest* 117:13-23
69. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sagawuchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. 2000 Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 141:4255-61
70. Degen L, Oesch S, Casanova M, Graf S, Ketterer S, Drewe J, Beglinger C. 2005 Effect of peptide YY3-36 on food intake in humans. *Gastroenterology*; 89:1070-7
71. de Gennaro Colonna V, Rossoni G, Bernareggi M, Muller EE, Berti F. 1997a Hexarelin, a growth hormone-releasing peptide, discloses protectant activity against cardiovascular damage in rats with isolated growth hormone deficiency. *Cardiologia* 42:1165-72
72. de Gennaro Colonna V, Rossoni G, Bernareggi M, Muller EE, Berti F. 1997b Cardiac ischemia and impairment of vascular endothelium function in hearts from growth hormone-deficient rats: protection by hexarelin. *Eur J Pharmacol* 334:201-7
73. de Keyser Y, Lenne F, Bertagna X. 1997 Widespread transcription of the growth hormone-releasing peptide receptor gene in neuroendocrine human tumors. *Eur J Endocrinol* 137:715-8
74. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT, Roux-Lombard P, Zingraff J, Moynot A, Verger C, Dahmane D, de Groote D, Jungers P. 1995 Balance between IL-1 beta, TNF-alpha, and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. Relationships with activation markers of T cells, B cells, and monocytes. *J Immunol* 154:882-92
75. Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, Jeejeebhoy KN. 1987 What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 11:8-13
76. De Vriese C, Delporte C. 2007 Influence of ghrelin on food intake and energy homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10:615-9

77. Dickson SL, Luckman SM. 1997 Induction of c-fos messenger ribonucleic acid in neuropeptide Y and growth hormone (GH)-releasing factor neurons in the rat arcuate nucleus following systemic injection of the GH secretagogue, GH-releasing peptide-6. *Endocrinology* 138:771-77
78. Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Ghigo E, Arvat E. 2002 The GH-releasing effect of ghrelin, a natural GH secretagogue, is only blunted by the infusion of exogenous somatostatin in humans. *Clin Endocrinol (Oxf)* 56:643-8
79. Djukanovic L, Lezaic V, Blagojevic R, Radivojevic D, Stosovic M, Jovanovic N, Ristic S, Simic-Ogrizovic S. 2003 Co-morbidity and kidney graft failure-two main causes of malnutrition in kidney transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 18(suppl 5):v68-70
80. Dobell E, Chan M, Williams P, Alman M. 1993 Food preferences and food habits of patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *J Am Diet Assoc* 93:1129-35
81. Drewnowski A. 1997 Taste preferences and food intake. *Annu Rev Nutr* 17:237-54
82. Du J, Wang X, Miereles C, Bailey JL, Debigare R, Zheng B, Price SR, Mitch WE. 2004 Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. *J Clin Invest* 113:115-123
83. Duenhas MR, Draibe SA, Avesani CM, Sesso R, Cuppari L. 2003 Influence of renal function on spontaneous dietary intake and on nutritional status of chronic renal insufficiency patients. *Eur J Clin Nutr* 57:1473-8
84. Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, Daugirdas JT, Greene T, Kusek JW, Allon M, Bailey J, Delmez JA, Depner TA, Dwyer JT, Levey AS, Levin NW, Milford E, Ornt DB, Rocco MV, Schulman G, Schwab SJ, Teehan BP, Toto R. 2002 Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 347:2010-9
85. El Haggan W, Vendrely B, Chauveau P, Barthe N, Castaing F, Berger F, de Précigout V, Potaux L, Aparicio M. 2002 Early evolution of nutritional status and body composition after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis* 40:629-37
86. Erdmann J, Lippl F, Schusdzarra V. 2003 Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man. *Regul Pept* 116:101-7
87. Erdmann J, Topsch R, Lippl F, Gussmann P, Schusdzarra V. 2004 Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3048-54

- 88.Espelund U, Hansen TK, Hojlund K, Beck-Nielsen H, Clausen JT, Hansen BS, Orskov H, Jorgensen JOL, Frystyk J. 2005 Fasting unmasks a strong inverse association between ghrelin and cortisol in serum: studies in obese and normal-weight subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 90:741-6
- 89.Eustace JA, Coresh J, Kutchey C Te PL, Gimenez LF, Scheel PJ, Walser M. 2000 Randomized double-blind trial of oral essential amino acids for dialysis-associated hypoalbuminemia. *Kidney Int* 57:2527-38
- 90.Feehally J, Harris KP, Bennett SE, Walls J. 1986 Is chronic renal transplant rejection a non-immunological phenomenon?. *Lancet* 2:486-88
- 91.Feiten SF, Draibe SA, Watanabe R, Duenhas MR, Baxmann AC, Nerbass FB, Cuppari L. 2005 Short-term effects of a very-low-protein diet supplemented with ketoacids in nondialyzed chronic kidney disease patients. *Eur J Clin Nutr* 59:129-36
- 92.Fernström A, Hylander B, Rössner S. 1996 Taste acuity in patients with chronic renal failure. *Clin Nephrol* 45:169-74
- 93.Fernström A, Hylander B, Rössner S. 1996b Energy intake in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Intern Med* 240:211-8
- 94.Flakoll PJ, Carlson M, Cherrington AD. 2000 Physiologic action of insulin. In: Leroith D, Taylor SI, and Olefsky JM (eds): *Diabetes Mellitus* (ed 2). Philadelphia, Lippincot Williams & Wilkins, pp 148-61
- 95.Freda PU, Reyes CM, Conwell IM, Sundeen RE, Wardlaw SL. 2003 Serum ghrelin levels in acromegaly: effects of surgical and long-acting octreotide therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2037-44
- 96.Flier JS. AgRP in energy balance: Will the real AgRP please stand up?. 2006 *Cell Metab* 3:83-5
- 97.Foulkes CJ, Goldstein DJ, Kelly MP. 1991 Indications for the use of intradialytic parenteral nutrition in the malnourished hemodialysis patient. *Renal Nutr* 1:23-33
- 98.Frieboes RM, Murck H, Antonijevic IA, Steiger A. 1999 Effects of growth hormone-releasing peptide-6 on the nocturnal secretion of GH, ACTH and cortisol and on the sleep EEG in man: role of routes of administration. *J Neuroendocrinol* 11:473-8
- 99.Frieboes RM, Murck H, Maier P, Schier T, Holsboer F, Steiger A. 1995 Growth hormone-releasing peptide-6 stimulates sleep, growth hormone, ACTH and cortisol release in normal man. *Neuroendocrinology* 61:584-9

100. Friedman JM, Halaas JL. 1998 Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395:763-70
101. Garber AJ. 1983 Effects of parathyroid hormone on skeletal muscle protein and amino acid metabolism in the rat. *J Clin Invest* 71:1806-21
102. Gehlert DR. 1999 Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding and obesity. *Neuropeptides* 33:329-38
103. Geloneze B, Tambascia MA, Pilla VF, Geloneze SR, Repetto EM, Pareja JC. 2003 Ghrelin: a gut-brain hormone: effect of gastric by-pass surgery. *Obes Surg* 13:17-22
104. Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Varrocco T, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G, Papotti M. 2002 The antiproliferative effect of synthetic peptidyl GH secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology* 143:484-91
105. Ghigo E, Arvat E, Giordano R, Broglio F, Gianotti L, Maccario M, Bisi G, Graziani A, Papotti M, Muccioli G, Deghenghi R, Camanni F. 2001 Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine* 14:87-93
106. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. 2002 The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2988
107. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. 2002 The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2988
108. Goodlad RA, Lenton W, Ghatei MA, Adrian TE, Bloom SR, Wright NA. 1987 Proliferative effects of "fibre" on the intestinal epithelium: relationship to gastrin, enteroglucagon, and PYY. *Gut* 28(Suppl):221-6
109. Goth MI, Lyons CE, Canny BJ, Thorner MO. 1992 Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, growth hormone (GH)-releasing peptide and GH releasing hormone stimulate GH release through distinct pituitary receptors. *Endocrinology* 130:939-44
110. Grandt D, Schimiczek M, Struk K, Shively J, Eysselein VE, Goebell H, Reeve Jr RJ. 1994a Characterization of two forms of peptide YY (PYY), PYY(1-36) and PYY(3-36), in the rabbit. *Peptides* 15:815-20

111. Grandt D, Schimiczek M, Beglinger C, Layer P, Goebell H, Eysselein VE, Reeve Jr JR. 1994b Two molecular forms of peptide YY (PYY) are abundant in human blood: characterization of a radioimmunoassay recognizing PYY 1-36 and PYY 3-36. *Regul Pept* 51:151-9
112. Group C-UCPDS. 1996 Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis: Association with clinical outcomes. *J Am Soc Nephrol* 7:198-207
113. Gualillo O, Caminos J, Blanco M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, Dieguez C, Casanueva F. 2001 Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 142:788-94
114. Gualillo O, Caminos JE, Nogueiras R, Seoane LM, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF, Diéguez C. 2002 Effect of food restriction on ghrelin in normal-cycling female rats and in pregnancy. *Obes Res* 10:682-7
115. Guan XM, Yu H, Palyha OC, McKee KK, Feighner SD, Sirinathsinghji DJ, Smith RG, Van del Ploeg LH, Howard AD. 1997 Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 48:23-9
116. Guarnieri G, Faccini L, Lipartiti T, Ranieri F, Spangaro F, Giuntini D, Toigo G, Dardi F, Berquier-Vidali F, Raimondi A. 1980 Simple methods for nutritional assesment in hemodialyzed patients. *Am J Clin Nutr* 33:1598-607
117. Gutierrez A, Alvestrand A, Wahren J, Bergström J. 1990 Effect of in vivo contact between blood and dialysis membranes on protein catabolism in humans. *Kidney Int* 38:487-94
118. Gutierrez A, Bergstorm J, Alvestrand A. 1992 Protein catabolism in sham hemodialysis: The effect of different membranes. *Clin Nephrol* 38:20-9
119. Hakim RM, Lazarus JM. 1989 Progression of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 14:396-401
120. Hakim RM Levin N. 1993 Malnutrition in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 21:125-37
121. Hakim RM. 1994 Initiation of dialysis. *Adv Nephrol* 23:295-309
122. Hakim RM, Held PJ, Stannard DC, Wolfe RA, Port FK, Daugirdas JT, Agodoa L. 1994b Effects of the dialysis membrane biocompatibility on nutritional parameters in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 50:566-70

123. Halatchev IG, Ellacort KL, Fan W, Cone RD. 2004 Peptide YY3-36 inhibits food intake in mice through a melanocortin-4 receptor-independent mechanism. *Endocrinology* 145:2585-90
124. Hall JC, O'Quigley J, Giles GR, Appleton N, Stocks H. 1980 Upper limb anthropometry: The value of measurement variance studies. *Am J Clin Nutr* 33:1846-51
125. Harty JC, Boulton H, Curwell J, Heelis N, Uttley L, Venning MC, Gokal R. 1994 The normalized protein catabolic rate is a flawed marker of nutrition in CAPD patients. *Kidney Int* 45:103-9
126. Heaf J, Jakobsen U, Tvedegaard E, Kanstrup IL, Fogh-Andersen N. 2004 Dietary habits and nutritional status of renal transplant patients. *J Ren Nutr* 14:20-5
127. Heimburger O, Lonnqvist F, Danielsson A, Nordenström J, Stenvinkel P. 1997 Serum immunoreactive leptin concentration and its relation to the body fat content in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 8:1423-30
128. Hewson AK, Dickson SL. 2000 Systemic administration of ghrelin induces Fos and Egr-1 proteins in the hypothalamic arcuate nucleus of fasted and fed rats. *J Neuroendocrinol* 12:1047-9
129. Holdstock C, Enngstrom BE, Ohrvall M, Lind L, Sundbom M, Karlsson FA. 2003 Ghrelin and adipose tissue regulatory peptides: effect of gastric bypass surgery in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3177-83
130. Hollander P, Maggs DG, Ruggles JA, Fineman M, Shen L, Kolterman OG, Weyer C. 2004 Effect of pramlintide on weight in overweight and obese insulin-treated type 2 diabetes patients. *Obes Res* 12:661-8
131. Horber FF, Hoppeler H, Herren D, Claassen H, Howald H, Gerber C, Frey FJ. 1986 Altered skeletal muscle ultrastructure in renal transplant patients on prednisone. *Kidney Int* 30:411-16
132. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschöp M. 2001 Minireview: ghrelin and the regulation of energy balance –a hypothalamic perspective. *Endocrinology* 142:4163-9
133. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. 2003 Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 278:64-70

134. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberator PA, Roseblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Paliha OC, Anderson J, Pares PS, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chaung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Melillo DG, Van der Ploeg LH. 1996 A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273:974-977
135. Hylander B, Barkeling B, Rössner S. 1996 Energy intake in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis treatment, and after transplantation. *Am J Kidney Dis* 29:691-8
136. Ikizler TA, Wingard RL, Hakim RM. 1995 Future approaches to the treatment of malnutrition. *Perit Dial Int* 15(suppl):S63-6
137. Ikizler TA, Greene JH, Yenicesu M, Schulman G, Wingard RL, Hakim RM. 1996 Nitrogen balance in hospitalized chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 57:S53-6 (suppl)
138. Ikizler TA, Evanson JA, Greene JH. 1996b Impact of nutritional status and residual renal function at initiation of hemodialysis on subsequent morbidity in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 7:1319
139. Ikizler TA, Pupim LB, Brouillette JR, Levenhagen DK, Farmer K, Hakim RM, Flakoll PJ. 2002 Hemodialysis stimulates muscle and whole body protein loss and alters substrate oxidation. *Am J Physiol* 282:E107-16
140. Ingenbleek Y, De Visscher M, DeNayer P. 1972 Measurement of prealbumin as index of protein-calorie malnutrition. *Lancet* 2:106-8
141. Isidro ML, Pérez-Fontán M, Rodríguez-Carmona A, García-Buela J, Cordido F. 2006 Postprandial plasma levels of acylated and total ghrelin after a mixed meal. *Obes Metab* 2006; 2:60-67.
142. Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK. 2002 Expression and action of the growth hormone releasing peptide ghrelin and its receptor in prostate cancer cell lines. *J Endocrinol* 172:R7-11
143. Jones CH, Wolfenden RC, Wells LM. 2004 Is subjective global assessment a reliable measure of nutritional status in hemodialysis? *J Ren Nutr* 14:26-30
144. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Block G, Humphreys MH. 2001 A malnutrition-inflammation score is correlated with morbidity and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 38:1251-63

145. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. 1999 Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 20:68-100
146. Kanamoto N, Akamizu T, Hosoda H, Hataya Y, Ariyasu H, Takaya K, Hosoda K, Saijo M, Moriyama K, Shimatsu A, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. 2001 Substantial production of ghrelin by a human medullary thyroid carcinoma cell line. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4984-90
147. Kaptein EM, Feinstein EI, Massry SG. 1982 Thyroid hormone metabolism in renal disease. *Contrib Nephrol* 33:122-35
148. Kato A, Odamaki M, Yamamoto T, Yonemura K, Maruyama Y, Kumagai H, Hishida A. 2003 Influence of body composition on 5 year mortality in patients on regular hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 18:333-40
149. Kaysen GA, Rathore V, Shearer GC, Depner TA. 1995 Mechanisms of hypoalbuminemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 48:510-6
150. Kaysen GA. 2000 C-reactive protein: A story half told. *Semin Dial* 13:143-6
151. Kennedy GC. 1953 The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 140:578-96
152. Kishimoto M, Okimura Y, Nakata H, Kudo T, Iguchi G, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K. 2003 Cloning and characterization of the 5'(-)-flanking region of the human ghrelin gene. *Biochem Biophys Res Commun* 305:186-92
153. Kissilef HR, Pi-Sunyer FX, Thornton J, Smith GP. 1981 C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *Am J Clin Nutr* 34:154-60
154. Kloppenburg WD, Stegeman CA, Hooyschuur M, van der Ven J, de Jong PE, Huisman RM. 1999 Assessing dialysis adequacy and dietary intake in the individual hemodialysis patient. *Kidney Int* 55:1961-9
155. Knochel JP. 1991 Biochemical alterations in advanced uremic failure, in Jacobson HR, Striker GE, Klahr S (eds): *The Principles and Practice of Nephrology*. Philadelphia, BC Decker, pp 682-9
156. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. 1999 Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656-60
157. Konings CJ, Kooman JP, Schonck M, Dammers R, Cheriex E, Palmans Meulemans AP, Hoeks AP, van Kreel B, Gladziwa U, van der Sande FM, Leunissen KM. 2002 Fluid

status, blood pressure, and cardiovascular abnormalities in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 22:477-87

158.Kopple JD, Coburn JW. 1973 Metabolic studies of low protein diets in uremia. I. Nitrogen and potassium. *Medicine (Baltimore)* 52:583-95

159.Kopple JD, Berg R, Houser H, Steinman TI, TEschan P. 1989 Nutritional status of patients with different levels of chronic renal failure. *Kidney Int* 36(suppl) 27:S184-94

160.Kopple JD, Hirschberg R. 1993 Nutrition and peritoneal dialysis, in Mitch WE, Klahr S (eds): *Nutrition and the kidney* (ed 2). Boston, Little, Brown and Company, pp 290-313

161.Kopple JD, Levey AS, Greene T, Chumlea WC, Gasman JJ, Hollinger DL, Maroni Bj, Merrill D, Sherch LK, Schulman G, Wang SR, Zimmer GS. 1997 Effect of dietary protein restriction on nutritional status in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int* 52:778-91

162.Kopple JD. 1997b McCollum Award Lecture: Protein-energy malnutrition in maintenance dialysis patients. *Am J Clin Nutr* 65:1544-57

163.Kopple JD, Levey AS, Greene T, Chumlea WC, Gasman JJ, Hollinger DL, Maroni Bj, Merrill D, Sherch LK, Schulman G, Wang SR, Zimmer GS. 1997c Effect of dietary protein restriction on nutritional status in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int* 52:778-91

164.Korbonits M, Jacobs RA, Aylwin SJ, Burrin JM, Dahia PL, Monson JP, Honegger J, Fahlbush R, Trainer PJ, Chew SL, Besser GM, Grossman AB. 1998 Expression of the growth hormone secretagogue receptor in pituitary adenomas and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 83:3624-30

165.Korbonits M, Kaltsas G, Perry LA, Putignano P, Grossman AB, Besser GM, Trainer PJ. 1999 The growth hormone secretagogue hexarelin stimulates the hypothalamo-pituitary-adrenal axis via arginine vasopressin. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2489-95

166.Korbonits M, Kojima M, Kangawa k, Grossman AB. 2001 Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary. *Endocrine* 14:101-4

167.Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. 2001b The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 86:881-7

- 168.Korner J, Bessler M, Cirilo LJ, Conwell IM, Daud A, Restuccio NL, Wardlaw SL. 2005 Effects of Roux-en-Y gastric bypass surgery on fasting and postprandial concentrations of plasma ghrelin, peptide YY, and insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 90:359-65
- 169.Law MR, Morris JK, Wald NJ, Hale AK. 1994 Serum albumin and mortality in the BUPA study. British United Provident Association. *Int J Epidemiol* 23:38-41
- 170.Leal-Cerro A, Garcia E, Astorga R, Casanueva FF, Dieguez C. 1995 Growth hormone (GH) responses to the combined administration of GH-releasing hormone plus GH-releasing peptide 6 in adults with GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 132:712-5
- 171.Leavey SR, Strawderman RL, Jones CA, Port FK, Held PJ. 1998 Simple nutritional indicators as independent predictors of mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 31:997-1006
- 172.Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GH, Jr. 2002 Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 143:185-90
- 173.Lee SW Dai G, Hu Z, Wang X, Du J, Mitch WE. 2004 Regulation of muscle protein degradation: coordinated control of apoptotic and ubiquitin-proteasome systems by phosphatidylinositol 3 kinase. *J Am Soc Nephrol* 15:1537-45
- 174.Lee JH, Kwon YD, Hong SH, Jeong HJ, Kim HM, Um JY. 2008 Interleukin-1 beta gene polymorphism and traditional constitution in obese women. *Int J Neurosci* 118:793-805
- 175.Leibowitz SF, Alexander FT. 1998 Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biol Psychiatry* 44:851-64
- 176.le Roux CW, Patterson M, Vincent RP, Hunt C, Ghatei MA, Bloom SR. 2005 Postprandial plasma ghrelin is suppressed proportional to meal calorie content in normal weight but not obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 90:1068-71
- 177.Le Roux CW, Batterham RL, Aylwin JB, Patterson M, Borg CM, Wynne KJ, Kent A, Vincent RP, Gardiner J, Ghatei MA, Bloom SR. 2006a Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology* 147:3-8
- 178.le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V, Shurey S, Ghatei MA, Patel AG, Bloom SR. 2006b Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg* 243:108-14

- 179.Lien YH, Ruffenach SJ. 1996 Low dose megestrol increases serum albumin in malnourished dialysis patients. *Int J Artif Organs* 19:147-50
- 180.Lim VS, Bier DM, Flanigan MJ, Sum-Ping ST. 1993 The effect of hemodialysis on protein metabolism: A leucine kinetic study. *J Clin Invest* 91:2429-36
- 181.Lim VS, Yarasheski KE, Crowley JR, Fangman J, Flanigan M. 2003 Insulin is protein-anabolic in chronic renal failure patients. *J Am Soc Nephrol* 14(9):2297-304
- 182.Lindsay R, Spanner E, Heidenheim P, Kortas C, Blake PG. 1992 Which comes first, Kt/V or PCR-Chicken or egg. *Kidney Int* 42(suppl 38):S32-7
- 183.Lindsay RM Spanner E, Heidenheim P, Kortas C, Blake PG. 1993 PCR, Kt/V, and membrane. *Kidney Int* 43(suppl 41):S268-73
- 184.Locke W, Kirgis HD, Bowers CY, Abdoh AA. 1995 Intracerebroventricular growth-hormone-releasing peptide-6 stimulates eating without affecting plasma growth hormone responses in rats. *Life Sci* 56:1347-52
- 185.Lowrie EG, Lew NL .1990 Death risk in hemodialysis patients: The predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 15:458-82
- 186.Mak RHK, Bettinelli A, Turner C, Haycock GB, Chantler C. 1985 The influence of hyperparathyroidism on glucose metabolism in uremia. *J Clin Endocrinol Metab* 60:229-33
- 187.Mallo F, Alvarez CV, Benítez L, Burguera B, Coya R, Casanueva FF, Dieguez C. 1993 Regulation of His-d-Trp-Ala-Trp-dPhe-Lys-NH₂ (GHRP-6)-induced GH secretion in the rat. *Neuroendocrinology* 57:247-56
- 188.Mamoun AH, Anderstam B, Södersten P, Lindholm B, Bergström J. 1996 Influence of peritoneal dialysis solutions with glucose and amino acids on ingestive behavior in rat. *Kidney Int* 49:1276-82
- 189.Mamoun AH, Bergström J, Sodersten P. 1997 Cholecystokinin octapeptide inhibits carbohydrate but not protein intake. *Am J Physiol* 273(3 pt 2):R972-80
- 190.Man JF, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S. 2001 Renan insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med* 134:629-36
- 191.Marckmann P. 1988 Nutritional status of patients on hemodialysis and peritoneal dialysis. *Clin Nephrol* 29:75-8

192. Maroni BJ. 1991 Nutritional requirements of normal subjects and patients with renal insufficiency, in Jacobson HR, Striker GE, Klahr S (eds): The principles and practice of nephrology. Philadelphia, BC Decker, pp 708-14
193. Martul P, Pineda J, Pombo M, Peñalva A, Bokser L, Dieguez C. 1993 New diagnostic tests of GH reserve. *J Clin Endocrinol Metab* 76:819-23
194. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. 2000 Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 276:905-8
195. Matthews DR, Hosker HP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. 1985 Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28:412-9
196. Mathey MF, Siebelink E, de Graaf C, van Staveren WA. 2001 Flavor enhancement of food improves dietary intake and nutrition status of elderly nursing home residents. *J Gerontol* 56:M200-5
197. May RC, Kelly RA, Mitch WE. 1987 Mechanisms for defects in muscle protein metabolism in rats with chronic uremia: The influence of metabolic acidosis. *J Clin Invest* 79:1099-103
198. McDonald C, Rush D, Bernstein K, McKenna R. 1993 Production of tumoral necrosis factor in hemodialysis. *Nephron* 65:273-7
199. McKee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SK, Hreniuk DL, Smith LG, Howard AD, Van der Ploeg LH. 1997a Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 46:426-34
200. McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk KL, Tan CP, Phillips MS, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD. 1997b Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol Endocrinol* 11:415-23
201. Mehls O, Ritz E, Hunziker EB, Eggli P, Heinrich U, Zapf J. 1988 Improvement of growth and food utilization by human recombinant growth hormone in uremia. *Kidney Int* 33:45-52
202. Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D, Schmidt WE, Gallwitz B. 2004 Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes* 53:654-62

203. Mellinkoff SM, Frankland M, Boule D, Greipel M. 1956 Relationship between serum amino acids concentration and fluctuation in appetite. *J Appl Physiol* 8:535-8
204. Mendieta-Zerón H, López M, Diéguez C. 2008 Gastrointestinal peptides controlling body weight homeostasis. *Gen Comp Endocrinol* 155:481-95
205. Merchenthaler I. 1991 Neurons with access to the general circulation in the central nervous system of the rat: a retrograde tracing study with fluoro-gold. *Neuroscience* 44:655-62
206. Miller DG, Levine SE, D'Elia JA, Bistrain BR. 1986 Nutritional status of diabetic and nondiabetic patients after renal transplantation. *Am J Clin Nutr* 44:66-9
207. Misra M, Miller KK, Tsai P, Gallagher K, Lin A, Lee N, Herzog DB, Klibanski A. 2006 Elevated peptide YY levels in adolescent girls with anorexia nervosa *J Clin Endocrinol Metab* 91:1027-33
208. Mitch WE, Bailey JL, Wang X, Jurkowitz C, Newby D, Price SR. 1999 Evaluation of signals activating ubiquitin-proteasome proteolysis in a model of muscle wasting. *Am J Physiol* 276:C1132-8
209. Mitch WE, Du J, Bailey JL, Price SR. 1999 Mechanisms causing muscle proteolysis in uremia: The influence of insulin and cytokines. *Miner Electrolyte Metab* 25:216-9
210. Moller DE. 2000 Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 11:212-7
211. Momany FA, Bowers CY, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Newlander K. 1981 Design, synthesis, and biological activity of peptides which release growth hormone in vitro. *Endocrinology* 108:31-9
212. Moran TH, Smedh U, Kinzig KP, Scott KA, Knipp S, Ladenheim EE. 2005 Peptide YY (3-36) inhibits gastric emptying and produces acute reductions in food intake in rhesus monkeys. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288:R384-8
213. Moreno-Reyes R, Kerkhofs M, L'Hermite-Baleriaux M, Thorner MO, Van Cauter E, Copinschi G. 1998 Evidence against a role for the growth hormone-releasing peptide axis in human slow-wave sleep regulation. *Am J Physiol* 274:E779-84
214. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. 2000 Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 486:213-6

215. Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. 2006 Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. 443:289-95
216. Muccioli G, Ghe C, Ghigo MC, Papotti M, Arvat E, Boghen MF, Nilsson MH, Deghenghi R, Ong H, Ghigo E. 1998 Specific receptors for synthetic GH secretagogues in the human brain and pituitary gland. *J Endocrinol* 157:99-106
217. Muller EE, Locatelli V, Cella S, Peñalva A, Novelli A, Cocchi D. 1983 Prolactin-lowering and -releasing drugs. Mechanisms of action and therapeutic applications. *Drugs* 25:399-432
218. Murata M, Okimura Y, Iida K, Matsumoto M, Sowa H, Kaji H, Kojima M, Kangawa K, Chihara K. 2002 Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signalling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 277:5667-74
219. Murdolo G, Lucidi P, Di Loreto C, Parlanti N, De Cicco A, Fatone C, Fanelli CG, Bolli GB, Saneussanio F, De Feo P. 2003 Insulin is required for prandial ghrelin suppression in humans. *Diabetes* 52:2923-7
220. Mustonen AM, Nieminen P, Hyvarinen H. 2001 Preliminary evidence that pharmacologic melatonin treatment decreases rat ghrelin levels. *Endocrine* 16:43-6
221. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K. 2001 Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280:R1483-7
222. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S. 2001 A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409:194-8
223. Nawrocki AR, Rajala MW, Tomas E, Pajvani UB, Saha AK, Trumbauer ME, Pang Z, Chen AS, Ruderman NB, Chen H. 2006. Mice lacking adiponectin show decreased hepatic insulin sensitivity and reduced responsiveness to peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem* 281:2654-60
224. Nedvidkova J, Krykorkova I, Bartak V, Papezova H, Gold PW, Alesci S, Pacak K. 2003 Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 88:1678-82
225. Nelson EE, Hong CD, Pesce AL, Peterson DW, Singh S, Pollak VE. 1990 Anthropometric norms for the dialysis population. *Am J Kidney Dis* 16:32-7
226. Neyra NR, Hakim RM, Shyr Y, Ikizler TA. 2000 Serum transferrin and serum prealbumin are early predictors of serum albumin in chronic hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 10:184-90

- 227.Ostergard T, Hansen TK, Nyholm B, Gravholt CH, Djurhuus CB, Hosoda H, Kangawa K, Schmitz O. 2003 Circulating ghrelin concentrations are reduced in healthy offspring of type 2 diabetic subjects, and are increased in women independent of a family history of type 2 diabetes. *Diabetologia* 46:134-6
- 228.Owen W, Lew N, Lui Y, Lowrie E, Lazarus J. 1993 The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 329:1001-6
- 229.Owyang C, Miller LJ, Dmago EP, Brennan LA, Go VLW. 1979 Gastrointestinal hormone profile in renal insufficiency. *Mayo Clin Proc* 54:769-73
- 230.Pagotto U, Gambineri A, Vicennatti V, Heiman ML, Tschop M, Pasquali R. 2002 Plasma ghrelin, obesity and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1902
- 231.Papotti M, Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G. 2000 Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3803-7
- 232.Papotti M, Cassoni P, Volante M, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E. 2001 Ghrelin-producing endocrine tumors of the stomach and intestine. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5052-9
- 233.Parker TF, Wingard RL, Husni L, et al. 1996 Effect of the membrane biocompatibility on nutritional parameters in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 49:551-6
- 234.Parker TFI, Laird NM, Lowrie EG. 1983 Comparison of the study groups in the national cooperative dialysis study and a description of morbidity, mortality, and patient withdrawal. *Kidney Int* 23(suppl 13):S42-9
- 235.Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. 2003 End-stage renal disease: a state of chronic inflammation and hyperleptinemia. *Eur J Clin Invest* 33:527-8
- 236.Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Yee-Moon Wang A, Heimbürger O, Lindholm B. 2004 Chronic inflammation in peritoneal dialysis: The search for the holy grail?. *Perit Dial Int* 2004; 24:327-39
- 237.Peng S, Fouque D, Kopple J. 1993 Insulin-like growth factor-1 causes anabolism in malnourished CAPD patients. *J Am Soc Nephrol* 4:414

238. Peñalva A, Burguera B, Casabiell X, Tresguerres JA, Dieguez C, Casanueva FF. 1989 Activation of cholinergic neurotransmission by pyridostigmine reverses the inhibitory effect of hyperglycemia on growth hormone (GH) releasing hormone-induced GH secretion in man: does acute hyperglycemia act through hypothalamic release of somatostatin?. *Neuroendocrinology*. 49:551-4
239. Peñalva A, Carballo A, Pombo M, Casanueva FF, Dieguez C. 1993 Effect of growth hormone (GH)-releasing hormone (GHRH), atropine, pyridostigmine, or hypoglycemia on GHRP-6-induced GH secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 76:168-71
240. Peñalva A, Baldelli R, Camiña JP, Cerro AL, Micic D, Tamburrano G, Dieguez C, Casanueva FF. 2001 Physiology and possible pathology of growth hormone secretagogues. *J Pediatr Endocrinol Metab* 14:1207-12; discussion 1261-2
241. Pérez-Fontán M, Rodríguez-Carmona A, Cordido F, García-Buela J. 1999 Hyperleptinemia in uremic patients undergoing conservative management, peritoneal dialysis and hemodialysis: A comparative analysis. *Am J Kidney Dis* 34:824-31
242. Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodríguez Carmona A, Peteiro J, García-Naveiro R, García Buela J. 2004 Plasma ghrelin levels in patients undergoing haemodialysis and peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 19:2095-100
243. Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodríguez Carmona A, García-Navarro R, Isidro ML, Villaverde P, García-Buela J. 2005 Acute plasma ghrelin and leptin responses to oral feeding or intraperitoneal hypertonic glucose-based dialysate in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 68:2877-85
244. Pérez-Fontán M, Cordido F, Rodríguez-Carmona A, Penín M, Díaz-Cambre H, López-Muñiz A, Sangiao-Alvarellos S, García-Buela J. 2008 Short-term regulation of peptide YY secretion by a mixed meal or peritoneal glucose-based dialysate in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* (Epub ahead of print)
245. Pfluger PT, Kampe J, Castaneda TR, Vahl T, D'Alessio A, Kruthaupt T, Benoit C, Cuntz U, Rochlitz HJ, Moehlig M, Pfeiffer FH, Koebnick C, Weickert MO, Otto B, Spranger J, Tschöp MH. 2007 Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY₃₋₃₆
246. Pifer TB, McCullough KP, Port FK, Goodkin DA, Maroni BJ, Held PJ, Young EW. 2002 Mortality risk in hemodialysis patients and changes in nutritional indicators: DOPPS. *Kidney Int* 62:2238-45
247. Plata-Salaman C. 1995 Cytokines and feeding suppression: an integrative view from neurologic to molecular levels. *Nutrition* 11:S674-7

248. Pollock ML, Jackson AS. 1984 Research progress in validation of clinical methods of assessing body composition. *Med Sci Sports Exerc* 16:606-15
249. Pollock CA, Ibels LS, Zhu FY, Warnant M, Caterson RJ, Waugh DA, Mahony JF. 1997 Protein intake in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 8:777-83
250. Pombo M, Barreiro J, Peñalva A, Peino R, Dieguez Casanueva FF. 1995 Absence of growth hormone (GH) secretion after the administration of either GH-releasing hormone (GHRH), GH-releasing peptide (GHRP-6), or GHRH plus GHRP-6 in children with neonatal pituitary stalk transection. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3180-4
251. Pombo M, Leal-Cerro A, Barreiro J, Peñalva A, Peino R, Mallo F, Dieguez C, Casanueva FF. 1996 Growth hormone releasing hexapeptide-6 (GHRP-6) test in the diagnosis of GH-deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab* 3:333-8
252. Popovic V, Leal A, Micic D, Koppeschaar HP, Torres E, Paramo C, Obradovic S, Dieguez C, Casanueva FF. 2000 GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults. *Lancet* 356:1137-42
253. Price SR, Du JE, Bailey JL. 2001 Molecular mechanisms regulating protein turnover in muscle. *Am J Kidney Dis* 37:S112-4
254. Pupim LB, Flakoll PJ, Brouillette JR, Levenhagen DK, Hakim RM, Ikizler TA. 2002 Intradialytic parenteral nutrition improves protein and energy homeostasis in chronic hemodialysis patients. *J Clin Invest* 110:483-92
255. Pupim LB, Cuppari L, Ikizler TA. 2006 Nutrition and metabolism in kidney disease. *Semin Nephrol* 26:134-57
256. Qureshi AR, Lindholm B, Alvestrand A, Bergström J, Tollemar J, Hultman E, Groth CG. 1994 Nutritional status, muscle composition and plasma and muscle free amino acids in renal transplant patients. *Clin Nephrol* 42:237-45
257. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Lindholm B, Bergström J. 1998 Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: A cross-sectional study. *Kidney Int* 53:773-82
258. Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heimburger O, Lindholm B, Bergström J. 2002 Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 13 Suppl1:S28-36

- 259.Reaich D, Channon SM, Scrimgeour CM, Daley SE, Wilkinson R, Goodship TH. 1993 Correction of acidosis in humans with CRF decreases protein degradation and amino acid oxidation. *Am J Physiol* 265:E230-5
- 260.Reifenstein EC, Albright F, Wells SL. 1945 The accumulation, interpretation, and presentation of data pertaining to metabolic balances, notably those of calcium, phosphorus, and nitrogen. *J Clin Endocrinol Metab* 5:367-95
- 261.Riis AL, Hansen TK, Moller N, Weeke J, Jorgensen JO. 2003 Hyperthyroidism is associated with suppressed circulating ghrelin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 88:853-7
- 262.Ritter RC. 2004 Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. *Physiol Behav* 81:249-73
- 263.Rodríguez-Ayala E, Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Lindholm B, Nordfors L, Stenvinkel P. 2004 Associations between plasma ghrelin levels and body composition in end-stage renal disease: A longitudinal study. *Nephrol Dial Transplant* 19:421-6
- 264.Rodríguez-Carmona A, Pérez-Fontán M, Cordido F, García Falcón T, García Buela J. 2000 Hyperleptinemia is not correlated with markers of protein malnutrition in chronic renal failure. *Nephron* 86:274-80
- 265.Rushing PA, Hagan MM, Seeley RJ, Lutz TA, Woods SC. 2000 Amylin: a novel action in the brain to reduce body weight. *Endocrinology* 141:850-3
- 266.Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, Boyadjian R. 2003 Insulin regulates plasma ghrelin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3997-400
- 267.Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M, Matsubara M, Hayashi Y, Kangawa K, Sakai T. 2002 Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed-and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides*. 23:531-6
- 268.Sanders NH, Narvate J, Bittle PA, Ramirez G. 1991 Hospitalized dialysis patients have lower nutrient intakes on renal diet than on regular diet. *J Am Diet Assoc* 91:1278-80
- 269.Sardesai VM. 1998 Fundamentals of nutrition, in Dekker M (ed): Introduction to Clinical Nutrition. New York, Sardesai VM pp 1-13
- 270.Sartor O, Bowers CY, Chang D. 1985 Parallel studies of His-DTrp-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH₂ in rat primary pituitary cell monolayer culture. *Endocrinology* 116:952-7

- 271.Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG. 2000 Central nervous system control of food intake. *Nature* 404:661-71
- 272.Seagraves A, Moore EE, Moore FA, Weil R. 1991 Net protein catabolic rate after kidney transplantation: impact of corticosteroid immunosuppression. *J Parenter Enteral Nutr* 10:453-5
- 273.Seliger SL, Weiss NS, Gillen DL, Kestenbaum B, Ball A, Sherrard DJ, Stehman-Breen CO. 2002 HMG-CoA reductase inhibitors are associated with reduced mortality in ESRD patients. *Kidney Int* 61:297-304
- 274.Seoane LM, López M, Tovar S, Casanueva FF, Señarís R, Diéguez C. 2003 Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology* 144:544-51
- 275.Seoane LM, Al-Massadi O, Caminos JE, Tovar SA, Diéguez C, Casanueva FF. 2007 Sensory stimuli directly acting at the central nervous system regulate gastric ghrelin secretion. An ex-vivo organ culture study. *Endocrinology* 148:3998-4006
- 276.Sharma K, Considine RV, Michael B, Dunn SR, Weisberg LS, Kurnik BR, Kurnik PB, O'Connor J, Sinha M, Caro JF. 1997 Plasma leptin is partially cleared by the kidney and is elevated in hemodialysis patients. *Kidney Int* 51:1980-5
- 277.Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S. 2002 Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 87:240-4
- 278.Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, Hayashi T, Inoue G, Hosoda K, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. 2001 Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 50:227-32
- 279.Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, Wyvrat Jr MJ, Fisher MH, Nargund RP, Patchett AA. 1997 Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 18:621-645
- 280.Smith LG, Leonard R, Bailey AR, Palyha O, Feighner SC, Tan C, McGee KK, Pong SS, Griffin P, Howard A. 2001 Growth hormone secretagogue receptor family members and ligands. *Endocrine* 14:9-14

- 281.Soffer EE, Adrian TE, Launspach J, Zimmerman B. 1997 Meal-induced secretion of gastrointestinal regulatory peptides is not affected by sleep. *Neurogastroenterol Motil* 9:7-12
- 282.Spranger J, Tschöp MH. 2007 Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY₃₋₃₆
- 283.Steiber AL, Kalantar-Zadeh K, Secker D, McCarthy M, Sehgal A, McCann L. 2004 Subjective global assessment in chronic kidney disease: A review. *J Ren Nutr* 14:191-200
- 284.Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T. 1999a Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 55:1899-911
- 285.Stenvinkel P, Andersson P, Wang T, Lindholm B, Bergstrom J, Palmblad J, Heimbürger O, Cederholm T. 1999b Do ACE-inhibitors suppress tumor necrosis factor-alpha production in advanced chronic renal failure?. *J Intern Med* 246:503-7
- 286.Stenvinkel P, Heimbürger O Lindholm B, Kaysen G, Bergstrom J. 2000 Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationship between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 15:953-60
- 287.Stenvinkel P, Alvestrand A. 2002a. Inflammation in end-stage renal disease: Sources, consequences, and therapy. *Semin Dial* 15:329-37
- 288.Stenvinkel P, Heimbürger O, Jogestrand T. 2002b Elevated interleukin-6 predicts progressive carotid atherosclerosis in dialysis patients: association to *Chlamydia pneumoniae* seropositivity. *Am J Kidney Dis* 39:274-82
- 289.Stock S, Lechner P, Wong AC, Ghatei MA, Kieffer TK, Bloom SR, Chanoine JP. 2005 Ghrelin, peptide YY, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, and hunger responses to a mixed meal in anorexic, obese, and control female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 90:2161-8
- 290.Stricker EM. 1984 Biological bases of hunger and satiety: therapeutic implications. *Nutr Rev* 42:333-40
- 291.Sugino T, Yamaura J, Yamagishi M, Kurose Y, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. 2003 Involvement of cholinergic neurons in the regulation of the ghrelin secretory response to feeding in sheep. *Biochem Biophys Res Commun* 304:308-12

292. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. 2000 Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85:4908-11
293. Takemoto K, Mutt V. 1980 Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides. *Nature*. 285(5764):417-8
294. Talsania T, Anini Y, Siu S, Drucker DJ, Brubaker PL. 2005 Peripheral exendin-4 and peptide YY(3-36) synergistically reduce food intake through different mechanisms in mice. *Endocrinology* 1044:3748-56
295. Tannenbaum GS, Bowers CY. 2001 Interactions of growth hormone secretagogues and growth hormone-releasing hormone/somatostatin. *Endocrine* 14:21-7
296. Tena-Sempere M, Barreiro ML, Conzalez LC, Gaytan , Zhang FP, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Dieguez C, Aguilar E. 2002 Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 143:717-25
297. Thomas GB, Fairhall KM, Robinson ICAF. 1997 Activation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis by the growth hormone (GH) secretagogue, GH-releasing peptide-6, in rats. *Endocrinology*. 138:1585-9
298. Tolle V, Basant MH, Zizzari P, Poindessous-Jazat F, Tomasetto C, Epelbaum J, Bluet-Pajot MT. 2002 Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with GH, feeding behaviour, and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology* 143:1353-61
299. Tonelli M, Moye L, Sacks FM, Cole T, Curhan GC. 2003 Effect of pravastatin on loss of renal function in people with moderate chronic renal insufficiency and cardiovascular disease. *J Am Soc Nephrol* 14:1605-13
300. Tonshoff B, Eden S, Weiser E, Carlsson B, Robinson IC, Blum WF, Mehls O. 1994 Reduced hepatic growth hormone (GH) receptor gene expression and increased plasma GH binding protein in experimental uremia. *Kidney Int* 45:1085-92
301. Tovar SA, Seoane LM, Caminos FE, Nogueiras R, Casanueva FF, Dieguez C. 2004 Regulation of peptide YY levels by age, hormonal, and nutritional status. *Obes Res* 12:1944-50
302. Trudel L, Tomasetto C, Rio MC, Bouin M, Plourde V, Eberling P, Poitras P. 2002 Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 282:35518-22

303. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. 2000 Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407:908-13
304. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. 2001 Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50:707-9
305. Tschop M, Flora DB, Mayer JP, Heiman ML. 2002a Hypophysectomy prevents ghrelin-induced adiposity and increases gastric ghrelin secretion in rats. *Obes Res* 10:991-9
306. Tschop M, Statnick MA, Suter TM, Heiman ML. 2002b GH-releasing peptide-2 increases fat mass in mice lacking NPY: indication for a crucial mediating role of hypothalamic agouti-related protein. *Endocrinology* 144:544-551
307. Tschop M, Castaneda TR, Joost HG, Thone-Reineke C, Ortmann S, Klaus S, Hagan MM, Chandler PC, Oswald KD, Benoit SC, Seeley RJ, Kinzig KP, Moran TH, Beck-sickinger AG, Koglin N, Rodgers Rj; Blundell JE, Ishii Y, Beattie AH, Holch P, Allison DB, Raun K, Madsen K, Wulff BS, Stidsen CE, Birringer M, Kreuzer OJ, Schindler M, Arndt K, Rudolf K, Mark M, Deng XY, Whitcomb DC, Halem H, Taylor J, Dong J, Datta R, Culler M, Craney S, Flora D, Smiley D, Heiman ML, Withcomb DC. 2004 Physiology: does gut hormone PYY3-36 decrease food intake in rodents? *Nature* 430:1 p following 165; discussion 162 p following 165
308. Van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. 2004 Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 25(3):426-57
309. Veeneman JM, Kingma HA, Boer TS, Stellaard F, De Jong PE, Reijngoud DJ, Huisman RM. 2003 Protein intake during hemodialysis maintains a positive whole body protein balance in chronic hemodialysis patients. *Am J Physiol* 284:E954-65
310. Verdery RB, Goldberg AP. 1994 Hypocholesterolemia as a predictor of death: A prospective study of 224 nursing home residents. *J Gerontol* 46:M84-90
311. Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E, Papotti M. 2002 Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1300-8
312. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. 2004 Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 27:1487-95
313. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Sea MM, Lui SF, Pi PK, Sanderson J. 2003 Is a single time point C-reactive protein predictive of outcome in peritoneal dialysis patients?. *J Am Soc Nephrol* 14(7):1871-9.

314. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, Mathias S, Schmid DA, Uhr M, Steiger A. 2003 Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284:E407-15
315. Williams ED, Henderson IS, Boddy K, Kennedy AC, Elliott HL, Haywood JK, Harvey IR. 1984 Whole-body elemental composition in patients with renal failure and after transplantation studied using total-body-neutron-activation analysis. *Eur J Clin Invest* 14:362-8
316. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. 2000 The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 141:4325-8
317. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillon WS, Ghatei MA, Bloom SR. 2001 Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5992-5
318. Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A. 2002 Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 13:2748-52

