

## Editorial

# Ghrelin: el ligando endógeno del receptor de los secretagogos de GH

C. DIÉGUEZ

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela.

Momany y Bowers, basados en la observación de que las metencefalinas eran capaces de estimular la secreción de hormona de crecimiento (GH) de forma específica aunque débil, diseñaron una serie de análogos sintéticos activos sobre la secreción de GH. De esta forma, mediante cálculos de la energía conformacional como estimación de las estructuras químicas energéticamente más estables, síntesis y análisis de la actividad biológica y siguiendo un proceso iterativo, consiguieron la síntesis de diferentes péptidos liberadores de GH, que se denominaron genéricamente GHRP (*growth hormone releasing peptides*). De entre todos los péptidos sintetizados en el laboratorio, destacó un hexapéptido, His-DTrp-Ala-Trp-DPhe-LysNH<sub>2</sub> (GHRP-6), miles de veces más potente sobre la secreción de GH que sus precursores naturales, las metencefalinas<sup>1</sup>.

El GHRP-6 y una serie de análogos peptídicos y no peptídicos diseñados con posterioridad, conocidos como GHS (*growth hormone secretagogues*), son un potente estímulo de la secreción de GH, y actúan de forma específica y dependiente de la dosis, tanto *in vivo* como *in vitro*, en diferentes especies animales. Son activos por distintas vías de administración: intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroventricular, subcutánea, intranasal y oral<sup>2-4</sup>. Los GHS son también un potente estímulo de la secreción de GH en el hombre y, en general, son más potentes que la propia GHRH. Además, se ha comprobado también su efectividad por vía oral tanto en sujetos normales como en niños con talla baja<sup>2-4</sup>. Esto es muy interesante ya que, a pesar de que si se utiliza la vía oral la dosis necesaria para provocar la elevación de la GH es relativamente grande, la mayoría de los péptidos, incluido el GHRH, son inactivos por vía oral. Esta efectividad por vía oral se debe, en el caso de los GHS peptídicos, a la presencia de D-aminoácidos en lugar de L-aminoácidos en su secuencia estructural que los protegen de su degradación proteolítica.

Como ocurre en los animales, numerosos estudios han puesto de manifiesto que el efecto de los GHS sobre la GH es independiente de la GHRH, provocando la administración combinada de ambos péptidos un efecto sinérgico sobre la secreción de la hormona<sup>5-6</sup>. De hecho, la administración combinada de GHRH y GHRP-6 es el estímulo más poderoso de secreción de GH en sujetos normales y puede ser utilizada en el diagnóstico del déficit de GH de origen hipofisario<sup>7</sup>. El efecto liberador del GHRP-6 y su acción sinérgica con GHRH sobre la secreción de GH no se observan en pacientes con desconexión hipotálamo-hipofisaria ni en niños con síndrome de sección neonatal del tallo hipofisario, lo que sugiere que su efecto predominante se ejerce a escala hipotalámica<sup>8,9</sup>. Esto además concuerda con los estudios anatómicos de distribución del receptor a través del cual ejercen sus efectos estos GHS. Tras la identificación de este receptor, que presenta las características de un receptor con siete dominios transmembrana acoplado a proteínas G, se observó su expresión en diferentes tejidos de entre los que destaca su alta expresión en el hipotálamo y la hipófisis<sup>10</sup>. La identificación de este receptor fue además crucial para la posterior identificación del ligando endógeno responsable de su activación.

En 1999, Kojima et al<sup>11</sup> caracterizaron, a partir de extractos de estómago, un péptido liberador de GH que actuaba a través del receptor de GHS. El proceso de aislamiento y secuenciación de esta hormona estuvo basado en lo siguiente: a) utilización de células transfectadas con el receptor de GHS; b) adición de extractos tisulares (hipotálamo, estómago etc.); c) valoración de la generación de calcio (se conocía que la activación del receptor de GHS daba lugar a un incremento en las concentraciones de calcio intracelular); d) purificación de los extractos; e) secuenciación, y f) valoración de la actividad biológica (secreción de GH) del extracto purificado y del sintetizado. Tras este proceso se consiguió, a partir de extractos de estómago, un péptido que tenía 28 aminoácidos y presentaba además la particularidad de estar esterificado en una serina que es imprescindible para su actividad biológica. A este péptido se le llamó ghrelin (del protoindoeuropeo *ghre = growth*). Estudios posteriores revelaron la existencia de un único gen que codificaba este

Correspondencia: Dr. C. Diéguez.  
Facultad de Medicina.  
San Francisco, s/n. 15700 Santiago de Compostela.  
Correo electrónico: fscadigo@usc.es

Manuscrito recibido el 27-11-2000; aceptado para su publicación el 5-2-2001.

péptido, así como de otro idéntico pero con un aminoácido menos en posición 14, llamado des-ghrelin, que conservan la misma actividad biológica como liberadores de GH<sup>12</sup>.

Aunque dada su reciente caracterización se dispone de muy pocos datos en relación con estos péptidos, sí se ha visto que son potentes liberadores de GH, tanto en humanos como en ratas tras su administración intravenosa<sup>13-15</sup>. Al igual que otros GHS, la administración de ghrelin da lugar a una ligera elevación de las concentraciones de prolactina y de hormona adrenocorticotropa (ACTH) y cortisol. Dado que este péptido se produce en gran cantidad en estómago, de donde pasa al torrente sanguíneo, se ha postulado la existencia de un eje estómago-hipotálamo-GH. Sin embargo, el hecho de que el ghrelin también se sintetice en otros tejidos, como el hipotálamo, la placenta, el testículo, las células alfa-pancreáticas o las células del sistema inmunitario, deja abierta la posibilidad de que la neuroregulación de la GH tenga lugar a expensas de otras fuentes de ghrelin. De todas formas, la fuente principal es el estómago dado que en pacientes gastrectomizados se observa una reducción de las concentraciones circulantes de ghrelin del orden del 65%. Además, las concentraciones hipotálamicas de ghrelin parecen ser muy bajas, y no puede descartarse la existencia de un segundo ligando endógeno que sintetizado en el hipotálamo active, a escala central, el receptor de GHS. En cualquier caso, la expresión de ghrelin estomacal, además de sus acciones endocrinas, regula funciones gastrointestinales como la secreción de gastrina, la secreción gástrica ácida, la secreción proteica pancreática, la amilasa, etc. De la misma forma, la expresión de ghrelin en placenta posiblemente esté más relacionada con la regulación de la unidad fetoplacentaria que con acciones a nivel general de tipo endocrino, mientras que el ghrelin sintetizado por el testículo parece regular la síntesis de testosterona<sup>16-17</sup>.

En cualquier caso, y como es habitual con la mayoría de estos péptidos, las acciones del ghrelin y de los GHS en general no están limitadas a una única acción biológica como puede ser la regulación de la secreción de GH<sup>18</sup>. A este respecto, se ha visto que la administración intracerebroventricular de ghrelin induce un incremento dependiente de la dosis en la ingestión y el peso corporal<sup>18</sup>. Dado que, antes del aislamiento del ghrelin, ya se conocía que la administración central de una serie de péptidos sintéticos que activan el receptor de los secretagogos de GH inducía un incremento en la ingestión en animales de experimentación, el hecho de que la administración central de ghrelin induzca un efecto orexigénico era bastante esperable.

Lo que sí ha resultado sorprendente, y de gran interés, es el hallazgo de que la administración periférica de ghrelin durante 2 semanas induce un cambio en la composición corporal con un incremento en masa adiposa sin cambios en masa magra, masa ósea y cre-

cimiento longitudinal. Estos datos son aún más interesantes habida cuenta de que en este modelo experimental de administración periférica de ghrelin el incremento en masa adiposa no se asocia a un incremento de la ingestión. Mediante una serie de experimentos de gran elegancia, valoración de cocientes respiratorios, gasto energético, etc., se encontró que la administración de ghrelin inducía un balance energético positivo asociado a un incremento en la utilización de hidratos de carbono y una disminución de la utilización de grasa, sin cambios en el gasto energético o en la actividad locomotora<sup>19</sup>. Aunque el mecanismo de acción del ghrelin sobre la ingesta no se ha caracterizado con detalle, se ha visto que la administración de ghrelin da lugar a un incremento en c-fos en los núcleos arcuato, paraventricular, dorsomedial, núcleo del tracto solitario y área postrema. Además se ha observado que su administración da lugar a un incremento en las concentraciones de una serie de neuropéptidos involucrados en la ingesta como son orexina, MCH, AgRP, NPY o CRH. Aunque se postuló que el efecto orexigénico de ghrelin era mediado por NPY, dado que la administración de antagonistas de este último bloqueaba su efecto, el hecho de que en ratones *knock-out* de NPY el efecto de ghrelin sobre la ingestión no se altere hace que todavía no haya un modelo de mecanismo de acción unánimemente aceptado. Esto indica que el ghrelin está involucrado en el control de la ingesta y adiposidad. Dada la disponibilidad de análogos sintéticos del ghrelin, activos por vía oral, así como el diseño de antagonistas selectivos actualmente en fase de experimentación, existe la posibilidad de su utilización clínica en el abordaje de una serie de trastornos alimentarios. Estos mismos efectos del ghrelin y, presumiblemente, los diferentes GHS en fase de investigación clínica obligan a que su utilización terapéutica en entidades clínicas asociadas a déficit de GH (p. ej., envejecimiento) deba ir acompañada de una valoración adecuada de sus efectos sobre composición corporal, adiposidad, etc.

Por último, es conocido que los GHS intervienen en la regulación de diferentes funciones homeostáticas, como la regulación del sueño, la función cardíaca y gastrointestinal, etc.<sup>20</sup>. A este respecto, se ha observado que el ghrelin incrementa la temperatura corporal, produce vasodilatación, disminuye la presión arterial y aumenta el índice cardíaco. Es de esperar en fechas próximas la respuesta a una serie de preguntas que el descubrimiento de este péptido obliga a plantear como la repercusión clínica de alteraciones en el gen del ghrelin, el desarrollo de un nuevo modelo fisiológico de la regulación de GH que tenga en cuenta a este péptido, además de los clásicos GHRH y somatostatina, el desarrollo de nuevos agonistas y antagonistas, la clarificación de si existen otros receptores además del ya clonado que medien sus efectos, etc.

En resumen, el descubrimiento del ghrelin ha estado lleno de sorpresas. Cuando se postuló su existencia sólo una pequeña porción de la comunidad científica la creyó. Tras la clonación del receptor de GHS, muchos investigadores postularon la existencia de un ligando endógeno en el hipotálamo. Sorprendentemente, su principal lugar de síntesis, a nivel cuantitativo, es el estómago y se secuenció a partir de extractos estomacales. Cuando se esperaba que fuese un péptido convencional, se encontró que estaba esterificado y que esto era esencial para su actividad biológica. Por tanto, no es descartable que surjan nuevos e impredecibles hallazgos en relación con estos péptidos.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA. On the *in vitro* and *in vivo* activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology* 1984;114:1537-45.
2. Korbonits M, Grossman AB. Growth hormone-releasing peptide and its analogues: novel stimuli to growth hormone release. *Trends Endocrinol Metab* 1995;6:43-9.
3. Ghigo E, Arvat E, Muccioli G, Camanni F. Growth hormone-releasing peptides. *Eur J Endocrinol* 1997;136:445-60.
4. Casanueva FF, Diéguez C. Growth hormone secretagogues: physiological role and clinical utility. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:30-8.
5. Peñalva A, Carballo A, Pombo M, Casanueva FF, Diéguez C. Effect of Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH), atropine, pyridostigmine and insulin-induced hypoglycemia on GHRP-6 induced-GH secretion in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:168-71.
6. Pombo M, Barreiro J, Peñalva A, Casanueva FF, Diéguez C. Plasma growth hormone response to growth hormone releasing hexapeptide (GHRP-6) in children with short stature. *Acta Paediatr* 1995;84:904-8.
7. Popovic V, Leal A, Micic D, Koppeschaar HPF, Torres E, Paramo C, et al. GH-releasing hormone with GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults. *Lancet* 2000;356:1137-42.
8. Pombo M, Barreiro J, Peñalva A, Diéguez C, Casanueva FF. 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 stalk transection. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3180-4.
9. Popovic V, Damjanovic S, Micic D, Djurovic M, Diéguez C, Casanueva FF. Blocked growth hormone-releasing peptide (GHRP-6)-induced GH secretion and absence of the synergic action of GHRP-6 plus GH-releasing hormone in patients with hypothalamo-pituitary disconnection: evidence that GHRP-6 main action is exerted at the hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:942-7.
10. Smith RG, Van der Ploeg LHT, Howard AD, Feigner SD, Cheng K, Hickey GJ, et al. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocrine Rev* 1997;18:621-45.
11. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-60.
12. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand of the growth hormone secretagogue-receptor. *J Biol Chem* 2000;275:21995-2000.
13. Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Diéguez C, et al. Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 2000;23:493-5.
14. Seoane LM, Tovar S, Baldelli R, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF, et al. Ghrelin elicits a marked stimulatory effect on GH secretion in freely-moving rats. *Eur J Endocrinol* 2000;143:7-9.
15. Peinó R, Baldelli R, Rodríguez-García J, Rodríguez-Segade J, Kojima M, Kangawa K, et al. Ghrelin-induced GH secretion in humans. *Eur J Endocrinol* 2000;143:11-4.
16. Gualillo O, Caminos E, Blanco M, García-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, et al. Ghrelin, a novel placenta derived hormone. *Endocrinology* 2001;142:788-94.
17. Tena-Sempere M, Barreiro ML, González LC, Gaytan F, Zhang FP, Caminos JE, et al. Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 2002;143:717-25.
18. Diéguez C, Casanueva FF. Ghrelin: a step forward in the understanding of somatotroph cell function and growth regulation. *Eur J Endocrinol* 2000;142:413-7.
19. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000;407:908-13.
20. Ghigo E, Boghen M, Casanueva FF, Diéguez C. Growth hormone secretagogues. Amsterdam: Elsevier, 1999; p. 1-325.