

## Implicaciones clínico-diagnósticas del péptido ghrelin

L. Soriano Guillén, V. Barrios y J. Argente

Servicio de Endocrinología y Laboratorio de Investigación, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Universidad Autónoma de Madrid.

### INTRODUCCIÓN

La síntesis de unas moléculas capaces de estimular la liberación de la hormona de crecimiento (GH)<sup>1</sup> tras su unión a un receptor localizado fundamentalmente en la hipófisis, y denominado por esta característica receptor de secretagogos de GH (GHS-R)<sup>2</sup>, llevó al aislamiento en 1999 del ligando natural de este receptor, denominado ghrelin. La etimología de esta palabra deriva del prefijo "ghre", que significa crecimiento, mientras que el sufijo "relin" se aplica a moléculas capaces de liberar otras sustancias.

El ghrelin es un péptido de 28 aminoácidos que está acilado en un resto de serina por un ácido octanoico, siendo observada esta modificación por primera vez en los mamíferos. Esta característica le confiere una propiedad especial a esta molécula de naturaleza peptídica, ya que este resto altamente hidrofóbico, le permite atravesar la barrera hematoencefálica y unirse al subtipo 1a del GHS-R, estimulando la liberación de GH, mientras que la variante no acilada de ghrelin, que presenta mayores concentraciones en plasma se une al subtipo 1b del GHS-R. En el momento actual, se desconoce el significado fisiológico, tanto de esta variante de ghrelin, como del GHS-R 1b, que se encuentra ampliamente distribuido por el organismo<sup>4</sup>.

La síntesis de este péptido se produce preferentemente en el aparato digestivo y, fundamentalmente, en el estómago, donde las células productoras de ghrelin forman entre un 20-30% de todas las células endocrinas de la mucosa oxíntica<sup>4</sup>. Este hecho, descrito mediante técnicas inmunohistoquímicas, se corroboró en pacientes gastrectomizados, en los cuales los niveles plasmáticos de ghrelin disminuyen entre un 50-77%<sup>5</sup>. El resto de órganos, que contribuyen en un menor grado, es diverso, destacando el intestino, hipófisis, hipotálamo, páncreas y riñón, entre otros<sup>4</sup>.

Tras su acción liberadora de GH, se han ido describiendo nuevas funciones endocrinas y no endocrinas<sup>6,7</sup>. Entre sus acciones endocrinas cabe destacar sus efectos en el metabolismo y la regulación de la ingesta<sup>8</sup>, la esti-

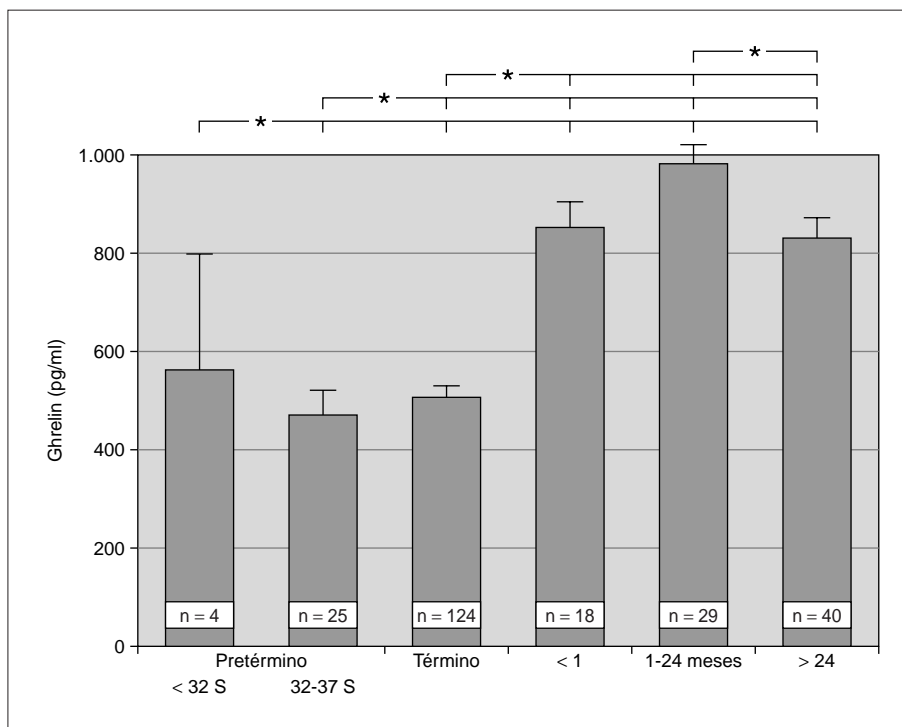
mulación de la liberación de prolactina y ACTH<sup>9</sup>, su probable conexión con el metabolismo hidrocarbonado y el páncreas endocrino<sup>10</sup>, inhibición de la esteroidogénesis y pulsatilidad de LH<sup>11,12</sup>, así como una posible regulación de los niveles plasmáticos de ghrelin por parte de las hormonas tiroideas<sup>13</sup>. Además, el péptido ghrelin presenta diversas acciones no endocrinas como el estímulo de la secreción ácida y la motilidad intestinal<sup>14</sup>, la disminución de las resistencias vasculares periféricas<sup>15</sup>, la inhibición de la proliferación celular de ciertas neoplasias<sup>16</sup> y su posible implicación en la regulación del sueño<sup>17</sup>.

Por lo tanto, el descubrimiento de este péptido ha planteado numerosas preguntas sobre su posible relación con patologías del crecimiento, trastornos nutricionales, tales como la anorexia nerviosa y la obesidad, y alteraciones graves del metabolismo hidrocarbonado, como la diabetes mellitus. Con el objeto de desvelar algunos de los mecanismos fisiopatológicos en los que pueda estar implicado este nuevo péptido, hemos investigado los niveles de ghrelin en las patologías anteriormente indicadas. No obstante, como paso previo a este estudio, hemos realizado la determinación plasmática de los valores de normalidad de esta molécula a lo largo del desarrollo, ya que es una premisa para el análisis de situaciones patológicas. Además este estudio, no solamente nos permite analizar sus posibles alteraciones en las patologías mencionadas, sino que nos aporta datos de suma importancia sobre la fisiología de este péptido, tanto en la vida intrauterina como extrauterina.

### INTERÉS CLÍNICO

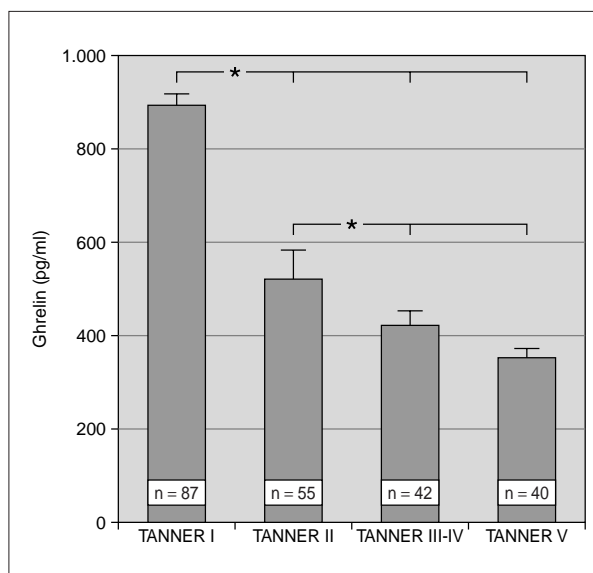
La determinación de las concentraciones plasmáticas de ghrelin en sangre de cordón, nos ha permitido detectar su presencia a las 30 semanas de gestación, sin existir diferencias significativas entre sus niveles en niños prematuros y recién nacidos a término<sup>18</sup> (fig. 1). Este péptido presenta una correlación negativa con datos antropométricos tales como el índice de masa corporal (IMC)<sup>19</sup> y el índice ponderal<sup>18</sup>. Sin embargo, esta relación no es evidente en

**Figura 1.** Niveles plasmáticos de ghrelina en recién nacidos prematuros de menos de 32 semanas, entre 32 y 37 semanas, recién nacidos a término y niños en estadio puberal Tanner I menores de un mes, entre 1 y 24 meses y, mayores de 24 meses (\* $p < 0,01$ ; ANOVA). Modificada de Soriano-Guillén et al, *J Pediatr* 2004;144:30-5.



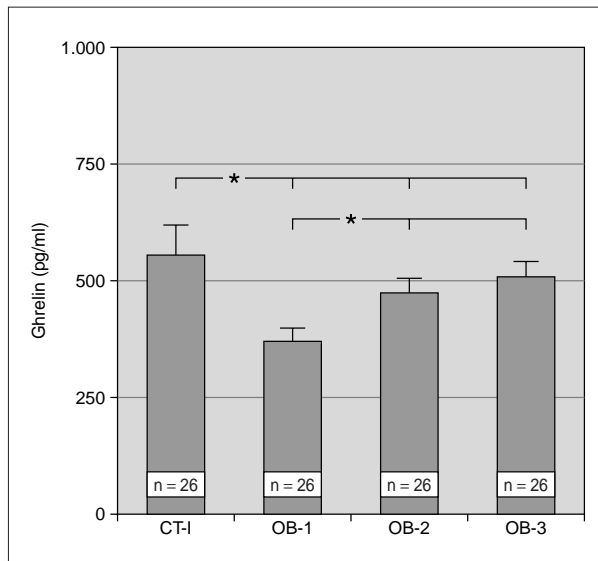
los recién nacidos prematuros, donde los retrasos de crecimiento intrauterinos no presentan tasas más elevadas de ghrelina, como ocurre en los recién nacidos a término. Estos resultados parecen indicar que el péptido ghrelina adquiere sus funciones relacionadas con la nutrición y el metabolismo al final de la gestación, momento en el que el feto es capaz de deglutir y es independiente de la placenta materna. Por otro lado, la presencia temprana de ghrelina en el feto y su distribución en numerosos tejidos embrionarios, tales como placenta, estómago, pulmón y páncreas, sugiere un papel trófico y morfogenético de este péptido localmente. Sus acciones endocrinas o tróficas pueden estar en relación con el subtipo de receptor expresado en el tejido, por lo que sería de gran interés el estudio del subtipo de receptor con mayor expresión en la vida fetal, ya que el predominio de la acción endocrina y metabólica de ghrelina se relaciona con el incremento de la expresión del receptor 1a en el hipotálamo y la hipófisis en el último periodo de la gestación.

En el periodo neonatal existen dos hechos críticos. En efecto, por una parte, el inicio de la alimentación independiente de la placenta materna y, por otra, el aumento de la liberación de GH. Por ello, es menester valorar las tasas plasmáticas de ghrelina en este periodo de la vida. Nuestros resultados muestran un aumento significativo de los niveles plasmáticos de este péptido en el periodo neonatal comparados con las tasas presentes en sangre de cordón (fig. 1), lo que sugiere su probable implicación en la estimulación del apetito y en el aumento de la liberación de GH<sup>18</sup>.

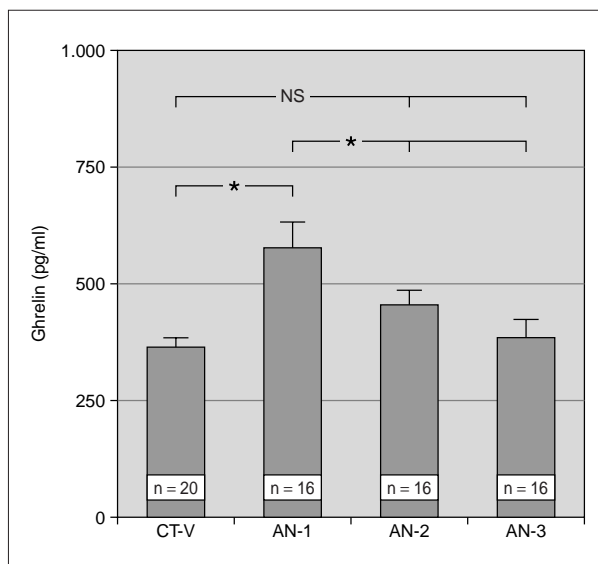


**Figura 2.** Niveles plasmáticos de ghrelina a lo largo del desarrollo (\* $p < 0,01$ ; ANOVA). Modificada de Soriano-Guillén et al, *J Pediatr* 2004;144:30-5.

Los niveles de ghrelina aumentan durante los dos primeros años de vida, disminuyendo progresivamente a lo largo del desarrollo, para presentar las tasas más bajas en el estadio puberal Tanner V (fig. 2). Estos datos parecen indicar que ghrelina participa en el control del metabolismo y en la liberación de hormona de crecimiento, ya que se encuentra incrementado en una etapa de la vida de



**Figura 3.** Niveles plasmáticos de ghrelina en niños obesos al diagnóstico (OB-1), tras pérdida de un 25% (OB-2) y de un 50% (OB-3) del IMC en DE respecto a un grupo control de niños en estadio puberal Tanner I (CT-I) (\* $p < 0,01$ ; ANOVA). Modificada de Soriano-Guillén et al, *J Pediatr* 2004; 144:36-42.



**Figura 4.** Niveles plasmáticos de ghrelina en adolescentes anoréxicas al diagnóstico (AN-1), tras recuperación de un 25% (AN-2) y de un 50% (AN-3) del IMC en DE respecto a un grupo control en estadio puberal Tanner V (CT-V) (\* $p < 0,01$ ; ANOVA). Modificado de Soriano-Guillén et al, *J Pediatr* 2004; 144:36-42.

crecimiento elevado y ganancia ponderal importante, mientras que, al final de la pubertad, donde el crecimiento y la ganancia de peso son claramente inferiores, sus niveles disminuyen considerablemente. Este patrón descen-

dente de ghrelina a lo largo del desarrollo, junto a su efecto inhibitorio de la esteroidogénesis y la pulsatilidad de LH, plantea su posible implicación en la pubertad, como un factor permisivo; sin embargo, el péptido ghrelina no presenta dimorfismo sexual, lo que sugiere una ausencia de control por las hormonas sexuales<sup>18</sup>. Por lo tanto, son necesarios más estudios, tanto básicos como clínicos, para esclarecer la posible participación de dicho péptido en la pubertad.

Este péptido se ha relacionado de forma casi inmediata a su descubrimiento con la regulación de la ingesta y el metabolismo. Datos de nuestro grupo indican que los niños obesos presentan una disminución significativa de los niveles de ghrelina en respuesta a un balance energético positivo (fig. 3)<sup>20</sup>, mientras que las pacientes con anorexia nerviosa presentan unas tasas elevadas en respuesta a un balance energético negativo (fig. 4)<sup>20</sup>. En este sentido, hay que reseñar que los sujetos obesos, a pesar de normalizar el peso, presentan niveles disminuidos de ghrelina, mientras que las pacientes con anorexia nerviosa, normalizan rápidamente sus tasas plasmáticas, de forma paralela a la recuperación ponderal. Estos datos indican que este péptido parece ser un mejor marcador del estado nutricional en situaciones de malnutrición por defecto<sup>20</sup>.

El análisis de la interrelación de este péptido con parámetros antropométricos, indica que desde el periodo neonatal existe una correlación negativa con el índice ponderal en recién nacidos a término, que se mantiene durante toda la infancia, ya que el IMC se correlaciona de un modo similar con los niveles plasmáticos de este péptido. Este hecho sugiere una función de ghrelina en la regulación del metabolismo y de la nutrición, de tal manera que este péptido mediante señales periféricas, tales como el peso o la grasa total actúe en el hipotálamo regulando la ingesta y la adipogénesis<sup>18</sup>. Esta relación inversa entre ghrelina e IMC en niños y adolescentes sanos, no se aprecia en sujetos obesos y anoréxicos, indicando que otros factores pueden modular los niveles de este péptido<sup>20</sup>. Sin embargo, en los pacientes diabéticos estudiados dicha correlación se mantiene tanto al diagnóstico como tras terapia sustitutiva con insulina. Debido a que estos pacientes presentan con relativa frecuencia cierto grado de malnutrición y disminución del IMC al diagnóstico, esta relación negativa entre IMC y ghrelina sugiere nuevamente una función defensiva de este péptido, y probablemente, en estos pacientes los factores que regulen la síntesis y/o liberación de ghrelina sean diferentes a los que puedan estar presentes en sujetos con anorexia y obesidad<sup>21</sup>.

Aunque el hecho inicialmente descrito fue su acción positiva sobre la liberación de GH<sup>6,7</sup>, se desconoce la influencia de este péptido sobre su secreción en trastornos nutricionales, existiendo asimismo datos controvertidos en los pacientes con déficit de GH. Los individuos obesos presentan una hiposecreción de GH. Por tanto, las varia-

ciones en las concentraciones séricas de ghrelin observadas en estos sujetos podrían explicar parcialmente este trastorno en la secreción de GH, ya que ghrelin disminuye de forma paralela con la secreción de esta hormona. Otros datos que apoyan esta teoría es la existencia de dos patrones de secreción de GH en las adolescentes anoréxicas, asociadas a diferentes niveles plasmáticos de ghrelin, aunque no encontremos diferencias significativas, probablemente por el escaso número de casos estudiados. La anorexia nerviosa es una enfermedad heterogénea en relación a su etiología, fisiopatología y cambios en los neuropéptidos del sistema nervioso central; sin embargo, pensamos que ghrelin puede contribuir a la generación de estos dos patrones de secreción. Además, el grupo de adolescentes anoréxicas con un patrón de secreción hipersecretor tiene peor pronóstico psiquiátrico debido a un mayor número de ingresos y más episodios purgativos, que influyen claramente en los niveles plasmáticos de ghrelin. Por el contrario, los individuos diabéticos mal controlados presentan un cierto grado de resistencia a la GH, y frecuentemente se observa una hipersecreción de GH. Este patrón de GH no parece deberse a los bajos niveles de ghrelin, ya que tras insulino-terapia, la resistencia a la GH y los niveles elevados de dicha hormona se corrigen, mientras que ghrelin permanece por debajo de los niveles normales. Asimismo, si analizamos los niveles plasmáticos de ghrelin en los pacientes con síndrome de Prader Willi, que generalmente se asocia con talla baja y una secreción normal o disminuida de GH, observamos unas tasas séricas de ghrelin elevadísimas, que añaden aún más confusión a la posible interrelación entre los niveles plasmáticos de ghrelin y la secreción de GH<sup>22,23</sup>.

De una forma similar a ghrelin, la IGFBP-1 disminuye a lo largo de la infancia y la adolescencia y es muy sensible al estado nutricional, de tal manera que cambia tras la ingesta a lo largo del día. El principal regulador de la expresión hepática de IGFBP-1 es la insulina, y ésta, tras la ingesta, se eleva e inhibe la secreción de esta proteína transportadora. Asimismo, al igual que ghrelin, la IGFBP-1 se encuentra elevada en los sujetos con retraso de crecimiento intrauterino (RCIU), pudiéndose interpretar como un mecanismo defensivo que intenta ahorrar energía elevando IGFBP-1, y así, inhibir la acción del IGF-I. Cuando analizamos la posible relación de ghrelin con los componentes del eje periférico de la GH, destaca la correlación positiva entre los niveles plasmáticos de ghrelin e IGFBP-1 desde la etapa fetal a la adolescencia, así como en los niños obesos y las adolescentes anoréxicas tras normalización ponderal y, en los pacientes diabéticos tras iniciar la insulino-terapia. Todos estos datos sugieren una posible relación entre ghrelin e IGFBP-1, aunque el mecanismo por el que ghrelin influye sobre IGFBP-1, o *vice-versa*, se desconoce. Por lo tanto, son necesarios estudios básicos que aclaren dicha relación<sup>18,20,21</sup>.

La relación entre el péptido ghrelin y el metabolismo hidrocarbonado ha sido ampliamente estudiada; sin embargo, la relación real entre ghrelin y el páncreas endocrino, aún se desconoce<sup>10</sup>. Con el objetivo de conocer la relación de ghrelin con el metabolismo hidrocarbonado hemos estudiado en un grupo de niños diagnosticados de diabetes mellitus tipo 1 los cambios de este péptido tras la administración de insulina. En este estudio longitudinal hemos observado que los niveles de ghrelin están disminuidos en los niños diabéticos al diagnóstico y se mantienen bajos a pesar del tratamiento con insulina (datos no mostrados). Otro hallazgo de interés es la relación inversa entre los niveles de ghrelin y la glucemia durante la infancia y adolescencia, sin observarse en ningún momento correlación entre ghrelin y los niveles basales de insulina<sup>18</sup>. Además, tras instaurar tratamiento con insulina en los pacientes diabéticos, se recupera dicha correlación, sugiriendo que ghrelin presenta una importante relación con la glucemia, que pudiera ser independiente de la insulina<sup>21</sup>. Asimismo, en niños obesos, la administración de glucosa por vía oral produce un descenso significativo en las concentraciones plasmáticas de ghrelin, hecho que precede al aumento de insulina (datos no mostrados). Por lo tanto, consideramos que los niveles plasmáticos de ghrelin pueden estar influidos por la glucemia, de tal manera que en situaciones de hiperglucemia, como en la diabetes mellitus tipo 1, el organismo disminuiría los niveles de dicho péptido como un mecanismo defensivo<sup>18,21,22</sup>.

Dada la implicación de ghrelin en el metabolismo y la nutrición, desde un principio se ha investigado su posible interrelación con la leptina, ya que parecen desempeñar acciones contrapuestas en el control de estas funciones; no obstante, en ninguno de los grupos estudiados por nosotros existe relación entre los niveles plasmáticos de ambos factores<sup>18,20,21</sup>. Por otro lado, mientras que en los individuos obesos los niveles de leptina tienden a normalizarse con la pérdida de peso, los niveles de ghrelin permanecen disminuidos en todo momento. Por el contrario, en las niñas anoréxicas el péptido ghrelin se normaliza tras la recuperación ponderal, mientras que la leptina permanece disminuida<sup>20</sup>. Además, del estudio de ambas hormonas en pacientes diabéticos al diagnóstico y tras la administración de insulina, parece desprenderse que la leptina puede estar regulada positivamente por la insulina exógena, elevándose independientemente del estadio nutricional, mientras que los niveles plasmáticos de ghrelin no se modifican por la administración exógena de insulina, lo que sugiere que ambas hormonas están reguladas de forma diferente<sup>21</sup>. Datos recientes demuestran que los sujetos con deficiencia de leptina y mutaciones en su receptor<sup>23</sup>, presentan niveles normales de ghrelin, sugiriendo que los niveles de leptina no son un factor determinante de las concentraciones de ghrelin.

Todos estos datos parecen indicar que las concentraciones plasmáticas de ambas hormonas son aparentemente independientes y que ghrelina puede ser un mejor indicador del estado nutricional, especialmente en situaciones de malnutrición por defecto<sup>22</sup>.

## POTENCIAL FUTURO

En el momento actual existe una gran cantidad de estudios referentes a ghrelina; sin embargo, al igual que ocurrió con el descubrimiento de leptina, aún son escasas las posibles aplicaciones en la clínica. Su posible aplicabilidad futura depende principalmente de su implicación en la secreción de GH y de su participación en el control del metabolismo. En nuestra opinión, las aplicaciones más relevantes pueden ser las siguientes:

– El péptido ghrelina podría ser un buen marcador del estado nutricional en pacientes con anorexia nerviosa, debido a su rápida recuperación tras ganancia ponderal.

– La cuantificación de las tasas plasmáticas de ghrelina en los recién nacidos con RCIU podría ser de un gran interés clínico, así como su seguimiento tanto en niños que normalizan peso y talla, como en aquellos que no logran un crecimiento recuperador.

– Dada la relación de ghrelina con la estimulación del apetito, se ha planteado la posibilidad de inhibir esta acción en el tratamiento de la obesidad, si bien se desconocen aún las repercusiones sobre las otras acciones de este péptido.

Finalmente, se abren enormes perspectivas en la implicación de ghrelina en diferentes situaciones de gran interés clínico, tales como el déficit de hormona de crecimiento, la enfermedad celíaca, la obesidad de origen hipotalámico en pacientes intervenidos de craneofaringioma y con síndrome de Prader Willi, patología puberal, enfermedades tiroideas e hiperinsulinismos. Asimismo, de especial relevancia será el análisis molecular del gen de ghrelina para conocer los polimorfismos existentes en la población sana, así como sus posibles mutaciones en pacientes con patología nutricional y talla baja idiopática.

## CONCLUSIÓN

En resumen, ghrelina es un péptido secretado en etapas precoces de la vida, mostrando cambios a lo largo del desarrollo, relacionados aparentemente con sus acciones sobre el crecimiento y el metabolismo. Asimismo, es un buen marcador del estado nutricional, debido a los cambios opuestos que presenta en dos modelos contrapuestos de malnutrición. Este péptido se relaciona directamente con los niveles de glucemia en sujetos sanos y diabéticos. Además, existe una posible relación con el eje periférico de GH a través de la interacción entre ghrelina e IGFBP-1 a lo largo del desarrollo y en diversas situa-

ciones patológicas. Por lo tanto, existen amplias expectativas en la investigación de la fisiología y fisiopatología de este péptido, así como sobre sus posibles aplicaciones como parámetro clínico.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K. Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinology* 1980;106:663-7.
2. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberdor PA, Rosenblum CI et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996;273:974-7.
3. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelina is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-60.
4. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelina and subtypes of its receptor, GHS-R in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2988-91.
5. Cummings DE, Weigle DS, Frayo R, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ. Plasma ghrelina levels after diet induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Eng J Med* 2002;346:1623-30.
6. Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli C, Dieguez C et al. Preliminary evidence that ghrelina, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 2000;23:493-5.
7. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A et al. Ghrelina strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4908-11.
8. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Heiman M, Tschöp M. Minireview: ghrelina and the regulation of energy balance. A hypothalamic perspective. *Endocrinology* 2001;142:4163-9.
9. Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodam F, Destefanis S et al. The endocrine response to ghrelina as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1537-42.
10. Broglio F, Gottero C, Benso A, Prodam F, Volante M, Destefanis S et al. Ghrelina and the endocrine pancreas. *Endocrine* 2003;22:19-24.
11. Tena-Sempere M, Barreiro ML, González LC, Gaytan F, Zhang FP, Caminos JE et al. Novel expression and functional role of ghrelina in rat testis. *Endocrinology* 2002;143:717-25.
12. Furuta M, Funabashi T, Kimura F. Intracerebroventricular administration of ghrelina rapidly suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:780-5.
13. Riis AL, Hansen TK, Moller N, Weeke J, Jorgensen JO. Hyperthyroidism is associated with suppressed circulating ghrelina levels. *J Clin End Metab* 2003;88:853-7.
14. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z et al. Ghrelina stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:905-8.
15. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Ikeda Y, Yoshihara F, Shimizu W et al. Chronic administration of ghrelina improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 2001;104:1430-5.
16. Ghe C, Cassoni P, Catapano F, Marrocco T, Deghenghi R, Ghigo E et al. The antiproliferative effect of synthetic peptide1 GH

- secretagogues in human CALU-1 lung carcinoma cells. *Endocrinology* 2002;143:484-91.
17. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K et al. Ghrelin promotes slow-wave sep in humans. *Am J Physiol* 2003;284:E407-415.
  18. Soriano-Guillén L, Barrios V, Chowen JA, Sánchez J, Vila S, Quero J et al. Ghrelin changes from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine, metabolic and anthropometric parameters. *J Pediatr* 2004;144:30-5.
  19. Chanoine JP, Yeung LP, Wong AC, Birmingham CL. Immunoreactive ghrelin in human cord blood: relation to anthropometry, leptin and growth hormone. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;35:282-6.
  20. Soriano-Guillén L, Barrios V, Campos-Barros A, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: Effect of weight reduction or recuperation. *J Pediatr* 2004;144:36-42.
  21. Soriano-Guillén L, Barrios V, Lechuga-Sancho A, Chowen J, Argente J. Response of circulating ghrelin levels to insulin therapy in children with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Res* 2004;55:1-6.
  22. Soriano Guillén L. Implicaciones clínico-diagnósticas del péptido ghrelin en la infancia. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma. Madrid 2003.
  23. Cummings DE, Clement K, Purnell JO, Vaisse C, Foster KE, Frayo RS et al. Elevated plasma ghrelin levels in Prader-Willi syndrome. *Nat Med* 2002;8:643-4.