

Anorexia nerviosa: Avances

M.T. Muñoz y J. Argente

Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Servicio de Endocrinología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Universidad Autónoma. Madrid. España.

INTRODUCCIÓN

La anorexia nerviosa (AN) es una enfermedad psicopatológica que se caracteriza por una pérdida ponderal inducida y mantenida por el propio paciente, que le conduce a una malnutrición progresiva y rasgos psicopatológicos peculiares (distorsión de la imagen corporal y miedo a la obesidad)¹.

La prevalencia de trastornos de la conducta alimentaria (TCA) entre adolescentes y adultos jóvenes en un estudio reciente realizado en nuestro país en población femenina entre 12 y 21 años, es del 0,3% en AN, del 0,8% en bulimia nerviosa (BN) y del 3,1% en TCA no especificados; en suma, el 4,1% de la población española estudiada padece algún tipo de TCA². La AN tienen importantes repercusiones sobre múltiples órganos y sistemas (cardiovascular, gastrointestinal, hematológico y renal, entre otros). Estas alteraciones son producidas por múltiples causas y su desarrollo es consecuencia de la interacción de distintos factores inespecíficos: genéticos, perinatales, genéricos, de personalidad y familiares, entre otros; con otros específicos, llamados factores dietéticos, responsables de las decisiones voluntarias de perder peso. En las pacientes con AN se han descrito un gran número de anomalías endocrinológicas y metabólicas, entre las que se incluyen: amenorrea-oligomenorrea, retraso puberal, hipotiroidismo, hipercortisolismo, alteraciones en el eje de la hormona de crecimiento (GH) y del metabolismo óseo, entre otras.

PÉPTIDOS REGULADORES DEL APETITO

El hipotálamo es un órgano clave en el control del metabolismo energético. Por una parte, es responsable de la sensación de hambre y saciedad y, por tanto, del ingreso energético; y por otra parte, mediante la modulación del sistema nervioso simpático, interviene en la termogénesis adaptativa y, por tanto, en el gasto energético, siendo ambas funciones controladas por diferentes neuropéptidos³. Se han identificado numerosas sustancias, sintetizadas en diferentes partes del organismo, que actúan como señales aferentes sobre estos centros nerviosos, modificando en sentido positivo o negativo el apetito y el gasto energético.

La regulación del balance energético a largo plazo se realiza mediante un sistema constituido por hormonas segregadas en proporción a la adiposidad corporal, como la leptina y la insulina, que actuarían sobre el SNC. Éste a su vez responde a los cambios en la grasa corporal, activando la vía anabólica o catabólica. La primera, mediante la producción de NPY que estimula la ingestión de alimentos, y la segunda a través del sistema de la melanocortina hipotalámica (α -MSH), lo que reduce y produce pérdida de peso⁴ (fig. 1).

La leptina es una hormona sintetizada por el tejido adiposo que desempeña un papel clave en la regulación de la ingesta y del gasto energético. Los mecanismos fisiopatológicos últimos que regulan las acciones de esta hormona se desconocen; si bien, numerosos estudios demuestran que su principal órgano diana es el hipotálamo⁵. Los efectos hipotalámicos de la leptina serían una disminución del apetito con la consecuente pérdida de peso y activación del eje gonadal por aumento de la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). También existen datos que indican una acción directa de la leptina sobre los tejidos periféricos al reducir la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, y aumentar la oxidación lipídica, lo que a su vez podría explicar la mejoría que genera ésta en la homeostasis de la glucosa.

La ghrelina, aislada inicialmente en el estómago, se ha detectado en el hipotálamo y en la hipófisis, y estimula la liberación de GH, así como de otras hormonas hipofisarias⁶. Por otra parte, está implicada en la homeostasis energética a través de una regulación hipotalámica, habiéndose descrito un aumento de la ingesta tras su administración, y demostrarse que la inyección intracerebroventricular de la misma incrementa la expresión de este neuropéptido⁶. Otros datos que apoyan la implicación de esta molécula en los trastornos nutricionales son el aumento de sus niveles plasmáticos en pacientes con anorexia nerviosa y su decremento en sujetos obesos⁷.

El neuropéptido Y (NPY), es un neurotransmisor cerebral distribuido por el SNC que actúa como estimulador central del comportamiento alimentario. Su mecanismo principal de acción es opuesto al de la leptina, incrementando la ingesta y disminuyendo la termogénesis⁸. Ejerce

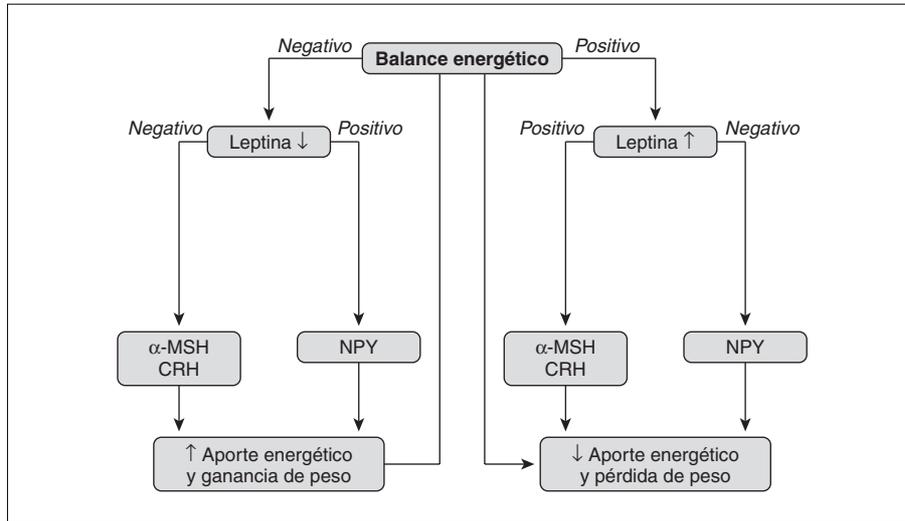


Figura 1. Modelo teórico de regulación del balance energético.

su acción a través de diferentes receptores (Y1 a Y5), siendo el RNPYY1 y el RNPYY5 los más selectivos para estimular la ingesta⁸.

El sistema de la serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) posee una función integral en el control del apetito, en el comportamiento social (control de impulsos), así como en la respuesta al estrés. Partiendo de la aparente implicación de la disfunción serotoninérgica en la AN, diferentes autores han detectado en una población de pacientes afectas de AN la existencia de un polimorfismo en el alelo 1438A (1438 G/A) en la región del promotor que codifica el gen del receptor 5-HT2A⁹. Sin embargo, otros autores no confirman esta asociación. Nacmias et al. encuentran una asociación significativa en la presencia del alelo 1438 A en pacientes con AN restrictiva, hecho que no se asociaba en AN purgativas y bulimias¹⁰.

EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-GONADAL

Las pacientes con AN presentan un hipogonadismo hipogonadotropo aislado, de origen hipotalámico. Cuando el cuadro clínico se instaura antes o durante la pubertad, ésta se caracteriza por una falta de inicio o una detención en la progresión, y de un estirón puberal tardío y de menor magnitud¹¹. Si la enfermedad se presenta cuando el desarrollo puberal ha finalizado, se traduce clínicamente por amenorrea secundaria. La malnutrición que presentan estas pacientes puede producir un retraso en el inicio de la pubertad y una disminución del ritmo de crecimiento, lo que se ha interpretado como un mecanismo de adaptación a la escasez de nutrientes.

El hipogonadismo hipogonadotropo que presentan estas pacientes puede ser debido a distintos factores: la disfunción hipotalámica, la pérdida de peso, las alteraciones de los esteroides sexuales, de los neurotransmisores, de la melatonina y de la leptina y, el ejercicio físico, entre otros. Las mujeres con AN tienen niveles basales dis-

minuídos de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículoestimulante (FSH), así como niveles bajos de estradiol, indicando una alteración de la función hipotálamo-hipófiso-ovárica¹¹. La recuperación del peso se acompaña, en general, de un incremento de los niveles de ambas gonadotrofinas. Estudios de la secreción espontánea de LH durante 24 horas en pacientes con AN han observado una disminución de la frecuencia y de la amplitud de los pulsos de dicha actividad secretoria. Tras la recuperación de peso en estas pacientes, se produce un incremento de la secreción de gonadotrofinas; por tanto, la malnutrición podría ser uno de los factores implicados en la alteración de esa actividad secretoria¹².

Se han descrito alteraciones en el sistema de los neurotransmisores, fundamentalmente del sistema dopaminérgico como de los opioides endógenos en las pacientes afectas de AN, ambos péptidos involucrados en la regulación de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotrofinas (GnRH)¹³. Aún permanece sin clarificar si la alteración de los neurotransmisores es un trastorno primario o secundario a la malnutrición.

La leptina interviene también en la regulación del desarrollo gonadal y en el de la función reproductora, describiéndose receptores para la leptina en la adenohipófisis y en las gónadas, aunque la significación biológica de estas acciones constituyen actualmente objeto de investigación¹⁴. Todo ello ha sugerido que la leptina, podría regular además la secreción hipotalámica de GnRH, y desempeñaría una función relevante en el inicio y mantenimiento de la función gonadal en la especie humana¹⁵. En los sujetos con depósitos grasos escasos, como es el caso de las bailarinas o los corredores de maratón, entre otros, son frecuentes los trastornos de la función reproductora y el hallazgo de niveles séricos disminuídos de esteroides sexuales. Un fenómeno similar de involución del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal se produce en las

pacientes con anorexia nerviosa tras la pérdida de los depósitos grasos, como consecuencia de la restricción voluntaria de la ingesta de nutrientes. Se ha especulado en ambos casos que estos trastornos en la función gonadal podrían estar relacionados con la disminución de los niveles séricos de leptina que se producen como resultado de la pérdida de tejido adiposo¹⁶. En contra de esta hipótesis está el hallazgo observado por nuestro grupo en las pacientes con AN, en donde la recuperación ponderal parcial, no se acompaña, al menos de forma simultánea, de un incremento significativo de los niveles de leptina ni tampoco de una recuperación de la función gonadal; si bien, es posible que para ello se requiera un tiempo más prolongado de recuperación ponderal¹⁷.

Existe una asociación clara entre niveles de melatonina y función gonadal en humanos, observándose niveles nocturnos elevados de melatonina en las mujeres con amenorrea hipotalámica. Diferentes estudios realizados en pacientes con AN¹⁸, observan niveles nocturnos elevados de 6-sulfatoximelatonina (principal metabolito excretado por la orina), tanto al diagnóstico de la enfermedad como tras la recuperación de peso, estando las pacientes en las dos situaciones en amenorrea. Esto podría ser debido a una insuficiente ganancia ponderal o a la necesidad de un período más largo de recuperación de peso.

Se ha demostrado en pacientes con AN, que cuando recuperaban el 90% de peso adecuado a su talla recuperaban la menstruación dentro de los 6 meses siguientes. Se puede deducir entonces, que uno de los factores decisivos para la normalización de la función gonadal es la recuperación del estado nutricional¹⁹.

EJE DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO

Aunque los estudios disponibles son en ocasiones contradictorios, la mayoría de ellos indican que un porcentaje importante de las pacientes con AN presenta niveles de GH basales y tras estímulo con GHRH elevados^{20,21}. Los estudios que han analizado la secreción espontánea de GH (SEGH) en pacientes con AN son relativamente escasos. Argente et al²², estudiaron la SEGH en un grupo de pacientes anoréxicas, en el momento del diagnóstico y en dos momentos diferentes de la recuperación ponderal, y encontraron que estas pacientes tienen, en el momento del diagnóstico, una SEGH heterogénea. Los niveles medios de GH en 24 horas fueron en el 40% superiores a 3 ng/mL (límite bajo de su rango de normalidad) y en el 60% restante inferiores. Las diferencias entre ambos grupos respecto al control eran el resultado de modificaciones en la amplitud de los picos de secreción, pero no de su frecuencia. En ambos grupos, la recuperación ponderal parcial, al menos un 10% de su peso inicial, significó la normalización de los parámetros de SEGH. El patrón de GH observado en estas pacientes, unido a la existencia de una correlación negativa entre la secreción basal y

pulsátil de GH con el IMC, sugiere que las alteraciones en la secreción de GH observadas en la AN estarían en relación directa con la malnutrición.

Los niveles séricos de la proteína transportadora de GH (GHBP) en las pacientes con AN se encuentran muy disminuidos, reflejando, posiblemente, una disminución en el número de receptores somatotóxicos de la GH. Los niveles séricos de GHBP tienden a normalizarse con la recuperación ponderal²³. La reducción de los receptores de GH sería, probablemente, uno de los principales mecanismos de resistencia a la GH. Las causas que determinan la reducción de los niveles de GHBP no son bien conocidas, pero los hallazgos son concordantes con los observados en otras formas de malnutrición²⁴. Se ha sugerido que la hipoinsulinemia o las alteraciones en la función tiroidea o el hipoestrogenismo que acompañan a la malnutrición²⁵ podrían estar relacionadas con estos bajos niveles de GHBP. Por otro lado, numerosos estudios han demostrado la correlación que existe entre los niveles séricos de GHBP y el IMC, el porcentaje de grasa corporal y, más concretamente, con la cantidad de grasa visceral²⁶; dado que, no está demostrado que la GHBP circulante proceda única o preferencialmente de los receptores hepáticos de GH, es posible que otros tejidos, como el adiposo, puedan contribuir a determinar sus niveles plasmáticos. Si esto fuera así, la grave reducción del tejido adiposo que presenta las pacientes con AN podría reducir las concentraciones séricas de GHBP. En este mismo sentido, se ha sugerido que, dado que las pacientes con AN presentan una marcada disminución de los niveles séricos de leptina y una excelente correlación entre estos y los niveles plasmáticos de GHBP²⁷, serían los cambios en los niveles séricos de leptina la señal fisiológica que induciría las modificaciones que el estado nutricional determina en la expresión de la GHBP/receptor de GH²⁸.

Las pacientes con AN presentan una marcada reducción en los niveles séricos de IGF-I, que tienden a normalizarse tras la recuperación ponderal²⁹; no obstante, el tiempo necesario para ello, al igual que ocurre en otras formas de malnutrición, como la enfermedad celíaca, puede ser muy prolongado³⁰. La IGF-I es una proteína dependiente de GH pero muy sensible a los cambios nutricionales. En estas pacientes, los niveles séricos de IGF-I no se correlacionan con la secreción de GH²¹, lo que sugiere que en la AN la disminución de IGF-I es independiente de la GH (resistencia a la GH) y dependiente de la malnutrición. La coexistencia de niveles reducidos de IGF-I y normales o elevados de GH, indicaría la existencia de una resistencia a la acción de la GH en la malnutrición en general y, en la AN en particular. Los datos disponibles respecto a los niveles séricos de IGF-I libre son escasos y contradictorios; así, mientras que unos autores los encuentran normales, otros los encuentran disminuidos^{22,31}; si bien, en ambos casos, la recuperación ponderal tiende a incrementarlos.

Las pacientes con AN presentan niveles séricos de IGFBP-1 e IGFBP-2 elevados, que tienden a normalizarse con la recuperación ponderal. Tanto una como otra parecen ser independientes de GH y muy sensibles a la regulación nutricional³². El mayor determinante del incremento de IGFBP-1 que se observa en las pacientes con AN es, probablemente, el marcado hipoinsulinismo que presentan; si bien, es probable que otros factores metabólicos u hormonales puedan también estar implicados, entre ellos: el incremento de glucagón y glucocorticoides, que aumentan la producción de IGFBP-1 en sinergismo con los bajos niveles de insulina, y, posiblemente también, la disminución intracelular de glucosa u otros sustratos específicos³³. En la AN, como en otros estados de malnutrición, el incremento de IGFBP-2 parece depender de la asociación de todos estos factores: restricción energético-proteica, hipoinsulinismo y resistencia a la GH.

Los niveles séricos de IGFBP-3 se encuentran disminuidos en las pacientes con AN, como consecuencia de la resistencia a la GH, y tienden a normalizarse tras la recuperación ponderal^{22,31}. Al contrario de lo que ocurre en otras situaciones catabólicas, en la AN no se ha observado un incremento de la proteólisis de la IGFBP-3²².

IGFBP-4 e IGFBP-5 son dos IGFBPs presentes en el suero en concentraciones relativamente bajas pero que son muy importantes en el proceso de formación del hueso, en cuyo microambiente actuarían regulando las acciones de los IGFs³⁴. En la AN los niveles séricos de ambas IGFBPs se encuentran muy reducidos y no se normalizan con la recuperación ponderal parcial³⁴.

El significado biológico de los cambios que sufren las IGFBPs en la AN y en la malnutrición en general es difícil de explicar; entre otros motivos, porque desconocemos en qué medida lo que observamos en el suero ocurre también en los diferentes tejidos periféricos. En cualquier caso, lo que sí sabemos es que la disminución en suero de la IGFBP-3, y por ende del complejo trimolecular IGFBP-3-IGF-ALS, impediría retener a los IGFs en el espacio vascular, favoreciendo la disminución de sus niveles plasmáticos. Por otro lado, el aumento de IGFBP-1 e IGFBP-2, dos proteínas de bajo peso molecular, capaces de atravesar la barrera vascular, facilitaría aún más la salida de los IGFs hacia los tejidos donde, además, podrían modular sus acciones. Se podría decir, entonces que, la modificación de los niveles séricos y tisulares de las IGFBPs es uno de los mecanismos a través de los que la malnutrición regula la concentración y acción de los IGFs y el eje somatotropo.

DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y MARCADORES ÓSEOS

La osteoporosis es otra complicación de la AN encontrándose, aproximadamente, en un 50% de mujeres jóvenes la densidad mineral ósea (DMO) por debajo de 2 desviaciones estándar. A veces es tan grave que facilita la aparición de múltiples fracturas³⁵. Las causas de la pér-

didada de masa ósea en estas pacientes son desconocidas, pero algunos factores, como: la deficiencia de estrógenos, el exceso de glucocorticoides, la malnutrición y la baja ingesta de calcio, podrían estar implicados en la génesis de la osteoporosis.

La obtención de un depósito óptimo de contenido mineral óseo del esqueleto durante la infancia, la adolescencia y la vida adulta, va a depender de la interacción de factores nutricionales, hormonales y de los diferentes estilos de vida. La masa ósea de un sujeto se incrementa con la edad, el peso y la talla³⁵.

El grado de osteopenia dependerá de la edad de comienzo de la amenorrea y de su duración. Las pacientes con amenorrea primaria tienen una osteopenia más severa que las que presentan una amenorrea secundaria. Otros factores como la masa ósea previa al inicio de la enfermedad, factores genéticos y el grado de actividad física de estas pacientes desempeñan un papel importante³⁶. Zipfel et al investigaron la densidad mineral ósea (DMO) en pacientes con AN durante un período de seguimiento de 3,6 años. Las pacientes con AN purgativas no recuperadas mostraban una reducción significativa de la DMO respecto a las pacientes restrictivas. Estos resultados sugieren que las pacientes anoréxicas purgativas tienen mayor riesgo de osteoporosis y podrían necesitar un tratamiento para prevenir la pérdida de masa ósea³⁷. El tipo de AN y el IMC durante la evolución de la enfermedad serían los mejores predictores de la DMO en la región lumbar³⁸.

La administración de estrógenos y gestágenos a adolescentes con disminución de la masa ósea y amenorrea durante un año, no fue capaz de inducir una recuperación significativa de la DMO³⁹. Sin embargo, en las pacientes que eran capaces de recuperar espontáneamente la menstruación, se producía un incremento del 20% en la masa ósea, comparadas con las que continuaban amenorreicas⁴⁰. La razón por la cual los estrógenos son incapaces de incrementar la masa ósea en adolescentes con AN y amenorrea, es desconocida. Podría ser debido al no cumplimiento del tratamiento estrogénico o quizás a la corta duración del tratamiento. Por lo tanto, el tratamiento sólo con estrógenos no es suficiente para la recuperación de la masa ósea.

La leptina desempeña un papel crucial en el metabolismo óseo. De hecho, se conoce que la obesidad es protectora frente a la pérdida ósea y las fracturas osteoporóticas. Diferentes estudios han descrito una relación directa entre los niveles circulantes de leptina y la masa ósea y una reducción de la pérdida ósea inducida por ovariectomía en animales de experimentación tras la administración exógena de leptina⁴¹. Entre sus acciones destaca un efecto directo sobre células bipotenciales de médula ósea estimulando la proliferación y mineralización de osteoblastos e inhibiendo la multiplicación de adipositos y la generación de osteoclastos, siendo un factor de crecimiento para los condrocitos⁴².

No obstante, aunque existen datos escasos y contradictorios con respecto al estudio del remodelado óseo en la AN, la utilización reciente de nuevos péptidos involucrados en estos procesos, tales como marcadores de formación ósea, como la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (FAO), y de resorción ósea, como el telopéptido carboxiterminal de la cadena alfa 1 del colágeno tipo I (CTX), han demostrado una gran especificidad y sensibilidad en la investigación del metabolismo óseo⁴³.

En nuestra experiencia, la investigación de los marcadores de remodelado óseo en un grupo de pacientes con anorexia nerviosa restrictiva y osteoporosis, no ha detectado diferencias significativas entre los niveles de FAO entre el grupo con AN y el grupo control⁴⁴. No obstante, el análisis de los niveles de FAO de estas pacientes individualizadamente muestra tres grupos diferentes de pacientes con niveles altos, medios o bajos de FAO, de acuerdo con su edad. Debe destacarse que el grupo con niveles de FAO por debajo del rango normal es el de las pacientes con menor grado de osteopenia y de descenso en su índice de masa corporal y, sin embargo, las pacientes con mayores valores de FAO presentan el mayor grado de pérdida de hueso. Asimismo, los niveles urinarios de β CTX son mejores marcadores de resorción ósea que los α CTX, y la preponderancia de fragmentos β CTX en orina (al contrario de lo que ocurre en sujetos control en los que predominan los α CTX) indicaría que el hueso existente en estas pacientes es antiguo⁴⁵.

Grinspoon et al demuestran un incremento significativo de la resorción ósea con disminución de la formación ósea en un grupo de pacientes anoréxicas antes de iniciar el tratamiento⁴⁶. Otros autores, en pacientes tanto al diagnóstico como en fase de no recuperación, demuestran una tasa de resorción elevada y de formación ósea normal⁴⁷.

Los factores nutricionales son importantes en el proceso de mineralización, regulando el crecimiento y la mineralización del tejido óseo, y aportando los nutrientes energéticos necesarios para la realización de este proceso. Niveles bajos de IGF-I se observan en situaciones de malnutrición y se correlacionan con el IMC en pacientes con AN, indicando que la malnutrición podría contribuir a la disminución de la masa ósea en adolescentes con AN⁴⁸. Sin embargo, no conocemos todavía bien si estas pacientes podrían beneficiarse de la administración de GH biosintética o IGF-I recombinante. Diferentes estudios han analizado los efectos de IGF-I recombinante humana en la formación ósea en pacientes con AN⁴⁹. La administración de IGF-Ir a dosis de 100 μ g/kg, s.c., por día, durante 6 días, producía un incremento de los marcadores de formación y resorción ósea. Por el contrario, la administración de IGF-I a dosis de 30 μ g/kg, s.c., por día, producía únicamente incremento de la formación ósea⁵⁰.

En las pacientes con AN el mecanismo de pérdida de masa ósea no parece ser un aumento de la resorción fren-

te a la formación con respecto a las chicas controles. Es posible que el incremento de remodelado óseo que se observa sea un mecanismo desarrollado por el organismo tratando de restaurar la masa ósea⁵¹. Sin embargo, el gran déficit de calcio de estas pacientes (la pérdida de aporte exógeno por el déficit alimenticio produce una liberación del calcio óseo con el fin de mantener la homeostasis del fluido extracelular), y el déficit de aminoácidos, debido al estado de ayuno, harían imposible la restauración de la masa ósea⁵².

CONSIDERACIONES FINALES

Existen evidencias que sugieren la existencia de una disfunción hipotalámica en las pacientes con AN. En general, estas alteraciones se normalizan tras la recuperación de peso al tratarse de epifenómenos. En un contexto de escaso aporte de macro y micronutrientes, los procesos que, como el crecimiento, el desarrollo puberal o la reproducción, no son vitales, ya que incrementan el gasto energético-proteico y no son imprescindibles para la supervivencia, no tienen lugar y deben ser relegados hasta que las condiciones nutricionales mejoren.

La pérdida de peso, la duración de la amenorrea, el déficit de estrógenos y los niveles bajos de IGF-I, contribuyen a la pérdida de masa ósea en mujeres con AN con gran riesgo de fracturas. Diferentes estudios demuestran que la administración de estrógenos y gestágenos no mejora la osteopenia en mujeres jóvenes con AN, encontrando una pérdida severa de masa ósea que puede progresar a pesar del tratamiento con estrógenos. La recuperación de peso, el aporte de suplementos de calcio y vitamina D y la realización de un ejercicio físico moderado, son todos ellos elementos prioritarios en el tratamiento de la osteoporosis en estas pacientes.

Una detección precoz junto con la instauración de una terapia psicológica y nutricional apropiadas, conforman las indicaciones más adecuadas para evitar la osteopenia y/o osteoporosis en estas pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV Washington, DC: Amer Psychiatric Association, 1994.
2. Perez-Gaspar M, Gual P, de Irala-Estevez J, Martínez-Gonzalez MA, Lahortiga F, Cervera S. Prevalencia de los trastornos de la conducta alimentaria en los adolescentes navarros. *Medicina Clínica* 2000;114:481-6.
3. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Cerebral neurons system control of food intake. *Nature* 2000;404: 661-71.
4. Kaye WH, Berrettini NH, Gwirstman HE, Gold PW, Jimerson DC, Ebert MH. Contribution of CNS neuropeptide (NPY, CRH, and beta-endorphin) alterations to psychophysiological abnormalities in anorexia nervosa. *Psychopharmacol Bull* 1989;25: 433-8.
5. Rogol AD. Leptin and puberty. *J Clin Endocrinol Metabol* 1998; 83:1089-90.

6. 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.
7. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:240.
8. Gerald C, Walker AW, Criscione L, Gustafson EL, Batzl-Hartman C, Smith KE et al. A receptor subtype involved in neuropeptide-Y induced food intake. *Nature* 1996;382:168-71.
9. Enoch MA, Kaye WH, Rotondo A, Greenberg BD, Murphy DL, Goldman D. 5-HT2A promoter polymorphism -1438 G/A, anorexia nervosa, and obsessive-compulsive disorder. *Lancet* 1998;351:1785-6.
10. Nacmias B, Ricca V, Tedde A, Mezzani B, Rotella CM, Sorbi S. 5-HT2A receptor gene polymorphism in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Neuroscience Letter* 1999;277:134-6.
11. Couzinet B, Young J, Brailly S, Le Buc Y, Chanson P, Schaison G. Functional hypothalamic amenorrhea: a partial and reversible gonadotrophin deficiency of nutritional origin. *Clinical Endocrinology* 1999;50:229-35.
12. Muñoz MT, Morandé G, Argente J. Anomalías en el patrón de secreción de gonadotropinas en las pacientes adolescentes afectadas de anorexia nerviosa. *Endocrinología* 1997;44:248-52.
13. Baranowska B. Are disturbances in opioid and adrenergic systems involved in the hormonal dysfunction of anorexia nervosa? *Psychoneuroendocrinology* 1990;15:371-9.
14. Hileman SM, Pierroz DD, Flier JS. Leptin, nutrition, and reproduction: timing is everything. *J Clin Endocrinol Metabol* 2000;85:804-7.
15. Monteleone P, Di Lieto A, Tortorella A, Longobardi N, Maj M. Circulating leptin in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa or binge-eating disorder: relationship to body weight, eating patterns, psychopathology and endocrine changes. *Psychiatry Res* 2000;15:121-9.
16. Warren MP, Voussoughian F, Geer EB, Hyle EP, Adberg CL, Ramos RH. Functional hypothalamic amenorrhea: hypoleptinemia and disordered eating. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999;84:873-7.
17. Argente J, Barrios V, Chowen JA, Sinha MK, Considine RV. Leptin plasma levels in healthy Spanish children and adolescents with obesity and adolescents with anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Pediatr* 1997;131:833-8.
18. García-Patterson A, Muñoz MT, Puig-Domingo M, Argente J, Webb SM. Urine 6 sulphatoxymelatonin excretion during anorexia nervosa treatment. En: Pannel update: from molecular biology to clinical medicine. Webb S, Puig-Domingo M, Moller M, Pevet P, eds. Westbury New York, USA: PJD Electronic Publications Editorial. 1997;255-62.
19. Golden N, Jacobson MS, Schebendach J, Solanto MV, Hertz SM, Shenker R. Resumption of menses in anorexia nervosa. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997;151:16-21.
20. De Marinis L, Mancini A, Valle D, Bianchi A, Gentilella R, Milardi D, Mascadri C, Giustina A. Effects of galanin on growth hormone and prolactin secretion in anorexia nervosa. *Metabolism*. 2000;49:155-9.
21. Nussbaum MP, Blethen SL, Chasalow FI, Jacobson MS, Shenker IR, Feldman J. Blunted growth hormone responses to clonidine in adolescent girls with early anorexia nervosa. Evidence for an early hypothalamic defect. *J Adolesc Health Care* 1990;11:145-8.
22. Argente J, Caballo N, Barrios V, Muñoz MT, Pozo J, Chowen JA, Morandé G, Hernández M. Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulin-like growth factor axis in patients with anorexia nervosa: effect of short- and long-term weight recuperation. *J Clin Endocrinol Metabol* 1997;82:2084-92.
23. Hochberg Z, Hertz P, Colin V, Ish-Shalom S, Yeshurun D, Youdim MBH, Amit T. The distal axis of growth hormone (GH) in nutritional disorders: GH-binding protein, insulin-like growth factor-I (IGF-I), and IGF-I receptors in obesity and anorexia nervosa. *Metabolism* 1992;41:106-12.
24. Counts DR, Gwirtsman H, Carlsson LMS, Lesem M, Cutler GB Jr. The effect of anorexia nervosa and refeeding on growth hormone-binding protein, the insulin-like growth factors (IGFs), and the IGF-binding proteins. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992;75:762-7.
25. Argente J, Muñoz MT, Pozo J, Barrios V, Buño M, Chowen JA, Hernández M. Growth hormone resistance in anorexia nervosa as a model of malnutrition. *J Endocrinol Invest* 1998;21 24-8.
26. Zamboni G, Duffillot D, Antoniazzi F, Valentini R, Gendrel D, Tato L. Growth hormone binding proteins and insulin-like growth factor-binding proteins in protein-energy malnutrition, before and after nutritional rehabilitation. *Pediatr Res* 1996;39:410-4.
27. Roelen CAM, Koppeschaar HPF, De Vries WR, Snel YEM, Doerga ME, Zelissen PMJ, Thijssen JH, Blankenstein MA. Visceral adipose tissue is associated with circulating high affinity growth hormone binding protein. *J Clin Endocrinol Metabol* 1997;82:760-4.
28. Golden NH, Kreitzer P, Jacobson MS, Chasalow FI, Schebendach J, Freedman SM, Shenker IR. Disturbances in growth hormone secretion and action in adolescents with anorexia nervosa. *J Pediatrics* 1994;125:655-60.
29. Ketelslegers JM, Maiter D, Maes M, Underwood LE, Thissen JP. Nutritional regulation of insulin-like growth factor I. *Metabolism* 1995;44(Suppl 4):50-7.
30. Hernández M, Argente J, Navarro A, Caballo N, Barrios V, Hervás F, Polanco I. Growth in malnutrition related to gastrointestinal diseases: coeliac disease. *Horm Res* 1992;38:79-84.
31. Støving RK, Flyvbjerg A, Frystyc J, Fisker S, Hangaard J, Hansen-nord M, Hagen C. Low serum levels of free and total insulin-like growth factor I (IGF-I) in patients with anorexia nervosa are not associated with increased IGF-binding protein-3 proteolysis. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999;84:1346-50.
32. Straus DS, Hayden JM, Marten NW. Molecular mechanisms for nutritional regulation of genes for IGF-I, IGF-binding proteins and other plasma proteins. En: Baxter RC, Gluckman PD, Rosenfeld RG eds. The insulin-like growth factors and their regulatory proteins. Amsterdam: Elsevier Science BV. 1994; 33-41.
33. Rajaram, S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 1997;18:801-31.
34. Argente J, Barrios V, Chowen JA, Muñoz MT, Pozo J, Hernández M. Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) 4 and 5 levels in patients with anorexia nervosa. *Horm Res* 1997;48(suppl 2):42(A251).
35. Baker D, Roberts R, Towell T. Factors predictive of bone mineral density in eating-disordered women: a longitudinal study. *International Eating Disorders* 2000;27:29-35.
36. Muñoz MT, Argente. Anorexia nervosa in female adolescents: endocrine and bone mineral density abnormalities. *Eur J Endocrinol* 2002;147:275-86.
37. Zipfel S, Seibel MJ, Lowe B, Beumont PJ, Kasperk C, Herzog W. Osteoporosis in eating disorders: a follow-up study of patients with anorexia and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metabol* 2001;86:5227-33.
38. Zipfel S, Lowe B, Reas DL, Deter HC, Herzog W. Long-term prognosis in anorexia nervosa: lessons from a 21-year follow-up study. *Lancet* 2000;355:721.

39. Muñoz MT, Morandé G, García-Centenera JA, Hervás F, Pozo J, Argente J. The effects of estrogen administration on bone mineral density in adolescents with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2002;46:45-50.
40. Klibanski A, Biller BM, Schoenfeld DA, Herzog DB, Saxe VC. The effects of estrogen administration on trabecular bone loss in young women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metabol* 1995;80:898-904.
41. Ogueh O, Sooranna S, Nicolaides KH, Johnson MR. The relationship between leptin concentrations and bone metabolism in the human fetus. *J Clin Endocrinol Metabol* 2000;85:1997-9.
42. Pasco JA, Henry MJ, Kotowicz MA, Collier GR, Ball MJ, Ugoni AM, et al. Serum leptin levels are associated with bone mass in nonobese women. *J Clin Endocrinol Metabol* 2001;86:1884-7.
43. Calero JA, Muñoz MT, Argente J, Traba ML, Méndez-Dávila C, García-Moreno C, de la Piedra C. A variation in bone alkaline phosphatase levels that correlates positively with bone loss and normal levels of aminoterminal propeptide of collagen I in girls with anorexia nervosa. *Clin Chim Acta* 1999;285:121-9.
44. De la Piedra C, Calero JA, Traba ML, Asensio MD, Argente J, Muñoz MT. Urinary and C-Telopeptides of collagen I: Clinical implications in bone remodeling in patients with anorexia nervosa. *Osteopor Intern* 1999;10:480-6.
45. Hartman D, Crisp A, Rooney B, Rackow C, Atkinson R, Patel S. Bone density of women who have recovered from anorexia nervosa. *International J Eat Disord* 2000;28:107-12.
46. Grinspoon S, Baum H, Lee K, Anderson E, Herzog D, Klibanski A. Effects of short-term recombinant human insulin-like growth factor I administration on bone turnover in osteopenic women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metabol* 1996;81:3864-70.
47. Turner JM, Bulsara MK, McDermott BM, Byrne GC, Prince RL, Forbes DA. Predictors of low bone density in young adolescents with anorexia nervosa and other dieting disorders. *Int J Eat Disord* 2001;30:245-51.
48. Hotta M, Fukuda I, Sato K, Hizuka N, Shibasaki T, Takano K. The relationship between bone turnover and body weight, serum insulin-like growth factor (IGF) I, and serum IGF-binding protein levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metabol* 2000;85:200-6.
49. Johansson AG, Rosen CJ. The IGFs as potential therapy for metabolic bone diseases. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. *Principles of bone biology*. San Diego: Academic Press 1996;1099-109.
50. Bianda T, Glatz Y, Bouillon R, Froesch ER, Schmid C. Effects of short-term insulin-like growth factor-I (IGF-I) or growth hormone (GH) treatment on bone metabolism and on production of 1,25-dihydroxycholecalciferol in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metabol* 1998;83:81-7.
51. Soyka LA, Grinspoon S, Levitsky L, Herzog D, Klibanski A. The effect of anorexia nervosa on bone metabolism in female adolescents. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999;84:4489-96.
52. Jagielska G, Wólanczyk T, Komender J, Tomaszewicz-Libudzić C, Przedlacki J, Ostrowski K. Bone mineral content and bone mineral density in adolescent girls with anorexia nervosa: a longitudinal study. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 2001;104:131-7.