



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DEL FACTOR DE
CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO 21, FACTOR SIMILAR A LA
INSULINA 1 Y HORMONA DE CRECIMIENTO EN REPOSO Y
DESPUÉS DE UN PROGRAMA DE EJERCICIO DE 2 SEMANAS EN
MUJERES SANAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

P R E S E N T A :

JUAN ROSAS SAUCEDO



DIRECTOR DE TESIS:

DRA. PALOMA ALMEDA VALDÉS

México D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dra. Paloma Almeda Valdés
Directora de Tesis
Adscrito del departamento de Endocrinología y Metabolismo
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Alfonso Guías Herrero
Jefe de Medicina Interna
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Sergio Ponce de León Rosales
Jefe de Enseñanza
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición Salvador Zubirán



INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
DR. "SALVADOR ZUBIRÁN"
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
México, D.F.

Índice de contenido

Capítulo I.

Introducción	1
Marco teórico	3
Factores de crecimiento fibroblástico	3
Evolución	3
Características estructurales	4
Localización	4
Receptor de FGF	5
FGF con efectos metabólicos	6
FGF21	7
Hormona de crecimiento	10
Síntesis	10
Secreción	11
Acción	13
Factor de crecimiento similar a la insulina 1	14

Capítulo II.

Definición del problema	16
Justificación	17
Hipótesis	18
Objetivo primario	19
Objetivos secundarios	19
Material y métodos	20
Participantes	20
Programa de ejercicio	20
Tamaño de muestra	21
Variables a medir	21
Hormona de crecimiento	21
Factor de crecimiento fibroblástico 21	21
Factor de crecimiento similar a la insulina 1	22
Frecuencia de las mediciones	22
Criterios de éxito y falla	22
Estrategia de análisis estadístico	22

Capítulo III.

Resultados	24
GH, IGF1 y FGF21	24
Correlaciones entre variables estudiadas	25

Capítulo IV.

Discusión	31
Conclusión	34

Referencias	35
-------------	----

Índice de figuras

Figura 1. Correlación entre la delta de FGF21 con los METs consumidos

Figura 2. Correlación entre las deltas de FGF21 y GH

Figura 3. Correlación entre las deltas de FGF21 e IGF1

Índice de tablas

Tabla 1. Comparación de las características clínicas y bioquímicas de las participantes antes y después del programa de actividad física

Tabla 2. Comparación de parámetros clínicos y bioquímicos iniciales estratificados por intensidad de actividad física realizada

Introducción

El factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21) es un miembro de la subfamilia de factores de crecimiento fibroblástico que incluye a FGF19 y FGF23¹⁻³. Se ha demostrado que el FGF21 tiene funciones autócrinas regulando la expresión del receptor activado por proliferadores peroxisomales (PPAR) gamma en el tejido adiposo promoviendo la adipogénesis⁴, así como funciones parácrinas y endócrinas^{5,6}. El FGF21 se sintetiza predominantemente en el hígado como respuesta al ayuno prolongado o dietas cetogénicas a través de PPAR alfa⁵⁻⁷. Nuestro grupo mostró recientemente, que la actividad física prolongada incrementa los niveles circulantes de FGF21⁸. El FGF21 es un activador potente del consumo de glucosa en adipocitos y músculo a través de la vía de Akt y del transportador de glucosa 1 (GLUT1)⁹, estimula la gluconeogénesis, oxidación de ácidos grasos, lipólisis y cetogénesis e inhibe la lipogénesis¹⁰. FGF21 también suprime la vía de señalización de la hormona de crecimiento (GH), inhibiendo así la expresión del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1)¹¹. A pesar de la evidencia existente, el papel de este péptido en los humanos y sus acciones sobre las alteraciones metabólicas siguen siendo materia de mucha discusión¹².

La hormona de crecimiento (GH) regula múltiples procesos fisiológicos que incluyen el crecimiento y metabolismo^{13,14}. De manera similar a FGF21, la secreción de GH se induce por el ayuno prolongado y actividad física; además, ambas hormonas inducen lipólisis y cetogénesis^{5,6,15}. En un estudio en ratones transgénicos, se demostró que FGF21 inhibe la vía de señalización de GH reduciendo su regulador principal, el transductor de señal y activador de transcripción 5 (STAT-5), quien a su vez reduce la expresión de IGF1¹¹.

Los mecanismos completos a través de los cuales FGF21 lleva a cabo sus acciones metabólicas, no han sido elucidados completamente y existe una gran variabilidad inter individual de los niveles de FGF21 en sujetos sanos¹². La elevación modesta de la concentración de FGF21 después de ayuno prolongado, administración de dietas cetogénicas y/o tratamiento con agonistas de PPAR alfa en humanos, en comparación con la respuesta observada en modelos animales, requiere de mayor estudio⁷. Recientemente, se demostró obtener un incremento significativo de la producción hepática de FGF21 posterior a la administración de dosis suprafisiológicas de GH en sujetos sanos. Sin embargo, en pacientes con deficiencia de GH, la hormona de crecimiento no pareció influenciar la producción hepática de FGF21 antes ni después de su reemplazo adecuado¹⁶.

Marco teórico

Factores de crecimiento fibroblástico

Los factores de crecimiento fibroblástico (Fibroblast Growth Factor, FGF) constituyen una gran familia de factores de crecimiento polipeptídicos que se encuentran en muy diversos organismos desde nemátodos hasta vertebrados. Un gen típico de *fgf* contiene tres regiones codificantes, de las cuales el exón 1 contiene al aminoácido metionina, sin embargo algunos *fgf* (*fgf 2* y *fgf 3*) contienen secuencias 5' adicionales que inician con el codón CUG. La localización de los genes *fgf* se encuentra dispersa a través del genoma. En el humano se han identificado 22 genes FGF de los cuales la ubicación genómica de todos a excepción del 16 se conocen. Algunos FGF se encuentran agrupados en regiones específicas del genoma, como ejemplo FGF3, FGF4 y FGF 19 se encuentran en el cromosoma 11q13 y se encuentran separados por únicamente por 40 y 10 kb respectivamente. FGF6 y FGF23 se localizan en 12p13, FGF17 y FGF20 se localizan en 8p21-p22. La localización de estos genes indica que la familia de genes FGF, evolutivamente fue generada tanto por duplicación cromosómica y translocación¹⁷.

Evolución

Los genes *fgf* han sido identificados tanto en organismos invertebrados como en vertebrados. En organismos unicelulares no se han identificado genes que codifiquen para FGF, sin embargo se ha reportado una secuencia semejante al gen *fgf* dentro del genoma del virus polihedrosis nuclear. Entre las especies que expresan FGF, la mayoría de estas proteínas se encuentran conservadas y

comparten cerca del 90% de identidad en sus secuencias de aminoácidos. Con base en esta homología, los FGF en organismos vertebrados han sido clasificados en varios subgrupos o subfamilias. Los miembros dentro de un subgrupo o subfamilia comparten mayor semejanza en sus secuencias, así como propiedades bioquímicas, y origen evolutivo semejante. Los miembros de cada subfamilia no comparten necesariamente cercanía física dentro de la misma región genómica, este hecho sugiere que las subfamilias fueron generadas por mecanismos como translocación y duplicación genómica, no por duplicación local¹⁷.

Características estructurales

En vertebrados, el peso molecular de las FGF se encuentra entre 17 a 34 kDa. La mayoría de los FGF comparten un núcleo interno semejante de 28 aminoácidos conservados y 6 residuos de aminoácidos idénticos; 10 de estos aminoácidos interactúan con el receptor de FGF (FGFR). Los estudios estructurales identifican 12 estructuras en forma de láminas beta antiparalelas en la región nuclear conservada. Las laminas beta 10 y 11 contienen varios residuos de aminoácidos básicos que forman el sitio de unión con heparina¹⁷.

Localización

Los FGF 3-8, 10, 15, 17-19, y 21-23, poseen péptidos señal en la región amino-terminal que indican que son proteínas secretadas por las células. Los FGF 9, 16 y 20 carecen de péptido señal y por tanto no son secretados. FGF 1 y 2 carecen de péptido señal y no son secretados, en cambio se encuentran localizados insertos en la superficie celular y en la matriz extracelular, siendo liberados de las células por mecanismos independientes al retículo endoplásmico.

Los FGF 11-14 comprenden un grupo distinto, estos carecen de péptido señal y se considera que permanecen en el interior celular, se considera por tanto que no interactúan con el FGFR y que funcionan de forma independiente de receptor en el interior celular. Los 22 miembros de la familia de FGF se expresan de forma diferente en la mayoría de los tejidos, sin embargo la secuencia y patrones de expresión varía considerablemente. Las subfamilias de FGF tienden a poseer patrones semejantes de expresión, aunque cada FGF parece tener sitios únicos de expresión. Algunos son de expresión única durante el desarrollo embrionario y otros se expresan tanto en el desarrollo embrionario como en el tejido adulto. Lo anterior sugiere que los FGF funcionan en fases importantes durante el desarrollo embrionario. La señalización a través de los FGF es direccional y recíproca a través de los límites epitelio-mesénquima. La integridad de estas vías de señalización requiere la regulación precisa de los FGF y la expresión de sus receptores¹⁸.

Receptor de FGF

El receptor de FGF (FGFR) es un receptor tipo tirosina cinasa, contiene 2 a 3 dominios de inmunoglobulina y una secuencia de unión a heparina. A través de proceso de splicing alternativo del mRNA del FGFR se especifica la secuencia del extremo carboxilo terminal del dominio III de inmunoglobulina, esto da resultado a las isoformas la IIIb y IIIc del FGFR. El splicing alternativo está regulado de manera tejido específica y afecta importantemente la especificidad de la interacción ligando-receptor. El exón IIIb se expresa preferentemente en células epiteliales y el exón IIIc preferentemente en células mesenquimatosas. Los

ligandos específicos de estas dos formas alternativas se expresan en tejidos adyacentes entre sí, esto da como resultado una señalización direccional entre células epitelio-mesenquimatosas selectiva. Otra característica en la biología de FGF involucra la interacción entre los péptidos FGF con la heparina así como proteoglicanos ricos en heparán sulfato, como resultado de estas interacciones los FGF se estabilizan frente a la desnaturalización por calor y proteólisis, asimismo evita que su difusión o que sean vertidos al espacio intersticial. La interacción de FGF con los residuos de heparina es necesaria para que ocurran los efectos biológicos y permite además la formación de dímeros u oligómeros. Evidencia experimental demuestra que células que carecen de la maquinaria enzimática para producir proteoglicanos ricos en heparán sulfato, o células tratadas con enzimas que degradan estos complejos, son ineficientes para activar el FGFR.

FGF con efectos metabólicos

De entre los 22 integrantes de la familia FGF, recientemente se han hallado tres moléculas que poseen actividad metabólica y que cumplen con las características para ser considerados hormonas, estos son:

1. FGF19 (equivalente a FGF 15 en ratones): se expresa en el epitelio intestinal, regula la biosíntesis de ácidos biliares y la adipogénesis.
2. FGF23: regula la homeostasis del calcio y del fósforo, controlando la fosfaturia y la síntesis de vitamina D.
3. FGF21: es la molécula descrita más recientemente, se expresa en hígado y posee efectos metabólicos como incremento en la captación de glucosa por los adipocitos, incremento del gasto energético e induce pérdida de peso,

reducción en los niveles de glucosa y triglicéridos en ratones obesos y en chimpancés con diabetes, y finalmente promoción de la oxidación de ácidos grasos e incremento en la formación de cuerpos cetónicos¹².

Estos tres miembros de la familia FGF pertenecen a una subfamilia conocida como familia FGF19, debido a que poseen características comunes: la expresión de estas moléculas requiere la interacción de factores nucleares específicos, a saber: FXR, 1-25(OH)₂ Vitamina D, y PPAR- α , con RXR para permitir la transcripción de FGF19, FGF23 y FGF21 respectivamente. Otro aspecto en común es la ausencia de dominios que interactúan con residuos de heparán sulfato, y que sus receptores carecen de residuos de heparán sulfato y requieren de interactuar con un coreceptor conocido como β -Klotho; la interacción con este coreceptor da especificidad a la unión FGF-FGFR.

FGF21

Nishimura en el año 2000, reportó el aislamiento del cDNA de una molécula de la familia FGF designada como FGF21 (fue el FGF número 21 descrito), compuesta por 209 aminoácidos y cuyo principal sitio de expresión es el hígado, músculo esquelético y células β pancreáticas. Se localiza en el cromosoma 19, cercano al sitio que ocupa el gen de la fucosiltransferasa humana, posee considerable homología (75%) con su análogo murino¹⁹. En el año 2005, Kharitononkov mostró que en ratones con diabetes, FGF21 mejoraba los niveles de glucemia, insulina y triglicéridos; la sobreexpresión transgénica en ratones resultó en un fenotipo esbelto y sensible a la insulina³. Los estudios de Badman e Inagaki colocaron a FGF21 como una hormona importante en el periodo

intermedio (horas) de adaptación al ayuno e inducido por el factor de transcripción PPAR- α (blanco farmacológico de los fibratos, fármacos cuya actividad es disminuir los niveles de triglicéridos). Reportan que el ayuno o los agonistas PPAR- α incrementan los niveles de mRNA de FGF21 cerca de 25 veces el nivel basal. Por el contrario, los ratones PPAR- α $-/-$, mostraron niveles disminuidos de mRNA de FGF21, así como ausencia de respuesta a los agonistas PPAR- α y respuesta disminuida al ayuno^{5,6}.

Los efectos metabólicos descritos de FGF21 son:

1. Efectos sobre el metabolismo de la glucosa: la administración de FGF21 se asoció con una reducción significativa de los niveles de glucosa sanguíneos, efecto que fue aditivo con el de insulina. En cultivos de adipocitos y células 3T3-L1, la administración de FGF21 tuvo un efecto dosis-dependiente en estimular la captación de glucosa. Este incremento en la captación de glucosa parece ser específico para los adipocitos, ya que este hallazgo no se repitió en otras líneas celulares como fibroblastos, pre-adipocitos, mioblastos e hígado. Estudios in vivo han mostrado que el FGF21 regula la expresión del transportador GLUT 1 específicamente en tejido adiposo; tras 4 horas de la administración de FGF21, el incremento en la expresión del mRNA del GLUT1 se asoció con una mayor expresión del transportador en la membrana celular de los adipocitos, este efecto no se halló en otros tejidos como músculo, hígado, riñón y cerebro. A diferencia del efecto de la insulina sobre la captación de glucosa que ocurre en segundo a minutos de su administración, el efecto de FGF21 requiere de horas. Se ha estudiado el efecto de FGF21 sobre la función de las células β

pancreáticas en el modelo murino de diabetes, con la aplicación de FGF21 se observó incremento en el contenido de insulina así como secreción de insulina estimulada por glucosa.

2. Efecto en el metabolismo lipídico: Se ha observado un incremento en la síntesis hepática de FGF 21 tras la estimulación con agonistas farmacológicos de PPAR- α en ratones, y tras la administración de fibratos en humanos. La expresión hepática de FGF21 en ratones en ayuno se activa a través del receptor PPAR- α , y esta respuesta se encuentra ausente en ratones transgénicos que carecen de PPAR- α . El resultado es el incremento en la síntesis de enzimas involucradas en el metabolismo de ácidos grasos y en la síntesis de acetil-CoA. En condiciones de ayuno prolongado, el producto final del metabolismo de la acetil-CoA es la producción de cuerpos cetónicos. Mediante técnicas de RNAi se redujo la expresión de FGF21 en ratones, esto produjo como resultado un incremento considerable en los niveles de triglicéridos e incremento en el contenido graso del hígado a pesar de que recibían una dieta cetogénica. Estos efectos se asociaron con disminución en la expresión de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintetasa 2 (HMGCS2) y del carnitina palmitoiltransferasa 1a (CPT1a).
3. Efecto en el metabolismo del ácido úrico: estudios en voluntarios sanos han mostrados que la activación de PPAR- α incrementa la excreción de ácido úrico. De acuerdo con lo anterior, el fenofibrato (agonista PPAR- α) disminuye las concentraciones de ácido úrico.
4. Efecto del ejercicio físico sobre FGF21: el estudio realizado por Cuevas-

Ramos y cols. en una población de individuos con síndrome metabólico comparado contra individuos sanos, encontró que la actividad física diaria tiene una asociación positiva con los niveles de FGF21; esta asociación se sugiere es explicada debido a que el ejercicio físico estimula la lipólisis, con la consecuente liberación de ácidos grasos libres que activan a PPAR- α que a su vez estimula la secreción de FGF21⁸.

FGF21 se ha encontrado elevado en pacientes con obesidad y se encuentra progresivamente elevado conforme los pacientes presentan componentes del síndrome metabólico. Se ha planteado la posibilidad de que la expresión de FGF21 en estas circunstancias constituya un mecanismo de defensa en el cual en presencia de concentraciones elevadas de ácidos grasos (elementos centrales en la fisiopatología de la resistencia a la insulina) al actuar como ligandos PPAR- α , FGF21 estimula la oxidación de estos ácidos grasos con el objetivo final de evitar la lipotoxicidad en tejido hepático, muscular y pancreático.

Hormona de crecimiento

Síntesis

La hormona del crecimiento (GH) es la hormona más abundante de la hipófisis anterior constituyendo hasta el 50% de la población celular total de esta porción de la glándula. El desarrollo somatotrofo y la transcripción de GH dependen de la expresión del factor de transcripción nuclear *Pit-1* específico de la célula. Cinco genes distintos codifican a la GH y otras proteínas relacionadas, y todo el grupo se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 17 en las bandas q22-24. El gen GH hipofisario (human Growth Hormone-Normal, *hGH-N*)

produce dos cortes distintos que generan una GH de 22 kDa (191 aminoácidos) y otra menos abundante, de 20 kDa, con actividad biológica similar. Las otras proteínas relacionadas a GH codificadas en estos genes incluyen a la human Growth Hormone-Variant (hGH-V), human Chorionic Somatotropin-Like (hCS-L), hCS-A y hCS-B todas ellas expresadas en los trofoblastos placentarios únicamente^{20,21}.

Secreción

La secreción de GH es regulada por factores hipotalámicos y periféricos complejos. La GHRH es un péptido hipotalámico de 44 aminoácidos que estimula la síntesis y la liberación de GH. La ghrelina, un péptido derivado de la mucosa gástrica, induce a la GHRH y también estimula directamente la liberación de GH. La somatostatina [factor inhibidor de liberación de somatotropina (SRIF, *somatotropin-release inhibiting factor*)] se sintetiza en el área preóptica medial del hipotálamo e inhibe la secreción de GH.

La secreción de GHRH se hace en picos separados que provocan la liberación pulsátil de GH, mientras que la SRIF establece el tono basal de GH. La SRIF también se expresa en muchos tejidos extrahipotalámicos como el sistema nervioso central, aparato digestivo y páncreas, donde actúa asimismo inhibiendo la secreción hormonal de los islotes. El IGF1, la hormona periférica blanco de la GH, provoca inhibición por retroalimentación; los estrógenos inducen la secreción de GH, mientras que el exceso de glucocorticoides inhibe su liberación.

Los receptores de superficie situados sobre las células somatotrofas regulan la síntesis y la secreción de GH. El receptor de GHRH es un receptor

acoplado a la proteína G que efectúa su función de señalización a través del AMP cíclico. La activación de este receptor estimula la proliferación de las células somatotróficas así como también la producción de la hormona. En el hipotálamo y la hipófisis se expresa un receptor definido para la ghrelina. La somatostatina se une a cinco subtipos distintos de receptor (SSTR1 a SSTR5); los subtipos SSTR2 a SSTR5 suprimen de manera preferencial la secreción de la GH (y de TSH).

La secreción de GH es pulsátil y las concentraciones máximas se alcanzan por la noche, por lo general al comienzo del sueño. La secreción de GH disminuye con la edad, de manera que su producción durante la madurez equivale aproximadamente a 15% de la que existe en la pubertad.

Estos cambios son paralelos a la disminución de la masa muscular magra relacionada con la edad. La secreción de GH es también menor en las personas obesas, aunque la concentración de IGF1 se conserva, lo que indica un cambio del punto de ajuste para el control por retroalimentación. En la hora siguiente al comienzo del sueño profundo y también después del ejercicio, el estrés físico, los traumatismos y durante la septicemia, la concentración de GH asciende. La secreción total de GH en 24 h es mayor en las mujeres y aumenta con la administración de estrógenos. Con los análisis utilizados en la práctica clínica habitual, las mediciones aleatorias de GH no consiguen detectarla en casi 50% de las muestras tomadas durante el día en personas sanas y es indetectable en la mayor parte de individuos obesos y de edad avanzada. Por tanto, las mediciones únicas al azar de GH no permiten distinguir entre los pacientes con deficiencia de GH y las personas sanas.

La secreción de GH depende en gran medida de factores relacionados con

la nutrición. Con los nuevos análisis ultrasensibles de quimioluminiscencia, puede demostrarse que una carga excesiva de glucosa inhibe la secreción de GH. En la desnutrición crónica y el ayuno prolongado, aumentan la frecuencia de las pulsaciones y la amplitud de los valores máximos. La L-arginina, dopamina, apomorfina (un agonista del receptor de dopamina) y las vías adrenérgicas alfa, estimulan la secreción de GH. El bloqueo adrenérgico beta induce la liberación basal de GH y potencia su liberación por acción de la GHRH y la insulina.

Acción

El patrón de secreción de GH puede afectar las reacciones de los tejidos. La mayor pulsatilidad de la hormona observada en los varones en comparación con la secreción relativamente continua de las mujeres podría ser un determinante biológico importante del crecimiento lineal y de la inducción de enzimas hepáticas.

El receptor de la GH se clonó inicialmente de cDNA hepático y es una proteína de 70 kDa que tiene homologías estructurales con la superfamilia citocina/hematopoyética²². El hígado y el cartílago son los órganos con mayor número de receptores de GH. La unión de GH a dímeros preformados de receptores es seguida de la rotación interna y de señales por la vía de JAK/STAT. Las proteínas STAT activadas translocan al núcleo, donde modulan la expresión de los genes blanco regulados por la GH. Los análogos de GH que se unen al receptor pero que no pueden mediar el envío de señales desde el mismo, son antagonistas potentes de la acción de GH²¹.

La GH induce la síntesis proteínica y la retención de nitrógeno y altera la tolerancia a la glucosa, antagonizando la acción de la insulina. También estimula

la lipólisis a través del incremento de la concentración de ácidos grasos circulantes, reduciendo la grasa visceral y favoreciendo la producción de masa corporal magra. La hormona estimula la retención de sodio, potasio y agua, y eleva la concentración sérica de fosfato inorgánico. El crecimiento lineal del hueso se debe a complejas acciones hormonales de los factores de crecimiento, como IGF1.

Factor de crecimiento similar a la insulina 1

Aunque la GH ejerce efectos directos en los tejidos efectores, muchas de sus acciones fisiológicas se llevan a cabo de forma indirecta a través de IGF1, un potente factor de crecimiento y diferenciación. El gen para la codificación de IGF1 se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 12 en la banda q23.2 y se expresa de manera predominante en el hígado. En los tejidos periféricos, IGF1 posee acciones parácrinas locales tanto dependientes como independientes de GH. Por esta razón, la administración de GH induce la aparición de IGF1 circulante y también estimula la producción local de IGF1 en diversos tejidos²¹.

Tanto el IGF1 como IGF2 se unen con gran afinidad a las proteínas transportadoras de IGF (IGFBP, *IGF-binding proteins*) que regulan la actividad biológica de IGF. La concentración de IGFBP3 depende de la GH y esta proteína actúa como transportador principal del IGF1 circulante. La deficiencia de GH y la desnutrición se acompañan de bajas concentraciones de IGFBP3. La IGFBP1 y la IGFBP2 regulan la acción local de los IGF en los tejidos, pero no se unen en cantidad apreciable al IGF1 circulante²³.

Las concentraciones séricas de IGF1 dependen en gran medida de distintos

factores fisiológicos. Sus niveles aumentan durante la pubertad hasta alcanzar valores máximos a los 16 años, para después declinar en más de 80% durante el proceso de envejecimiento. Las concentraciones de IGF1 son más altas en las mujeres que en los varones. Como la GH es el determinante principal de la síntesis hepática de IGF1, las alteraciones de su síntesis o de su acción provocan el descenso de la concentración de IGF1. Los estados hipocalóricos se relacionan con resistencia a la GH y sus concentraciones son bajas en la caquexia, desnutrición y septicemia. En la acromegalia, la concentración de IGF1 es siempre alta y refleja una relación logarítmica lineal con las concentraciones de GH²¹.

Recientemente se ha propuesto al ejercicio como un factor estimulador para la producción de IGF1, y se ha logrado observar un aumento en sus concentraciones séricas después de periodos largos de entrenamiento, sin embargo no se ha podido demostrar de manera consistente un incremento en su concentración sérica después de realizar ejercicio de manera aguda y subaguda.

Definición del problema

En un estudio previo realizado en mujeres sanas la realización de ejercicio se asoció con incremento de los niveles de FGF21. Se ha descrito que la realización de ejercicio es uno de los principales estímulos para la producción de GH. Por otra parte, el efecto descrito de la realización de ejercicio en las concentraciones de IGF1 no ha sido consistente. Finalmente, se desconoce si el incremento en las concentraciones de FGF21 observadas tras la realización de ejercicio tiene correlación con GH e IGF1.

Justificación

Recientemente se ha demostrado la secreción de FGF21 inducida por ejercicio, molécula que parece funcionar como ahorradora de energía a través de la disminución de la actividad de los procesos que la consumen, como lo es el crecimiento. Por este motivo es necesario relevante continuar el estudio de los mecanismos por los que actúa. En este sentido, la interacción que tiene FGF21 tanto con GH como con IGF1, proporcionará información novedosa en cuanto al mecanismo de acción de este factor.

Hipótesis

El incremento en la concentración de FGF21 después de un programa de actividad física intensa se correlacionará positivamente con la concentración de GH y negativamente con la de IGF1 en mujeres sanas.

Objetivo primario

1. Correlacionar los niveles séricos de GH con los niveles séricos de FGF-21 en mujeres sanas sedentarias antes y después de un programa de actividad física intensa.
 - a. Basalmente (antes del programa de actividad física)
 - b. Después de un programa de actividad física intensa (al concluir el programa de dos semanas)
2. Correlacionar los niveles séricos de IGF1 con los niveles séricos de FGF-21 en mujeres sanas sedentarias antes y después de un programa de actividad física intensa

Objetivos secundarios

1. Evaluar el cambio en los niveles séricos de GH en mujeres sanas sedentarias antes y después de un programa de actividad física intensa.
2. Evaluar el cambio en los niveles séricos de IGF1 en mujeres sanas sedentarias antes y después de un programa de actividad física intensa.

Material y métodos

Participantes

El grupo de estudio estuvo conformado por 60 mujeres sedentarias, sanas, entre 18 y 35 años de edad con un índice de masa corporal $<30 \text{ kg/m}^2$. Se decidió incluir únicamente mujeres debido al menor riesgo cardiovascular y para evitarla variabilidad de los niveles de GH e IGF1 inherentes al género. El estilo de vida sedentario se definió como la ausencia de actividad física regular de intensidad moderada a vigorosa en los 6 meses previos. Se excluyeron sujetos con síndrome metabólico, diabetes, dislipidemia, hipertensión, asma y enfermedad tiroidea. Otros criterios de exclusión incluyeron el uso de fibratos, agonistas o bloqueadores beta o historia personal de arritmias, soplos cardiacos, cardiomegalia o tratamiento para enfermedad cardiovascular, así como contraindicaciones para realizar ejercicio.

Programa de ejercicio

El programa de ejercicio se llevó a cabo en el departamento de Cardiología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Se utilizó el protocolo de Bruce en banda sinfín 5 veces a la semana durante dos semanas. El protocolo tiene siete etapas, cada una de 3 minutos de duración, resultando en 21 minutos de ejercicio en el protocolo completo. La velocidad y la inclinación se incrementan desde 2.7 km/hr y 10% de inclinación en la primera etapa, hasta 9.6 km/hr y 22% de inclinación en la última etapa. Se consideraron 2 criterios para detener la prueba: 1. alcanzar la frecuencia cardiaca máxima estimada y 2. fatiga. Se realizaron un total de 9 pruebas a cada

participante, durante un periodo de 2 semanas, prohibiendo la realización de ejercicio físico adicional durante la duración del protocolo. Se tomó como criterio de eliminación la falta de una prueba durante la segunda semana de estudio. Se tomaron muestras antes del inicio de la primera sesión de ejercicio y al finalizar las 2 semanas del protocolo.

Tamaño de muestra

Se calculó la muestra considerando una correlación de 0.35 entre la concentración de GH y FGF21 con un error alfa de 0.05 y un error beta de 0.20 (poder de 80%), para lo cual se requirió un total de 60 participantes. Cada sujeto de estudio fungió como su propio control.

Variables a medir

Hormona de crecimiento. Con un ensayo inmuno-absorbente ligado a enzimas (ELISA) se realizó la medición de GH sérica humana (Abnova, Taipei, Taiwán). La medición se hizo acorde al protocolo del fabricante. Se construyó una curva de calibración entre la absorbancia a 450 nm contra las concentraciones de los calibradores de GH y las concentraciones desconocidas de las muestras.

Factor de crecimiento fibroblástico 21. Con un ensayo ELISA se realizó la medición de FGF21 humano (BioVendor Laboratory Medicine, Modrice, Czech Republic) sin reacción cruzada con otros miembros de la familia de FGF humanos. La medición se hizo acorde al protocolo del fabricante. Se construyó una curva de calibración entre la absorbancia a 450 nm contra las concentraciones de los calibradores de FGF21 y las concentraciones desconocidas de las muestras.

Factor de crecimiento similar a la insulina 1. Con un ensayo ELISA se realizó la medición de IGF1 sérico humano (Biorbyt, Cambridge, Reino Unido) sin reacción cruzada con otros miembros de la familia de IGF humanos. La medición se hizo acorde al protocolo del fabricante. Se construyó una curva de calibración entre la absorbancia a 450 nm contra las concentraciones de los calibradores de IGF1 y las concentraciones desconocidas de las muestras.

Las mediciones de las variables fueron realizadas en el laboratorio del departamento de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Frecuencia de las mediciones

Se realizó la medición en los sueros de las 60 participantes antes del inicio de la actividad física y dos semanas después, al concluir el programa de actividad física intensa.

Criterios de éxito y falla

Se consideró éxito la cuantificación adecuada de IGF1 y GH, así como falla el inadecuado procesamiento de las muestras y resultados.

Estrategia de análisis estadístico

Se evaluó la distribución de las variables con prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables se expresaron como promedios y desviación estándar o medianas con rango intercuartil. A las variables con distribución no normal se les realizó transformación logarítmica para aproximarlas a la normalidad antes de su análisis. Para las comparaciones de las mediciones antes y después del programa de actividad física, se realizaron pruebas de Chi cuadrada, t pareada de

Student o prueba de rangos de Wilcoxon según ameritara cada caso. Estimamos el cambio en los parámetros calculando las deltas (valor final – valor inicial) de las variables. Los coeficientes de correlación de las deltas de FGF21, GH e IGF1 se valoraron usando correlación de Spearman y correlaciones parciales ajustadas para los valores basales de GH y edad. Todos los valores de P reportados están basados en análisis de dos colas considerando <0.05 como significativo. Todos los análisis fueron realizados con el programa estadístico SPSS 19.0 (Chicago, IL).

Resultados

Se evaluaron 60 mujeres con edad promedio de 24.0 ± 3.7 años e IMC de 21.4 ± 7.0 kg/m². Faltar a una o más visitas se consideró causa de exclusión del estudio (n=3, 4.7%). Las características de las participantes del estudio se muestran en la Tabla 1.

Los parámetros antropométricos no cambiaron después de las dos semanas de actividad física. La mayoría de las participantes (41.7%) alcanzaron la etapa 4 del protocolo de Bruce, con un consumo medio de METs de 12.2 ± 2.4 .

La población se estratificó en dos grupos de acuerdo a la intensidad de la actividad física alcanzada. El grupo de actividad física leve a moderada fue conformado por aquellas participantes que alcanzaron ≤ 13 METs, mientras que el grupo de actividad física vigorosa fueron las participantes con > 13 METs consumidos. Las características de ambos grupos se describen en la Tabla 2.

Después de realizar la estratificación, se encontraron varias diferencias significativas en las medidas antropométricas. La circunferencia de la cintura fue mayor en el grupo de actividad física leve a moderada comparada con la del grupo de actividad física vigorosa (76.4 ± 8.8 cm vs 71.5 ± 5.3 cm, $p=0.011$). Una diferencia similar se encontró en la circunferencia de la cadera (92.6 ± 6.7 cm vs 89.8 ± 4.0 cm, $p=0.049$) y porcentaje de grasa corporal (28.9 ± 5.8 vs 25.4 ± 4.1 , $p=0.019$) (Tabla 2).

GH, IGF1 y FGF21

El valor mediana basal de GH fue 1.40 ng/ml [0.87-3.68], de IGF1 196.91 ng/ml [62.81-306.67], y de FGF21 270.22 ng/l [143.44-550.12]. Al final del

programa de ejercicio de 2 semanas, los valores mediana fueron los siguientes GH 1.30 ng/ml [0.95-3.75], IGF1 176.45 ng/ml [63.91-302.00], y FGF21 452.13 ng/l [298.84-732.08] (Tabla 1).

Se calcularon las deltas (Δ) para realizar comparaciones estadísticas. La GH ($\Delta = 0$ ng/ml [-1.08 – 0.56]) y el IGF1 ($\Delta = 3.06$ ng/ml [-13.84 – 29.40]) no tuvieron un cambio significativo ($p = 0.77$ y 0.34 , respectivamente). En contraste FGF21 se incrementó significativamente tras el programa de ejercicio ($\Delta = 156.65$ ng/l [67.04-266-26], $p < 0.001$).

Después de clasificar de acuerdo a la intensidad de la actividad física, no se encontraron cambios significativos en GH o IGF1 en ningún grupo. Sin embargo, un incremento significativo en la concentración de FGF21 se identificó tanto en el grupo de actividad física vigorosa ($\Delta = 186.24$ ng/l [137.9 – 370.8], $p < 0.001$), como en el de intensidad leve a moderada ($\Delta = 93.0$ ng/l [33.4 – 229.7], $p = 0.001$) (Tabla 2).

Correlaciones entre las variables estudiadas

La Δ FGF21 se correlacionó de manera significativa con el consumo de METs ($\rho = 0.414$, $p = 0.001$) (Figura 1). No se encontró correlación significativa entre la Δ FGF21 con GH o IGF1.

Después de estratificar a la población, el subgrupo de actividad física leve a moderada mostró una correlación significativa entre Δ FGF21 y Δ GH ($\rho = 0.34$, $p = 0.03$) (Figura 2). De manera inicial, no se encontró correlación significativa entre Δ FGF21 y Δ IGF1 ($\rho = -0.19$, $p = 0.26$); sin embargo, después de ajustar para GH y

edad, se encontró una correlación negativa significativa entre Δ FGF21 y Δ IGF1 ($\rho = -0.33$, $p = 0.05$) (Figura 3). En el grupo de actividad física vigorosa no se encontró correlación entre Δ FGF21 y Δ GH ($\rho = 0.20$, $p = 0.36$) o Δ IGF1 ($\rho = -0.06$, $p = 0.77$).

Tabla 1. Parámetros clínicos y bioquímicos antes y después del programa de actividad física de 2 semanas (n=60).

Variables	Antes	Después	p
Edad (años)	24.0±3.7	-	-
IMC (kg/m ²)	21.4±7.0	21.3±7.0	0.14
Circunferencia cadera (cm)	74.6±8.0	74.3±7.9	0.12
Circunferencia cintura (cm)	91.6±6.0	92.3±11.7	0.59
RCC	0.81±0.05	0.81±0.07	0.57
Porcentaje de grasa (%)	27.6±5.5	28.6±9.1	0.23
GH (ng/ml)	1.40 [0.87-3.68]	1.30 [0.95-3.75]	0.77
IGF1 (ng/ml)	196.91 [62.81-306.67]	176.45 [63.91-302.00]	0.34
FGF21 (ng/l)	270.22 [143.44-550.12]	452.13 [298.84-732.08]	<0.001

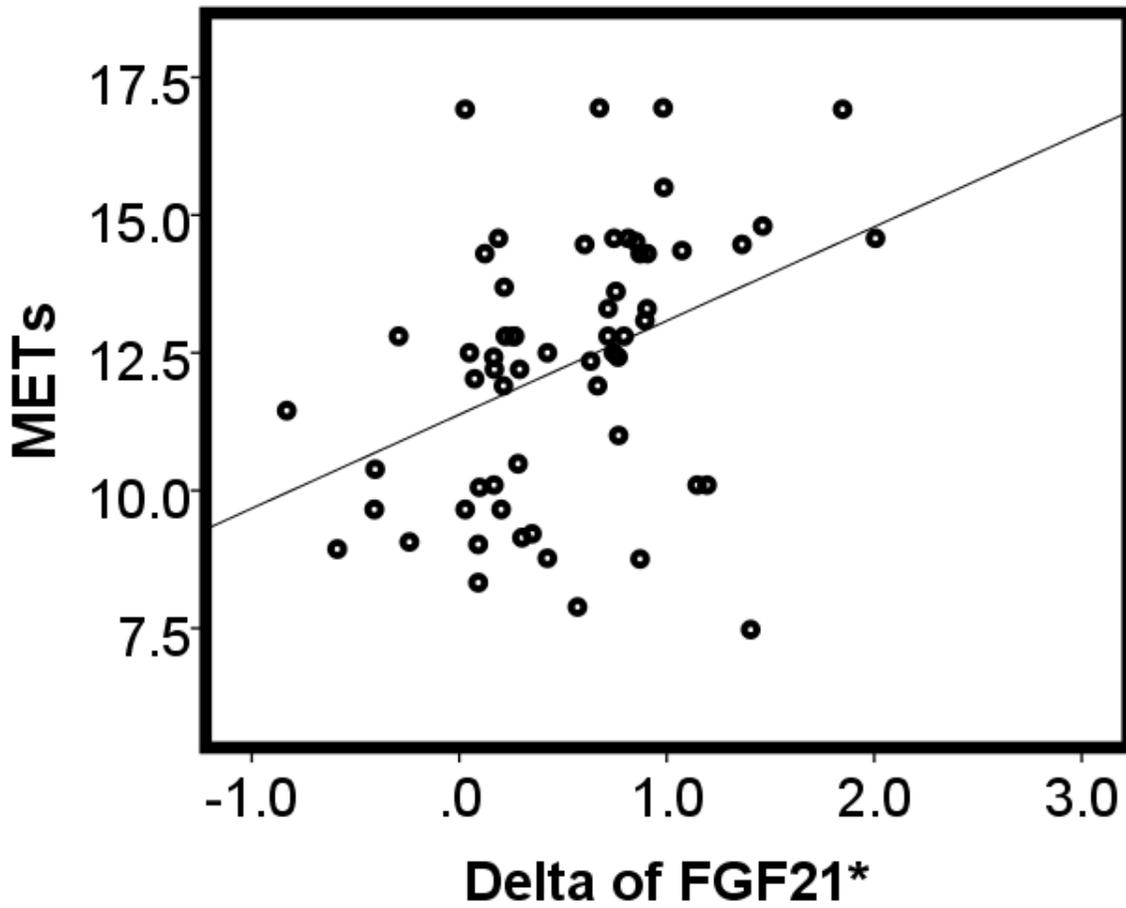
Datos expresados como media±SD o mediana [rango intercuartilar].
IMC=índice de masa corporal. RCC=relación cintura cadera

Tabla 2. Parámetros clínicos iniciales y bioquímicos estratificando por grupos de acuerdo a intensidad de actividad física

Variables	Leve a moderada (n= 38)	Vigorosa (n= 22)	p
Edad (años)	24.6±4.0	22.9±2.7	0.089
IMC (kg/m ²)	22.5±7.9	19.5±4.7	0.121
Circunferencia cadera (cm)	76.4±8.8	71.5±5.3	0.011
Circunferencia cintura (cm)	92.6±6.7	89.8±4.0	0.049
RCC	0.82±0.05	0.79±0.04	0.067
Porcentaje de grasa (%)	28.9±5.8	25.4±4.1	0.019
GH inicial (ng/ml)	1.98 [0.92-4.86]	1.17 [0.78-1.51]	0.110
GH final (ng/ml)	1.37 [0.97-3.99]	1.13 [0.91-1.70]	0.183
IGF1 inicial (ng/ml)	103.13 [61.19-300.58]	203.81 [142.85-330.17]	0.227
IGF1 final (ng/ml)	115.60 [59.98-286.75]	221.12 [133.91-317.25]	0.273
FGF21 inicial (ng/l)	310.46 [197.11-722.97]	143.44 [108.80-431.10]	0.006
FGF21 final (ng/l)	469.66 [316.73-736.80]	434.42 [263.18-724.62]	0.624

Datos expresados como media±SD o mediana [rango intercuartilar].
IMC=índice de masa corporal. RCC=relación cintura cadera

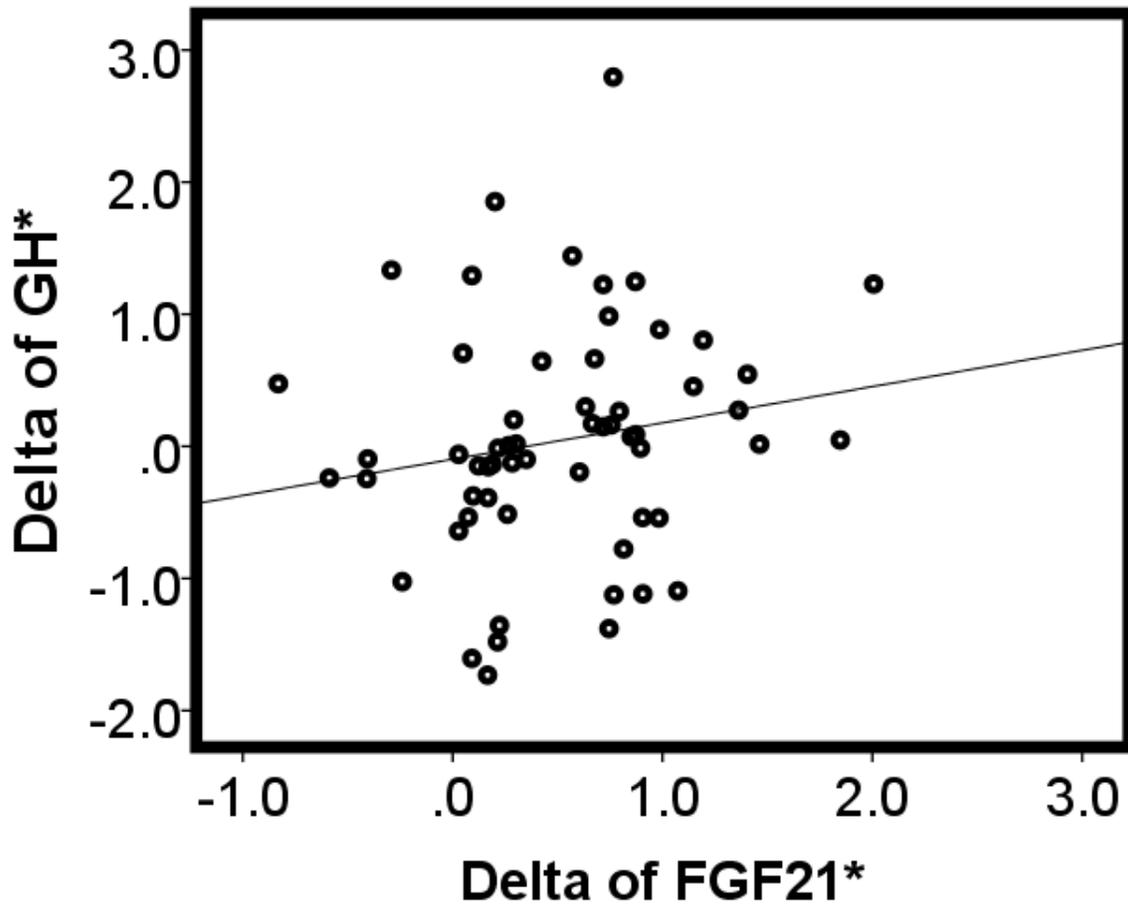
Figura 1. La delta de FGF21 mostró una correlación positiva con el consumo de METs durante el programa de actividad física ($\rho=0.41$, $p=0.001$).



METs= Equivalentes metabólicos FGF21= factor de crecimiento fibroblástico 21

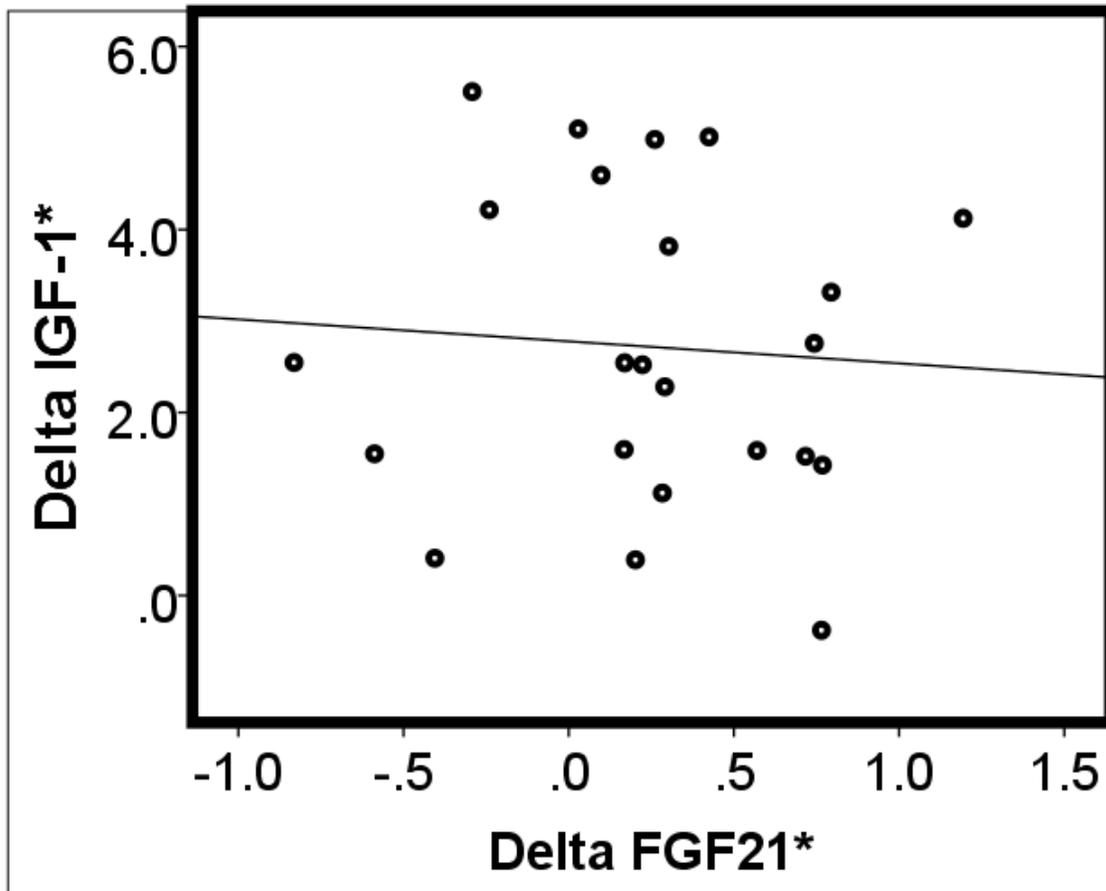
* transformación logarítmica

Figura 2. Las deltas de FGF21 y GH mostraron una correlación positiva en el grupo de actividad física leve a moderada ($\rho= 0.346$, $p= 0.036$).



GH = hormona de crecimiento, FGF21= factor de crecimiento fibroblástico 21.
* = transformación logarítmica

Figura 3. Las deltas de IGF1 y FGF21 mostraron una correlación negativa en el grupo de actividad física leve a moderada ($\rho = -0.329$, $p = 0.05$).



GH = hormona de crecimiento, FGF21= factor de crecimiento fibroblástico 21.

* = transformación logarítmica

Discusión

En este estudio identificamos una correlación positiva entre los incrementos de FGF21 y de GH después de un programa de ejercicio supervisado de dos semanas de duración. Esta asociación fue evidente únicamente cuando la actividad física fue de intensidad leve a moderada; en el grupo con actividad física vigorosa la correlación no fue significativa. Además, en el grupo con actividad física de intensidad leve a moderada FGF21 se correlacionó de forma negativa con IGF1, después de ajustar para GH y edad.

Estos hallazgos pueden ser explicados por la resistencia a los efectos de GH ejercidos por FGF21 como se ha descrito en publicaciones previas¹¹. El FGF21 bloquea la vía de señalización de GH y crea un estado de resistencia a sus efectos que tiende a incrementar los niveles circulantes de GH. Por otro lado, con esta vía de señalización bloqueada, no existe el estímulo para la producción hepática de IGF1 y como resultado los niveles circulantes de esta hormona no se incrementan. Nuestros hallazgos son consistentes con esta hipótesis, sin embargo sólo se reprodujeron en el grupo de actividad física de intensidad leve a moderada. Una posible explicación a este fenómeno, puede venir de un estudio previo, donde la secreción de GH se midió después de la realización de ejercicio de diferente intensidad²⁴. Se encontró una secreción de GH mayor en el entrenamiento de alta intensidad comparado con un ejercicio menos intenso, aunque de mayor tiempo de duración. Al trasladar estos resultados a nuestro estudio, el incremento en la secreción de GH con ejercicio más vigoroso puede sobreponerse al bloqueo impuesto por FGF21 y perder así la correlación que se

encontró de manera inicial en el grupo con actividad física de intensidad leve a moderada. Hasta el momento no se han realizado estudios que intenten probar un efecto similar con los niveles séricos de IGF1.

Las diferencias encontradas en las características basales de las participantes, pueden jugar un papel en los resultados finales. Debido al mayor porcentaje de grasa corporal, circunferencia de cintura y cadera en el grupo de actividad física de intensidad leve a moderada, durante el ejercicio existe una mayor liberación de ácidos grasos libres, estimulando así la producción hepática de FGF21 a través de PPAR alfa⁶.

Recientemente se describió la presencia de FGF21 en humanos^{7,25,26}, sin embargo las concentraciones normales no se han establecido debido a la alta variación interindividual. En contraste con los hallazgos en modelos animales, la evidencia existente no es concluyente acerca de la participación de factores tales como la dieta, ayuno prolongado y estimulación de PPAR alfa en los niveles circulantes de FGF21^{7,27}. Esta falta de evidencia ha llevado al cuestionamiento acerca del papel fisiológico que pueda tener FGF21 en el metabolismo humano¹².

En un modelo animal usando ratones transgénicos para FGF21, se encontró que estos ratones eran significativamente de menor tamaño que los ratones silvestres, sin embargo la concentración de GH circulante estaba incrementada junto con una reducción simultánea de la concentración de IGF1 y los niveles hepáticos de STAT5¹¹. Estos hallazgos sugieren una relación cercana entre el metabolismo de FGF21, GH y como consecuencia de IGF1, incluyendo, pero sin limitarse a una señal de retroalimentación negativa de FGF21 sobre la vía de señalización de GH. Además, existe otro reporte reciente donde un episodio

único de ejercicio, tanto en humanos como en ratones incrementa la concentración sérica de FGF21 a través de lipólisis inducida por el ejercicio, liberación de ácidos grasos libres y aumento de la transcripción hepática de PPAR alfa²⁸. Existen también reportes de secreción conjunta de GH, IGF1 y FGF21 inducida por ejercicio^{8,11,16,25}.

Se deben reconocer ciertas limitaciones del estudio. El tamaño de muestra fue pequeño (n=60), lo cual puede tener efectos en la significancia de los resultados. Sólo se incluyeron mujeres sanas debido a la mayor respuesta lipolítica con el ejercicio al compararla con hombres²⁹; por lo tanto, la correlación de las deltas de FGF21 con GH e IGF1 no se deberán asumir similares en poblaciones diferentes a la nuestra. Finalmente, a pesar de las interesantes asociaciones encontradas entre estos reguladores metabólicos clave, no es posible establecer una relación de causa-efecto entre ellas.

Conclusión

Los niveles circulantes de FGF21 se incrementan con el ejercicio y este incremento puede estar relacionado con cambios en otras hormonas metabólicamente activas como GH e IGF1. Los cambios en FGF21 y GH se correlacionan positivamente después de la realización de ejercicio; entre FGF21 e IGF1 esta correlación fue negativa. Sin embargo, estos resultados parecieran ser afectados por las características antropométricas de los sujetos y la intensidad de la actividad física.

Las acciones fisiológicas de FGF21 son evidentes, no obstante existe una gran variabilidad de sus concentraciones, no sólo entre los sujetos sino también entre diferentes especies. Esto imposibilita trasladar los hallazgos de modelos animales al comportamiento en humanos y definir su papel metabólico preciso. Más estudios son necesarios para poder entender las funciones de FGF21 y finalmente poder utilizarla como herramienta para desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.

Referencias

1. Fu, L. *et al.* Fibroblast growth factor 19 increases metabolic rate and reverses dietary and leptin-deficient diabetes. *Endocrinology* **145**, 2594–603 (2004).
2. Yu, X. & White, K. E. FGF23 and disorders of phosphate homeostasis. *Cytokine Growth Factor Rev.* **16**, 221–32 (2005).
3. Kharitonov, A. *et al.* FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J. Clin. Invest.* **115**, 1627–35 (2005).
4. Dutchak, P. A. *et al.* Fibroblast growth factor-21 regulates PPAR γ activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell* **148**, 556–67 (2012).
5. Inagaki, T. *et al.* Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab.* **5**, 415–25 (2007).
6. Badman, M. K. *et al.* Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR α and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab.* **5**, 426–37 (2007).
7. Gälman, C. *et al.* The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPAR α activation in man. *Cell Metab.* **8**, 169–74 (2008).
8. Cuevas-Ramos, D. *et al.* Exercise increases serum fibroblast growth factor 21 (FGF21) levels. *PLoS One* **7**, e38022 (2012).
9. Hojman, P. *et al.* Fibroblast growth factor-21 is induced in human skeletal muscles by hyperinsulinemia. *Diabetes* **58**, 2797–801 (2009).
10. Potthoff, M. J. *et al.* FGF21 induces PGC-1 α and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 10853–8 (2009).
11. Inagaki, T. *et al.* Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metab.* **8**, 77–83 (2008).
12. Angelin, B., Larsson, T. E. & Rudling, M. Circulating fibroblast growth factors as metabolic regulators—a critical appraisal. *Cell Metab.* **16**, 693–705 (2012).
13. Herrington, J., Smit, L. S., Schwartz, J. & Carter-Su, C. The role of STAT proteins in growth hormone signaling. *Oncogene* **19**, 2585–97 (2000).

14. LeRoith, D. & Yakar, S. Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* **3**, 302–10 (2007).
15. Ottosson, M., Lönnroth, P., Björntorp, P. & Edén, S. Effects of cortisol and growth hormone on lipolysis in human adipose tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**, 799–803 (2000).
16. Lundberg, J. *et al.* Influence of growth hormone on circulating fibroblast growth factor 21 levels in humans. *J. Intern. Med.* **274**, 227–32 (2013).
17. Ornitz, D. M. & Itoh, N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol.* **2**, REVIEWS3005 (2001).
18. Itoh, N. & Ornitz, D. M. Fibroblast growth factors: from molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *J. Biochem.* **149**, 121–30 (2011).
19. Nishimura, T., Nakatake, Y., Konishi, M. & Itoh, N. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim. Biophys. Acta* **1492**, 203–6 (2000).
20. Chen, E. Y. *et al.* The human growth hormone locus: nucleotide sequence, biology, and evolution. *Genomics* **4**, 479–97 (1989).
21. Melmed, S. & Jameson, J. L. in *Harrison Principios Med. Interna* (McGraw Hill).
22. Argetsinger, L. S. & Carter-Su, C. Mechanism of signaling by growth hormone receptor. *Physiol Rev* **76**, 1089–1107 (1996).
23. Carter-Su, C., Schwartz, J. & Smit, L. S. Molecular mechanism of growth hormone action. *Annu. Rev. Physiol.* **58**, 187–207 (1996).
24. Wahl, P., Zinner, C., Achtzehn, S., Bloch, W. & Mester, J. Effect of high- and low-intensity exercise and metabolic acidosis on levels of GH, IGF-I, IGFBP-3 and cortisol. *Growth Horm. IGF Res.* **20**, 380–5 (2010).
25. Chen, W.-W. *et al.* Circulating FGF-21 levels in normal subjects and in newly diagnose patients with Type 2 diabetes mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **116**, 65–8 (2008).
26. Zhang, X. *et al.* Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* **57**, 1246–53 (2008).

27. Christodoulides, C., Dyson, P., Sprecher, D., Tsintzas, K. & Karpe, F. Circulating fibroblast growth factor 21 is induced by peroxisome proliferator-activated receptor agonists but not ketosis in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **94**, 3594–601 (2009).
28. Kim, K. H. *et al.* Acute exercise induces FGF21 expression in mice and in healthy humans. *PLoS One* **8**, e63517 (2013).
29. Horton, T. J., Dow, S., Armstrong, M. & Donahoo, W. T. Greater systemic lipolysis in women compared with men during moderate-dose infusion of epinephrine and/or norepinephrine. *J. Appl. Physiol.* **107**, 200–10 (2009).