

## OBEZ ÇOCUKLARDA PLAZMA GHRELİN, SERUM IGF-I VE IGFBP-3 DÜZEYLERİ

### PLAZMA GHRELİN, SERUM IGF-I AND IGFBP-3 LEVELS IN OBESE CHILDREN

Peyami CİNAZ, Ediz YEŞİLKAYA, Ayşenur KAYA\*

#### ÖZET

**Amaç:** Günümüzde obesite bir çok metabolik ve hormonal bozukluğa sebep olan bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Obez kişilerde kilo alınımının nedenlerinin ve patofizyolojik sonuçlarının anlaşılması, obesiteyi önleyici etkin tedavi ve korunma yöntemlerinin gelişmesine katkı sağlayabilir. Bu çalışmada, obez çocuklarda ghrelin düzeylerini ve büyüme faktörleri olan IGF-1 ve IGFBP-3 ile ilişkisini araştırdık.

**Gereç ve yöntem:** 38 obez ve 19 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan olguların açlık ve tokluk ghrelin, IGF-I, IGFBP-3 düzeyleri ölçülmüştür.

**Bulgular:** Normal çocuklara kıyasla, obez olguların plazma ghrelin düzeyleri düşük, IGF-I ve IGFBP-3 düzeyleri ise yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Obez olgularda, ghrelin düzeylerinin IGF-I ve vücut kitle indeksi ile negatif korelasyon gösterdiği belirlendi ( $p<0,05$ ). Ancak bu grupta IGFBP-3 ve ghrelin düzeyleri arasında bir ilişki saptanmadı. Pubertal obezlerde ghrelin düzeyleri, prepubertal obezlere göre düşük bulunurken, normal çocuklarda pubertal ghrelin düzeyleri daha yüksekti. Obez olgularda pozitif enerji dengesi sonucu oluşan metabolik değişikliklerin ghrelin düzeylerini baskılayabileceği düşünüldü. Ghrelin ile IGF-I düzeylerinin negatif ilişkisi, obesite sonucu oluşan hormonal değişikliklere bağlandı.

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonucunda, ghrelin düzeylerindeki azalmanın, obesiteye bağlı gelişen hormonal değişikliklerden biri olabileceği düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Obezite, ghrelin, IGF-I, IGFBP-3, çocuk

#### ABSTRACT

**Objective:** Obesity is defined as excessive fat accumulation in the body which, if not prevented, causes metabolic and hormonal disorders. Recognition of causes and pathophysiologic consequences of weight gain is imperative to develop both effective treatment and preventive measures. The purpose of this study was to determine levels of ghrelin, which is known as appetite hormone and stimulates the release of growth hormone (GH); and to investigate the association of ghrelin with growth factors IGF-I and IGFBP-3 in obese children as they have an already disturbed GH release.

**Materials and methods:** Thirty-eight obese and 19 healthy children were included our study. Subjects who have included the study were measured fasting and postprandial ghrelin, IGF-I, IGFBP-3 and insulin levels.

**Results:** Plasma ghrelin levels of obese children were found to be lower compared to normal children, whereas IGF-I and IGFBP-3 levels were higher. Negative correlations of ghrelin with BMI and IGF-1 levels were dedected in obese children. But a relation between ghrelin and IGFBP-3 levels was not found in this group. In the obese group, ghrelin levels of pubertal cases were lower compared to prepubertal cases, whereas this was higher for normal children. Metabolic changes driven by positive energy balance might suppress ghrelin levels in obese children. Negative correlation of ghrelin with IGF-1 levels was ascribed to hormonal changes caused by obesity.

**Conclusion:** This study emphasizes that hormonal changes caused by obesity also include decreased levels of ghrelin.

**Key words:** Obesity, ghrelin, IGF-I, IGFBP-3, child

Dergiye geldiği tarih/ Date received: 21.07.2008 - Dergiye kabul edildiği tarih: 02.06.2009

\* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı, Ankara  
(İletişim kurulacak yazar: eyesilkaya@yahoo.co.uk)

## GİRİŞ

Obezite, vücutta aşırı yağ depolanması ile ortaya çıkan fiziksel, ruhsal ve endokrin işlevleri etkileyen enerji metabolizması bozukluğudur. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çocukluk çağı obezitesi giderek artan bir sorun haline gelmektedir (19). Çocukluk çağı obezitesi önlenmediği takdirde diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi, ateroskleroz, hepatosteatoz, solunum sistemi hastalıkları, ortopedik problemler ve psiko-sosyal bozuklukların gelişiminde önemli rol oynar.

Ghrelin ilk defa 1999 yılında farelerin midelerinden izole edilmiş ve büyüme hormonu (BH) salgılatıcı reseptörün doğal ligandı olduğu tespit edilmiş bir peptittir. Ghrelin, BH'unun salınımını arttırması yanı sıra iştahı artırır ve obeziteye neden olur. Ghrelin verilen hayvanlarda, aşırı yiyecek alımına bağlı olarak kilo artışı ve yağlanmaya neden olduğu gösterilmiştir (10,11,13,20,24). Bunun aksine ghrelin antikorları verilen hayvanlarda ise iştahın azaldığı saptanmıştır (10). Midede ghrelin üretimi ve salınımı kalori alımıyla düzenlenir, açlıkta ghrelin salınımı artar, toklukta azalır (11,13,20,24).

Bu çalışma obez hastalarda açlık ve tokluk ghrelin seviyelerini belirlemek ve ghrelinin BH salınımını etkileyerek IGF-I ve IGFBP-3 düzeyinde oluşturacağı değişiklikleri incelemek amacıyla yapılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji Bilim Da-

lı'nda izlenmekte olan 38 obez ve 19 sağlıklı çocuk üzerinde yapılmıştır. Çalışma hakkında aileler bilgilendirilerek onayları alınmıştır.

Çalışmaya alınan çocukların boyları Harpenden stadiometresi ile vücut ağırlıkları ise Standard yöntemler ile ölçülmüş, boy ve vücut ağırlıkları Türk çocukları için hazırlanan persentil eğrilerine göre değerlendirilmiştir (15). Hastaların vücut kitle indeksleri (VKİ) hesaplanmış ve VKİ'yi 95 persentil üzeri olan çocuklar obez kabul edilmiştir (7).

Çalışmaya dahil edilen obez ve kontrol grubu çocukların, 10 saatlik açlığı takiben sabah 08.00'da kan örnekleri alınmış ve açlık ghrelin, IGF-I ve IGFBP-3 düzeyleri incelenmiştir. Ana öğünden 2 saat sonra da tokluk ghrelin düzeyleri ölçülmüştür. Plazma ghrelin düzeyleri ve serum IGF-1 düzeyleri, radioimmünassay (RIA) kit yöntemleriyle (sırasıyla Phoenix Pharmaceuticals INC. Belmont USA ve Biosource Europe S.A. Nivelles, Belgium) tayin edilmiştir.

Serum IGFBP-3 düzeyleri ise immunoradiometric assay (coated tube) (IRMA CT) yöntemiyle (Biosource Europe S.A. Nivelles, Belgium) ölçülmüştür.

## İstatistiksel Değerlendirmeler

Metin içinde sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak yazılmıştır.

Verilerin istatistiksel analizi, Statistical Analysis Package (SAS) programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz yöntemlerinden, Student-t, F-test ve Pearson korelasyon ana-

**Tablo 1. Obez ve Kontrol Grubu Olguların Antropometrik Ölçümleri (Ortalama ± SD)**

	Obez Grubu		Kontrol Grubu	
	Prepubertal (n=17)	Pubertal (n=21)	Prepubertal (n=9)	Pubertal (n=10)
Takvim Yaşı (yıl)	8,53±1,82	13,98±1,39	8,13±2,10	14,33±1,92
Vücut Ağırlığı (kg)	49,68±10,20	79,92±14,02	28,25±6,63	42,89±9,39
Boy (cm)	138,91±10,91	161,38±6,59	124,38±13,02	153,56±10,53
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	25,55±2,80	30,61±3,67	17,98±1,31	17,84±1,45
Rölatif Ağırlık (%)	143,76±16,59	150,05±18,41	105,41±4,01	92,15±4,00

**Tablo 2. Obez ve Kontrol Grubu Olguların Plazma Ghrelin, IGF-I ve IGFBP-3 Düzeyleri (Ortalama ± SD)**

	Obez Grup		Kontrol Grup	
	Prepubertal (Grup A) (n=17)	Pubertal (Grup B) (n=21)	Prepubertal (Grup C) (n=9)	Pubertal (Grup D) (n=10)
Açlık Ghrelin (pg/ml)	277,8±106,4	194,9±85,2*	328,9±86,2	424,0±112,3 <sup>b</sup>
Tokluk Ghrelin (pg/ml)	205,2±73,3	162,7±67,6*	251,4±94,9	363,0±112,6 <sup>b</sup>
IGF-I (ng/ml)	220,9±47,2	502,9±132,0 <sup>a</sup>	148,5±36,0	363,8±117,7 <sup>b</sup>
IGFBP-3 (ng/ml)	2800,0±757,5	3353,0±879,7 <sup>a</sup>	1914,0±619,7	2731,7±522,9 <sup>b</sup>

\* Pubertal kontrol grubu ile karşılaştırmalar (p< 0,05)

<sup>a</sup> Prepubertal obez grup ile karşılaştırmalar (p< 0,05)

<sup>b</sup> Prepubertal kontrol grubu ile karşılaştırmalar (p< 0,05)

lizleri kullanılmıştır.  $p < 0,05$ , ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olduğunu belirtmektedir. Gruplar arası ilişkilerin değerlendirilmesinde “ $r$  (korelasyon katsayısı) değerleri” -1 ile +1 arasında olup, bu değerler parametreler arasındaki ilişkinin kuvvetini göstermektedir.

## BULGULAR

Çalışmaya, 38 obez ve 19 kontrol olmak üzere toplam 57 çocuk dahil edildi. Olguların takvim yaşı, vücut ağırlığı, boyu, VKİ ve rölatif ağırlıkları Tablo 1’de, hormonal analiz sonuçları Tablo 2’de gösterildi. Hem obez hem de kontrol grubunda açlık ghrelin düzeyleri, tokluk ghrelin düzeylerinden yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ). Obez çocukların açlık ve tokluk ghrelin düzeylerinin, kontrol grubuna göre düşük olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ) (Tablo 2). Ayrıca obez pubertal olgularda, açlık ve tokluk ghrelin düzeylerinin, prepubertal olguların düzeylerinden anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubunda ise, pubertal olgularda açlık ve tokluk ghrelin düzeyleri daha yüksekti ( $p < 0,05$ ). Prepubertal olgular incelendiğinde açlık ve tokluk ghrelin düzeyleri, obez çocuklarda daha düşük bulunmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Pubertal olgularda ise, açlık ve tokluk ghrelin düzeyleri obez grupta, kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük bulundu ( $p < 0,05$ ) (Tablo 2).

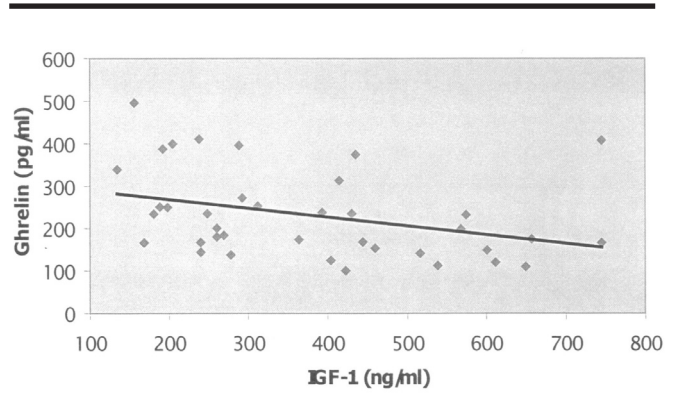
Obez olgularda açlık ghrelin ve IGF-I düzeyleri arasında negatif yönde ve istatistiksel olarak anlamlı korelasyon belirlendi ( $r = -0,35$ ,  $p < 0,05$ ) (Şekil 1), ancak IGFBP-3 düzeyleri ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $r = 0,096$ ) ( $p > 0,05$ ).

Obez grupta, VKİ ile açlık ve tokluk ghrelin düzeyleri arasında negatif korelasyonlar saptandı (sırasıyla  $r = -0,66$ ,  $-0,57$ ,  $p < 0,05$ ) (Şekil 2).

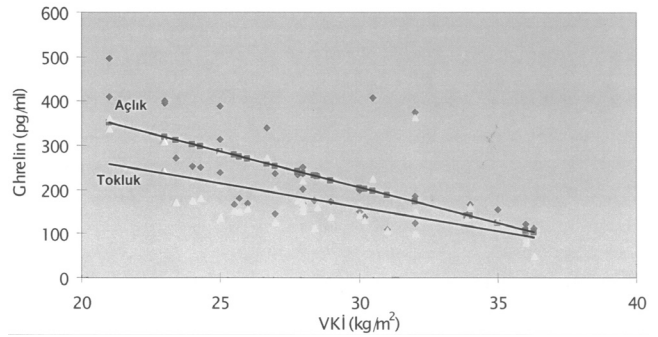
## TARTIŞMA

İştah merkezinde rol alan peptidlerden biri olan ghrelinin, iştahı artırdığı ve obeziteye neden olduğu bildirilmiştir (23,24). Wren ve ark (23) sağlıklı normal kilolu erişkin gruba intravenöz ghrelin verildiğinde yiyecek alımının çok arttığını göstermişlerdir. İştah hormonu olan ghrelinin açlıkta arttığı, öğünlerden sonra, özellikle glukoz ve yağ oranı yüksek olan yiyecekler alındığında azaldığı belirlenmiştir (1). Biz de çalışmamızda obezlerde ve kontrol grubunda açlık plazma ghrelin seviyelerinin, tokluk seviyelerinden daha yüksek olduğunu saptadık. Bu sonuç, ghrelinin öğün öncesi artarak açlık sinyalini, öğün sonrası ise azalarak doyma sinyalini oluşturduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla obez grupta, açlık ve tokluk ghrelin seviyelerini düşük bulduk. Ayrıca ghrelin ile VKİ arasında negatif korelasyon saptadık. Bu bulgularımız, obezite ile ghrelin düzeylerinin azaldığını ileri süren çalışmalar ile uyumludur (21). Ghrelin düzeylerinin negatif enerji dengesi olan durumlarda artıp, pozitif enerji dengesi oluşan obezitede azalması, bu hormonun seviyelerinin düzenlenmesinde negatif geri besleme mekanizmasının rol oynadığını göstermektedir. Sonuçta, obez kişilerde pozitif enerji dengesi sonucu ghrelinin baskılandığı düşünülmektedir.



Şekil 1. Obez grupta açlık ghrelin düzeyleri ile IGF-1 düzeylerinin korelasyonu ( $r = -0,35$ ,  $p < 0,05$ )



Şekil 2. Obez grupta açlık ve tokluk ghrelin düzeyleri ile VKİ değerlerinin korelasyonu (açlık=  $r = -0,66$ ,  $p < 0,05$  tokluk=  $r = -0,57$ ,  $p < 0,05$ )

Serum ghrelin düzeylerinin cinsiyete ve pubertal duruma bağlı olarak değişiklik gösterip göstermediğini irdelediğimizde, obez çocuklarda ghrelin seviyelerinin cinsiyetten etkilenmediğini, puberte ile birlikte kan ghrelin değerlerinin azaldığını saptadık. Ancak pubertal obezlerde, açlık ve tokluk ghrelin düzeyleri arasında fark bulunamadı. Bu bulgu bize pubertede oluşan hormonal değişikliklerin kan ghrelin düzeylerini etkileyebileceğini düşündürdü.

Büyüme hormonu, dokular üzerindeki etkisini IGF-1 (insulin like growth factor-1) gibi büyüme faktörleri aracılığı ile gösterir. Bu peptidlerin hemen tamamı kanda proteinlere bağlı olarak bulunur. Dolaşımında IGF-1’in % 75’den fazlası IGFBP-3 (IGF binding protein-3)’e bağlıdır. Bu bağlayıcı protein, IGF-1 için depo görevi görür ve bu faktörün dokulara transferinden sorumludur. Obezite ile IGF-1 ilişkisini araştıran çalışmalarda, Bideci (5), Loche (14), Minuto (18) ve ark. serum IGF-I düzeylerinin obezlerde arttığını ve VKİ ile pozitif korelasyon gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca obezlerde serum IGF-I düzeyleri yüksek olmasına karşın IGF-I reseptörlerinin düşük olduğu bildirilmiştir.

Biz de çalışmamızda obez olgularda IGF-I düzeylerinde artış belirledik.

Normal çocuklarda IGF-I düzeylerinin yaşla birlikte arttığı ve puberte de en üst düzeye ulaştığı bildirilmiştir (3,6,22). Bala ve ark (2), 12-16 yaş arasındaki kız ve erkeklerde IGF-I düzeylerinin arttığını ve bu dönemdeki hızlı büyümeden IGF-I'in sorumlu olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca pubertal dönemde seks steroidlerinin artmasının da IGF-I düzeylerindeki artışta rolü olduğu düşünülmektedir. Biz de çalışmamızda, obez ve kontrol gruplarında IGF-I düzeylerinin, pubertal dönemde daha yüksek olduğunu saptadık.

Öte yandan obez grupta IGF-I ile açlık ghrelin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon bulduk. Bu bulgu bize obezlerde artan IGF-I'in, diğer faktörlere ek olarak ghrelin düzeylerindeki düşüştür sorumlu olabileceğini düşündürdü. Çocuklarda ve erişkinlerde yapılan diğer çalışmalarda da ghrelin ile IGF-I'in negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (4). Engstrom ve ark (8), büyüme hormonu (BH) eksikliği olan erişkinlere rekombinant BH uygulaması sonucu, serum IGF-I düzeylerinin arttığını ve ghrelin düzeylerinin ise azaldığını göstermişlerdir.

IGFBP-3, IGF-I'in proliferatif, mitojenik ve metabolik etkilerini düzenlemektedir (16,17). BH, IGF-I, beslenme, insülin, tiroid hormonu, yaş gibi faktörler serum IGFBP-3 düzeylerini etkilemektedir. IGFBP-3 düzeyleri, normal çocuklarda pubertede artmakta, erişkinlerde ise yaşla azalmaktadır (6,16,22). Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla obez grupta IGFBP-3 düzeylerinde artış belirledik. Hem obez hem de kontrol gruplarında, pubertal olguların IGFBP-3 düzeyleri, prepubertal olgulardan daha yüksekti. Falorni ve ark'nın (9) yaptığı bir çalışmada da benzer şekilde obez çocuk ve adolesanlarda IGFBP-3 düzeylerinin yüksek olduğu ve insülin ile korele olduğu gösterilmiştir. Kilo verilmesinden sonra insülin ve IGFBP-3 düzeylerinin normale döndüğü belirtilmiştir. Çalışmamızda obeziteye bağlı IGFBP-3 düzeyindeki artışa, yüksek IGF-I düzeyleri ya da muhtemel IGFBP-3 proteaz aktivitesindeki azalmanın neden olabileceğini düşündük. Ancak ghrelin ile IGFBP-3 düzeyleri arasında bir ilişki bulamadık.

Sonuç olarak, bu çalışmada obez çocuklarda açlık ve tokluk plazma ghrelin düzeylerinin düştüğünü ve serum IGF-I düzeyleri ile ghrelinin negatif ilişki gösterdiğini saptadık. Obezlerde plazma ghrelin düzeyinin düşük olmasına karşın iştahın azalmaması, ghrelin duyarlılığının artmış olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra, ghrelin düzeylerinin metabolik ve hormonal değişikliklerden çok fazla etkilendiği, obezitenin endokrin işlevlere ve büyüme faktörlerine olumsuz etkisinde rolü olabileceği akla gelmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Stomach is a major source of circulating ghre-

lin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753- 4758.

2. Bala RM, Lopatka J, Leung A, McCoy E, McArthur RG. Serum immunoreactive somatomedin levels in normal adults, pregnant women at term, children at various ages, and children with constitutionally delayed growth. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52: 508- 512.
3. Beckett PR, Wong WW, Copeland KC. Developmental changes in the relationship between IGF-I and body composition during puberty. *Growth Horm IGF Res* 1998; 8: 283-288.
4. Bellone S, Rapa A, Vivenza D, Castellino N, Petri A, Bellone J, Me E, Broglio F, Prodam F, Ghigo E, Bona G. Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: RC13-15.
5. Bideci A, Cinaz P, Hasanoglu A, Elbeg S. Serum levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997; 10: 295- 299.
6. Blum WF, Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Ranke MB. Serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF binding protein 3 reflect spontaneous growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1610-1616.
7. Bundak R, Furman A, Gunoz H, Darendeliler F, Bas F, Neyzi O. Body mass index references for Turkish children. *Acta Paediatr* 2006; 95: 194-198.
8. Edén Engström B, Burman P, Holdstock C, Karlsson FA. Effects of growth hormone (GH) on ghrelin, leptin, and adiponectin in GH-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5193-5198.
9. Falorni A, Bini V, Cabiati G, Papi F, Arzano S, Celi F, Sanaesi M. Serum levels of type I procollagen C-terminal propeptide, insulin-like growth factor-I (IGF-I), and IGF binding protein-3 in obese children and adolescents: relationship to gender, pubertal development, growth, insulin, and nutritional status. *Metabolism* 1997; 46: 862- 871.
10. Inui A, Asakawa A, Bowers CY, Mantovani G, Laviano A, Meguid MM, Fujimiya M. Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. *FASEB J* 2004; 18: 439-456.
11. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* 2001; 50: 2438-2443.
12. Laron Z. IGF-1 and insulin as growth hormones. *Novartis Found Symp* 2004; 262: 56- 77.
13. Lengyel AM. Novel mechanisms of growth hormone regulation: growth hormone-releasing peptides and ghrelin. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 1003-1011.
14. Loche S, Cappa M, Borrelli P, Faedda A, Crinò A, Cella SG, Corda R, Müller EE, Pintor C. Reduced growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in children with simple obesity: evidence for somatomedin-C mediated inhibition. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1987; 27: 145-153.



15. Neyzi O, Furman A, Bundak R, Gunoz H, Darendeliler F, Bas F. Growth references for Turkish children aged 6 to 18 years. *Acta Paediatr* 2006; 95: 1635- 1641.
16. Ranke MB, Blum WF, Bierich JR. Clinical relevance of serum measurements of insulin-like growth factors and somatomedin binding proteins. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1988; 347: 114- 126.
17. Ranke MB, Elmlinger M. Functional role of insulin-like growth factor binding proteins. *Horm Res* 1997; 48: 9- 15.
18. Savastano S, Di Somma C, Belfiore A, Guida B, Orio F Jr, Rota F, Savanelli MC, Cascella T, Mentone A, Angrisani L, Lombardi G, Colao A. Growth hormone status in morbidly obese subjects and correlation with body composition. *J Endocrinol Invest* 2006; 29: 536-543.
19. Styne DM. Childhood and adolescent obesity. Prevalence and significance. *Pediatr Clin North Am* 2001; 48: 823-854.
20. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908- 913.
21. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707- 709.
22. Wilson DM, Stene MA, Killen JD, Hammer LD, Litt IF, Hayward C, Taylor CB. Insulin-like growth factor binding protein-3 in normal pubertal girls. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1992; 126: 381-386.
23. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5992.
24. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillo WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001; 50: 2540-2547.