



La Hormona de Crecimiento en el Sistema Nervioso Central

Growth Hormone in the Central Nervous System

Citlalli Regalado Santiago¹,
María Leonor López Meraz²,
Enrique Juárez Aguilar³.

RESUMEN

La hormona de crecimiento (HC) es una molécula multifuncional que igual estimula el crecimiento corporal que influye en el metabolismo de lípidos y proteínas y en la proliferación, diferenciación y sobrevivencia de diferentes tipos celulares. Incluso el mecanismo por el cual ejerce sus acciones es variable, pudiendo ejercer efectos directos a través de la activación de un receptor específico o mediante la estimulación de efectores secundarios como el factor de crecimiento parecido a insulina tipo I o IGF-I, por sus siglas en inglés. Tradicionalmente, la glándula hipófisis se ha considerado como la fuente principal de producción de la HC. Sin embargo, actualmente se sabe que esta hormona es producida localmente en diferentes tejidos en los que ejerce un efecto autocrino. Más aún, la HC se ha detectado desde las primeras fases de desarrollo mucho antes de la formación y activación de la glándula hipófisis apuntando hacia un papel central de esta hormona desde las primeras etapas de la vida. Por otra parte, estudios recientes han sugerido un papel importante de la HC en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). Los datos experimentales apoyan la idea de un papel central de la HC en el SNC que va desde la regulación de la biología de células troncales neuronales hasta su participación en el mantenimiento de procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria. El presente trabajo recopila las evidencias que soportan la hipótesis de una función “cerebral” de la HC.

Palabras Clave: Hormona de crecimiento, sistema nervioso central, neurogénesis, neuroprotección, aprendizaje.

ABSTRACT

Growth hormone (GH) is a multifunctional molecule that stimulates body growth as well as influences the metabolism of lipids and proteins and the proliferation, differentiation and survival of different cell types. Even the mechanism by which GH exerts its actions is variable. This hormone can exert it directly through the activation of a specific receptor or by stimulating secondary effectors like the insulin-like growth factor type I (IGF-I). Traditionally, the pituitary gland has been considered as the main source of production of GH. However, it is now known that this hormone is produced locally in various tissues in which exert an autocrine action. Moreover, this hormone has been detected at the earliest stage of development even before the formation and activation of the pituitary gland suggesting a central role of the GH in the beginning of life. Recent studies have suggested a role of GH in the development and function of the central nervous system (CNS). Experimental data support a role of GH in the CNS ranging from regulation of neural stem cell biology to its participation in the maintenance of cognitive processes such as learning and memory. The present review compiles evidence that support a “cerebral” function of GH.

Key words: Growth hormone, central nervous system, neurogenesis, neuroprotection, learning.

¹Doctorado en Ciencias Biomédicas.

²Centro de Investigaciones Cerebrales.

³Departamento de Biomedicina, Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Veracruzana.

Correspondencia:

Enrique Juárez Aguilar
Av. Luis Castelazo Ayala S/N, Col. Industrial Las Ánimas,
Xalapa, Ver. C.P 91190
Tel. (228) 8 41 89 00 Ext. 13758
enjuarez@uv.mx

INTRODUCCIÓN

La HC es una hormona proteica no glicosilada, que se sintetiza en la glándula hipófisis. Su función principal está relacionada con el crecimiento corporal y el metabolismo de carbohidratos. Adicionalmente, la HC estimula la diferenciación de varios tipos celulares presentes en el tejido adiposo, el muscular y el cartílago. *In vivo*, esta hormona ejerce una gran variedad de efectos, algunos de los cuales son mediados de manera indirecta por el factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-I, por sus siglas en inglés), mientras que otros son directos, como los ejercidos sobre el metabolismo de la glucosa en adipocitos¹. A pesar de que la mayor parte de la HC presente en el organismo es sintetizada en las células de la adenohipófisis; la síntesis de esta hormona se ha detectado en otros tejidos². Estudios recientes sugieren que el eje HC/IGF-I juega un papel importante en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central (SNC), incluyendo aquellas actividades relacionadas con la diferenciación, la proliferación y la sobrevivencia neuronal³. Más aun, diversos trabajos sugieren un papel relevante de la HC en el mantenimiento de procesos cognitivos tales como el aprendizaje y la memoria. El presente trabajo revisa las evidencias que soportan el papel de la HC como un factor importante del desarrollo y funcionamiento del SNC.

Estructura de la HC y su receptor

El gen de la HC humana, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 17, está constituido por 1.65 kilobases (1.65 kb) que incluyen 5 exones y 4 intrones que codifican predominantemente para una proteína de 22 kilodaltones (22-kDa). Esta proteína es la forma monomérica que normalmente se secreta en la glándula hipófisis. Estructuralmente está formada por 191 aminoácidos y 4 alfa-hélices anti-paralelas y conectadas entre sí a través de lazos o "loops", además de puentes disulfuro intramoleculares⁴. Cabe señalar que existen isoformas de la HC que se generan a partir de modificaciones postranscripcionales al RNAm (*splicing* alternativo). Este mecanismo genera una proteína de 20-kDa la cual es idéntica a la HC de 22-kDa, a excepción de la delección interna de 15 aminoácidos que abarcan desde el residuo 32 al 46⁵. Esta eliminación ocasiona la modificación de algunas actividades de la HC como la actividad lactógena y la actividad lipolítica^{6,7,8}. No obstante, la isoforma de 20-kDa, no es la única isoforma de la HC. Estudios realizados en aves de corral desde la etapa embrionaria hasta la etapa adulta han demostrado la existencia de distintas isoformas de la HC que difieren en sus pesos moleculares. Así, se ha reportado la presencia de isoformas de 15, 22, 25, 44, 50, 66, 80, 98, 105 y >110-kDa; la gran mayoría no presenta actividad biológica. Por otra parte, la isoforma activa de 22-kDa presenta inmunoreactividad en el estadio 18 de desarrollo embrionario y con un mayor incremento

a los 20 días de desarrollo⁹. Recientemente, se ha reportado una inmunoreactividad de la HC asociada a las proteínas de 15 y 16 kDa, específicamente en la etapa ED7 del desarrollo durante la formación de la retina neural del pollo¹⁰. Estas proteínas son isoformas de la HC que se producen de manera local en poblaciones conocidas como células del ganglio retinal y se cree que su expresión está relacionada con la sobrevivencia de esta población. Debido a lo anterior, se piensa que las isoformas de la HC pudieran tener una función específica.

Por otra parte, el receptor de la HC (HCR), consiste en una glicoproteína transmembranal de 620 aminoácidos y se clasifica dentro de la superfamilia de receptores de citocina clase I. Estudios de cristalografía de rayos X^{11,12} revelaron que el HCR posee un dominio extracelular, con cinco sitios de glicosilación y siete sitios que forman uniones disulfuro altamente conservado entre las especies. Eijnden y colaboradores (2006), observaron que las uniones disulfuro que conforman a los pares de cisteína son importantes para la maduración del propio receptor y para la unión del ligando, incluso, cuando las uniones disulfuro son alteradas, la activación por la HC es bloqueada, mientras que en la eliminación completa de las uniones disulfuro, la dimerización de los receptores, indispensable para la actividad biológica de la HC, es imposible¹³. Adicionalmente, el dominio extracelular puede ser liberado enzimáticamente dando lugar a la forma soluble del receptor, conocido como proteína de unión de la HC, (GHRBP, por sus siglas en inglés)¹⁴. La interacción de la HC a su receptor se lleva a cabo a través de dos sitios de unión en su molécula. Ambos se asocian de manera no covalente a dos moléculas del GHR idénticas en un proceso de dimerización secuencial. Es decir, el sitio 1 de la HC reacciona con una primera molécula de HCR formando un complejo HC-HCR en una relación 1:1. Posteriormente, la HC une a un segundo receptor a través del sitio 2 formando el complejo dimérico HCR-HC-HCR (1:2)¹⁵. Las primeras evidencias del proceso de dimerización surgieron de estudios cristalográficos¹⁶ y fueron corroboradas mediante experimentos *in vitro* a través del análisis de curvas de dosis respuesta en células sensibles a la HC^{15,16}. Los resultados de estos estudios demostraron que la HC ejerce sus efectos de una manera bifásica generando curvas dosis respuesta en forma de campana. Interesantemente, los sitios de unión en los HCR son idénticos a pesar de que su interacción con la HC se lleva a cabo en dos sitios diferentes en la molécula. El modelo propuesto de dimerización de los HCR explica el comportamiento de las curvas dosis-respuesta *in vitro*. Así, bajas concentraciones de la HC generan un número limitado de complejos diméricos por lo que la respuesta biológica no es tan evidente. Conforme aumenta su concentración, la actividad biológica va en aumento y está es óptima cuando se forma el máximo de complejos diméricos (2HCR/HC). Por el contrario, el exceso de hormona favorece la

formación de complejos monoméricos (HCR/HC) reduciendo el número de complejos diméricos activos. Cuando todos los HCR se encuentran unidos a una molécula de HC la actividad biológica se bloquea al no poder formarse los complejos diméricos¹⁵. En la actualidad se tiene evidencia de que la dimerización de los receptores es un proceso previo a la unión de la HC^{12, 18, 19}. La actividad biológica de la HC se explica por el hecho de que su unión a los HCR produce un cambio conformacional en los dominios extracelulares y transmembranales del mismo que desencadena la activación de vías de señalización intracelular^{20, 21}. La unión de la HC a su receptor conduce a la activación de cinasas que de manera intracelular se encuentran asociadas al receptor de la hormona. Esta proteína intracelular conocida como Janus quinasa 2 o JAK2, a su vez, activa a otras vías de señalización incluyendo a los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT), a las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) y la vía de la cinasa del fosfatidol-inositol 3 trifosfato (IP3K)21. La delección del dominio intracelular del GHR impide la asociación de la cinasa JAK-2 y por lo tanto la transducción de la señal²².

Presencia de la HC en el SNC.

A pesar de que la mayor parte de la HC presente en el organismo es sintetizada en las células de la adenohipófisis; la síntesis de esta hormona se ha detectado además en otros tejidos y en diferentes estadios de desarrollo². Tradicionalmente, el crecimiento embrionario y fetal se ha considerado independiente de la presencia de la HC debido a que el desarrollo de la glándula hipófisis y de las células somatotrofas se lleva a cabo más adelante. Sin embargo, nuevas evidencias sugieren un papel relevante de la HC en la embriogénesis. En este sentido, Pantaleon y colaboradores (1997) demostraron la presencia del GHR y de la HC en embriones de ratón pre-implantados de todas las etapas, desde el huevo fecundado (día 1) hasta el blastocisto (día 4)²³. Estos investigadores mostraron que el sistema GHR/HC es funcional en este estadio de desarrollo al estimular la síntesis de proteínas y el transporte de glucosa en los embriones. Más aún, este mismo grupo demostró que la HC detectada es producto de la transcripción del gen en el embrión y no de origen materno. Más adelante en el desarrollo, tanto el RNAm de la HC como la proteína son evidentes en otros órganos y sistemas, incluyendo al sistema nervioso. Por ejemplo, la HC es detectable a partir del décimo día de gestación en el cerebro fetal de la rata²⁴. En embriones de pollo, la HC es detectable en células que conforman el tubo neural, y la notocorda⁹. Además de las evidencias que sugieren la participación de la HC durante el desarrollo, también se ha demostrado la existencia de la hormona en el cerebro adulto de mamíferos y aves, aunque los sitios de expresión se limitan a ciertas áreas como son el

tálamo, el estriado, la formación reticular y el hipocampo²⁵. Además, la detección de la HC en el SNC no se modifica en ratas hipofisectomizadas, observándose la expresión de su RNAm en la corteza cerebral, en células del ganglio retinal, núcleo arcuato, núcleo periventricular, plexo coroideo, médula espinal y núcleo supraóptico²⁶. Estos resultados sugieren que la presencia de la HC en el SNC se debe a una producción local de la HC y no a la contribución de la hormona hipofisaria. En este sentido, recientemente se reportó la síntesis local de la HC en el hipocampo de ratas, demostrándose que ésta es regulada por la edad, la presencia de estrógenos y por condiciones de estrés²⁷. La presencia de la HC en el hipocampo y su regulación externa sugiere que esta hormona está relacionada con procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria.

Otras evidencias del papel de la HC en el desarrollo del SNC provienen de modelos animales con deficiencia o bloqueo de la actividad de esta hormona^{28, 29, 30}. Así, uno de los primeros estudios que sugirieron un papel de esta hormona en el cerebro fueron los trabajos de Pelton y cols. (1977), quienes indujeron una deficiencia crónica de la HC en ratas tras la inyección de un antisuero procedente de monos inmunizados contra la hormona purificada. Los resultados del grupo de Pelton demostraron que el bloqueo sistémico de la hormona por el antisuero provocó una deficiencia importante en el contenido de HC hipofisaria con disminución en la talla corporal en los animales tratados³¹. Además, los grupos experimentales presentaron defectos en la maduración cerebral con una disminución importante de mielina y acumulación de células gliales "inmaduras"³¹. Interesantemente, los defectos de la deficiencia de la HC observados en este primer estudio fueron reproducibles en los trabajos de Noguchi y cols., (1985) utilizando roedores con deficiencia de la hormona (ratones Little)³². En este modelo, se encontró que los roedores con deficiencia de HC mostraron una disminución del 81.5% del tamaño del cerebro y una disminución del 80% en el contenido de DNA y RNA total del mismo órgano con respecto a los roedores silvestres^{32, 33}. Por otra parte, se ha reportado que la administración de HC bovina a ratones *lit* y *snell*, deficientes en esta hormona, durante los primeros meses de vida postnatal, restaura el crecimiento neuronal³⁴. De esta manera, es claro que la HC tiene un papel relevante desde el inicio del desarrollo embrionario y en especial del SNC.

HC y Aprendizaje-Memoria.

Estudios recientes sugieren un papel relevante de la HC en la regulación de la proliferación, sobrevivencia y diferenciación de células neurales. Experimentos *in vitro* han demostrado un efecto mitogénico de la HC sobre cultivos primarios de neuronas corticales³⁵, así como de precursores neuronales adultos³⁶. El mismo efecto se ha observado en líneas celulares de origen

neural³⁷. Además, la HC regula negativamente la diferenciación neuronal. La supresión de la diferenciación neuronal por parte de esta proteína es mediada por la proteína SOCS2³⁸. Aun cuando la HC parece inhibir la diferenciación neuronal, esta hormona estimula el crecimiento axonal³⁹ lo cual podría ser importante en la regeneración y conexión de los circuitos neuronales. *In vivo*, la administración sistémica de HC en ratas intactas o hipofisectomizadas estimula la proliferación celular en varias regiones del cerebro incluyendo al hipocampo⁴⁰. El hecho de que la HC regule la biología de células en esta región cerebral relacionada con la adquisición del aprendizaje y la memoria y que incluye a la región neurogénica del giro dentado, ha sugerido la participación de esta hormona en la adquisición y/o mantenimiento de estos procesos cognitivos. Interesantemente, la disminución de los niveles plasmáticos de la HC durante el envejecimiento está relacionada con un deterioro sistémico del organismo que a nivel del SNC se caracteriza por disminución en los sitios de unión de esta hormona en el plexus coroideo, hipotálamo, hipocampo, hipófisis y estriado⁴¹. Funcionalmente, la disminución de los niveles plasmáticos de la HC en el envejecimiento se relaciona con la pérdida de memoria, dificultad para aprender, cambios de humor y alteraciones metabólicas. El tratamiento con la HC en los pacientes deficientes a la misma corrige en cierta medida estos trastornos^{42, 43, 44, 45}.

El papel de la HC en el aprendizaje se ha sugerido también de manera indirecta al estudiar modelos animales en los que la ausencia de la hormona o su receptor producen alteraciones en el aprendizaje de ratas o ratones⁴⁶ o bien la demostración de daño cognitivo en pacientes con acromegalia⁴⁷. Del mismo modo, el tratamiento de pacientes con deficiencia de la HC (HCD) mejora el desempeño de los mismos en pruebas cognitivas⁴⁸. Por otra parte, la administración de la hormona en animales hipofisectomizados mejora su desempeño en pruebas de aprendizaje y memoria espacial como el laberinto acuático de Morris^{49, 50}. Más aun, el mejoramiento del aprendizaje en estos animales está relacionado con una regulación del receptor para el N-metil-D- aspartato (NMDA) un componente esencial en el proceso de potencialización de largo plazo, fenómeno relacionado con la adquisición de memoria⁵¹. Recientemente, Esteban y colaboradores (2010) demostraron que el mejoramiento del aprendizaje en ratas ancianas estimulado por la HC está relacionado con la regulación positiva de neurotransmisores como la serotonina, dopamina y noradrenalina⁵². Asimismo, el tratamiento con la HC regula positivamente la actividad electrofisiológica del hipocampo⁵³. En conjunto estos resultados sugieren un papel relevante de la HC en el mantenimiento de las capacidades cognitivas a lo largo de la vida.

Papel de la HC como neuroprotector.

El uso de la HC como agente protector de daño celular se ha reportado en diferentes tipos celulares y contra diferentes agentes dañinos^{54, 55}. En el SNC, la actividad protectora de la HC tiene al parecer dos funciones principales: 1) Como regulador del desarrollo embrionario y 2) Como agente protector ante un daño neuronal. Con respecto a la primera opción, Sanders y colaboradores (2009) han reportado la síntesis local de una variante de HC con actividad anti-apoptótica durante el desarrollo de la retina de pollo⁵⁶. En este sistema, la HC disminuyó la expresión de las caspasas 3 y 9 sugiriendo una regulación directa sobre la apoptosis en la retina^{56, 57}. Adicionalmente, la HC se encuentra presente en los axones de las células del ganglio retinal, sugiriendo un papel de esta hormona no solo en la sobrevivencia sino como una guía para el crecimiento axonal. Es claro entonces que al menos en el modelo de embriones de pollo, el papel de la HC durante el desarrollo embrionario es el de regular la muerte celular que sabemos ocurre de manera natural durante este proceso. El mismo efecto antiapoptótico podría ser relevante para la sobrevivencia de precursores neuronales de embrión de ratón⁵⁸. El mecanismo anti-apoptótico de la HC no es completamente claro, aunque se ha reportado que esta hormona regula la expresión de proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2 y Bag-1 y la regulación del factor de transcripción nuclear (NF-κB) el cual se ha relacionado con la sobrevivencia celular^{59, 60, 61}. Es posible que el efecto anti-apoptótico de la HC se lleve a cabo indirectamente a través del IGF-I quien finalmente regula las vías de señalización que median la muerte celular⁶¹. En apoyo del papel protector de la HC, se ha reportado que la deficiencia de esta hormona en el organismo produce una disminución de la sobrevivencia de los precursores neuronales en el giro dentado del hipocampo en animales adultos, reforzando la hipótesis de un papel de esta hormona en el mantenimiento de la neurogénesis a través de una actividad antiapoptótica⁶².

Por otra parte, el efecto de la HC sobre la sobrevivencia neuronal tiene implicaciones como agente neuroprotector en diferentes condiciones cerebrales adversas como la hipoxia/isquemia o el edema⁶³. Interesantemente, la HC es capaz de reaccionar específicamente a un daño cerebral mediante la expresión de su receptor en la zona dañada, lo que podría indicarle a esta hormona donde debe actuar⁶⁴. Asimismo, el daño cerebral después de hipoxia en animales de laboratorio o en pacientes con infarto cerebral estimula la neurogenesis sugiriendo que la respuesta del cerebro ante el daño consiste en la generación de nuevas neuronas que deberán migrar a las regiones afectadas. Las células recién producidas en la zona subgranular, una de las zonas neurogénicas del cerebro, migran hacia el estriado en donde se diferencian en neuronas que sustituyen a las neuronas dañadas⁶⁵. Dado que la HC se

ha relacionado con la regulación de la neurogénesis, es posible que esta hormona regule de la misma manera la formación de nuevas neuronas en el cerebro dañado. El principal efecto de esta hormona parece ser el mantenimiento de la sobrevivencia de las nuevas neuronas producidas más que el aumento en el número de las mismas. Estos resultados coinciden con aquellos trabajos en los que se ha demostrado un incremento inicial en la tasa de proliferación estimulado por la HC pero que finalmente se traduce en una mayor tasa de sobrevivencia de las neuronas producidas⁶⁶. El papel neuroprotector de la HC no sólo se ha demostrado en el daño por hipoxia/isquemia sino en otros modelos de estrés celular como el producido en animales con privación de sueño, en donde la HC es capaz de contrarrestar el efecto negativo de la privación a través de un aumento en la sobrevivencia de las neuronas del giro dentado del hipocampo⁶⁶. De esta manera, el efecto neuroprotector de la HC parece jugar un doble papel en el organismo, como regulador del desarrollo embrionario y como parte del sistema de reparación ante el daño cerebral.

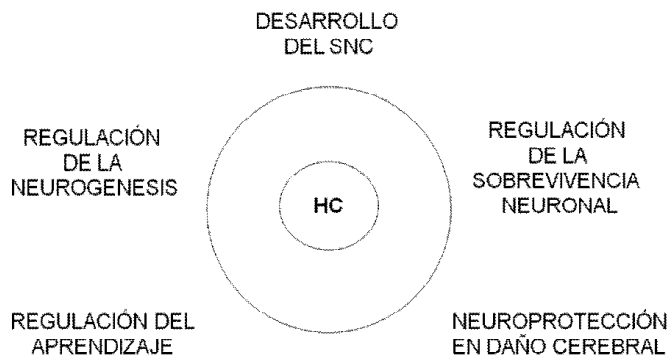


Figura 1. Principales acciones de la HC sobre el SNC. La HC es sintetizada localmente en el SNC en donde ejerce sus efectos directa o indirectamente.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo a CRS a través de la beca de doctorado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) número 235106.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vijayakumar A, Novosyadlyy R, Wu YJ, Yakar S, Derek L. Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Growth Horm IGF Res* 2010; 20:1-7.
2. Harvey S. Extrapituitary growth hormone. *Endocrine* 2010; 38:335-359.
3. Harvey S and Hull K. Neural growth hormone. An update. *J Mol Neurosci* 2003; 20:1-13.
4. Lichanska AM, Waters MJ. New Insights into growth hormone receptor function and clinical implications. *Horm Res* 2008; 69:138-145.
5. Chapman GE, Rogers KM, Brittain T, Bradshaw RA, Bates OJ, Turner C.

- The 20,000 molecular weight HC variant of human growth hormone. *J Biol Chem* 1981; 256: 2395-2401.
6. Peterson FC, Brooks CL. Different elements of mini-helix-I are required for human growth hormone or prolactin action via the prolactin receptor. *Protein Eng Des Sel* 2004; 17: 417-424.
7. Juárez-Aguilar E, Muñozledo-Castro F, Rodríguez-Guerra NE, Reséndez-Pérez D, y col. Functional domains of human growth hormone necessary for the adipogenic activity of hHC/hPL chimeric molecules. *J Cell Sci* 1999; 112: 3127-3135.
8. Juárez-Aguilar, Castro-Muñozledo F. 22-kDa and 20-kDa hHC isoforms show differential effects when assayed in 3T3-F442A and 3T3-F442A/CA adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217: 28-33.
9. Arámburo C, Luna M, Carranza M, Reyes M, Martínez-Coria H. Growth hormone size variants: changes in the pituitary during development of the chicken. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 233: 67-74.
10. Harvey S, Lavelin I, Pines M. Growth hormone (GH) action in the brain. *J Mol Neurosci* 2002; 18: 89-95
11. De Vos AM, Ultsch M, Mulkerrin MG, Wells JA. Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecule. *Science* 1991; 254: 821-857.
12. Brown RJ, Adams JJ, Pelekanos RA, Wan Y, McKinstry WJ, Palethorpe K. Model for growth hormone receptor activation based on subunit rotation within a receptor dimer. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12: 814-821.
13. Eijndez M, Lahaye LL, Strous GJ. Disulfide bonds determine growth hormone receptor folding, dimerization and ligand binding. *J Cell Sci* 2006; 119: 3078-3086.
14. Baumann G. Growth hormone binding protein 2001. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14:355-375.
15. Wells JA. Biding in the growth hormone receptor complex. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 938: 1-6.
16. Cunninham BC, Ultsch M, De Vos AM, Mulkerrin MG, Clauser KR, Wells JA. Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecule. *Science* 1991; 254: 821-825.
17. Fuh G, CunninHCam BC, Fukunaga R, Nagata S, Goeddel DV, Wells JA. Rational design of potent antagonists to the human growth hormone receptor. *Science* 1992; 256: 1677-1680.
18. Yang N, Xiangdong W, Jing J, Stuart JF. Role of growth hormone (HC) receptor transmembrane domain in receptor predimerization and HC-induced activation. *Mol Endocrinol* 2007; 21:1642-1655.
19. Yang N, Langenheim JF, Wang X, Jiang J, Chen WY, Frank SJ. Activation of growth hormone receptors by growth hormone and growth hormone antagonist dimmers. *Mol Endocrinol* 2008; 22:978-988.
20. Frank SJ. Receptor dimerization in HC and erythropoietin action –it takes two to tango, but how? *Endocrinology* 2002; 143: 2-10.
21. Waters MJ, Hoang HN, Fairlie DP, Pelekanos RA, Brown RJ. New insights into growth hormone action. *J Mol Endocrinol* 2006; 36: 1-7.
22. Goujon L, Allevato G, Simonin G, Paquereau L, Le Cam A, Clark J, y col. Cytoplasmic sequences of the growth hormone receptor necessary for signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 91:957-961.
23. Pantaleon M, Whiteside EJ, Harvey MB, Barnard RT, Waters MJ, Kaye PL. Functional growth hormone (GH) receptors and GH are expressed by preimplantation mouse embryos: A role for GH in early embryogenesis? *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:5125-5130.
24. Zhai Q, Lai Z, Roos P, Nyberg F. Characterization of growth hormone binding sites in rat brain. *Acta Paediatr Suppl* 1994; 406:92-95.
25. Lai Z, Roos P, Zhai O, Olsson Y, Höhlenhag K, Larsson C, Nyberg F. Age-related reduction of human growth hormone-binding sites in the human brain. *Brain Res.* 1993; 621:260-266.
26. Minami S, Kamegai J, Hasegawa O, Sugihara H, Okada K, Wakabayashi I. Expression of growth hormone receptor gene in rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 1993; 5:691-696.

27. Donahue CP, Kosik KS, Shors TJ. Growth hormone is produced within the hippocampus where it responds to age, sex, and stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 6031–6036.
28. Palacios N, Sánchez-Franco F, Sánchez L, Sánchez-Grandes M, Cacicedo L. Acciones neurotróficas de la hormona de crecimiento durante el desarrollo y envejecimiento cerebral. *Mapfre Medicina* 2005; 16:195–208.
29. Nyberg F. Growth hormone in the brain: characteristics on specific brain targets for the hormone and their functional significance. *Front Neuroendocrinol* 2000; 21: 330–348.
30. Ransome MI, Turnley AM. Analysis of neuronal subpopulations in mice over-expressing suppressor of cytokine signaling-2. *Neuroscience* 2005; 132: 673–687.
31. Pelton EW, Grindeland RE, Young E, Bass NH. Effects of immunologically induced growth hormone deficiency on myelinogenesis in developing rat cerebrum. *Neurology* 1977; 27:282–288.
32. Noguchi T. Effects of growth hormone on cerebral development: morphological studies. *Horm Res* 1996; 45:5–17.
33. Noguchi T, Sugiasaki T, Tsukada Y. Microcephalic cerebrum with hypomyelination in the growth hormone-deficient mouse (lit). *Neurochem Res* 1985; 10:1097–1106.
34. Noguchi T, Sugiasaki T, Tsukada Y. Stimulation of Snell dwarf mouse neuronal growth by GH and T4. *Neurochem Pathol* 1984; 2:123–138.
35. Ajo R, Cacicedo L, Navarro C, Sánchez-Franco F. Growth hormone action on proliferation and differentiation of cerebral cortical cells from fetal rat. *Endocrinology* 2003, 144; 1086–1097.
36. McLenachan S, Lum MG, Waters MJ, Turnley AM. Growth hormone promotes proliferation of adult neurosphere culture. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19:212–218.
37. Lyuh E, Kim HJ, Kim M, Lee JK, Park KS, Yoo KY, Lee KW, Ahn YO. Dose-specific or dose-dependent effect of growth hormone treatment on the proliferation and differentiation of cultured neuronal cells. *Growth Horm IGF Res* 2007, 17:315–322.
38. Scott HJ, Stebbing MJ, Walters CE, McLenachana S, Ransome MI, Nichol NR, Turnley AM. Differential effects of SOCS2 on neuronal differentiation and morphology. *Brain Res* 2006; 1067: 138–145.
39. Baudet ML, Rattray D, Martin BT, Harvey S. Growth hormone promotes axon growth in the developing nervous system. *Endocrinology* 2009; 150: 2758–2766.
40. Aberg ND, Johansson I, Aberg MAI, Lind J, Johansson UE, Cooper-Kuhn CM, Kuhn HG, Isgaard J. Peripheral administration of GH induces cell proliferation in the brain of adult hypophysectomized rats. *J Endocrinol* 2009; 201:141–150.
41. Velasco B, Cacicedo L, Escalada J, López-Fernández J, Sánchez-Franco F. Growth hormone gene expression and secretion in aging rats is age dependent and not age-associated weight increase related. *Endocrinology* 1998; 139: 314–320.
42. Forshee BA. The aging brain: is function dependent on growth hormone/insulin-like growth factor-1 signaling. *Age* 2006; 28:173–180.
43. Burger C. Region-specific genetic alterations in the aging hippocampus: implications for cognitive aging. *Front Aging Neurosci* 2010; 2:1–12.
44. Van Nieuwpoort IC, Drent ML. Cognition in the adult with childhood-onset GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 2008; 159: S53–S57.
45. Le Greves M, Le Greves P, Nyberg F. Age-related effects of IGF-1 on the NMDA-, GH- and IGF-1-receptor mRNA transcripts in the rat hippocampus. *Brain Res Bull* 2005; 65:369–374.
46. Li E, Kim DH, Cai M, Lee S, Kim Y, Lim E, Ryu JH, Unterman TG, Park S. Hippocampus-dependent spatial learning and memory are impaired in growth hormone-deficient spontaneous dwarf rats. *Endocrine J* 2011; 58: 257–267.
47. Leon-Carrion J, Martin-Rodríguez JF, Madrazo-Atutxa A, Soto-Moreno A, Venegas-Moreno E, Torres-Vela E, Benito-López P, Angeles-Galvez M, Tinahones FJ, Leal-Cerro A. Evidence of cognitive and neurophysiological impairment in patients with untreated naive acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95:4367–4379.
48. Sathivageeswaran M, Burman P, Lawrence D, Harris AG, Falletti MG, Maruff P, Wass J. Effects of GH on cognitive function in elderly patients with adult-onset GH deficiency: a placebo-controlled 12-month study. *Eur J Endocrinol* 2007; 156:439–447.
49. Le Greves M, Zhou Q, Berg M, Le Greves P, Hölenhag K, Meyerson B, Nyberg F. Growth hormone replacement in hypophysectomized rats affects spatial performance and hippocampal levels of NMDA receptor subunit and PSD-95 gene transcript levels. *Exp Brain Res* 2006; 173: 267–273.
50. Park SW, Shin S, Kim CH, Ko A, Kwak MJ, Nam MH, Park SY, Kim SJ, Sohn YB, Galinsky RE, Kim H, Yeo Y, Jin DK. Differential effects of insufflated, subcutaneous, and intravenous growth hormone on bone growth, cognitive function, and NMDA receptor subunit expression. *Endocrinology* 2010; 151:4418–4427.
51. Le Greves M, Steensland P, Le Greves P, Nyberg F. Growth hormone induces age-dependent alteration in the expression of hippocampal growth hormone receptor and N-methyl-D-aspartate receptor subunits gene transcripts in male rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:7119–7123.
52. Esteban S, Garau C, Aparicio S, Moranta D, Barcelo P, Ramis M, Tresguerres JAF, Rial R. Improving effects of long-term growth hormone treatment on monoaminergic neurotransmission and related behavioral tests in aged rats. *Rejuvenation Res* 2010; 13:707–715.
53. Ghada S. Mahmoud and Lawrence M. Grover. Growth hormone enhances excitatory synaptic transmission in area CA1 of rat hippocampus. *J Neurophysiol* 2006; 95:2962–2974.
54. Madrid O, Varea S, Sánchez-Pérez I, Gómez-García L, De Miguel E, Gómez de Segura IA, Perona R. Growth hormone protects against radiotherapy-induced cell death. *Eur J Endocrinology* 2002; 147: 535–541.
55. Isla A, Budke M, Cacicedo L, García-Grande A, Vázquez-Rodríguez I, de Miguel E, Pérez-Álvarez M. Protective effects of growth hormone in cell cultures of the central nervous system. *Rev Neurol* 2002; 34: 208–211.
56. Sanders EJ, Parker E, Harvey S. Endogenous growth hormone in human retinal ganglion cells correlates with cell survival. *Mol Vision* 2009; 15:920–926.
57. Harvey S, Baudet ML, Sanders EJ. Growth hormone-induced neuroprotection in the neural retina during chick embryogenesis. *Ann NY Acad Sci* 2009; 1163:414–416.
58. Regalado Santiago C, Lopez Meraz ML, Juarez Aguilar E. Growth hormone regulates survival of primary cultures of embryonic neural precursor. *Mol Biol Cell* 2011; 22: 2068.
59. Jeay S, Sonenshein GE, Postel-Vinay MC, Baixeras E. Growth hormone prevents apoptosis through activation of nuclear factor-kB in interleukin-3-dependent Ba/F3 cell line. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 650–661.
60. Jeay S, Sonenshein GE, Kelly PA, Postel-Vinay MC, Baixeras E. Growth hormone exerts antiapoptotic and proliferative effects through two different pathways involving nuclear factor-kB and phosphatidylinositol 3-kinase. *Endocrinology* 2001; 142:147–156.
61. Frago LM, Pañeda C, Dickson SL, Hewson AK, Argente J, Chowen JA. Growth hormone (GH) and GH-releasing peptide-6 increase brain insulin-like growth factor-I expression and activate intracellular signaling pathways involved in neuroprotection. *Endocrinology* 2002; 143:4113–4122.
62. Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Sonntag WE, Riddle DR. Adult-onset deficiency in growth hormone and insulin-like growth factor-I decreases survival of dentate granule neurons: Insights into the

- regulation of adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci Res* 2006; 83:199–210.
63. Han TR, Chun MH, Jang DH, Kim KS, Lim KH, Cho HJ. Neuroprotective effects of growth hormone against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: 1H magnetic resonance spectroscopic study. *J Korean Med Sci* 2007; 22: 122-126.
64. Christophidis LJ, Gorba T, Gustavsson M, Williams CE, Werther GA, Russo VC, Scheepens A. Growth hormone receptor immunoreactivity is increased in the subventricular zone of juvenile rat brain after focal ischemia: A potential role for growth hormone in injury-induced neurogenesis. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19:497–506.
65. Lichtenwalner RJ, Parent JM. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 1–20
66. García-García F, De la Herrán-Aritab AK, Juárez-Aguilar E, Regalado-Santiago C, Millán-Aldaco D, Blanco-Centurión C, Drucker-Colín R. Growth hormone improves hippocampal adult cell survival and counteracts the inhibitory effect of prolonged sleep deprivation on cell proliferation. *Brain Res Bull* 2011; 84:252–257.