



Universidad  
de La Laguna

Escuela de Doctorado  
y Estudios de Posgrado

## TÍTULO DE LA TESIS DOCTORAL

Modulación colinérgica del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal y de la función somatotrópica en la diabetes mellitus tipo 1

---

### AUTOR/A

JESUS MANUEL

PEREZ

LUIS

---

### DIRECTOR/A

JUDITH MARIA

LOPEZ

FERNANDEZ

---

### CODIRECTOR/A

---

## DEPARTAMENTO O INSTITUTO UNIVERSITARIO

---

## FECHA DE LECTURA

16/12/16

---

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**SECCIÓN DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

***Modulación Colinérgica de la Actividad  
del Eje Hipotálamo-Hipófiso-Adrenal  
y de la Función Somatotrópica en  
la Diabetes Mellitus tipo 1***

Directora: Judit María López Fernández  
Codirector: Francisco Javier Salvador Rodríguez

Memoria presentada por D. Jesús Manuel Pérez Luis para optar al grado de Doctor en Medicina.

La Laguna, octubre de 2016



## AGRADECIMIENTOS

En la realización de la presente tesis doctoral han colaborado numerosas personas, a las que deseo manifestar mi agradecimiento.

Al Dr. D. Francisco Javier Salvador Rodríguez, Profesor Titular de Endocrinología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Navarra y Jefe del Departamento de Endocrinología de la Clínica Universitaria de Navarra, por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección, por su asistencia en la elaboración del proyecto de investigación, por su contribución y confianza en mi trabajo.

A la Dra. Dña. Judit María López Fernández, Profesora Asociada de Endocrinología de la Facultad de Ciencias de la Salud, Sección de Medicina, de la Universidad de La Laguna y Médico Adjunto del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario de Canarias, por su apoyo logístico, colaboración y entusiasmo durante la redacción de la memoria.

Al Dr. D. Luis Morcillo Herrera, por su contribución en la búsqueda de financiación y respaldo logístico durante la realización de las pruebas hormonales, y al Dr. D. Ignacio Llorente Gómez de Segura, por su aporte en la elaboración del proyecto y en la metodología de trabajo.

Al Laboratorio de Hormonas del Hospital Universitario de Canarias, en especial a los doctores D. Cándido González García y D. Antonio Milena Abril, a los enfermeros D. José Ángel González González, Dña. Ana María Agüeros Martínez y Dña. María del Carmen Ávila León, y la técnico de laboratorio Dña. Carmen Rosa Abadía Benítez, por su experiencia y profesionalidad en la realización de las pruebas endocrinológicas y determinaciones hormonales.

A D. Alejandro Jiménez Sosa de la Unidad de Investigación por su asesoramiento estadístico y dedicación en el análisis de datos.

Y a los sujetos participantes, tanto controles sanos como pacientes diabéticos, sin cuya participación voluntaria y altruista el presente estudio no se habría podido realizar.

Y por último a los laboratorios Pfizer por la beca concedida para la realización de los estudios hormonales.

----- oOo -----

Dedico esta tesis a todas las personas que con su amor y dedicación han contribuido a mi desarrollo personal y profesional y, en especial, a la realización del presente trabajo.

# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| <b><u>INTRODUCCIÓN</u></b> .....                                  | 23 |
| <b>1. EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-ADRENAL</b> .....                   | 25 |
| 1.1. HORMONA LIBERADORA DE CORTICOTROPINA (CRH) .....             | 26 |
| 1.1.1. Bioquímica de la CRH .....                                 | 26 |
| 1.1.2. Síntesis y distribución de la CRH .....                    | 26 |
| 1.1.3. Mecanismo de acción de la CRH .....                        | 27 |
| 1.1.4. Efectos sobre las hormonas hipofisarias .....              | 28 |
| 1.1.5. Efectos extrahipofisarios .....                            | 29 |
| 1.1.6. CRH como principal regulador de la secreción de ACTH ..... | 31 |
| 1.1.7. Antagonistas de la CRH .....                               | 32 |
| 1.1.8. CRH en plasma .....  | 32 |
| 1.2. HORMONA ADRENOCORTICOTROPA (ACTH) .....                      | 33 |
| 1.2.1. Células corticotropas .....                                | 33 |
| 1.2.2. Biosíntesis de la ACTH .....                               | 34 |
| 1.2.3. Secreción de la ACTH .....                                 | 35 |
| 1.2.4. Mecanismo de acción de la ACTH .....                       | 36 |
| 1.2.5. Acciones de la ACTH .....                                  | 37 |
| 1.2.6. Determinación de la ACTH y niveles plasmáticos .....       | 38 |
| 1.3. CORTISOL .....   | 39 |
| 1.3.1. Sustrato de colesterol .....                               | 39 |
| 1.3.2. Síntesis del cortisol .....                                | 40 |
| 1.3.3. Transporte y metabolismo del cortisol .....                | 41 |
| 1.3.4. Mecanismos de acción del cortisol .....                    | 42 |
| 1.3.5. Acciones del cortisol .....                                | 43 |

|   |    |
|---|----|
| 1.3.6. Secreción, niveles plasmáticos y determinación .....               | 45 |
| 1.4. RESPUESTA NEUROENDOCRINA AL ESTRÉS Y<br>REGULACIÓN DEL EJE HHA ..... | 45 |
| 1.4.1. Regulación neuronal del eje HHA .....                              | 46 |
| 1.4.2. Regulación endocrina del eje HHA .....                             | 48 |
| 1.4.2.1. CRH .....  | 49 |
| 1.4.2.2. Arginina vasopresina (AVP) .....                                 | 49 |
| 1.4.2.3. Otros factores estimulatorios del eje HHA .....                  | 50 |
| A) Vía colinérgica .....  | 50 |
| B) Angiotensina II .....  | 51 |
| C) Catecolaminas .....  | 51 |
| D) Neuropeptido Y .....   | 53 |
| E) Colecistoquinina .....   | 53 |
| F) Citoquinas .....   | 54 |
| G) Serotonina .....   | 55 |
| H) Histamina .....  | 56 |
| I) VIP .....  | 57 |
| J) Grelina .....  | 57 |
| 1.4.2.4. Factores inhibitorios del eje HHA .....                          | 58 |
| A) Oxitocina .....  | 58 |
| B) $\beta$ -Endorfina .....   | 58 |
| C) Ácido $\gamma$ -aminobutírico .....                                    | 59 |
| D) Somatostatina .....  | 60 |
| E) Péptido atrial natriurético .....                                      | 61 |
| F) Leptina .....  | 61 |
| G) Sustancia P .....  | 62 |
| H) Sistema endocannabinoide .....   | 62 |

|   |           |
|---|-----------|
| I) Prepro-TRH .....   | 62        |
| J) Oxido nitroso .....  | 63        |
| 1.4.2.5. Retroalimentación negativa de los glucocorticoides .....   | 63        |
| 1.4.2.6. Ritmo circadiano .....                                     | 66        |
| 1.4.2.7. Respuesta al estrés y eje neuroendocrino-inmunológico .... | 68        |
| <b>2. EJE HORMONAL SOMATOTRÓPICO .....</b>                          | <b>69</b> |
| 2.1. HORMONA DE CRECIMIENTO .....                                   | 69        |
| 2.1.1. Somatotropos .....   | 69        |
| 2.1.2. Gen de la GH .....   | 69        |
| 2.1.3. Formas circulantes de la GH .....                            | 70        |
| 2.1.4. Secreción de la GH .....                                     | 70        |
| 2.1.5. Proteínas transportadoras de la GH .....                     | 76        |
| 2.1.6. Receptor de la GH .....                                      | 76        |
| 2.1.7. Acciones de la GH .....                                      | 77        |
| 2.2. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GH .....                         | 79        |
| 2.2.1. GHRH .....   | 79        |
| 2.2.2. Somatostatina (SS) .....                                     | 79        |
| 2.2.3. Grelina .....  | 80        |
| 2.2.4. Obestatina .....   | 81        |
| 2.2.5. Otros factores reguladores .....                             | 82        |
| 2.2.5.1. Glucocorticoides .....                                     | 82        |
| 2.2.5.2. Hormonas sexuales .....                                    | 82        |
| 2.2.5.3. Catecolaminas .....  | 83        |
| 2.2.5.4. Acetilcolina .....   | 84        |
| 2.2.5.5. Leptina .....  | 84        |
| 2.2.5.6. Opioides endógenos .....                                   | 84        |



|   |            |
|---|------------|
| 2.2.5.7. Endocannabinoides .....  | 85         |
| 2.2.5.8. Otros neuropéptidos .....  | 85         |
| 2.2.5.9. Circuitos de retroalimentación .....   | 86         |
| 2.3. IGF-1 E IGFBP .....  | 86         |
| 2.3.1. IGF-1 .....  | 86         |
| 2.3.2. Gen del IGF-1 .....  | 88         |
| 2.3.3. Receptores del IGF-1 .....   | 88         |
| 2.3.4. Proteínas transportadoras de los IGF .....   | 88         |
| 2.3.5. Regulación del IGF-1 circulante .....  | 89         |
| 2.3.6. Efectos del IGF-1 .....  | 90         |
| 2.3.7. Mecanismos de acción del IGF-1 .....   | 91         |
| <b>3. EL SISTEMA COLINÉRGICO EN LA REGULACIÓN DEL<br/>EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO .....</b>     | <b>92</b>  |
| 3.1. SISTEMA COLINÉRGICO Y EJE HHA .....  | 92         |
| 3.1.1. Estudios <i>in vitro</i> con hipófisis .....   | 93         |
| 3.1.2. Estudios <i>in vitro</i> con hipotálamo .....  | 93         |
| 3.1.3. Estudios en animales <i>in vivo</i> .....  | 95         |
| 3.1.4. Estudios en humanos .....  | 96         |
| 3.2. SISTEMA COLINÉRGICO Y EJE SOMATOTRÓPICO .....  | 99         |
| 3.2.1. Estimulación del eje somatotrópico por colinérgicos .....                                | 99         |
| 3.2.2. Mecanismos de acción .....   | 100        |
| <b>4. EFECTOS DE LA NICOTINA Y DEL TABACO SOBRE<br/>EL EJE HHA Y EL EJE SOMATOTRÓPICO .....</b> | <b>103</b> |
| 4.1. RESPUESTA AGUDA DEL EJE HHA AL CONSUMO DE<br>TABACO .....                                  | 103        |

|   |            |
|---|------------|
| 4.2. EJE HHA EN FUMADORES CRÓNICOS .....  | 104        |
| 4.3. MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DEL EJE HHA POR LA<br>NICOTINA .....                              | 105        |
| 4.4. RESPUESTA DEL EJE SOMATOTRÓPICO AL TABACO<br>Y A LA NICOTINA .....                         | 107        |
| <b>5. ALTERACIONES DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO<br/>EN LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 .....</b> | <b>109</b> |
| 5.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y EJE HHA .....   | 109        |
| 5.1.1. Alteraciones del eje HHA en la DM-1 .....  | 109        |
| 5.1.2. Consecuencias clínicas de la alteración del eje HHA .....                                | 111        |
| 5.1.2.1. Efectos sobre el control metabólico .....  | 111        |
| 5.1.2.2. Efecto sobre las complicaciones microvasculares .....                                  | 113        |
| 5.1.2.3. Eje HHA y sistema colinérgico en la DM-1 .....   | 114        |
| 5.2. DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y EJE SOMATOTRÓPICO .....   | 114        |
| 5.2.1. Alteraciones del eje somatotrópico en la DM-1 .....                                      | 114        |
| 5.2.1.1. Defectos en la secreción de GH .....   | 114        |
| 5.2.1.2. Defectos en la acción de GH .....  | 116        |
| 5.2.2. Consecuencias clínicas de la alteración del eje somatotrópico .....                      | 119        |
| 5.2.2.1. Efectos sobre el control metabólico .....  | 119        |
| 5.2.2.2. Efectos sobre el crecimiento somático .....  | 120        |
| 5.2.2.3. Efectos sobre las complicaciones microvasculares .....                                 | 121        |
| 5.2.3. Eje somatotrópico y sistema colinérgico en la DM-1 .....                                 | 122        |
| 5.2.4. Tabaco y ejes HHA y somatotrópico en la DM-1 .....                                       | 124        |
| <b><u>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</u> .....</b>   | <b>127</b> |

|  |     |
|--|-----|
| <b><u>SUJETOS Y MÉTODOS</u></b> .....                          | 131 |
| <b>1. SUJETOS DE ESTUDIO</b> .....                             | 133 |
| <b>2. PROCEDIMIENTOS</b> .....                                 | 137 |
| 2.1. PROTOCOLO DEL ESTUDIO .....                               | 137 |
| 2.2. METODOLOGÍA DE LAS PRUEBAS .....                          | 137 |
| 2.2.1. Tests Salinos .....                                     | 139 |
| 2.2.1.1. Test Salino Basal (SPB) .....                         | 139 |
| 2.2.1.2. Test Salino Piridostigmina (SPD) .....                | 140 |
| 2.2.2. Tests GHRH .....  | 142 |
| 2.2.2.1. Test GHRH Basal (GPB) .....                           | 142 |
| 2.2.2.2. Test GHRH Piridostigmina (GPD) .....                  | 143 |
| 2.3. TÉCNICA DE RECOGIDA DE MUESTRAS .....                     | 144 |
| <b>3. TÉCNICAS DE LABORATORIO</b> .....                        | 145 |
| 3.1. CORTISOL LIBRE URINARIO (CLU) .....                       | 145 |
| 3.2. ACTH .....  | 145 |
| 3.3. CORTISOL .....  | 146 |
| 3.4. HORMONA DE CRECIMIENTO (GH) .....                         | 146 |
| <b>4. PARÁMETROS DE MEDIDA Y METODOLOGÍA ESTADÍSTICA</b> ..... | 147 |
| 4.1 TESTS SALINO BASAL Y SALINO PIRIDOSTIGMINA .....           | 147 |
| 4.1.1. Evaluación de parámetros en cada prueba .....           | 147 |
| 4.1.2. Comparaciones establecidas .....                        | 149 |
| 4.2. TESTS GHRH BASAL Y GHRH PIRIDOSTIGMINA .....              | 150 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2.1. Evaluación de parámetros en cada prueba .....   | 150 |
| 4.2.2. Comparaciones establecidas .....  | 151 |
| 4.3. CORRELACIONES .....   | 152 |
| <b><u>RESULTADOS</u></b> .....   | 153 |
| <b>1. ESTUDIOS BASALES</b> .....   | 157 |
| 1.1. CORTISOL LIBRE URINARIO (CLU) .....   | 159 |
| <b>2. TESTS SALINOS</b> .....  | 161 |
| 2.1. ACTIVIDAD BASAL DEL EJE HHA Y SOMATOTRÓPICO:<br>TEST SALINO BASAL (SPB) .....   | 161 |
| 2.1.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....  | 163 |
| 2.1.1.1. ACTH .....  | 163 |
| 2.1.1.2. Cortisol .....  | 163 |
| 2.1.1.3. GH .....  | 163 |
| 2.1.1.4. Glucosa .....   | 164 |
| 2.1.2. Diabéticos versus controles .....   | 164 |
| 2.1.2.1. ACTH .....  | 164 |
| 2.1.2.2. Cortisol .....  | 166 |
| 2.1.2.3. GH .....  | 169 |
| 2.1.2.4. Glucosa .....   | 172 |
| 2.2. MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA SECRECIÓN<br>BASAL DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO:<br>TEST SALINO PIRIDOSTIGMINA (SPD) ..... | 175 |
| 2.2.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....  | 177 |
| 2.2.1.1. ACTH .....  | 177 |
| 2.2.1.2. Cortisol .....  | 177 |

|  |            |
|--|------------|
| 2.2.1.3. GH .....  | 177        |
| 2.2.1.4. Glucosa .....   | 177        |
| 2.2.2. Diabéticos versus controles .....   | 178        |
| 2.2.2.1. ACTH .....  | 178        |
| 2.2.2.2. Cortisol .....  | 180        |
| 2.2.2.3. GH .....  | 182        |
| 2.2.2.4. Glucosa .....   | 185        |
| <b>2.3. MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA SECRECIÓN<br/>BASAL DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO:<br/>TEST SALINO BASAL VERSUS TEST SALINO PD .....</b> | <b>187</b> |
| 2.3.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....  | 189        |
| 2.3.1.1. En fumadores .....  | 189        |
| 2.3.1.1.1. ACTH .....  | 189        |
| 2.3.1.1.2. Cortisol .....  | 189        |
| 2.3.1.1.3. GH .....  | 189        |
| 2.3.1.1.4. Glucosa .....   | 189        |
| 2.3.1.2. En no fumadores .....   | 190        |
| 2.3.1.2.1. ACTH .....  | 190        |
| 2.3.1.2.2. Cortisol .....  | 190        |
| 2.3.1.2.3. GH .....  | 190        |
| 2.3.1.2.4. Glucosa .....   | 191        |
| 2.3.1.3. Comparación entre fumadores y no fumadores .....  | 191        |
| 2.3.1.3.1. ACTH .....  | 191        |
| 2.3.1.3.2. Cortisol .....  | 191        |
| 2.3.1.3.3. GH .....  | 191        |
| 2.3.1.3.4. Glucosa .....   | 192        |
| 2.3.2. Diabéticos versus controles .....   | 193        |

|  |            |
|--|------------|
| 2.3.2.1. En diabéticos .....   | 193        |
| 2.3.2.1.1. ACTH .....  | 193        |
| 2.3.2.1.2. Cortisol .....  | 195        |
| 2.3.2.1.3. GH .....  | 197        |
| 2.3.2.1.4. Glucosa .....   | 198        |
| 2.3.2.2. En controles .....  | 201        |
| 2.3.2.2.1. ACTH .....  | 201        |
| 2.3.2.2.2. Cortisol .....  | 203        |
| 2.3.2.2.3. GH .....  | 205        |
| 2.3.2.2.4. Glucosa .....   | 209        |
| 2.3.2.3. Comparación entre diabéticos y controles.....                                       | 209        |
| 2.3.2.3.1. ACTH .....  | 209        |
| 2.3.2.3.2. Cortisol .....  | 209        |
| 2.3.2.3.3. GH .....  | 210        |
| 2.3.2.3.4. Glucosa .....   | 211        |
| <b>3. TESTS GHRH .....</b>   | <b>213</b> |
| 3.1. RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A LA ADMINISTRACIÓN<br>DE GHRH: TESTS GHRH BASAL.....           | 213        |
| 3.1.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....  | 215        |
| 3.1.1.1. GH .....  | 215        |
| 3.1.1.2. Glucosa .....   | 215        |
| 3.1.2. Diabéticos versus controles .....   | 216        |
| 3.1.2.1. GH .....  | 216        |
| 3.1.2.2. Glucosa .....   | 220        |
| 3.2. MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA RESPUESTA<br>SOMATOTRÓPICA A GHRH: TEST GHRH PD ..... | 225        |

|   |            |
|---|------------|
| 3.2.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....   | 227        |
| 3.2.1.1. GH .....   | 227        |
| 3.2.1.2. Glucosa .....  | 227        |
| 3.2.2. Diabéticos versus controles .....  | 228        |
| 3.2.2.1. GH .....   | 228        |
| 3.2.2.2. Glucosa .....  | 233        |
| <b>3.3. MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA RESPUESTA<br/>SOMATOTRÓPICA A GHRH: TEST GPB VERSUS GPD .....</b> | <b>237</b> |
| 3.3.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....   | 239        |
| 3.3.1.1. En fumadores .....   | 239        |
| 3.3.1.1.1. GH .....   | 239        |
| 3.3.1.1.2. Glucosa .....  | 239        |
| 3.3.1.2. En no fumadores .....  | 240        |
| 3.3.1.2.1. GH .....   | 240        |
| 3.3.1.2.2. Glucosa .....  | 240        |
| 3.3.1.3. Comparación entre fumadores y no fumadores .....   | 240        |
| 3.3.1.3.1. Respuestas de GH a GHRH .....  | 240        |
| 3.3.1.3.2. Respuestas de glucosa a GHRH .....   | 241        |
| 3.3.2. Diabéticos versus controles.....   | 243        |
| 3.3.2.1. En diabéticos .....  | 243        |
| 3.3.2.1.1. GH .....   | 243        |
| 3.3.2.1.2. Glucosa .....  | 245        |
| 3.3.2.2. En controles .....   | 248        |
| 3.3.2.2.1. GH .....   | 248        |
| 3.3.2.2.2. Glucosa .....  | 251        |
| 3.3.2.3. Comparación entre diabéticos y controles .....   | 255        |
| 3.3.2.3.1. Respuestas de GH a GHRH .....  | 255        |

|  |            |
|--|------------|
| 3.3.2.3.2. Respuestas de glucosa a GHRH .....            | 257        |
| <b>4. COMPARACIONES ENTRE TESTS SALINOS Y GHRH .....</b> | <b>261</b> |
| 4.1. TEST SALINO BASAL VERSUS TEST GHRH BASAL .....      | 263        |
| 4.1.1. Controles: fumadores versus no fumadores.....     | 263        |
| 4.1.1.1. En fumadores.....                               | 263        |
| 4.1.1.1.1. GH .....                                      | 263        |
| 4.1.1.1.2. Glucosa .....                                 | 263        |
| 4.1.1.2. En no fumadores .....                           | 263        |
| 4.1.1.2.1. GH .....                                      | 263        |
| 4.1.1.2.2. Glucosa .....                                 | 264        |
| 4.1.1.3. Comparación entre fumadores y no fumadores..... | 264        |
| 4.1.1.3.1. GH .....                                      | 264        |
| 4.1.1.3.2. Glucosa .....                                 | 264        |
| 4.1.2. Diabéticos versus controles.....                  | 265        |
| 4.1.2.1. En diabéticos .....                             | 265        |
| 4.1.2.1.1. GH .....                                      | 265        |
| 4.1.2.1.2. Glucosa .....                                 | 267        |
| 4.1.2.2. En controles .....                              | 269        |
| 4.1.2.2.1. GH .....                                      | 269        |
| 4.1.2.2.2. Glucosa .....                                 | 271        |
| 4.1.2.3. Comparación entre diabéticos y controles.....   | 273        |
| 4.1.2.3.1. GH .....                                      | 273        |
| 4.1.2.3.2. Glucosa .....                                 | 274        |
| 4.2. TEST SALINO PD VERSUS TEST GHRH PD .....            | 275        |
| 4.2.1. Controles: fumadores versus no fumadores.....     | 277        |
| 4.2.1.1. En fumadores.....                               | 277        |



|   |     |
|---|-----|
| 4.2.1.1.1. GH .....                                       | 277 |
| 4.2.1.1.2. Glucosa .....                                  | 277 |
| 4.2.1.2. En no fumadores .....                            | 277 |
| 4.2.1.2.1. GH .....                                       | 277 |
| 4.2.1.2.2. Glucosa .....                                  | 278 |
| 4.2.1.3. Comparación entre fumadores y no fumadores ..... | 278 |
| 4.2.1.3.1. GH .....                                       | 278 |
| 4.2.1.3.2. Glucosa .....                                  | 278 |
| 4.2.2. Diabéticos versus controles.....                   | 279 |
| 4.2.2.1. En diabéticos .....                              | 279 |
| 4.2.2.1.1. GH .....                                       | 279 |
| 4.2.2.1.2. Glucosa .....                                  | 281 |
| 4.2.2.2. En controles .....                               | 283 |
| 4.2.2.2.1. GH .....                                       | 283 |
| 4.2.2.2.2. Glucosa .....                                  | 285 |
| 4.2.2.3. Comparación entre diabéticos y controles.....    | 287 |
| 4.2.2.3.1. GH .....                                       | 287 |
| 4.2.2.3.2. Glucosa .....                                  | 288 |
| <b><u>DISCUSIÓN</u></b> .....                             | 289 |
| <b>1. ESTUDIOS BASALES: CORTISOL LIBRE URINARIO.....</b>  | 291 |
| <b>2. TESTS SALINOS .....</b>                             | 293 |
| 2.1. ACTIVIDAD BASAL DEL EJE HHA Y SOMATOTRÓPICO:         |     |
| TEST SALINO BASAL (SPB) .....                             | 293 |
| 2.1.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....     | 293 |
| 2.1.2. Diabéticos versus controles .....                  | 294 |

|   |            |
|---|------------|
| 2.2. MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA SECRECIÓN<br>BASAL DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO ..... | 299        |
| 2.2.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....   | 299        |
| 2.2.2. Diabéticos versus controles .....  | 301        |
| <b>3. TESTS GHRH .....</b>  | <b>304</b> |
| 3.1. RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A LA ADMINISTRACIÓN<br>DE GHRH: TESTS GHRH BASAL .....             | 304        |
| 3.1.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....   | 304        |
| 3.1.2. Diabéticos versus controles .....  | 306        |
| 3.2. MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA RESPUESTA<br>SOMATOTRÓPICA A GHRH .....                  | 307        |
| 3.2.1. Controles: fumadores versus no fumadores .....   | 307        |
| 3.2.2. Diabéticos versus controles .....  | 308        |
| <b>4. COMPARACIONES ENTRE TESTS SALINOS Y GHRH .....</b>  | <b>310</b> |
| 4.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES .....   | 310        |
| 4.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES .....  | 311        |
| <b><u>CONCLUSIONES</u> .....</b>  | <b>313</b> |
| <b><u>APÉNDICE DE TABLAS</u> .....</b>  | <b>317</b> |
| <b><u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....</b>  | <b>343</b> |



## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

|               |   |
|---------------|---|
| <b>5-HT:</b>  | 5-Hidroxitriptamina (Serotonina).           |
| <b>Ach:</b>   | Acetil colina.                              |
| <b>ACTH:</b>  | Hormona adrenocorticotropa.                 |
| <b>AN:</b>    | Núcleo arcuato.                             |
| <b>AUC:</b>   | Área bajo la curva.                         |
| <b>AVP:</b>   | Arginina vasopresina.                       |
| <b>β-END:</b> | Beta-endorfina.                             |
| <b>β-LPH:</b> | Lipotropina.                                |
| <b>CCK:</b>   | Colecistoquinina.                           |
| <b>Cols:</b>  | Colaboradores.                              |
| <b>CRA:</b>   | Actividad estimuladora de CRH.              |
| <b>CRH:</b>   | Hormona liberadora de corticotropina.       |
| <b>DHEA:</b>  | Dehidroepiandrosterona.                     |
| <b>DM-1:</b>  | Diabetes Mellitus tipo 1.                   |
| <b>DM-2:</b>  | Diabetes Mellitus tipo 2.                   |
| <b>E:</b>     | Epinefrina.                                 |
| <b>EM:</b>    | Eminencia media hipotalámica.               |
| <b>GABA:</b>  | Ácido Gamma amino butírico.                 |
| <b>GCR:</b>   | Receptor de glucocorticoides.               |
| <b>GH:</b>    | Hormona de crecimiento.                     |
| <b>GPB:</b>   | Test GHRH basal.                            |
| <b>GPD:</b>   | Test GHRH pindolol.                         |
| <b>HA:</b>    | Histamina.                                  |
| <b>hCRH:</b>  | Péptido liberador de corticotropina humano. |
| <b>HHA:</b>   | Eje hipotálamo-hipófiso-adrenal.            |
| <b>i.c.v:</b> | Intracerebroventricular, intraventricular.  |
| <b>IA:</b>    | Incremento absoluto.                        |

|              |                                     |
|--------------|-------------------------------------|
| <b>IL:</b>   | Interleuquina.                      |
| <b>IP:</b>   | Incremento porcentual.              |
| <b>IRMA:</b> | Ensayo inmunorradiométrico.         |
| <b>J:</b>    | Péptido de conexión.                |
| <b>LCR:</b>  | Líquido cefalorraquídeo.            |
| <b>MCR:</b>  | Receptor de mineralocorticoides.    |
| <b>MSH:</b>  | Hormona estimulante de melanocitos. |
| <b>NE:</b>   | Norepinefrina.                      |
| <b>NPY:</b>  | Neuropéptido Y.                     |
| <b>NTS:</b>  | Núcleo del tracto solitario.        |
| <b>oCRH:</b> | CRH ovino.                          |
| <b>OT:</b>   | Oxitocina.                          |
| <b>Pcb:</b>  | Placebo.                            |
| <b>PD:</b>   | Piridostigmina.                     |
| <b>PM:</b>   | Pico máximo.                        |
| <b>POMC:</b> | Proopiomelanocortina.               |
| <b>PVN:</b>  | Núcleo paraventricular.             |
| <b>PZP:</b>  | Pirenzepina.                        |
| <b>RIA:</b>  | Radioinmunoensayo.                  |
| <b>SNC:</b>  | Sistema nerviosos central.          |
| <b>SON:</b>  | Núcleo supraóptico.                 |
| <b>SPB:</b>  | Test salino basal.                  |
| <b>SPD:</b>  | Test Salino Piridostigmina.         |
| <b>SS:</b>   | Somatostatina.                      |
| <b>TSH:</b>  | Hormona estimulante del tiroides.   |
| <b>VIP:</b>  | Péptido intestinal vasoactivo.      |

# INTRODUCCIÓN



## 1. EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-ADRENAL

La síntesis y liberación de glucocorticoides suprarrenales está regulada por el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA), que está constituido por el núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo, la hipófisis anterior y la corteza adrenal. El hipotálamo y la hipófisis sirven de interfaz principal entre el sistema nervioso y el sistema endocrino. Esta interfaz realiza la amplificación de las concentraciones molares, desde femto ( $10^{-15}$ ) y pico ( $10^{-12}$ ) de las hormonas hipofisotrópicas a nano ( $10^{-9}$ ) de las hormonas hipofisarias, y la atenuación temporal, desde la secreción pulsátil ultradiana de las hormonas hipofisotrópicas a los ritmos circadianos de la secreción de hormonas hipofisarias. La función de esta interfaz está modificada por retroalimentación, por lo general negativa, a través del sistema nervioso y del sistema endocrino [Marshall, 2002].

Neuronas hipofisotrópicas localizadas en la subdivisión parvocelular medial del PVN sintetizan y secretan la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que es el principal regulador del eje HHA [Vale y cols, 1981]. CRH se libera en respuesta al estrés en los vasos portales hipofisarios que acceden a la glándula pituitaria anterior. La unión de CRH a su receptor en los corticotropos hipofisarios induce la liberación de la hormona corticotropa (ACTH) en la circulación sistémica. La ACTH circulante estimula la síntesis y secreción de glucocorticoides de la zona fascicular de la corteza adrenal. Los glucocorticoides son los efectores del eje HHA regulando los cambios fisiológicos a través de receptores intracelulares [Munck y cols, 1984].



## **1.1. HORMONA LIBERADORA DE CORTICOTROPINA (CRH)**

### **1.1.1. BIOQUÍMICA DE LA CRH**

El factor hipotalámico que aumenta la liberación de corticotropina (ACTH) de las células hipofisarias se descubrió como principio activo en 1955 [Saffran y col, 1955; Guillemin y Rosenberg, 1955]. En 1981, se aisló y secuenció la CRH ovina [Vale y cols, 1981]. La hormona liberadora de corticotropina (CRH) es un factor hipotalámico peptídico de 41-aminoácidos que es el principal secretagogo fisiológico de la ACTH [Rivier C y cols, 1982a]. Existe una considerable homología en la secuencia de aminoácidos de la CRH entre especies, en particular en la región amino-terminal, que es la parte que se requiere para su actividad biológica. La CRH pertenece a una familia de péptidos que incluye la sauvagina y la urotensina I en animales no mamíferos, y en mamíferos las urocortinas 1, 2 (stresscopin-related-peptide, SRP) y 3 (stresscopin, SCP), encontrándose los tres últimos también en seres humanos [Spiess y cols, 1981; Lederis, 1987; Donaldson y cols, 1996]. Todos estos péptidos tienen actividades similares pero al mismo tiempo también diferentes de las de CRH [Lederis, 1987].

La CRH se procesa a partir de una molécula prepro-CRH (196 aminoácidos en seres humanos) [Shibahara y cols, 1983]. El único gen CRH humano está localizado en el cromosoma 8 [Arbiser y cols, 1988].

### **1.1.2. SÍNTESIS Y DISTRIBUCIÓN DE LA CRH**

La CRH se sintetiza por las neuronas de la división parvocelular (células pequeñas) de los PVN del hipotálamo [Swanson y cols, 1983]. Sus axones se proyectan hacia la eminencia media (EM), donde la CRH se secreta en la sangre portal hipofisaria. Estas neuronas también contienen otros secretagogos de la ACTH (por ejemplo, AVP [Kiss y cols, 1984] y

## Introducción

CCK [Mezey y cols, 1986]). La CRH es también sintetizada por los corticotropos de la hipófisis anterior, actuando de manera autocrina o paracrina para estimular la secreción de ACTH [Pecori y cols, 1998].

La CRH está asimismo presente en algunas neuronas de la división magnocelular (células grandes) del PVN que contienen oxitocina y que se proyectan hacia la hipófisis posterior [Sawchencho y cols, 1984]. Además, la CRH está ampliamente distribuida por todo el cerebro, la médula espinal [Swanson y cols, 1983; Olschowka y cols, 1982] y en varios tejidos periféricos, incluyendo la médula suprarrenal [Nicholson y cols, 1987]. La presencia de CRH y la de sus dos tipos de receptores CRHR1 y CRHR2 en el cerebro sugiere que la CRH funciona como neuromodulador [De Sousa y cols, 1987; Stenzel y cols, 1995].

### 1.1.3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA CRH

La CRH actúa sobre los corticotropos de la hipófisis anterior mediante la unión a receptores de superficie CRHR1 [Millan y cols, 1987] y la activación de la adenilato ciclasa, lo que aumenta las concentraciones de AMPc intracelular, que a su vez activa la protein-kinasa-A AMPc dependiente [Giguère y cols, 1982]. Este proceso finalmente conduce a un aumento de secreción de ACTH y otros péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC) [Watanabe y cols, 1987] y posteriormente a un aumento de la transcripción del gen de la POMC y su biosíntesis [Lundblad y cols, 1988]. El gen del receptor tipo 1 de CRH (CRHR1) se localiza en el cromosoma 17q12-q22 [Vamvakopoulos y Sioutopoulou, 1994].

Se sabe también que la estimulación crónica con CRH causa hiperplasia corticotropa [Gertz y cols, 1987]. El número de receptores de

CRH corticotrópicos puede modular la respuesta de ACTH. Tanto el número de receptores de CRH como sus ARNm se reducen de forma transitoria en la hipófisis anterior (pero no en el cerebro) mediante la administración de CRH y AVP, cuyos efectos son aditivos, y por la adrenalectomía [Wynn y cols, 1985; Hauger y cols, 1987; Holmes y cols, 1987].

### **1.1.4. EFECTOS SOBRE LAS HORMONAS HIPOFISARIAS**

La CRH aumenta la secreción de ACTH por el lóbulo anterior y de péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC) por el lóbulo intermedio.

#### **Secreción de ACTH por el lóbulo anterior**

La CRH administrada exógenamente produce un rápido incremento dosis-dependiente en las concentraciones plasmáticas de ACTH. Este efecto es específico ya que las concentraciones plasmáticas de otras hormonas antehipofisarias, AVP y catecolaminas no cambian [Shürmeyer y cols, 1984; Orth y cols, 1983]. La CRH humana (hCRH) es equipotente a la ovina (oCRH), pero debido a su vida media más corta, la cantidad total de ACTH secretada así como el tiempo de elevación son menores [Shürmeyer y cols, 1984; Trainer y cols, 1995]. Sin embargo, las respuestas séricas de cortisol son similares debido a que la respuesta de ACTH tanto a hCRH como a oCRH producen un efecto estimulador máximo sobre la corteza suprarrenal [Trainer y cols, 1995].

La ACTH liberada por CRH estimula la secreción de cortisol y otros esteroides suprarrenales, como la DHEA y, transitoriamente, la aldosterona [Conaglen y cols, 1984; Pavlov y cols, 1986]. Existe escasa o ninguna diferencia por sexo o edad en las respuestas de ACTH y cortisol a CRH [Pavlov y cols, 1986; Sheldon y cols, 1985; Gallucci y cols, 1993], aunque la

respuesta de DHEA se reduce en los hombres de edad avanzada y la respuesta de cortisol se atenúa en obesos [Pavlov y cols, 1986; Kopelman y cols, 1988].

El momento del día influye poco en la respuesta de ACTH a CRH, pero la respuesta de cortisol es mucho mayor por la tarde y por la noche que por la mañana [DeCherney y cols, 1985]. En personas sanas, la respuesta de ACTH a CRH varía inversamente con la concentración de cortisol basal [DeCherney y cols, 1985] debido a la inhibición de los glucocorticoides sobre la acción de la CRH en los corticotropos [Vale y cols, 1983]. Por lo tanto, la respuesta de ACTH aumenta durante la hipocortisolemia inducida por metopirona y se reduce tras la administración de glucocorticoides [Debold y cols, 1989].

### Secreción de péptidos POMC por el lóbulo intermedio

En humanos existe un lóbulo intermedio funcional sólo durante la vida fetal y al final del embarazo. La regulación de la secreción de  $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -endorfina ( $\beta$ -END) y otros péptidos derivados de la POMC del lóbulo intermedio es diferente de la del lóbulo anterior, ya que la secreción de estos péptidos está fundamentalmente bajo el control inhibitorio tónico de la dopamina (DA) hipotalámica y no es inhibida por los glucocorticoides [Munemura y cols, 1980].

#### 1.1.5. EFECTOS EXTRAHIPOFISARIOS

La CRH ejerce acciones periféricas y centrales mediadas por la unión a receptores de CRH, tanto tipo 1 (CRHR1: a, b, c, d, e, f, g, h) como tipo 2 (CRHR2: alfa, beta y gamma), y por las proteínas transportadoras de CRH [Stenzel y cols, 1995; Lovenberg y cols, 1995; Potter y cols, 1991]. Los CRHR2 son isoformas de acoplamiento que difieren en sus secuencias

## Introducción

amino-terminales, distribución tisular, farmacología (es decir, sus afinidades relativas para CRH, sauvagina, urotensina y urocortinas), y función [Hauger y cols, 2006].

El aumento de actividad del eje HHA puede desempeñar un papel en el insomnio. La secreción de 24 horas de ACTH y el cortisol está incrementada en jóvenes con insomnio crónico [Vgontzas y cols, 2001a]. El mayor incremento se observa durante la tarde y la primera mitad de la noche. En 12 hombres de mediana edad, la administración de CRH intravenosa después de la aparición del sueño causó un estado de mayor vigilia y permitió un sueño con menos ondas lentas que en hombres jóvenes [Vgontzas y cols, 2001b].

La administración sistémica de CRH provoca vasodilatación mesentérica, que a altas dosis puede dar lugar a hipotensión y taquicardia [Orth y cols, 1983], y estimula la respiración a través de un efecto central [Opperman y cols, 1987].

En animales de experimentación, la inyección intracerebroventricular (i.c.v.) de CRH activa el sistema nervioso autónomo [Brown y cols, 1982], dando lugar a un aumento de las concentraciones séricas de catecolaminas, glucagón y glucosa, a un aumento de la presión sanguínea y de la frecuencia cardiaca, a una disminución de la secreción ácida gástrica [Lenz y cols, 1985] y a cambios de comportamiento [Sutton y cols, 1982].

La CRH puede modular la función reproductiva, ya que reduce la receptividad sexual en ratas hembra [Sirinathsinghji y cols, 1983], disminuye las concentraciones de LH mediante la inhibición de la secreción de LHRH [Petraglia y cols, 1987] e inhibe la producción de testosterona estimulada por

gonadotropina coriónica por las células de Leydig en cultivo [Dufau y cols, 1989].

La CRH ejerce múltiples acciones en la gestación a través de la unión a CRHR1. Estimula directamente la síntesis del CRHR1 y la secreción de DHEAS por las células adrenocorticales fetales humanas [Smith y cols, 1998; Sirianni y cols, 2005]. Regula el flujo de sangre de la placenta y la síntesis de prostaglandinas [Challis y cols, 1995], aumenta el miometrio durante el parto y potencia la contractilidad del miometrio inducida por la oxitocina y la prostaglandina F2- $\alpha$  [Clifton y cols, 1998], además de facilitar el parto [Chan y cols, 1998].

La CRH y la urocortina son secretadas por otros tejidos periféricos, como el bazo, el timo, las células epiteliales sinoviales, las células inflamatorias y las terminaciones nerviosas periféricas, y modulan la respuesta inmune a través de CRHR tipo 1 y 2 [Baigent y cols, 2001]. La CRH y la urocortina modulan la secreción de citoquinas, la proliferación de linfocitos y macrófagos y la degranulación de los mastocitos [Radulovic y cols, 2001; Kempuraj y cols, 2004]. La CRH y la urocortina también tienen potentes acciones cardiovasculares [Parkes y cols, 2001].

### **1.1.6. CRH COMO PRINCIPAL REGULADOR DE LA SECRECIÓN DE ACTH**

Se considera que la CRH es el principal regulador de la secreción de ACTH en base a estudios realizados administrando CRH exógena y sobre su secreción endógena. La administración de oCRH, además de estimular la transcripción de POMC y la síntesis de ACTH, estimula la secreción de ACTH, dando lugar a una respuesta bifásica con la liberación rápida de la

ACTH presintetizada, seguida de la liberación lenta y sostenida de la ACTH recién sintetizada [DeBold y cols, 1983].

La concentración de CRH presente en la circulación portal hipofisaria es suficiente para estimular la liberación de ACTH [Gibbs, 1985], está elevada en situaciones que cursan con un incremento de la ACTH como el estrés [Rivier y Vale, 1983b] o la adrenalectomía [Sawchenko y Swanson, 1985] y disminuye durante el tratamiento con glucocorticoides [Plotsky y Vale, 1984]. Por otra parte, la administración de antagonistas o antisueros específicos de CRH amortiguan el aumento esperado de la ACTH en el estrés o tras adrenalectomía, aunque no llega a suprimirlo totalmente [Rivier y Vale, 1982b; Van Oers y cols, 1989].

### **1.1.7. ANTAGONISTAS DE CRH**

La CRH y sus receptores juegan un papel importante en la coordinación de las respuestas conductuales y endocrinas al estrés. Los antagonistas selectivos de CRH, estudiados principalmente en modelos animales, han mostrado propiedades anti-estrés, anti-miedo, anti-ira y ansiolíticas, pero no parecen causar insuficiencia suprarrenal [Zoumakis y cols, 2010]. Uno de estos compuestos fue probado en un ensayo clínico, pero el estudio tuvo que suspenderse debido a su hepatotoxicidad. Otro antagonista de CRH en desarrollo, el pexacerfont, no fue más efectivo que placebo en reducción de la ansiedad [Coric y cols, 2010]. Actualmente se está evaluando su efecto sobre la avidez por la comida inducida por el estrés.

### **1.1.8. CRH EN PLASMA**

La contribución del CRH hipotalámico a las concentraciones plasmáticas periféricas de CRH es pequeña; la mayor parte de la CRH plasmática presumiblemente proviene de fuentes no hipotalámicas [Orth,

1992]. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias, como la hipoglucemia insulínica y durante la cirugía mayor, los pequeños incrementos en las concentraciones plasmáticas de CRH pueden reflejar la liberación hipotalámica de la hormona [Ellis y cols, 1990]. Las concentraciones plasmáticas de CRH aumentan de forma notable durante el tercer trimestre del embarazo en mujeres embarazadas debido a que es secretada por la placenta [Sasaki y cols, 1987].

En humanos, la CRH circula en el plasma unida a una proteína de unión de alta afinidad denominada CRH-BP [Orth y Mount, 1987], que ha sido clonada y secuenciada [Potter y cols, 1991]. Esta unión reduce su bioactividad y aumenta su aclaramiento [Linton y cols, 1988]. A pesar de esta unión a proteínas, la vida media de la CRH plasmática en humanos es de sólo cuatro minutos [Schürmeyer y col, 1984]. En otras especies, no se ha encontrado una proteína similar [Orth y Mount, 1987], salvo en primates [Xu y cols, 2006]. En la mayoría de los estudios clínicos se utiliza oCRH porque no se une a la CRH-BP [Orth y Mount, 1987]. La oCRH tiene una vida media plasmática de 55 min y una duración de acción prolongada [Nicholson y cols, 1983]. Por lo tanto, la unión de hCRH a CRH-BP específicas puede facilitar su eliminación del plasma [Woods y cols, 1994].

## **1.2. HORMONA ADRENOCORTICOTROPA (ACTH)**

### **1.2.1. CÉLULAS CORTICOTROPAS**

La ACTH es liberada por los corticotropos, que constituyen el 15-20% de las células de la hipófisis anterior. Estas células se distribuyen en el borde central, anterior y lateral, y en la parte posterior adyacente a la pars nervosa. Estas células se identifican por su tinción basófila y PAS-positiva debido al



alto contenido de hidratos de carbono del glucopéptido N-terminal de la POMC, así como por la inmunopositividad para ACTH [Doniach, 1985].

### **1.2.2. BIOSÍNTESIS DE LA ACTH**

La ACTH deriva de un precursor de 266 aminoácidos denominado, proopiomelanocortina (POMC). La POMC está codificada por un gen de una sola copia situado en el cromosoma 2p23 y que está formado por tres exones y dos intrones intermedios, con un tamaño global de 7.6 kb [Takahashi y cols, 1983]. Aparte del péptido señal hidrofóbico y los 18 aminoácidos del glucopéptido N-terminal, todo el resto de la POMC está codificada por el exón 3 [Cochet y cols, 1982].

En la hipófisis, la prePOMC traducida tiene un péptido señal amino terminal de 26 aminoácidos que es necesario para el traslado intracelular de la proteína en formación. Durante este proceso, la molécula de POMC sufre una serie de divisiones proteolíticas específicas de la célula que suponen la producción de numerosos péptidos, variables según las enzimas que posea cada uno de los tejidos productores de POMC. En los corticotropos, una vez separado el péptido señal, la POMC de 241 aminoácidos es procesada por la enzima convertasa de la prohormona 1 (PC1), que la transforma en péptidos menores: ACTH, el glucopéptido amino-terminal (NT), el péptido de conexión (JP), y la  $\beta$ -lipotropina ( $\beta$ -LPH). En el lóbulo intermedio de la hipófisis, que en el ser humano es sólo un vestigio con excepción de la vida fetal y de los periodos de embarazo, y en otros tejidos la enzima convertasa de la prohormona 2 (PC2) produce la ruptura de la ACTH dando lugar a la formación de  $\alpha$ -MSH (ACTH 1-13) y CLIP (ACTH 18-39, péptido similar a la corticotropina del lóbulo intermedio), mientras que la  $\beta$ -LPH se transforma en  $\gamma$ -LPH y  $\beta$ -endorfina [Eipper y Mains, 1980; Benjannet y cols, 1991].

## Introducción

El polipéptido de ACTH de 4,5 kDa está formado por 39 aminoácidos. El contenido de ACTH de la hipófisis humana es de 250 µgr. La ACTH es la hormona más importante en la regulación de la secreción de glucocorticoides y andrógenos suprarrenales en las zonas fasciculada y reticular [Schwyzer, 1977]. Además la ACTH puede inducir la liberación aguda de mineralocorticoides en la zona glomerulosa [Aguilera, 1993]. Los primeros 24 aminoácidos son comunes a todas las especies de mamíferos estudiados y el ACTH 1-24 posee acción glucocorticoide completa, por ese motivo ACTH 1-24 sintética (Synacthen®) se utiliza clínicamente para la valoración de la función adrenal [Tanaka, 1971].

### 1.2.3. SECRECIÓN DE ACTH

La ACTH se secreta de forma pulsátil siguiendo un ritmo circadiano. Los pulsos de ACTH se correlacionan temporalmente con la secreción pulsátil de cortisol, que ocurre 15 minutos más tarde, y con su amplitud [Veldhuis y cols, 1990].

En el muestreo de 24 horas, se observan unos niveles medios de ACTH de 10.3 ng/l, un promedio de 14.5 pulsos (rango 7-22) y una amplitud media de los picos de 11.8 ng/l [Horrocks y cols, 1990]. En paralelo con el cortisol, los niveles de ACTH alcanzan un pico entre las 6 y las 9 horas, declinan a largo del día a un nadir entre las 23 y 2 horas, y comienzan a subir de nuevo a aproximadamente las 2 o 3 de la mañana. El aumento en la amplitud de los pulsos de ACTH en lugar de su frecuencia es responsable de este ritmo circadiano corticotropo [Veldhuis y cols, 1990]. Existe una mayor amplitud de los pulsos de ACTH entre las 5 y las 9 horas, que se acompaña de una reducción de su frecuencia entre las 18 y las 24 horas [Horrocks y cols, 1990; Veldhuis y cols, 1990]. La ingesta de alimentos también es un

estímulo para la secreción de ACTH, sobre todo su contenido proteico [Slag y cols, 1981].

El patrón de secreción de ACTH difiere en función del sexo, siendo mayores en el sexo masculino: los niveles medios de ACTH (14.66 vs 8.6 ng/ml), el área bajo la curva, la amplitud media (16.8 vs 10.3 ng/l) y el número de los pulsos secretorios (18 vs 10) [Horrocks y cols, 1990].

### **1.2.4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ACTH**

La ACTH actúa mediante la unión a un receptor específico de la superficie celular, el receptor de melanocortina-2 (MC2R) [Cone y Montjoy, 1993]. La ACTH regula al alza la expresión de estos receptores, aumentando por consiguiente la respuesta esteroideogénica a la estimulación adicional con ACTH [Penhoat y cols, 1995]. El fallo en la activación del MC2R en respuesta a la ACTH causa la deficiencia familiar de glucocorticoides (FGD), una rara enfermedad autosómica recesiva caracterizada por la deficiencia severa de cortisol con niveles plasmáticos elevados de ACTH y normales de mineralocorticoides. Las mutaciones del MC2R que dan lugar a la pérdida efectiva de su función son responsables de la FGD tipo 1, que representa hasta el 25 por ciento de todos los casos de DGC [Clark y cols, 2005].

La unión ACTH-receptor activa la adenilato ciclasa que aumenta la producción de AMP cíclico (cAMP) y esta a su vez estimula la protein-kinasa AMPc dependiente (protein-kinasa A) y la fosforilación de diferentes proteínas [Gill, 1976].

La acción principal de la ACTH en la corteza suprarrenal es aumentar la secreción de cortisol mediante el aumento de su síntesis, puesto que el almacenamiento de cortisol adrenal es mínimo [Dickerman y cols, 1984].

## *Introducción*

La bioactividad de ACTH, que no posee proteína transportadora conocida, desaparece de la circulación en un tiempo aproximado de 4 a 8 minutos, mientras que la inmunorreactividad es más variable, dependiendo fundamentalmente del método empleado en su medición, oscilando entre los 5 y los 20 minutos [Besser y cols, 1971]. Se metaboliza fundamentalmente en la glándula adrenal, siendo mínima su eliminación urinaria [Donald, 1980].

### **1.2.5. ACCIONES DE LA ACTH**

Las acciones principales de la ACTH son mantener el tamaño, la estructura y la función de las glándulas adrenales. Los efectos de la ACTH en la esteroideogénesis se pueden dividir en efectos agudos, que se producen en cuestión de minutos, y efectos crónicos, que se producen en horas o días [Simpson y Waterman, 1988].

El efecto agudo de la ACTH consiste en aumentar la conversión de colesterol a delta-5-pregnenolona, que es el escalón inicial y limitante de la velocidad de biosíntesis de cortisol [Simpson y Waterman, 1988], mediante la activación de la enzima CYP11A1. Los efectos crónicos de la ACTH implican un aumento de la síntesis de la mayoría de las enzimas de la vía esteroideogénica y acciones más generales sobre las proteínas de las células adrenocorticales, la síntesis de ARN y ADN y el crecimiento celular [Miller, 1988]. La ACTH también aumenta la síntesis de otras proteínas que son necesarias para la esteroideogénesis, como los receptores de las lipoproteínas de baja y de alta densidad (LDL y HDL), la adrenodoxina y la proteína transportadora de esteroides (SCP2) [Plump y cols, 1996; Trzeciak y cols, 1987].

## Introducción

La ACTH estimula también el trofismo adrenal. De forma aguda, ocasiona un incremento significativo del flujo sanguíneo de las glándulas suprarrenales. De forma crónica, induce un incremento de la síntesis proteica y de mRNA y, posteriormente, del contenido de DNA y del peso glandular [Maier y Staehelin, 1968]. Por consiguiente, niveles suprafisiológicos de ACTH ocasionan hipertrofia e hiperplasia y su ausencia atrofia suprarrenal [Gill, 1972]. Sin embargo, la administración de ACTH en pocas ocasiones es capaz de revertir la atrofia suprarrenal.

Se ha demostrado que la ACTH estimula la síntesis de aldosterona, si bien se desconoce su significación fisiológica [Quinn y Williams, 1988] y la secreción de DHEA [Pavlov y cols, 1986].

### **1.2.6. DETERMINACIÓN DE ACTH Y NIVELES PLASMÁTICOS**

De forma ideal, las muestras se deberían extraer en sangre venosa entre las 6 y 9 de la mañana, con el sujeto en reposo y sin estrés. Debido a que la ACTH es relativamente inestable a temperatura ambiente y a que tiende a adherirse al vidrio, las muestras de plasma deben separarse inmediatamente en tubos congelados de vidrio siliconado que contenga ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y almacenarse a  $-20^{\circ}$ . Las concentraciones plasmáticas de ACTH a las 8 de la mañana, determinadas por IRMA, oscilan entre 8 y 25 ng/l y a las 11 de la noche son inferiores a 5 ng/l. Las concentraciones plasmáticas de ACTH fluctúan ampliamente en una misma persona, y son muy sensibles al estrés, la hora de recogida de la muestra y el sexo [Melmed, 2008].

Tanto en la determinación por RIA como por IRMA se emplean antisueros dirigidos específicamente contra la ACTH íntegra (1-39). En general, el IRMA es un método más sensible, reproducible y rápido. La

mayoría de los análisis por IRMA actuales poseen una sensibilidad inferior a 0.5 ng/ml, con variaciones de menos de 10 % [White y cols, 1987].

### 1.3. CORTISOL

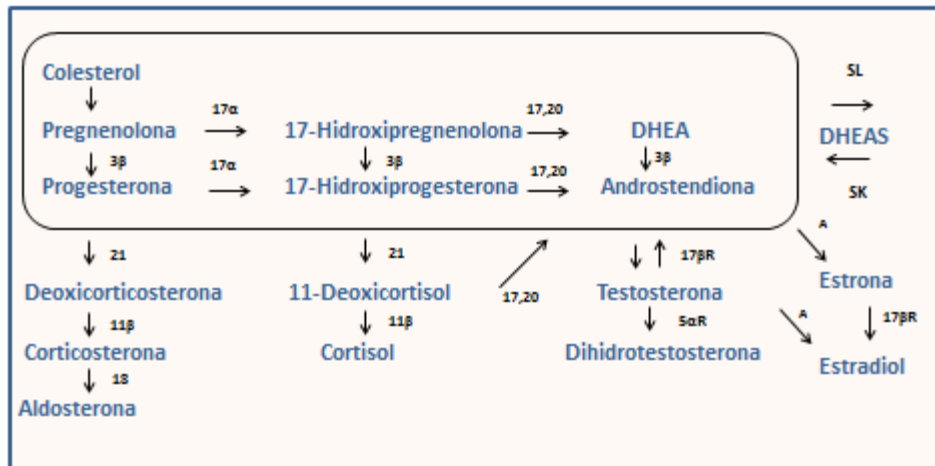
La corteza suprarrenal produce tres tipos principales de hormonas: glucocorticoides (cortisol, corticosterona), mineralocorticoides (aldosterona, desoxicorticosterona), y andrógenos. Todas las hormonas esteroideas derivan de la estructura ciclopentanoperhidrofenantreno, es decir, tres anillos ciclohexano y un anillo ciclopentano. La estructura química de los glucocorticoides contiene 21 átomos de carbono.

#### 1.3.1. SUSTRATO DE COLESTEROL

El colesterol es el sustrato para la síntesis de todas las hormonas esteroideas. Las células de la corteza suprarrenal pueden obtenerlo de la circulación o sintetizarlo *de novo* a partir de la acetil-coenzima A. La mayor parte del colesterol es captado de la circulación sanguínea en forma de lipoproteínas de baja densidad (LDL) [Gwynne y cols, 1982], por medio de receptores de LDL (R-LDL) que internalizan el complejo receptor-LDL mediante endocitosis, que va a ser luego hidrolizado en el interior de los lisosomas, liberándose colesterol libre [Goldstein y cols, 1979]. Asimismo, hay evidencias de que las suprarrenales pueden utilizar el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) mediante su captación por receptores SRB1 [Landschulz y cols, 1996]. En situaciones donde está alterada la entrada de colesterol LDL al interior celular, la esteroideogénesis adrenal basal no se afecta, por ejemplo en la abetalipoproteinemia (deficiencia hereditaria de la producción de apolipoproteína B) y en la hipercolesterolemia familiar (defectos en el sistema del R-LDL) [Illingworth y cols, 1982 y 1983].

### 1.3.2. SÍNTESIS DEL CORTISOL

En las figura A se esquematizan los pasos en la esteroideogénesis adrenal con indicación de todas las enzimas involucradas.



**Figura A:** Vías de la síntesis de los esteroides adrenales

**17 $\alpha$ :** 17-alfa-hidroxilasa (CYP17, P450c17); **17,20:** 17,20 liasa (también mediada por CYP17); **3 $\beta$ :** 3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa; **21:** 21-hidroxilasa (CYP21A2, P450c21); **11 $\beta$ :** 11-beta-hidroxilasa (CYP11B1, P450c11); **18:** se refiere al proceso de dos escalones de la síntesis de aldosterona (CYP11B2, P450c11as), dando lugar a la adición de un grupo hidroxilo que es luego oxidado a un grupo aldehído en la posición carbono-18; **17 $\beta$ R:** 17-beta-reductasa; **5 $\alpha$ R:** 5-alfa-reductasa; **DHEA:** dehidroepiandrosterona; **DHEAS:** DHEA sulfato; **A:** aromatasa (CYP19); **SK:** sulfokinasa; **SL:** sulfotransferasa.

Los esteroides adrenales se sintetizan después de la captación de colesterol mediada por la proteína reguladora de la esteroideogénesis aguda (StAR) al interior de las mitocondrias. En este proceso participan cuatro enzimas del citocromo P450 distintas. Los sustratos para las enzimas P450 son átomos de carbono de las cuatro estructuras anulares de la molécula de colesterol (Figura A). CYP11A1 participa en la síntesis de pregnenolona a partir del colesterol en las mitocondrias. La conversión de pregnenolona a progesterona está catalizada por la 3- $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, una enzima asociada a la membrana que se expresa sólo en las glándulas suprarrenales y gónadas. La CYP17 (actividad 17- $\alpha$ -hidroxilasa) es una

## Introducción

enzima microsomal que media la conversión de progesterona a 17- $\alpha$ -hidroxiprogesterona y de pregnenolona a 17- $\alpha$ -hidroxipregnenolona. Tanto la progesterona como la 17- $\alpha$ -hidroxiprogesterona se hidroxilan en la posición C-21 por una sola enzima CYP21A2 (21-hidroxilasa) situado en el retículo endoplásmico liso. El último paso en la biosíntesis de cortisol es la 11- $\beta$ -hidroxilación de 11-desoxicortisol, una reacción catalizada por la enzima mitocondrial CYP11B1 [Miller, 1988].

La ACTH aumenta el número de receptores de LDL, la actividad de la enzima responsable de la liberación del colesterol esterificado y, en consecuencia, la cantidad de colesterol libre [Brown MS y cols, 1979].

Diferentes fármacos como el mitotane [Bergental y cols, 1960], la aminoglutetimida [Fishman y cols, 1967], la metopirona [Liddle y cols, 1958] y el ketoconazol [Feldman, 1986] son eficaces como bloqueadores de la síntesis de cortisol al actuar sobre diferentes etapas de la esteroideogénesis.

### **1.3.3. TRANSPORTE Y METABOLISMO DEL CORTISOL**

Los glucocorticoides son transportados en la sangre por una proteína transportadora de alta afinidad conocida como CBG o transcortina. Del 80-90 % del cortisol circulante se halla ligado a la CBG, un 12 % está ligado a la albúmina y el 5 % restante está libre. CBG es una proteína de 383 aminoácidos sintetizada en el hígado. Su concentración circulante aumenta con los estrógenos y en la hepatitis crónica activa, pero se reduce por los glucocorticoides y en la cirrosis, nefrosis e hipertiroidismo.

Las alteraciones en las concentraciones de CBG modifican las concentraciones circulantes de cortisol total pero no las concentraciones de cortisol libre que permanecen normales. Sólo la fracción circulante libre está



disponible para el transporte dentro de los tejidos y así ejercer su actividad biológica. El cortisol libre excretado por los riñones recibe la denominación de cortisol libre urinario, y representa solamente el 1 % de la secreción de cortisol [Hammond, 1990].

La semivida del cortisol circulante varía entre 70 y 120 minutos. Una vez ejercida su acción, los glucocorticoides son metabolizados, desapareciendo su actividad biológica, y adquiriendo mayor hidrosolubilidad, de modo que pueden ser excretados por la orina o la bilis. Se ha considerado que el hígado es el principal lugar del metabolismo del cortisol, pero también pueden metabolizarse a nivel renal, tejido conectivo y en la propia glándula adrenal. Cuantitativamente, la interconversión del cortisol a cortisona por la 11- $\beta$ -HSD es la vía más importante de inactivación del cortisol [Fukushima y cols, 1960].

### **1.3.4. MECANISMOS DE ACCCIÓN DEL CORTISOL**

El cortisol ejerce su acción después de la captación de la hormona libre de la circulación y de unirse al receptor intracelular (GCR) [Weinberger y cols, 1985]. Existe un receptor diferente para los mineralocorticoides (MCR) [Arriza y cols, 1987]. Aunque sólo existe un gen que codifica tanto el GCR como el MCR, se han descrito variantes de escisión. Este hecho, junto con modificaciones postransduccionales específicas de tejido, explicarían las diferentes acciones de los corticoides [Zhou y Cidlowski, 2005]. Después de la traslocación al núcleo, el complejo GCR-ligando se une a secuencias específicas del ADN modificando la transcripción génica [Beato y cols, 1996].

### **1.3.5. ACCIONES DEL CORTISOL**

Los glucocorticoides son hiperglucemiantes por medio de su acción sobre el metabolismo del glucógeno, proteínas y lípidos. En el hígado, promueven los depósitos de glucógeno y aumentan la producción hepática de glucosa estimulando la neoglucogénesis a partir de aminoácidos procedentes del músculo esquelético [Stalmans y Laloux, 1979]. Por otra parte, en el tejido muscular y tejido graso inhiben la captación y la utilización de la glucosa [Olefsky, 1975]. Todos estos mecanismos causan la aparición de insulinresistencia e hiperinsulinismo en las situaciones de hipercortisolismo crónico.

En el tejido graso se activa la lipólisis, provocando la liberación de ácidos grasos libres a la circulación. Aumenta las concentraciones circulantes de colesterol y triglicéridos y disminuye las del colesterol HDL. Los glucocorticoides también estimulan la diferenciación de los adipocitos y la adipogénesis, de manera que a largo plazo el exceso de glucocorticoides ocasiona redistribución de la grasa corporal con aumento de la grasa visceral o central [Rebuffé-Scrive y cols, 1988].

Los glucocorticoides suprimen la respuesta inmune a diferentes niveles. En sangre periférica reducen el número de linfocitos y eosinófilos, mientras que aumentan el recuento de neutrófilos. Las acciones directas sobre los linfocitos T y B producen inhibición de la síntesis de inmunoglobulinas y citoquinas. Suprime la liberación de interferón, interleuquinas (1, 2, 3 y 6) y de mediadores del proceso inflamatorio como bradiquinina, histamina y serotonina. Asimismo inhibe la acción de enzimas como colagenasa y elastasa, implicadas en la destrucción tisular de todo proceso inflamatorio [Sternberg y cols, 1992].

## Introducción

Sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, los glucocorticoides ejercen un efecto inhibitorio, actuando a tres niveles: hipotalámico sobre las neuronas productoras de GnRH, hipofisario sobre las células gonadotrópicas y periférico suprimiendo secreción gonadal. Igualmente, originan la aparición de resistencia a la acción de los esteroides gonadales en los tejidos diana [Rabin y cols, 1988].

Aunque, la dexametasona administrada de forma aguda es capaz de estimular la liberación de GH [Casanueva y cols, 1990], los glucocorticoides, administrados crónicamente, inhiben directamente la secreción hipofisaria de GH y los efectos de la IGF-1 sobre los tejidos diana [Dieguez y cols, 1988].

A nivel del eje tiroideo, los glucocorticoides también tienen una acción inhibitoria. Disminuyen la producción de TSH e inhiben la actividad de la 5'-desyodinasas, que cataliza la conversión periférica de T4 a T3 [Duick y Wahner, 1979].

Dosis suprafisiológicas de glucocorticoides determinan la aparición de osteopenia al inhibir la actividad osteoblástica, disminuir la absorción intestinal de calcio y aumentar su eliminación urinaria. Presentan un efecto catabólico directo sobre el músculo esquelético. También ejercen una acción inhibitoria sobre la proliferación de fibroblastos y un efecto directo sobre el transporte iónico en el colon. Es un hecho bien conocido que la administración crónica de glucocorticoides produce un aumento del riesgo de úlcera péptica [Munck y cols, 1984].

### **1.3.6. SECRECIÓN, NIVELES PLASMÁTICOS Y DETERMINACIÓN DEL CORTISOL**

La secreción de cortisol es de 10 a 20 mg diarios. Sus picos de secreción se producen a los 10 minutos de los pulsos de ACTH. Sus niveles son máximos a primeras horas de la mañana, disminuyen a lo largo del día hasta un nivel mínimo (aproximadamente a medianoche) y comienzan a aumentar de nuevo entre la 1 y las 4 de mañana [Veldhuis y cols, 1990]. No existen diferencias entre sexos del patrón de secreción de cortisol contrariamente a lo que ocurre con ACTH [Horrocks y cols, 1990].

### **1.4. RESPUESTA NEUROENDOCRINA AL ESTRÉS Y REGULACIÓN DEL EJE HHA**

El estrés comúnmente se define como un estado de amenaza real o percibida a la homeostasis. El mantenimiento del equilibrio interno ante los factores estresantes desencadena una serie de respuestas conductuales y fisiológicas que involucran los sistemas endocrino, nervioso e inmunológico. La respuesta al estrés tiene como objetivo mejorar las posibilidades de supervivencia de un individuo frente a retos homeostáticos [Chrousos y Gold, 1992].

Los efectos conductuales de la respuesta al estrés incluyen aumento de la conciencia, mejora de la cognición y euforia [Charmandari y cols, 2005]. Las adaptaciones fisiológicas incluyen el aumento del tono cardiovascular, de la frecuencia respiratoria y del metabolismo intermedio, junto con la inhibición de las funciones vegetativas generales como la alimentación, la digestión, el crecimiento, la reproducción, y la inmunidad [Habib y cols, 2001]. La respuesta al estrés se encuentra finamente regulada por los sistemas neuronal y endocrino.

## Introducción

Las estructuras anatómicas que median la respuesta al estrés se encuentran en el SNC y en los tejidos periféricos. Estas son: el PVN del hipotálamo, el lóbulo anterior de la hipófisis y las glándulas adrenales y constituyen lo que se denomina eje HHA. Además del eje HHA, hay otras estructuras involucradas en la regulación de las respuestas de adaptación al estrés como las neuronas noradrenérgicas del troncoencéfalo, el sistema simpático adrenomedular y el sistema parasimpático [Habib y cols, 2001].

### 1.4.1. REGULACIÓN NEURONAL DEL EJE HHA

Las neuronas hipofisotrópicas del PVN están inervadas por una constelación de proyecciones aferentes originadas en múltiples regiones cerebrales que regulan la síntesis y liberación de CRH y AVP. Estas regiones son fundamentalmente cuatro: neuronas del tronco cerebral, de la lámina terminal, de otros núcleos hipotalámicos y de estructuras límbicas de los hemisferios cerebrales [Sawchenko y cols, 1993].

**Troncoencéfalo.** Los centros catecolaminérgicos del troncoencéfalo juegan un importante papel en la regulación del eje HHA. Las neuronas del núcleo del tracto solitario (NTS) transmiten información sensorial de los nervios craneales que inervan grandes áreas de vísceras torácicas y abdominales. El NTS también recibe proyecciones de las estructuras límbicas que regulan las respuestas conductuales al estrés que incluyen la corteza prefrontal medial y el núcleo central de la amígdala [Schwaber y cols, 1982]. Como consecuencia, grupos neuronales del NTS se activan ante diferentes causas de estrés como la inyección de lipopolisacáridos, hipotensión, inmovilización, etc. [Sawchenko y cols, 2000].

Neuronas receptoras de estrés de áreas del NTS inervan la subdivisión parvocelular medial del PVN [Cunningham y cols, 1988]. Los hallazgos de

## Introducción

estudios tanto *in vitro* como *in vivo* demuestran que las aferentes catecolaminérgicas activan el eje HHA, estimulando la síntesis y liberación de CRH por medio de un mecanismo dependiente del receptor  $\alpha$ -1 adrenérgico [Plotski, 1987]. El NTS posee otras neuronas no aminérgicas que también inervan el PVN. Por ejemplo existen neuronas productoras de GLP1 que inducen la liberación de ACTH *in vivo* ante situaciones de estrés [Rinaman, 1999; Kinzig y cols, 2003]. En las neuronas del NTS que inervan el PVN también se expresan los neuropéptidos somatostatina, sustancia P y encefalina y se ha demostrado que tienen efectos reguladores sobre el eje HHA [Sawchenko y cols, 1990; Saphier y cols, 1994].

**Lámina terminal (LT).** Está localizada en el margen rostral del tercer ventrículo y la conforman el órgano subfornical (SFO), el núcleo preóptico medio (MePO) y el órgano vascular (OVLT) [Berk y Finkelstein, 1981]. La subdivisión parvocelular medial del PVN recibe inervación del SFO, MePO y del OVLT [Sawchenko y Swanson, 1983a]. Las neuronas del SFO que se proyectan en el PVN son angiotensinérgicas y estimulan la síntesis y secreción de CRH [Plotski y cols, 1988].

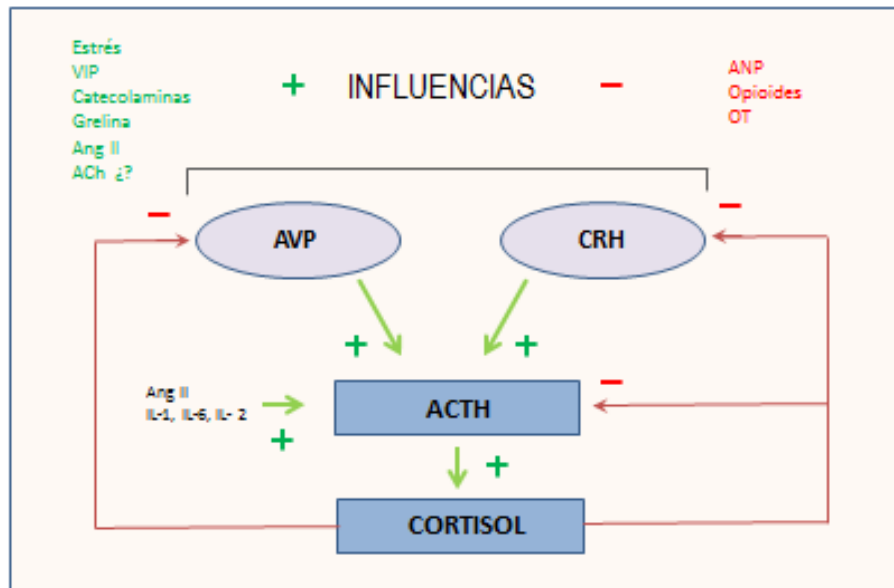
**Hipotálamo.** La subdivisión parvocelular medial del PVN recibe proyecciones aferentes de neuronas GABA-érgicas del hipotálamo [Roland y Sawchenko, 1993]. Neuronas hipofisotrópicas del PVN expresan subunidades del receptor GABA-A [Cullinan, 2000] y la inyección hipotalámica de agonistas del receptor GABA-A inhibe la secreción de glucocorticoides tras la exposición a factores de estrés [Cullinan y Wolfe, 2000].

**Sistema límbico.** Estructuras límbicas de los hemisferios cerebrales contribuyen a la regulación del eje HHA. Poblaciones neuronales del hipocampo, la corteza prefrontal y la amígdala son los sustratos anatómicos

para la formación de la memoria y las respuestas emocionales, y pueden servir de enlace entre el sistema de estrés y alteraciones neuropsiquiátricas [McEwen, 2000]. El hipocampo, la corteza prefrontal y la amígdala tienen efectos significativos sobre la liberación de glucocorticoides y las respuestas emocionales al estrés [Feldman y cols, 1995]. Sin embargo, estas estructuras límbicas tienen un número limitado de conexiones directas con neuronas hipofisotrópicas del PVN; y se cree que regulan la actividad del eje HHA a través de las neuronas intermediarias del núcleo del lecho de la estría terminalis (BNST), el hipotálamo y el troncoencéfalo [Herman y cols, 2005].

### **1.4.2. REGULACIÓN ENDOCRINA DEL EJE HHA**

La secreción de ACTH está controlada por numerosos factores, principalmente por CRH y arginina vasopresina (AVP). El eje HHA en su conjunto está regulado por un complejo sistema de vías nerviosas que se proyectan sobre el PVN y la eminencia media (EM) del hipotálamo, donde van a modificar principalmente la secreción de CRH. Varios neurotransmisores están implicados en estos procesos incluyendo acetilcolina (ACh), serotonina (5-HT) y noradrenalina (NA), que tienen influencias estimuladoras, GABA que es un inhibidor potente y varios neuropéptidos como opioides, neuropéptido Y y VIP. Además, existe un control adicional a través de la influencia del marcapasos circadiano, del estrés y de la retroalimentación negativa de los glucocorticoides [Orth, 1992].



**Figura B:** Regulación endocrina del eje HHA

#### 1.4.2.1. CRH

Ver apartado 1.1.: “Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH).

#### 1.4.2.2. ARGININA VASOPRESINA (AVP)

La vasopresina (AVP), llamada también hormona antidiurética o ADH, es un nonapéptido altamente expresado en los núcleos PVN, supraóptico (SON) y supraquiasmático del hipotálamo [Brownstein, 1983]. Se la reconoce como el segundo regulador de la liberación de ACTH [Kjaer, 1993]. Las neuronas magnocelulares de los núcleos PVN y SON se proyectan en el lóbulo posterior de la hipófisis, donde secretan AVP directamente en la circulación sistémica para regular la homeostasis osmótica [Brownstein y cols, 1980]. Aparte de las neuronas magnocelulares, las neuronas parvocelulares del PVN sintetizan y secretan AVP en la circulación portal, donde potencian los efectos de la CRF sobre la secreción de ACTH por la hipófisis anterior [Rivier y Vale, 1983a]. Por sí misma, la



## *Introducción*

AVP estimula la liberación de ACTH solo de forma muy débil [Plotski, 1988].

La hipoglucemia insulínica constituye una excepción siendo la AVP el principal regulador de la secreción de ACTH, mientras que la CRH desempeña únicamente un papel permisivo [Plotsky y cols, 1985]. Además, al contrario que la CRH, la AVP no estimula la transcripción de POMC [Levin y cols, 1989]. Estos hallazgos hablan a favor de una función independiente de la CRH y la AVP en la regulación de la secreción de ACTH en situaciones de estrés.

Los efectos sinérgicos de la AVP sobre la secreción de ACTH están mediados por los receptores de vasopresina V1b (también conocidos como V3) sobre los corticotropos pituitarios [Hernando y cols, 2001]. La unión de AVP al receptor V1b activa la fosfolipasa C por acoplamiento a las proteínas Gq. La activación de la fosfolipasa C estimula la proteína quinasa C que va a dar lugar a la potenciación de la secreción de ACTH [Birnbaumer, 2000]. Varios investigadores han informado que la expresión de AVP en las neuronas parvocelulares del PVN y la densidad de los receptores V1b en los corticotropos están aumentados de forma significativa en el estrés crónico [Aguilera y Rabadan-Diehl, 2000], lo que ha apoyado la hipótesis de que la AVP juega un papel importante en la respuesta al estrés, manteniendo la respuesta de ACTH a nuevos factores estresantes durante periodos de estrés crónico.

### **1.4.2.3. OTROS FACTORES ESTIMULATORIOS DEL EJE HHA**

#### **A) VIA COLINÉRGICA**

Ver apartado 3.1.: “Sistema Colinérgico en la Regulación del Eje HHA”.

## **B) ANGIOTENSINA II**

La angiotensina II (ANG II) es un octapéptido que forma parte del sistema renina-angiotensina-aldosterona. Posee un efecto vasopresor y participa en la regulación de la producción de mineralocorticoides por la zona glomerular adrenal. Estimula los receptores tipo 1 (AT1) situados en los tejidos diana [Aguilera y cols, 1995]. Además, a nivel cerebral los receptores AT1 median la activación del sistema simpático y del eje HHA [Jezova y cols, 1998].

A nivel hipotalámico, en las neuronas parvocelulares del PVN, se han identificado tanto el péptido ANG II [Swanson y cols, 1987] como los receptores AT1 [Aguilera, 1995]. La ANG II es capaz de estimular la liberación de ACTH *in vitro* a partir de células de la hipófisis anterior [Gaillard y cols, 1985]. Es probable que ANG II estimule la liberación de CRH a través de sus receptores en la EM, ya que la inmunización pasiva con anticuerpos anti-CRH elimina el efecto de la ANG II [Rivier y Vale, 1983a]. La administración intraventricular (i.c.v.) de ANG II estimula la liberación de ACTH en ratas [Murakami y Ganong, 1987], así como la síntesis de mRNA de CRH y POMC [Sumitomo y cols, 1991]. A la inversa, el bloqueo de los receptores 1 (AT1) de la ANG II con candesartán disminuye las respuestas de CRH, ACTH y cortisol al estrés en ratas [Armando y cols, 2001].

## **C) CATECOLAMINAS**

En humanos, la administración intravenosa de epinefrina (E) y de norepinefrina (NE) no afecta la secreción de ACTH, ni basal ni estimulada por CRH [Milsom y cols, 1986; Al-Damnluji, 1987].

## Introducción

Los aferentes noradrenérgicos del PVN se originan en tres grupos de células interrelacionadas en el troncoencéfalo que son el núcleo del tracto solitario (NTS), el núcleo del locus caeruleus (LC) y la médula ventrolateral. Las proyecciones ascendentes adrenérgicos en el PVN derivan también de tres grupos celulares: grupo de la médula ventrolateral rostral, grupo de la parte rostromedial del NTS y grupo del fascículo longitudinal medial y núcleo hypoglossi prepositus [Cunningham y cols, 1988].

La NE actúa a través de receptores tipo  $\alpha$ -1, tanto *in vitro* [Tsagarakis y cols, 1988] como *in vivo* [Plotsky, 1987], habiéndose postulado un papel central en la activación del eje HHA ante diferentes tipos de estrés [Szafarczyk y cols, 1987]. Asimismo, se ha objetivado *in vitro* una acción estimuladora de NE a través de receptores  $\alpha$ -1 sobre la secreción de AVP, aspecto que refuerza aún más su modulación en la activación del sistema de estrés [Armstrong WE y cols, 1986].

**Vías centrales noradrenérgicas y adrenérgicas.** Estudios iniciales realizados en gatos conscientes sugirieron que la administración central de catecolaminas activaba el eje HHA [Krieger y cols, 1971]. Posteriormente se aceptó que NE a nivel central inhibía la liberación de ACTH en base a trabajos realizados en perros anestesiados [Weiner y Ganong, 1978]. A finales de 1980 y principios de 1990, nuevos estudios en animales conscientes (ratas, ovejas) y en el hombre apoyaron la idea de que las catecolaminas estimulan el eje HHA a nivel central [Szafarczyk y cols, 1985; Al-Damluji y cols, 1987; Liu y cols, 1991]. La inyección de NE o E en el ventrículo cerebral lateral de la oveja consciente producía una elevación aguda y sostenida en la secreción de ACTH y cortisol [Liu y cols, 1991]. Esta activación del eje HHA se realiza a nivel hipotalámico ya que la inyección i.c.v. de NE aumenta la concentración de CRH y AVP en la circulación portal [Liu y cols, 1994]. En apoyo de este hallazgo está la

observación de que la microinyección de NE en el PVN de la rata aumenta la expresión de ARNm de CRH [Itoi y cols, 1994].

### **D) NEUROPEPTIDO Y (NPY)**

El neuropéptido Y (NPY), es un péptido de 36 residuos aminoácidos que se encuentra ampliamente distribuido en el cerebro, y ejerce sus efectos actuando sobre cinco subtipos de receptores designados (Y1-Y5) [Michels y cols, 1991]. La acción del NPY sobre el eje HHA es semejante a la de NE i.c.v. cuando se inyecta en los ventrículos cerebrales de la rata, el perro, y la oveja. Los estudios en la oveja consciente señalan que este efecto se produce a nivel suprahipofisario ya que el NPY aumenta la liberación de CRF y AVP en la circulación portal hipofisaria, pero no aumenta la secreción de ACTH a partir de cultivos de células hipófisis ovina [Liu y cols, 1994]. Al igual que NE, NPY también estimula la biosíntesis de CRF ya que el NPY i.c.v. aumenta el ARNm de CRH en el hipotálamo de rata [Suda y cols, 1993].

### **E) COLECISTOQUININA**

La colecistoquinina (CCK) es un polipéptido de 33 aminoácidos descubierta originalmente en el intestino. Estimula la secreción pancreática y la contracción de la vesícula biliar [Jorpes y Mutt, 1966]. Posteriormente, se localizó en el sistema nervioso central de los mamíferos, donde constituye uno de los neuropéptidos más abundantes [Vanderhaeghen y cols, 1975].

La CCK actúa a través de dos subtipos principales de receptores acoplados a proteína G (R): el CCK1-R y la CCK2-R. CCK-33 y CCK-8 son agonistas de ambos subtipos de receptores, mientras gastrina y pentagastrina son agonistas selectivos del CCK2-R [Dunlop, 1998].

## Introducción

Se ha demostrado la coexistencia de CCK con CRH, AVP, y OT en algunas neuronas de las divisiones parvocelular y magnocelular del PVN de la rata [Ceccatelli y cols, 1989; Vanderhaeghen y cols 1981]. La expresión tanto del RNAm como de la proteína de CCK también se ha detectado en las células de la hipófisis [Vanderhaeghen y cols, 1980].

Aunque la CCK aumenta la liberación de ACTH en cultivos de células antehipofisarias de rata [Reisine y Jensen, 1986], otros investigadores no han podido encontrar ningún efecto [Kamilaris y cols, 1992; Sander y Porter, 1982], por tanto no parece que la hipófisis sea una diana principal para la CCK. Se ha demostrado que la administración sistémica aguda de CCK aumenta las concentraciones plasmáticas de ACTH y cortisol en voluntarios sanos [Calogero y cols, 1993]. Hay evidencia convincente de que el lugar principal de acción de la CCK son las neuronas hipotalámicas productoras de CRH y AVP. La administración sistémica de CCK produce un aumento muy rápido en los niveles plasmáticos de AVP en ratas [Parrott y Forsling, 1992] y en humanos [Calogero y cols, 1993]. Sin embargo sólo se ha demostrado un aumento de CRH en ratas [Kamilaris y cols, 1992] pero no en humanos [Calogero y cols, 1993] tras la administración sistémica de CCK.

## F) CITOQUINAS

La estimulación del sistema inmune produce la liberación de numerosas hormonas proteicas llamadas "citoquinas". Un grupo funcional de citoquinas es la que media la respuesta inmune innata, que incluye citoquinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleuquina 1 (IL-1) e interleuquina-6 (IL-6), y los interferones tipo I (IFN- $\alpha$  /  $\beta$ ). Estas citoquinas son liberadas en las primeras etapas de la respuesta inmune por células inmunes activadas como macrófagos, células endoteliales vasculares, fibroblastos y neuronas. Otro grupo de citoquinas es el que media la

## Introducción

inmunidad adaptativa tardía; incluye las citoquinas producidas por las células T, IL-2 e IFN-gamma (interferones tipo II), que son especialmente importantes en la mediación de las defensas anti-virales. Además de participar en la respuesta inmune, las citoquinas son capaces de activar el eje HHA a diferentes niveles [Silverman y cols, 2005].

El factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) es una citoquina pleiotrópica derivada de los macrófagos que estimula la secreción plasmática de ACTH y corticosterona de una manera dosis dependiente. El sitio primario de acción sobre el eje HHA probablemente sea el hipotálamo. Los efectos del TNF- $\alpha$  sobre el eje HHA se suprimen administrando suero anti-CRH, lo que sugiere que la CRH es un mediador importante de la respuesta del eje HHA al TNF- $\alpha$  [Bernardini y cols, 1990].

Las interleuquinas IL-1, IL-6 y posiblemente IL-2 parecen estimular también la liberación de ACTH, pero la mayoría de los efectos agudos de estos agentes se realizan muy probablemente a través del hipotálamo [Besedovsky y cols, 1996].

### **G) SEROTONINA**

La serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) es un neurotransmisor ampliamente sintetizado en el CNS. También se encuentra en las células de la mucosa gastrointestinal y en las plaquetas [Peroutka y Howell, 1994]. Los cuerpos de las neuronas serotoninérgicas se localizan en el núcleo del rafe dorsal (DRN) y en el núcleo del rafe mediano (MRN); también se encuentran en la región ventrolateral del mesencéfalo [Dahlstroem y Fuxe, 1965]. El PVN recibe aferentes de neuronas serotoninérgicas que se originan en el DRN y MRN y que se proyectan sobre todo en la división parvocelular del PVN [Sawchenko y Swanson, 1983b].

## Introducción

La serotonina participa como estimulador en la regulación neuroendocrina del eje HHA, principalmente por un efecto indirecto ejercido a nivel hipotalámico. Estudios previos han sugerido que la activación serotoninérgica del eje HHA puede producirse a través de la activación de las neuronas CRH del PVN. La serotonina y sus agonistas son capaces de estimular la liberación de CRH de explantes de hipotálamo *in vitro* [Jones y cols, 1976]. Además, la fluoxetina aumenta el contenido de CRH en el plasma portal hipofisario y de ACTH en plasma periférico, lo que indica un efecto estimulante de la 5-HT sobre CRH *in vivo* [Gibbs y Vale 1983].

La 5-HT, que no cruza la barrera hematoencefálica, es probable que actúe también de forma directa sobre los corticotropos, ya que su administración sistémica estimula la liberación de ACTH [Gartside y Cowen, 1990], y en estudios con hipófisis *in vitro*, es capaz de estimular la secreción de ACTH [Spinedi y Negro-Vilar, 1983].

El efecto de 5-HT parece estar mediado por la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> y posiblemente también los 5-HT<sub>7</sub> [Jørgensen y cols, 1999].

### **H) HISTAMINA**

El sistema neuronal histaminérgico: a partir de estudios inmunohistoquímicos usando anticuerpos contra histamina (HA) y L-histidinadecarboxilasa (HDC) se ha establecido que la gran mayoría de los pericardios de las neuronas que contienen HA se localizan en el núcleo tuberomamilar del hipotálamo posterior [Panula y Airaksinen, 1991]. Las neuronas histaminérgicas se proyectan difusamente en casi todas las regiones del cerebro, siendo el hipotálamo una de las zonas más densamente inervadas [Inagaki y cols, 1988]. La acción de HA en el cerebro es ejercida

## Introducción

en al menos tres receptores diferentes: H1, H2 y H3 [Fukui, 1991; Schwartz y cols, 1991a].

La HA, que sirve como neurotransmisor en el hipotálamo [Schwartz y cols, 1991b], es un potente secretagogo de la ACTH y la  $\beta$ -END cuando se administra por vía i.c.v. [Kjaer y cols, 1992]. Este efecto es mediado por la activación de los receptores H1 y H2, y es probablemente ejercido a un nivel suprahipofisario, ya que HA es incapaz de estimular la liberación de ACTH directamente por la hipófisis [Hashimoto y cols, 1979]. Por tanto, su acción estimuladora puede implicar la activación de las neuronas hipotalámicas productoras de AVP y CRH.

Asimismo, la HA parece ser un mediador importante de la secreción de ACTH y  $\beta$ -END inducida por el estrés. En apoyo de este concepto están, por un lado, el hallazgo de que diversos tipos de estrés aumentan el contenido de HA hipotalámico [Knigge y cols, 1994] y por otro, la atenuación de la secreción de ACTH y  $\beta$ -END inducida por el estrés que ocurre al bloquear la síntesis de HA [Knigge y cols, 1989].

### I) VIP

Se ha demostrado que tanto el péptido intestinal vasoactivo (VIP) como su pariente, el péptido histidina isoleucina (PHI), son capaces de activar la secreción de ACTH, y muy probablemente a través de CRH [Alexander y Sander, 1995].

### J) GRELINA

Secretagogos de la GH como la grelina y la molécula sintética hexarelina estimulan la liberación de ACTH, probablemente a través de la liberación de AVP y en menor grado de CRH [Korbonits y cols, 1999; Arvat



y cols, 2002]. Se ha demostrado que GHRH potencia la respuesta de ACTH y cortisol a la hipoglucemia insulínica, pero no incrementa la respuesta a la administración combinada de CRH y AVP [Perras y cols, 2002].

#### **1.4.2.4. FACTORES INHIBITORIOS DEL EJE HHA**

##### **A) OXITOCINA (OT)**

La OT es un nanopéptido sintetizado en las neuronas magnocelulares del hipotálamo y secretado por la hipófisis posterior en respuesta a diferentes factores de estrés. Además, se han objetivado altas concentraciones de OT en el sistema portal hipofisario [Gibbs, 1984], por lo que es posible que también tenga un papel regulador sobre la secreción de ACTH.

La OT posee efectos inhibitorios tanto en roedores como en seres humanos. En ratas la respuesta de corticosterona al estrés sonoro se atenúa mediante la infusión central de OT, pero no de AVP [Windle y cols, 1997]. En humanos la infusión de OT inhibe de forma completa la secreción de ACTH inducida por CRH [Page y cols, 1990], lo que sugiere un efecto directo sobre la hipófisis ya que OT probablemente no atraviesa la barrera hematoencefálica en cantidades significativas. Además, la actividad del eje HHA está atenuada durante la lactancia coincidiendo con un período en el que los niveles centrales de OT están elevados [Lightman y Young 1989].

##### **B) $\beta$ -ENDORFINA**

El eje HHA probablemente puede regular su propia actividad a través de neuropéptidos. El RNAm de POMC es sintetizado en el núcleo arcuato (AN) del hipotálamo, y los productos de POMC, ACTH y  $\beta$ -endorfina son transportados a través de proyecciones axonales a la subdivisión parvocelular del PVN [Sawchenko y cols, 1982; Kiss y cols, 1984], donde

están en continuidad con neuronas productoras de CRH [Liposits y cols, 1988].

Estudios en humanos utilizando el antagonista de la morfina naloxona han establecido que los opioides endógenos pueden inhibir la actividad del eje HHA. La naloxona provocó la liberación de ACTH mediante la eliminación del tono opioide inhibitor endógeno sobre las vías noradrenérgicas centrales estimuladoras de la secreción de CRH hipotalámica [Grossman y Besser 1982, Torpy y cols, 1997]. La infusión IV de  $\beta$ -endorfina inhibe la liberación de ACTH y cortisol en humanos [Taylor T y cols, 1983]. La inhibición del eje HHA de los opiáceos se ejerce probablemente a nivel hipotalámico, y puede ser mediada por AVP en lugar de CRH [Delitala y cols, 1994].

### C) ÁCIDO $\gamma$ -AMINO BUTÍRICO (GABA)

Es bien conocida la acción inhibitoria del neurotransmisor GABA sobre la secreción de ACTH [Makara y Stark, 1974], probablemente a través de una acción central sobre el CRH hipotalámico. Los agonistas GABA son capaces de inhibir la liberación de CRH inducida por serotonina en cultivos de hipotálamo [Calogero y cols, 1988b], y la inyección *in vivo* del antagonista GABA bicuculina en el hipotálamo dorsomedial produce un aumento de ACTH y corticosterona plasmáticas [Keim y Shekhar, 1996]. Por lo tanto, el eje HHA parece estar bajo inhibición tónica gabaérgica a nivel hipotalámico, mediada por receptores GABA A, aunque también han sido implicados receptores GABA B [Häusler y cols, 1993].

El GABA se localiza en neuronas del PVN que contienen CRH [Meister y cols, 1988] y también pueden influir la expresión de CRH a través de las neuronas gabaérgicas localizadas en los núcleos del lecho de la estría

## Introducción

terminal y preóptico que se proyectan en el PVN [Herman y Cullinan, 1997]. La evidencia de que análogos de neuroesteroides con propiedades agonistas del receptor GABA pueden atenuar las respuestas del eje HHA al estrés [Reddy y Kulkarni 1996], puede sugerir la existencia de un mecanismo de protección antiestrés operado por GABA y neuroesteroides selectivos.

El valproato sódico, que actúa aumentando la actividad GABA al inhibir la transaminasa GABA, se ha utilizado clínicamente para reducir la hipersecreción de ACTH en pacientes con síndrome de Nelson [Jones MT y cols, 1981], pero este efecto no se ha observado en sujetos normales [Torpy y cols, 1995].

Las acciones farmacológicas de las benzodiazepinas (BDZ) dependen de la activación de dos tipos de receptores específicos. Los receptores centrales de BDZ, presentes en varias áreas del SNC, son un componente del receptor GABA-A, cuya activación aumenta la neurotransmisión GABAérgica produciendo inhibición del eje HHA [Kalogeras y cols, 1990]. Los receptores periféricos de benzodiazepina (PBR), diferentes del receptor GABA-A estructural y funcionalmente, no sólo se han demostrado en tejidos periféricos sino también en el SNC, en neuronas y células gliales, y en la hipófisis. Su activación conduce a estimulación del eje HHA [Calogero y cols, 1990]. Las BZD, especialmente alprazolam, ejercen una influencia inhibitoria sobre la actividad del eje HHA en los animales y los seres humanos. Este efecto se ejerce a nivel hipotalámico o a un nivel superior a través de la supresión de la CRH [Arvat y cols, 2002].

### **D) SOMATOSTATINA (SS)**

En ratas, SS inhibe la liberación de ACTH estimulada por CRH en células hipofisarias aisladas [Lamberts y cols, 1989] y también inhibe la

secreción de CRH por células hipotalámicas *in vitro* [Tizabi y Calogero, 1992]. Además, estudios *in vivo* en sujetos normales no muestran ningún efecto sobre la liberación de ACTH basal o estimulada por CRH [Stafford y cols, 1989], por lo que es poco probable que SS sea un inhibidor fisiológico de la liberación de ACTH. Sin embargo, los adenomas corticotropos expresan el receptor de SS (SSTR) subtipo 5 [De Bruin y cols, 2009] y esta es la base para el uso de pasireotida, un análogo de SS capaz de activar SSTR 1, 2, 3 y 5, para tratar la enfermedad de Cushing [Feelders y cols, 2010].

### **E) PÉPTIDO ATRIAL NATRIURÉTICO (ANP)**

El péptido atrial natriurético (ANP), además del papel integral en el mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico a través de la inhibición de la aldosterona y la liberación de AVP, puede actuar como un inhibidor de ACTH. En estudios de experimentación animal, se ha considerado como factor inhibidor de la actividad hipófiso-adrenal tanto a nivel hipofisario [Antoni y Dayanithi, 1989] como hipotalámico por inhibición de CRH [Ibañez-Santos y cols, 1990]. No obstante, en el hombre y a dosis fisiológicas no modifica la actividad del eje HHA [Ur y cols, 1991].

### **F) LEPTINA**

La leptina es una proteína producida por el tejido adiposo blanco con potentes acciones inhibitorias sobre la ingesta de alimentos y un importante regulador de peso corporal [Schwartz y cols, 2000]. Debido a que CRH también tiene propiedades anoréxicas, se ha propuesto que las acciones de la leptina podrían estar mediadas por el CRH hipotalámico. La infusión subcutánea de leptina disminuye los niveles de ARNm de CRH en el PVN de ratones obesos [Huang y cols, 1998]. Además, la leptina bloquea la

## *Introducción*

liberación de CRH de hipotálamos de rata perfundidos *in vitro*, mientras que no tiene efecto sobre la liberación de ACTH de células de hipófisis en cultivo [Heiman y cols, 1997]. En contraste con estas observaciones, la inyección de leptina a dosis de microgramos aumenta los niveles de ARNm de CRH en el PVN [Schwartz y cols, 1996] y de corticosterona [Van Dijk y cols, 1997]. La leptina también estimuló la liberación de CRH a partir de explantes hipotalámicos *in vitro* [Costa y cols, 1997].

### **G) SUSTANCIA P (SP)**

La Sustancia P (SP), en inyección i.c.v. produce una disminución de la ACTH circulante [Chowdrey y cols, 1990], igualmente disminuye la liberación de CRH de hipotálamos de rata *in vitro* [Faria y cols, 1991]. La inyección i.c.v. de un péptido antagonista de SP estimula las concentraciones circulantes de ACTH y corticosterona y aumenta el ARNm de CRH en la subdivisión parvocelular del PVN, lo que demuestra que la SP endógena inhibe de forma tónica la síntesis y liberación de CRH [Larsen y cols, 1993].

### **H) SISTEMA ENDOCANNABINOIDE**

Los endocannabinoides parece que inhiben la liberación basal y estimulada de ACTH actuando en múltiples niveles del eje HHA [Cota y cols, 2007]. También se sabe que la administración del agonista cannabinoide delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) durante 14 días suprime la respuesta de cortisol a la hipoglucemia en humanos [Benowitz y cols, 1976].

### **I) PREPRO-TRH (178-199)**

Aunque algunos investigadores han demostrado que inhibe la secreción de ACTH basal y estimulada por CRH en cultivos de hipófisis de rata [Redei y cols, 1995], otros investigadores no han podido confirmar este

hallazgo [Nicholson y Orth, 1996], por lo cual la función de este péptido en la liberación de ACTH permanece controvertido.

#### **J) ÓXIDO NITROSO (NO)**

Generalmente se cree que el NO inhibe la liberación de AVP desde el hipotálamo [Yasin y cols, 1993], pero ha habido poco acuerdo entre los investigadores sobre la influencia de NO en la liberación de CRH [Costa y cols, 1993; Brunetti y cols, 1993]. Los datos *in vivo* apoyan un papel inhibitorio de NO endógeno en la mediación de la respuesta del eje HHA a la activación inmune, ya que la inhibición de la actividad de la sintasa de NO se traduce en un aumento de la liberación de ACTH y corticosterona en respuesta a lipopolisacáridos o IL-1 inyectados IV [Rivier y Shen, 1994; Kim y Rivier 1.998]. Por el contrario, el bloqueo de la síntesis de NO atenúa la respuesta del eje HHA al estrés por privación acuosa y por choque eléctrico en las patas [Rivier y Shen, 1994], lo que sugiere que el NO puede ser un agente estimulador en el PVN en los mecanismos involucrados en el estrés físico y psicológico. En base a esto, se ha propuesto que, dependiendo de si el estrés es inmune o no, NO puede ejercer un efecto estimulador sobre la síntesis de CRH en el PVN o un efecto inhibitorio sobre su liberación desde la eminencia media [Rivier, 1998].

#### **1.4.2.5. RETROALIMENTACIÓN NEGATIVA DE LOS GLUCOCORTICOIDES**

El efecto inhibitorio de los glucocorticoides se produce a varios niveles: en la hipófisis, en el hipotálamo y, el más importante, en el hipocampo, que contiene la mayor concentración de receptores glucocorticoides del SNC. Curiosamente, a nivel del núcleo central de la

amígdala, los glucocorticoides estimulan la secreción de CRH en lugar de inhibirla [Makino y cols, 1994].

Los mecanismos de retroalimentación incluyen múltiples efectos:

- 1) inhibición de la síntesis y liberación de CRH y AVP en el PVN.
- 2) inhibición de la transcripción del POMC y la secreción de ACTH.
- 3) inhibición de la secreción de ACTH inducida por CRH y AVP.

En la hipófisis anterior, los glucocorticoides inhiben tanto la secreción de ACTH como la transcripción de la POMC, lo que va a dar lugar a una reducción de los niveles de ARNm y de la síntesis de POMC [Keller-Wood y Dallman, 1984; Lundblad y Roberts, 1988]. En menor medida, los glucocorticoides disminuyen la secreción de CRH y AVP, así como la síntesis de sus respectivos ARNm en el PVN del hipotálamo [Itoi y cols, 1987]. Los glucocorticoides bloquean el efecto estimulador del CRH sobre la transcripción genética de la POMC y la liberación aguda de ACTH, e inhiben la expresión del receptor de CRH en la hipófisis anterior [Abou-Samra y cols, 1986; Holmes y cols, 1987].

**La retroalimentación rápida.** Se produce en un periodo de segundos a minutos, y consiste en la inhibición de la liberación de ACTH por los corticotropos, mediada por el receptor de glucocorticoides. Por ejemplo, la inyección de prednisolona inhibe la liberación de ACTH estimulada por CRH ovina en un periodo de 20 minutos [Russell y cols, 2010]. En estudios *in vitro* parece que los glucocorticoides inhiben la liberación de ACTH y CRH estimulados, mientras que la secreción basal no se ve afectada. La retroalimentación rápida no requiere de la síntesis de proteínas, lo que implica que el efecto glucocorticoide es un efecto no-genómico, por ejemplo,

mediante la inhibición de los sistemas de segundos mensajeros [Keller-Wood y Dallman, 1984; Dallman y cols, 1987]. Varias evidencias implican a los endocannabinoides en esta inhibición de la retroalimentación rápida [Di y cols, 2003].

**La retroalimentación intermedia.** Tiene efecto en un periodo de 4 horas, y consiste en la inhibición de la síntesis y liberación de CRH, pero no afecta a la síntesis de ACTH [Keller-Wood y Dallman, 1984].

**La retroalimentación lenta.** Ocurre en periodos de tiempo más largos, e implica la inhibición de la transcripción de POMC [Keller-Wood y Dallman, 1984].

Hay evidencias de que ACTH puede inhibir la síntesis de CRH en situaciones que cursan con niveles muy elevados de CRH, por ejemplo enfermedad de Addison e hipopituitarismo, aunque esta inhibición no ocurre en sujetos sanos [Suda y cols, 1987]. Estudios inmunohistoquímicos de los núcleos PVN de ratas adrenalectomizadas o hipofisectomizadas muestran una reducción en el número de las células positivas para CRH y AVP cuando se les administra infusiones de ACTH (Sawchenko, 1985) [Sawchenko y Swanson, 1985].

Los glucocorticoides pueden fijarse a dos tipos de receptores en la hipófisis: el tipo I o MCR (el receptor mineralocorticoide, que tiene una alta afinidad para la aldosterona y los glucocorticoides) y el tipo II o GCR (el receptor glucocorticoide, con baja afinidad para los mineralocorticoides). Las concentraciones basales de corticoides son capaces de saturar a los receptores tipo I pero no a los tipo II, que sí se van a saturar durante el estrés. Estas diferencias, junto a la diversa distribución dentro del cerebro, indican que los receptores tipo I participan en la regulación de la actividad basal del



eje HHA y que los receptores tipo II median las respuestas en situaciones de estrés [Kloet y cols, 1993].

Por último, los glucocorticoides estimulan la síntesis y secreción de CRH placentario en cultivos primarios de placenta humana, en contraste con la supresión que realizan sobre la expresión de CRH en el hipotálamo [Robinson y cols, 1988].

### **1.4.2.6. RITMO CIRCADIANO**

En los mamíferos, el responsable del control de los ritmos circadianos es el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo. El SCN produce una serie de señales neuronales y hormonales que regulan muchas funciones corporales en un ciclo de 24 horas. Una de estas funciones es la actividad del eje HHA [Moore-Ede y cols, 1983].

Un sistema de retroalimentación negativa autoregulatorio, que involucra la síntesis cíclica de las proteínas PER1-3, CLOCK / BMAL1 y Cryptochrome, actúa como oscilador de base [Dunlap, 1999]. La sincronización del oscilador se logra mediante la entrada de luz desde la retina, a través del tracto retinohipotalámico. La transcripción activada por la luz de los genes c-fos y JunB, produce la activación de la transcripción del gen PER1 [Kornhauser y cols, 1990 y 1992].

Las personas completamente ciegas no presentan ritmo circadiano de la actividad hipófiso-adrenal [Orth y cols, 1979]. El ritmo circadiano se ve alterado por cambios de turno de trabajo día-noche y por los viajes transoceánicos. Para que el ritmo circadiano se reajuste a un nuevo ciclo día-noche pueden ser necesarias hasta dos semanas [Désir y cols, 1981; Czeisler y cols, 1992; Boivin y cols, 1996].

## ¿Es el ritmo circadiano de CRH el responsable del ritmo de ACTH?

Mientras que en ratas se ha establecido la presencia de secreción rítmica de CRH [Moldow y Fischman, 1984], en humanos los datos son contradictorios. Algunos investigadores han observado oscilación rítmica [Watabe y cols, 1987], mientras otros no [Cunnah y cols, 1987]. Por otra parte, el ritmo circadiano persiste a pesar de la infusión continua de CRH, lo que sugiere que hay otros factores responsables de la modulación de los pulsos de ACTH [Ur y cols, 1995]. Además, estudios realizados en ratones *knock-out* para CRH muestran que la producción de ACTH no sigue ningún tipo de ritmo circadiano, y que la infusión de CRH de forma constante logra normalizar el ritmo diurno de ACTH, lo que indica que el CRH es necesario para que la hipófisis o las adrenales puedan responder a otro factor generador de ritmo circadiano [Muglia y cols, 1997]. Varias evidencias apuntan a la AVP como el responsable del ritmo de ACTH: estudios inmunohistoquímicos muestran un ritmo circadiano en la expresión de AVP [Yamase y cols, 1991] y estudios en ratones transgénicos *knock-out* para CLOCK muestran la pérdida del ritmo circadiano en la expresión del ARNm de AVP [Jin y cols, 1999].

El ritmo de secreción de cortisol no deriva solamente del ritmo de ACTH, sino que se considera la consecuencia de un doble control, endocrino por la ACTH y neural por la inervación adrenal. Se sabe que la activación del nervio esplácnico provoca una rápida liberación de E y NE que actúan de forma sinérgica con ACTH controlando la liberación de glucocorticoides [Bornstein y cols, 1990]. También se ha confirmado la existencia de una conexión polisináptica entre el núcleo supraquiasmático (SCN) hipotálamico (asiento del reloj maestro de los ritmos circadianos) y la glándula suprarrenal [Buijs y cols, 1999]. Más recientemente, se ha hecho evidente que la luz induce la expresión de genes “reloj” en la glándula suprarrenal [Ishida y cols,

2005]. Estos genes “reloj” podrían ser los responsables del patrón de secreción circadiano que presentan las glándulas suprarrenales en cultivos *in vitro* [Ungar y Halberg, 1962].

#### **1.4.2.7. RESPUESTA AL ESTRÉS Y EJE NEUROENDOCRINO- INMUNOLÓGICO**

Los agentes productores de estrés provocan la aparición de una respuesta de adaptación que incluye con frecuencia la activación tanto del eje HHA como del sistema nervioso simpático-suprarrenal. Una interfase inmunoneuroendocrina regula la respuesta de la ACTH a las diferentes causas de estrés, incluyendo dolor, infección, hipovolemia, hipoglucemia, traumatismos, fiebre, quemaduras, cirugía, esfuerzo y estrés psicológico. Aparte de la ACTH, las citosinas proinflamatorias, en especial la IL 1, la IL-6 y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TN- $\alpha$ ), liberadas tanto a nivel central como periférico, estimulan la transcripción de la POMC y la secreción de ACTH. Las diferentes causas de estrés aumentan también la ACTH y el cortisol mediante acciones centrales mediadas por la CRH y la AVP [Bateman y cols, 1989]. Como consecuencia de la activación del eje HHA se produce una reducción de la intensidad de la respuesta inmune, ya que prácticamente todos los componentes de la respuesta inmune son inhibidos por el cortisol [Munck y cols, 1984], de esta manera el organismo se protege de la respuesta inflamatoria a la agresión.

Junto a esto, el estrés psicológico agudo aumenta la concentración de cortisol, pero parece que la velocidad de secreción es normal en los pacientes con estados de ansiedad crónica y en aquellos con enfermedad psicótica de base. Por el contrario, la depresión se asocia a concentraciones elevadas de cortisol por lo que en este caso hay que hacer diagnóstico diferencial con el síndrome de Cushing [Aguilera y cols, 1994].

## **2. EJE HORMONAL SOMATOTRÓPICO**

### **2.1. HORMONA DE CRECIMIENTO**

La hormona de crecimiento (GH) humana se aisló por primera vez en 1956 [Li y Papkoff, 1956] y la estructura del péptido fue conocida quince años más tarde [Li y Dixon, 1971]. LA GH humana es un péptido de una cadena simple de 191 aminoácidos con dos enlaces disulfuro y un peso molecular de 22.000 daltons [Niall y cols, 1971].

#### **2.1.1. SOMATOTROPOS**

La GH o somatotropina es la hormona más abundante de la hipófisis anterior y es producida por las células somatotropas, que se localizan principalmente en las alas laterales de la adenohipófisis. Constituyen alrededor del 50% de las células y se caracterizan por ser células acidófilas, poliédricas e inmunopositivas para GH. Un pequeño porcentaje de estas células son somatomamotropas, es decir inmunopositivas para GH y prolactina [Horvath y Kovacs, 1988]. La GH se expresa también en otras áreas del cerebro, como la corteza, el hipocampo, el núcleo caudado y áreas de la retina. De manera análoga también se expresan el receptor de GH, IGF-1 y el receptor de IGF-1, donde se cree que median funciones neuroprotectoras y regenerativas [Aberg y cols, 2006].

#### **2.1.2. GEN DE LA GH**

El locus GH, una región 66 kb del ADN, se encuentra en el cromosoma 17q22-q24 y posee 5 genes homólogos, que parecen haber sido duplicados a partir de un gen de GH ancestral [Owerbach y cols, 1980]. El gen de la GH hipofisaria (GH-N) codifica dos productos de ARNm que dan lugar a la molécula de GH circulante más abundante de 22 kDa y a la menos

abundante (10 por ciento de la GH circulante) de 20 kDa GH que carece de los aminoácidos 32 a 46. Las células del sincitiotrofoblasto placentario expresan una variante de GH (hGH-V) y otros tres genes de somatotropina coriónica humana (hCS). Durante el embarazo, la secreción de GH materna se reduce y aumenta la GH derivada de la placenta [Frankenne y cols, 1988].

### **2.1.3. FORMAS CIRCULANTES DE GH**

Existen varias formas circulantes de GH. Durante los pulsos espontáneos de secreción, la isoforma de longitud completa de 22 kDa representa el 73%, la isoforma de 20 kDa contribuye el 16%, mientras que otras isoformas representan el 10%. Durante la secreción basal entre pulsos, se pueden identificar otras formas (30 kDa, 16 kDa y 12 kDa) que consisten en fragmentos inmunorreactivos de GH [Baumann y cols, 1985]. En la circulación existen formas de GH de peso molecular más alto, que representan GH unida a proteínas de unión o GHBP [Herington y cols, 1986].

### **2.1.4. SECRECIÓN DE GH**

**Pulsatilidad.** El patrón de secreción de GH fue descrito por primera vez en ratas [Tannenbaum y Martin, 1976]. Los niveles circulantes de GH son pulsátiles, con altos picos separados por valles, en los cuales la GH es indetectable por RIA o IRMA, pero detectable por quimioluminiscencia, constituyendo la secreción basal de GH [Iranmanesh y cols, 1994]. En promedio, se producen 10 pulsos de secreción de GH por día que duran una media de 96,4 minutos con un periodo interpulso de 128 minutos [Surya y cols, 2006]. En humanos, el patrón circadiano de secreción de GH está completamente desarrollado después de la pubertad, mostrando un pico principal al final de la noche que se asocia con el sueño REM, y diferentes

picos de secreción durante las horas de luz del día, que muestran una gran diferencia individual [Tannenbaum y cols, 1989].

Estudios en animales han puesto de manifiesto que la SS regula la magnitud de las depresiones de GH, así como la amplitud de los picos, mientras GHRH funciona como el regulador principal del patrón pulsátil [Cataldi y cols, 1994]. Curiosamente, la administración de GHRH de forma continua en humanos no afecta a la pulsatilidad de la secreción de GH [Vance y cols, 1989]. Por otra parte, los pacientes con una mutación inactivante del receptor de GHRH siguen mostrando secreción pulsátil de GH, lo que sugiere que la pulsatilidad de la SS es suficiente para determinar la pulsatilidad de GH [Roelfsema y cols, 2001]. Estas observaciones sugieren que los mecanismos implicados en humanos pueden diferir de los modelos animales.

**GH y dimorfismo sexual.** Existen diferencias en la secreción de GH entre sexos, siendo los niveles medios de GH mayores en mujeres, debido a la amplitud de incremento y de pico de GH más altos. En cambio, no se observan diferencias en la vida media de la GH, en los tiempos entre pulsos ni en la frecuencia de los mismos [Van den Berg y cols, 1996]. Recientes evidencias señalan que existen diferencias sexuales en la expresión de SS y los diferentes subtipos de receptores de SS (SST1-5) en la hipófisis de ratón, que causarían diferencias en la regulación de la secreción de GH [Córdoba-Chacón y cols, 2011].

**GH y senectud.** Los niveles de GH y IGF-1 disminuyen de forma progresiva con la edad, siendo muy bajos por encima de los 60 años [Zadik y cols, 1985], dando lugar a lo que se ha denominado “somatopausia”. Este fenómeno se observa también en otras especies de mamíferos y se ha llegado a sugerir que el tratamiento con GH podría enlentecer el proceso de

envejecimiento [Rudman y cols, 1990]. En contra de esta hipótesis, se ha demostrado que la disminución de la actividad del eje somatotrópico prolonga la longevidad de diferentes especies como gusanos, moscas de la fruta, ratones y levaduras [Fontana y cols, 2010], lo que apoyaría la idea de que la somatopausia podría contribuir a aumentar la longevidad humana, siendo por tanto un mecanismo adaptativo [Junnila y cols, 2013].

**Sueño.** La secreción de GH muestra un patrón circadiano, con pulsos de secreción durante el sueño que son más numerosos que durante el día [Van Cauter y cols, 1992]. La secreción de GH está asociada con el sueño de ondas lentas (etapas 3 y 4 del sueño) y el sueño REM [Holl y cols, 1991].

**Ejercicio físico.** El ejercicio físico es un potente estímulo para la secreción de GH [Sutton y Lazarus, 1976], que ocurre aproximadamente unos 15 minutos después de iniciarlo [Lassarre y cols, 1974]. Se necesitan diez minutos de actividad física de alta intensidad para producir un aumento significativo de la GH [Felsing y cols, 1992]. El ejercicio anaeróbico produce una mayor liberación de GH que el ejercicio aeróbico de la misma duración [Vanhelder y cols, 1984]. En la secreción de GH inducida por el ejercicio se han implicado la acetilcolina, adrenalina, noradrenalina y los opioides endógenos [Giustina y Velhuis, 1998] pero no la grelina que no aumenta sus niveles [Schmidt y cols, 2004].

**Hipoglucemia.** La hipoglucemia insulínica es otro potente estimulador de la secreción de GH [Greenwood y cols, 1966]. Los picos máximos de GH obtenidos tras este estímulo se correlacionan con los obtenidos durante el sueño de ondas lentas [Hindmarsh y cols, 1985]. La respuesta hipoglucémica está mediada por los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos [Tatar y Vigaš, 1984] que producen la inhibición de la liberación de SS [Giustina y Velhuis, 1998], aunque existen otras pruebas que hablan de una estimulación de la secreción

de GHRH, por ejemplo la administración de un antagonista del receptor de GHRH suprime la secreción de GH inducida por la hipoglucemia [Jaffe y cols, 1996]. Es poco probable que la grelina medie la respuesta de la GH a hipoglucemia insulínica ya que sus niveles se suprimen tras la administración de la insulina intravenosa [Broglia y cols, 2004].

**Otros factores estresantes.** Otros factores estresantes como el shock hipovolémico [Carey y cols, 1971] y la cirugía [Vigaš y cols, 1977] también aumentan la secreción de GH. Se cree que esta estimulación está mediada por mecanismos  $\alpha$ -adrenérgicos ya que el bloqueo con fentolamina inhibe la respuesta [Vigaš y cols, 1977].

**Hiperglucemia.** Al contrario que con la hipoglucemia, la ingestión de una carga oral de glucosa (SOG) produce la supresión inicial de los niveles plasmáticos de GH durante 1 a 3 horas, seguido de un aumento entre las 3 y 5 horas [Roth y cols, 1963]. La supresión inicial podría estar mediada por un aumento de la secreción de SS ya que la piridostigmina, un probable inhibidor de la liberación de SS, bloquea esta supresión [Peñalva y cols, 1989]. Los niveles circulantes de grelina también disminuyen tras la ingesta de glucosa [Shiyya y cols, 2002]. Las respuestas de GH a grelina y GHRH se atenúan con la administración de glucosa oral, probablemente por la mediación de la SS [Broglia y cols, 2002a]. Se postula que el aumento tardío de los niveles de GH tras SOG es debido a la disminución del tono somatostatinérgico asociado a un aumento recíproco de la GHRH, produciéndose un efecto "rebote" [Giustina y Velhuis, 1998].

En la diabetes mellitus tipo 1 se observa un aumento de la secreción de 24 horas de GH [Hayford y cols, 1980]. El análisis de deconvolución muestra que aumentan tanto la frecuencia como la amplitud de los pulsos secretorios. Este último se explica por unos niveles "valle" más elevados



## Introducción

[Asplin y cols, 1989]. La mejora del control glucémico parece normalizar estas dinámicas alteradas [Salgado y cols, 1996]. El mecanismo fisiopatológico subyacente parece ser una reducción del tono somatostatinérgico [Giustina y Velhuis, 1998]. En cuanto a la diabetes tipo 2, los resultados no son uniformes, habiéndose comunicado niveles de GH aumentados, disminuidos o normales. Esta discordancia podría ser debida a la presencia de factores de confusión que actuarían en direcciones opuestas, por un lado la obesidad presente en estos pacientes, que conduce a la hiposecreción de GH y por otro, la hiperglucemia, que conduce a la hipersecreción [Giustina y Velhuis, 1998].

**Ayuno.** El ayuno aumenta la secreción hipofisaria de GH. Se ha demostrado que el ayuno de cinco días en hombres sanos normales produce un aumento significativo tanto en la frecuencia como en la amplitud de los pulsos de secreción de GH. Junto a esto se produce una disminución de la secreción de IGF-1, que podría explicar la falta de inhibición de la secreción de GH hipofisaria [Ho y cols, 1988].

**Obesidad y malnutrición.** Los estados de desnutrición crónica como el marasmo y el kwashiorkor causan un aumento en los niveles de GH [Soliman y cols, 1986]. Por otra parte, la obesidad se asocia a niveles bajos de GH, en parte debido a la disminución de los niveles de las proteínas transportadoras de GH (GHBP) y parcialmente debido a la disminución de la frecuencia de los pulsos de GH [Veldhuis y cols, 1991]. La disminución de la secreción de GH en la obesidad se ha atribuido a un aumento del tono somatostatinérgico, ya que la piridostigmina es capaz de revertir este descenso, al menos en parte, al disminuir la secreción de SS [Ghigo y cols, 1989; Cordido y cols, 1989].

## Introducción

Se ha postulado que la acción inhibitoria de la obesidad sobre la GH podría estar mediada por los niveles elevados de leptina observados en esta situación, sin embargo, mientras en ratas la leptina parece influir en la secreción de GH, no se ha demostrado en humanos. Se ha comprobado que la administración de leptina revierte el efecto inhibitorio producido por el ayuno en ratas [Carroll y cols, 1997]. En humanos, la respuestas de GH a la administración de GHRH más GHRP-6, no diferían entre obesos con y sin déficit de leptina, por lo que la leptina no parece responsable del bloqueo de la GH observado en la obesidad [Ozata y cols, 2003].

La grelina también ha sido objeto de estudio tratando de ver la relación de la secreción de GH con la obesidad. Sus niveles se correlacionan negativamente con el contenido de grasa corporal [Tschop y cols, 2001]. Un estudio comparativo entre hombres obesos y no obesos demostró que los niveles de grelina estaban aumentados por la noche en los controles magros pero no en el grupo de obesos [Yildiz y cols, 2004]. En contradicción con esto, otro estudio encontró que los niveles de grelina se correlacionaban de forma positiva con la masa de grasa visceral, mientras que la secreción de GH de 24 horas se correlaciona negativamente. Además, en este mismo estudio, la pérdida de peso aumentaba la secreción de GH, pero no afectaba los niveles de grelina [Lindeman y cols, 2002].

**Aminoácidos.** La comida rica en proteínas estimula la secreción de GH [Sukkar y cols, 1967]. La l-arginina, un aminoácido esencial, se puede utilizar como prueba de estimulación para la secreción de GH [Parker y cols, 1967]. El mecanismo de acción parece ser tanto a través de la inhibición de la secreción de SS [Alba-Roth y cols, 1988] como de la estimulación de la secreción de GHRH [Jaffe y cols, 1996].

### **2.1.5. PROTEINAS TRANSPORTADORAS DE GH**

Las proteínas transportadoras de GH (GHBP) son una proteína de 20 kDa de baja afinidad y otra de 60 kDa de alta afinidad [Herington y cols, 1986]. La GHBP de alta afinidad representa el dominio extracelular del receptor de GH hepático, y transporta aproximadamente la mitad de la isoforma de GH predominante de 22 kDa [Leung y cols, 1987]. La GH de 20 kDa se fija de modo preferente a la proteína de transporte de baja afinidad, que no está relacionada con el receptor de GH. La unión de GH a GHBP prolonga su tiempo de circulación debido a que el complejo no se puede filtrar por los glomérulos renales. La GHBP de alta afinidad también impide que la GH se fije a los receptores de superficie de GH. Los pacientes con hipopituitarismo o acromegalia presentan concentraciones normales de GHBP [Baumann y cols, 1989].

### **2.1.6. RECEPTOR DE GH**

La GH actúa mediante la unión a un receptor específico, que se encuentra principalmente en el hígado. La unión GH-receptor induce una señal intracelular mediante una cascada de fosforilación que implica la vía JAK / STAT (señal de transducción de activadores de la transcripción). Su acción predominante es estimular la síntesis y la secreción hepáticas de IGF-1. El receptor de GH es una proteína de 70 kD y consta de un dominio extracelular de unión a ligando, un dominio que atraviesa la membrana, y un componente de señalización citoplasmática. Cada molécula de GH se une con dos moléculas del receptor de GH seguido por la rápida rotación interna, y la activación de JAK2 tirosina quinasa, que conduce a la fosforilación de varias moléculas de señalización citoplasmática. Las mutaciones del receptor de GH están asociadas a insensibilidad parcial o completa a la GH y falta de crecimiento (enanismo de Laron). Este enanismo se asocia a concentraciones

circulantes de GH normales o elevadas y concentraciones bajas de GHBP e IGF-1 [Brooks y Waters, 2010].

### **2.1.7. ACCIONES DE LA GH**

La GH junto con la IGF-1 son importantes reguladores de la homeostasis ósea durante toda la vida. Durante el período prepuberal, GH e IGF-1 son determinantes del crecimiento longitudinal del hueso, la maduración ósea, y la adquisición de la masa ósea, mientras que en los adultos ambas hormonas son importantes en el mantenimiento de la masa ósea [Giustina y cols, 2008].

La GH también tiene acciones metabólicas específicas sobre la grasa, los hidratos de carbono y las proteínas. La GH estimula la lipólisis en el tejido adiposo, lo que produce un mayor flujo de ácidos grasos libres (AGL) a la circulación. En el hígado, la GH induce la captación de TG mediante el aumento de la expresión de la lipoproteín-lipasa (LPL) y/o la lipasa hepática (HL). Por otra parte, el tratamiento con GH induce un estado de almacenamiento de TG dentro del hígado. Por último, en el músculo esquelético, la GH estimula también la captación de TG aumentando la expresión de LPL. Estos lípidos captados se pueden almacenar como TG intracelulares o metabolizar para producir energía, mediante la lipólisis o la oxidación de los lípidos. Por otra parte, la GH tiene un efecto anabólico sobre el metabolismo de las proteínas [Vijayakumar y cols, 2010].

Los efectos de la GH sobre el metabolismo de hidratos de carbono son más complicados y pueden ser indirectos antagonizando la acción de la insulina. Desde principios del siglo XX se sabe que la GH y la insulina están relacionadas con el control metabólico. En 1930, se puso de manifiesto que la ablación de la glándula hipofisaria en perros diabéticos disminuía la

## Introducción

hiperglucemia y producía hipersensibilidad a la insulina [Houssay y Biasotti, 1930]. La GH tiene efectos metabólicos directos que son independientes de la generación de IGFs y que pueden considerarse como agonistas o antagonistas de la insulina [Davidson MB y cols, 1987].

En ratas y perros hipofisectomizados, y en niños con déficit de GH, la administración de GH humana ocasiona una disminución rápida y transitoria de la glucemia y de los ácidos grasos libres (AGL) [Altszuler y cols, 1968; Batchelor y cols, 1976; Frohman y cols, 1967]. Estos efectos similares a la insulina se correlacionan con estudios *in vitro* que muestran: antilipolisis, y aumento de la utilización de glucosa, de la oxidación de la leucina y del transporte de aminoácidos [Davidson MB y cols, 1987].

Por otro lado, la GH se considera como una hormona contrareguladora de la glucosa [Butler y Rizza, 1989]. La GH estimula la producción hepática de glucosa de forma independiente de la insulina y del glucagón [Bougnères y cols, 1985]. En los tejidos periféricos, la GH disminuye la utilización de la glucosa y la sensibilidad a la insulina, lo que provoca hiperinsulinemia [Altszuler y cols, 1968]. Esta situación de resistencia a la insulina es debida a alteraciones a nivel postreceptor, ya que la GH no parece alterar el *binding* de la insulina a su receptor *in vitro* [Rosenfeld y cols, 1982].

Asimismo, la intolerancia hidrocarbonada es frecuente en los estados de hiperproducción de GH como la acromegalia [Molitch, 1992], donde está alterada la respuesta oral e intravenosa a la glucosa junto con hiperinsulinemia. La hiperinsulinemia en esta situación es debida fundamentalmente a un aumento de la secreción pancreática de insulina [Roelfsema y Frölich, 1985].

## **2.2. REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GH**

### **2.2.1. GHRH**

La hormona liberadora de GH (GHRH o GRH) se aisló por primera vez de un tumor pancreático extraído de un paciente que presentaba acromegalia e hiperplasia somatotrópica [Thorner y cols, 1982]. La GHRH deriva de una preprohormona de 108 aminoácidos que da lugar a GHRH (1-40) y GHRH (1-44), encontrándose las dos formas en el hipotálamo humano [Mayo y cols, 1983]. Los residuos C-terminales 30-44 no son indispensables, ya que los residuos 1-29 muestran bioactividad completa. GHRH se une a un receptor acoplado a la proteína G de siete dominios transmembrana que activa la adenilato ciclasa [Mayo, 1992], que estimula la transcripción del gen de GH, así como la liberación de GH de las reservas intracelulares [Barinaga y cols, 1983; Fukata y cols, 1985].

Varios estudios han mostrado que las GHRH humanas (1-40) NH<sub>2</sub> y GHRH (1-44) NH<sub>2</sub>, y su análogo sintético equipotente GHRH (1-29) NH<sub>2</sub>, son capaces de estimular la secreción de GH de manera dosis dependiente en los humanos normales [Vance y cols, 1984; Gelato y cols, 1984; Grossman y cols, 1984].

### **2.2.2. SOMATOSTATINA (SS)**

La somatostatina (factor inhibidor de liberación de GH o SRIF) deriva de una prohormona de 116 aminoácidos que dar lugar a dos formas principales, la SS-28 y SS-14 [Shen y cols, 1982]. Ambas formas son péptidos cíclicos debido a un enlace disulfuro intramolecular. LA SS tiene múltiples efectos en la adenohipófisis, así como en el páncreas, el hígado y la función gastrointestinal. La SS inhibe la secreción de GH por el somatotropo [Brazeau y cols, 1973] y antagoniza la actividad secretagoga

sobre la GH de la grelina [Tannenbaum y cols, 2003]. La SS también inhibe la secreción de GH indirectamente antagonizando la secreción de GHRH [Epelbaum, 1992] y a través de la inhibición de la secreción de grelina del estómago [Broglia y cols, 2002b]. Además, inhibe la secreción basal y estimulada por TRH de la TSH [Vale y cols, 1974; Siler y cols, 1974]. A nivel gastrointestinal, la SS inhibe la secreción de CCK, glucagón, gastrina, secretina, GIP, insulina y VIP del páncreas [Walsh, 1994].

La SS se une a receptores específicos (SSTRs), de los cuales existen al menos 5 subtipos. SSTRs 2 y 5 son los más abundantes en la hipófisis [Patel y cols, 1996]. Los SSTR 2 están presentes principalmente en los tirotropos y gonadotropos y los SSTR 5 en los somatotropos, lo que sugiere que los SSTR 2 regulan TSH, LH y FSH, mientras que los SSTR 5 regulan GH [Peineau y cols, 2013]. Los SSTRs se acoplan a diferentes sistemas de segundo mensajero como la adenilato ciclasa, proteína fosfatasa, fosfolipasa C, proteínas-quinasa dependientes de GMPc, potasio, y canales de calcio [Reisine y Bell, 1995].

### **2.2.3. GRELINA**

La grelina es un péptido orexígeno (estimulador del apetito) aislado del estómago que estimula la secreción de GH. Deriva de la preprogrelina, péptido de 117 aminoácidos que se transforma en el péptido activo de 28 aminoácidos. La grelina es el ligando endógeno del receptor secretagogo de GH (GHS-R)1a, que también es activado por los secretagogos sintéticos de la GH [Kojima y cols, 1999; Howard y cols, 1996]. Los primeros secretagogos de GH descubiertos como la GHRP-1, GHRP-2, GHRP-6 y hexarelina son derivados sintéticos de las encefalinas [Momany y cols, 1981].

## Introducción

La grelina está presente en el AN del hipotálamo y en la hipófisis anterior [Korbonits y cols, 2001]. La grelina estimula la secreción *in vitro* de GH directamente a partir de somatotropos [Kojima y cols, 1999] y también cuando se infunde *in vivo*, aunque esta última acción parece requerir la participación de un sistema de GHRH intacto, ya que la inmunoneutralización de GHRH bloquea la secreción de GH inducida por grelina [Tannenbaum y cols, 2003]. La grelina estimula la secreción de GH de una manera sinérgica cuando se coinfiende con GHRH [Arvat y cols, 2001]. Las acciones de los secretagogos de GH se bloquean por la desconexión hipotálamo-hipofisaria, lo que sugiere que en las acciones estimuladoras *in vivo* de la grelina son indirectos y mediados por la GHRH [Popovic y cols, 1995).

### **2.2.4. OBESTATINA**

La obestatina es un péptido amidado de 23 aminoácidos que deriva de la preprogreлина, que también es el precursor de la grelina. La obestatina suprime la ingesta de alimentos y tiene efectos metabólicos opuestos a los de la grelina cuando se administra por vía intraperitoneal o i.c.v. en ratones [Zhang y cols, 2005]. Un estudio inicial demostró que la administración intravenosa o i.c.v. de obestatina no afectaba la secreción de GH en ratas macho [Yamamoto y cols, 2007]. Sin embargo, un estudio más reciente ha demostrado que el tratamiento con obestatina inhibe la secreción basal e inducida por grelina de la GH, tanto *in vitro* como *in vivo* en primates y en ratones [Luque y cols, 2014]. El tratamiento con obestatina produce una reducción en los niveles de Pit-1 y ARNm del receptor de GHRH en la hipófisis, así como una disminución de la GHRH hipotalámica y la expresión de grelina. La obestatina reduce también la expresión de los receptores hipofisarios de SS, subtipos SSTR 1 y 2 [Luque y cols, 2014].



## **2.2.5. OTROS FACTORES REGULADORES**

### **2.2.5.1. GLUCOCORTICOIDES**

El tratamiento con glucocorticoides tiene un efecto bifásico sobre la secreción de GH: estimulación aguda inicial de tres horas, seguida de supresión en un plazo de doce horas [Casanueva y cols, 1990; Burguera y cols, 1990]. Este último es el efecto clínicamente relevante, ya que el exceso de glucocorticoides tanto endógeno como exógeno suprime el crecimiento en niños [Strickland y cols, 1972]. El efecto inhibitor de los glucocorticoides sobre la secreción de GH está mediado posiblemente por un aumento de la expresión de la SS [Giustina y Wehrenberg, 1992].

### **2.2.5.2. HORMONAS SEXUALES**

Las hormonas sexuales también están involucradas en la regulación de la secreción de GH en particular durante la pubertad. Modifican la liberación de GH, actuando en el hipotálamo, la hipófisis y los tejidos periféricos. En humanos, tanto los estrógenos como la testosterona aumentan la secreción de GH mediante la amplificación de la masa de los pulsos secretorios y la reducción de la regularidad de los pulsos [Veldhuis y cols, 2006]. Los estrógenos modifican la secreción de GH al interactuar con receptores estrogénicos  $\alpha$  expresados en las neuronas GHRH y somatotropos hipofisarios. Estos efectos estimulatorios están mediados posiblemente por la liberación de GHRH y/o la mejora de la sensibilidad a la grelina secretada desde el hipotálamo [Kok y cols, 2008].

Los estrógenos disminuyen los niveles de IGF-1 total y libre. A pesar del efecto estimulador sobre la secreción de GH, los estrógenos reducen la sensibilidad a la GH a nivel hepático, siendo el efecto neto una reducción de la secreción de IGF-1. Las pacientes con déficit de GH en terapia estrogénica

requieren dosis sustitutivas de GH mayores para alcanzar un determinado nivel objetivo de IGF-1 [Tanna y cols, 2010]. La ruta de administración de los estrógenos también influye en los requerimientos de GH, siendo mayores las dosis de GH cuando los estrógenos se administran por vía oral en lugar de transdérmicos [Isotton y cols, 2012]. Por el contrario, la testosterona aumenta la secreción basal de GH y las concentraciones de IGF-1, por lo tanto disminuye la retroalimentación negativa sobre la secreción de GH [Veldhuis y cols, 2006].

### **2.2.5.3. CATECOLAMINAS**

En general, las vías  $\alpha$ -adrenérgicas estimulan la secreción de GH a través de la estimulación de la liberación de GHRH y la inhibición del tono somatostatinérgico, mientras que las vías  $\beta$ -adrenérgicas inhiben la secreción de GH al aumentar la liberación de SS [Massara y Camanni, 1972]. Por este motivo, el agonista  $\alpha$ -2 adrenérgico clonidina se utiliza como test de provocación de la secreción de GH [Grossman y cols, 1987], aunque la experiencia clínica indica que, en la práctica, esta es una prueba de estimulación poco fiable para valorar la secreción de GH. La L-dopa también estimula la secreción de GH; sin embargo, no parece que esta acción esté mediada por receptores de dopamina ya que el bloqueo específico de estos receptores con pimozida no altera la respuesta de GH a L-dopa [Masala y cols, 1977]. En su lugar, los efectos de la L-dopa parecen depender de la conversión a noradrenalina o adrenalina debido a que el bloqueo  $\alpha$ -adrenérgico con fentolamina altera la respuesta de la GH a L-dopa [Cammani y Massara, 1972].

#### **2.2.5.4. ACETILCOLINA**

Ver apartado 3.2.: “Sistema Colinérgico en la Regulación del Eje Somatotrópico”.

#### **2.2.5.5. LEPTINA**

Tanto la leptina como su receptor se han detectado en muestras de adenomas hipofisarios y en el tejido pituitario normal [Jin y cols, 1999]. En cultivos celulares de cerdo, se ha demostrado que la leptina aumenta la secreción de GH, directamente actuando sobre el tejido hipofisario e indirectamente sobre la EM, disminuyendo el tono somatostatinérgico [Saleri y cols, 2004]. Sin embargo, en humanos no ha podido demostrarse este efecto, ni en células de hipófisis normales ni en células de adenoma [Korbonits y cols, 2001; Kristiansen y cols, 2004]. Cuando se estudian sujetos obesos deficientes de leptina junto a controles obesos emparejados para IMC, las respuestas de GH a GHRH y GHRP-6 están aplanadas en ambas situaciones, lo que sugiere que la leptina no media el hiposomatotropismo observado en la obesidad [Ozata y cols, 2003].

#### **2.2.5.6. OPIOIDES ENDÓGENOS**

Las endorfinas y encefalinas estimulan la secreción de GH en humanos [Grossman, 1983], y el bloqueo con antagonistas opiáceos atenúa la respuesta de GH al ejercicio [Moretti y cols, 1983]. En ratas, la inmunización pasiva contra GHRH inhibe la liberación de GH en respuesta a un análogo de encefalina, lo que habla a favor de una estimulación de GHRH en respuesta a estos compuestos [Miki y cols, 1984]. La estimulación de GHRH por las endorfinas y encefalinas no puede ser el único mecanismo que aumenta la secreción de GH, puesto que el análogo de la metencefalina DAMME es capaz de producir un incremento de la secreción de GH superior

al de la estimulación máxima por un análogo de GHRH [Delitala y cols, 1989].

#### **2.2.5.7. ENDOCANNABINOIDES**

Al igual que con ACTH/cortisol, los endocannabinoides pueden también modificar la secreción de GH. Se sabe que los somatotropos expresan el receptor de cannabinoides tipo 1 (CB1) [Pagotto y cols, 2001] y que la administración de 9-tetrahidrocannabinol (THC) durante 14 días suprime la secreción de GH a la hipoglucemia en humanos [Benowitz y cols, 1976]. Este efecto inhibitorio parece estar mediado por el hipotálamo [Rettori y cols, 1988], posiblemente estimulando la secreción de SS [Rettori y cols, 1990].

#### **2.2.5.8. OTROS NEUROPEPTIDOS**

Se ha demostrado que muchos neuropéptidos influyen en la secreción de GH, pero su papel fisiológico en humanos no está bien establecido.

**Galanina.** Es un péptido de 29 aminoácidos aislado originalmente del intestino delgado. Su infusión estimula la secreción de GH tanto basal como estimulada por GHRH [Giustina y Wehrenberg, 1994].

**Calcitonina.** Es un péptido 32 aminoácidos secretado por las células C del tiroides que parece inhibir la secreción de GH estimulada por la arginina e hipoglucemia insulínica [Cantalamessa y cols, 1978; Petralito y cols, 1979].

**Neuropéptido Y (NPY).** Es un péptido orexigénico que inhibe la secreción de GH en ratas [Rettori y cols, 1990] y en células de tumores somatotrópicos humanas en cultivo [Adams y cols, 1987]. Sin embargo, cuando se infunde en hombres jóvenes sanos durante la noche, NPY no tiene un efecto significativo sobre la secreción de GH [Antonijevic y cols, 2000].

## **2.2.6. CIRCUITOS DE RETROALIMENTACIÓN**

El eje somatotrópico está autoregulado por varios circuitos de retroalimentación negativa:

**Somatostatina.** Auto-inhibe su propia secreción [Peterfreund y Vale, 1984].

**GHRH.** Auto-inhibe su propia secreción estimulando la secreción de SS [Aguila y McCann, 1985].

**GH.** Auto-regula su propia secreción a corto plazo mediante la estimulación de la liberación de SS y la inhibición de su propia secreción estimulada por GHRH [Sheppard y cols, 1978; Ross y cols, 1987]. También hay una retroalimentación negativa de la GH sobre la secreción de grelina por el estómago [Qi y cols, 2003].

**IGF-1.** Su producción es estimulada por la GH. Inhibe la liberación de GH de forma bifásica: inicialmente, estimulando la liberación de SS hipotalámica y después de 24 horas, inhibiendo la liberación de GH [Berelowitz y cols, 1981].

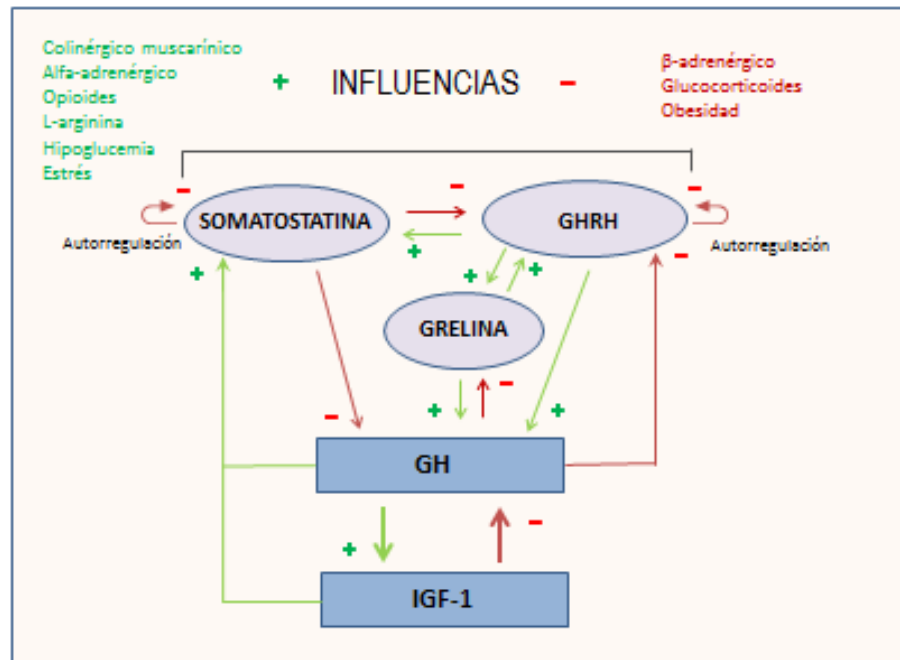
## **2.3. IGF-1 E IGFBP**

### **2.3.1. IGF-1**

La GH actúa directamente a través de su propio receptor e indirectamente a través de la producción del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1, type 1 insulin-like growth factor). IGF-1 pertenece a la misma familia de factores de crecimiento que el IGF-2 y la insulina, teniendo las tres moléculas aproximadamente un 50 por ciento de sus aminoácidos en común. La interacción de la GH con su receptor hepático estimula la expresión del gen y la liberación del péptido IGF-1. Las

## Introducción

concentraciones circulantes de IGF-1 son paralelas a las concentraciones medias de GH de 24 horas. IGF-1 inhibe la secreción de GH por la hipófisis [Daughaday y Rotwein, 1989].



**Figura C:** Regulación del eje somatotrópico

La IGF-1 es un péptido de 70 aminoácidos, que circula en sangre unido en un 99% a las proteínas transportadoras. Se sintetiza tanto en el hígado como en los tejidos periféricos. El hígado produce aproximadamente el 75% de la IGF-1 bajo la regulación de la GH, mientras que la producción periférica de IGF-1 está controlada tanto por la GH como por factores paracrinos dependientes del tejido. La IGF-1 tiene un papel fundamental tanto en el desarrollo prenatal como postnatal. Ejerce todos sus efectos fisiológicos conocidos mediante la unión al receptor de IGF-1, estando sus efectos modulados por sus proteínas transportadoras (IGFBPs) [Daughaday y Rotwein, 1989].

### **2.3.2. GEN DE IGF-1**

Los genes de IGF-1, IGF-2 e insulina son parte de la misma familia. El gen de IGF-1 es un gen complejo, de múltiples componentes con seis exones, siendo el péptido maduro codificado por los exones 3 y 4 [Adamo y cols, 1994].

### **2.3.3. RECEPTORES DE IGF-1**

El receptor de IGF-1 se expresa en múltiples tejidos, estando su número regulado por GH, tiroxina (T4) y otros factores de crecimiento, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). La estructura bioquímica del receptor de IGF-1 es similar a la del receptor de la insulina y la de otros receptores de factores de crecimiento. Es una glicoproteína heterotetramérica compuesta de dos subunidades alfa y dos subunidades beta [Werner y cols, 2008].

### **2.3.4. PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE LOS IGF**

Las proteínas transportadoras de IGF (IGFBPs, IGF binding proteins) son una familia de seis proteínas de alta afinidad. Sus afinidades para IGF-1 e IGF-2 son mayores que la del receptor de IGF-1. Están presentes en todos los fluidos extracelulares y controlan la capacidad de IGF-1 e IGF-2 de unirse a receptores. Menos del 1 por ciento del total de IGF-1 en el plasma está en un estado libre o no unido a proteínas. Además de regular la fracción libre de IGF, las IGFBPs están implicadas en su transporte a los diferentes tejidos y al espacio extravascular [Firth y Baxter, 2002].

La función principal de las IGFBPs es el transporte de IGF. IGFBP-3 es la forma más abundante en el plasma y la que tiene mayor afinidad por IGF-1, encontrándose en un estado saturado. IGFBP-2 es la segunda proteína

transportadora más abundante. IGFBP-1 está presente en concentraciones más bajas y puede ser responsable de las amplias variaciones en la IGF-1 libre, ya que suele estar insaturada y sus niveles pueden fluctuar hasta cinco veces durante el período de 24 horas [Firth y Baxter, 2002].

IGFBP-3 es la principal proteína transportadora de los IGF; más de 75 por ciento de IGF-1 plasmática está unida a esta molécula. La concentración de IGFBP-3 aumenta tras la administración de GH, funcionando como el principal transportador de IGF-1 y IGF-2 en respuesta a GH. En el plasma, IGFBP-3 está unida a otra proteína llamada subunidad ácido-lábil (ALS), que estabiliza el complejo IGF-1-IGF-1, prolongando la vida media de la IGF-1 hasta 16 horas. La GH aumenta las concentraciones circulantes tanto de la ALS como de la IGFBP3. Otras hormonas, como testosterona, estrógenos y tiroxina (T4), también regulan la síntesis de IGFBP-3 [Firth y Baxter, 2002].

### **2.3.5. REGULACIÓN DE LA IGF-1 CIRCULANTE**

El hígado sintetiza el 75 por ciento de la IGF-1 plasmática. Los factores que estimulan la síntesis de IGF-1 por el hígado, así como los que regulan la síntesis de IGFBP-3, son capaces de modular las concentraciones plasmáticas de IGF-1 [Murphy, 2003]. Las concentraciones de IGF-1 son bajas al nacer, aumentan de forma marcada durante la infancia y la pubertad, y comienzan a declinar en la tercera década. Estos cambios son paralelos a la secreción de GH [LeRoith y cols, 1992].

La GH es el regulador más importante de la IGF-1 plasmática. En la deficiencia de GH, las concentraciones circulantes de IGF-1 son muy bajas y, con el exceso de secreción de GH, las concentraciones de IGF-1 son altas. Las mediciones de los niveles de IGF-1 son útiles en el diagnóstico y



## *Introducción*

tratamiento de la acromegalia, aunque la correlación entre las características clínicas y las concentraciones de IGF-1 no es muy estrecha. Igualmente, la administración de GH a sujetos con deficiencia de GH produce un incremento considerable en los niveles de IGF-1 [LeRoith y cols, 1992].

El estado nutricional es otro determinante importante de la cantidad de IGF-1 plasmática. Para mantener unos niveles normales se requiere una ingesta mínima diaria de 20 kcal/kg de energía y de 0,6 g/kg de proteínas. El ayuno durante siete días da lugar a una disminución del 50 por ciento en los niveles plasmáticos de IGF-1. También se observa una disminución en enfermedades asociadas con la malnutrición, como la insuficiencia hepática, la enfermedad inflamatoria intestinal y la insuficiencia renal. Estos cambios en los niveles de IGF-1 son debidos en gran parte a la disminución de la sensibilidad a la GH y en la regulación a la baja de los receptores de GH que se producen en la situación de ayuno. Por el contrario, la obesidad se asocia con una disminución de los niveles de IGF-1 total y un aumento de los de IGF-1 libre, así como con una mayor sensibilidad hepática a la estimulación de la IGF-1 por la GH [Estívariz y Ziegler, 1997].

### **2.3.6. EFECTOS DE LA IGF-1**

Cuando se administra IGF-1 a animales hipofisectomizados, se estimula el crecimiento equilibrado en todos los tejidos. Un factor limitante de la cantidad de IGF-1 que se puede administrar es la capacidad de inducir hipoglucemia. Si se logra evitar la hipoglucemia, la administración de IGF-1 imita el efecto de la GH sobre el crecimiento lineal. La infusión de IGF-1 en ratas diabéticas insulín-deficientes mejora el crecimiento y la utilización de la glucosa [Zapf, 1998]. Por otro lado, la administración conjunta de IGFBP-3 e IGF-1, provoca un aumento mayor sobre la mineralización ósea y el crecimiento lineal que la administración de IGF-1 sola. Este mayor efecto es

debido en parte a que no se induce hipoglucemia, lo que permite alcanzar concentraciones más altas de IGF-1 que cuando se da IGF-1 sola [Clark y cols, 1993].

La infusión de IGF-1 en humanos que están en restricción calórica normaliza el equilibrio nitrogenado. De igual modo, la coadministración de GH y IGF-1 induce un balance nitrogenado positivo en personas con restricción calórica. El efecto conseguido es mucho mayor que el observado con IGF-1 sola, probablemente debido a que la GH también aumenta los niveles de IGFBP-3 circulantes [Kupfer y cols, 1993]. Otros efectos de la administración de IGF-1 incluyen: disminución de la glucemia, si se dan cantidades suficientes, y mejora notable de la sensibilidad a la insulina en pacientes con DM-2 [Clemmons, 2012]. La terapia con IGF-1 es eficaz en pacientes con insensibilidad a la GH secundaria a mutaciones del receptor de GH y en pacientes con talla baja y IGF-1 muy disminuida. Actualmente, la terapia con IGF-1 está aprobada para el tratamiento de niños con talla baja ( $< -3.0$  SDS), IGF-1  $< -3.0$  SDS y niveles de GH normales o elevados [Flier y cols, 1997].

### **2.3.7. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA IGF-1**

IGF-1 es un potente estimulador de la síntesis de ADN *in vitro*. La mayoría de los tipos celulares en cultivo poseen receptores de IGF-1 y responden a la adición de IGF-1 aumentando el ADN, la síntesis proteica y el tamaño celular [Kurmasheva y Houghton, 2006]. En condiciones fisiológicas normales, el receptor de IGF-1 es el principal mediador de las acciones de IGF-1. Tras la unión de IGF-1 a su receptor, el receptor experimenta un cambio conformacional que activa su actividad tirosina quinasa (TK), lo que conduce a la autofosforilación de la tirosina [Denley y cols, 2005].

### **3. EL SISTEMA COLINÉRGICO EN LA REGULACIÓN DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO**

#### **3. 1. SISTEMA COLINÉRGICO Y EJE HHA**

Los principales componentes de la vía colinérgica son: (1) el neurotransmisor acetilcolina (ACh); (2) la acetilcolinesterasa (AChE), que descompone la acetilcolina; (3) la colina acetiltransferasa (ChAT), la enzima que sintetiza ACh; y (4) los receptores de ACh, específicamente el receptor ACh nicotínico (nAChR), y el receptor ACh muscarínico (mAChR).

Por medio de estudios inmunohistoquímicos y de hibridación *in situ*, se han encontrado neuronas con actividad ChAT en el prosencéfalo basal, el núcleo estriado, la corteza cerebral, los núcleos del tegmento pontomesencefálico con proyecciones en el hipotálamo, la corteza cerebral y núcleos de los nervios motores craneales y espinales [Oda y Nakanishi, 2000]. También se ha descrito la existencia de vesículas sinápticas que contienen CRH en terminales axonales que expresan nAChR en la EM de la rata [Okuda y cols, 1993].

Varios investigadores han señalado el papel regulador de la ACh sobre el eje HHA en roedores y en humanos. En 1967, se demostró que la administración periférica de agentes anti-AChE aumentaba la concentración plasmática de glucocorticoides, sugiriéndose que los agentes colinérgicos estimularían la corteza adrenal [Naumenko, 1967]. Posteriormente se informó que la atropina, implantada en el PVN en ratas, inhibía la activación del eje HHA por el estrés, y se sugirió que los componentes colinérgicos hipotalámicos podrían ejercer un efecto estimulante sobre la secreción de ACTH [Hedge y Smelik, 1968]. En un experimento similar, la implantación de atropina disminuía los niveles plasmáticos de glucocorticoides sin

suprimir los de AVP, sugiriendo una acción a nivel hipotalámico mediante la inhibición de la secreción de CRH [Hedge y De Wied, 1971]. Estos resultados también fueron confirmados por experimentos *in vitro*.

### **3.1.1. ESTUDIOS *IN VITRO* CON HIPÓFISIS**

Se han publicado pocos ensayos sobre el efecto directo de Ach sobre las células corticotropas hipofisarias. La administración de Ach a medios de cultivo de hipófisis de roedores no modificaba la concentración de ACTH [Briaud y cols, 1979], ni tampoco la administración de nicotina [Marty y cols, 1985] ni de arecolina (agonista muscarínico) [Calogero y cols, 1989]. Por el contrario, en células del tumor hipofisario de ratón AtT-20, el agonista muscarínico carbacol disminuyó notablemente el efecto estimulante de la forskolina, un activador de la adenilato ciclasa, tanto en la secreción de ACTH como de AMPc, lo que habla a favor de una acción inhibidora directa sobre hipófisis de la Ach a través de receptores muscarínicos [Heisler y cols, 1983].

### **3.1.2. ESTUDIOS *IN VITRO* CON HIPOTÁLAMO**

En cultivos de hipotálamo de rata, Ach producía un incremento dosis-dependiente del índice de CRA, que era bloqueado por el antagonista nicotínico hexametonium y parcialmente inhibido por el antagonista muscarínico atropina [Hillhouse y cols, 1975]. El índice de CRA (actividad estimuladora de CRH) usado fue la cantidad de corticosterona producida *in vitro* por las glándulas adrenales de ratas a las que se les había lesionado la eminencia media. En otro experimento también con hipotálamo de rata, CRA aumentaba tras la administración de Ach, nicotina (agonista nicotínico) y betanecol (agonista muscarínico), siendo las respuestas individuales máximas a nicotina y betanecol menores que las respuestas a Ach. Este

## Introducción

experimento sugería que tanto los receptores colinérgicos muscarínicos como nicotínicos estaban implicados en la estimulación de CRH [Buckingham y Hodges, 1979].

Posteriormente, midiendo CRH como CRF-41 inmunorreactivo (iCRF-41), fue posible demostrar que Ach estimulaba la producción de CRH en hipotálamo de rata. La liberación de CRH era inhibida por la atropina y también por el hexametonium, pero éste sólo a altas concentraciones, lo que indicaba una mediación de la respuesta a Ach fundamentalmente a través de receptores muscarínicos [Suda y cols, 1987; Tsagarakis y cols, 1988].

En un experimento similar, el efecto estimulador de la Ach sobre CRH se antagonizaba por la presencia simultánea de atropina y hexametonium. En apoyo de la idea de una regulación colinérgica de la neurona CRH, se demostró que tanto carbacol (agonista de receptor muscarínico) como nicotina (agonista de receptor nicotínico) eran también capaces de estimular la secreción de iCRF-41, aunque en menor cuantía que cuando se administraba Ach. Ach estimulaba la secreción hipotalámica de iCRF-41 en presencia de fentolamina (antagonista  $\alpha$ -adrenérgico) y ritanserina (antagonista del receptor de serotonina) lo que sugería que la estimulación colinérgica de la secreción de CRH no estaba mediada por las interneuronas  $\alpha$ -adrenérgicas ni serotoninérgicas. Como conclusión, la ACh estimula la secreción de CRH hipotalámica a través de ambos receptores, muscarínicos y nicotínicos [Calogero y cols, 1988a]. Igualmente se demostró que la administración del agonista muscarínico arecolina al hipotálamo de rata *in vitro* producía un aumento de CRH, y que este efecto se disminuía mediante la administración de atropina [Calogero y cols, 1989].

En relación a la AVP, tanto Ach como nicotina estimulan su liberación desde el SON en cultivos de hipotálamo de rata. El mecanismo de acción es

a través de receptores nicotínicos [Sladek y Joynt, 1979]. Aunque estudios posteriores apuntaron a que eran receptores muscarínicos los que estaban involucrados en este efecto estimulador de la AVP [Michels y cols, 1991].

### **3.1.3. ESTUDIOS EN ANIMALES *IN VIVO***

Los resultados obtenidos *in vivo* son semejantes a los extraídos de experimentos *in vitro*. Se ha demostrado una acción estimuladora de Ach sobre la secreción de CRH por medio de receptores muscarínicos [Hedge y Smelik, 1968; Hedge y De Wied, 1971]. En ratas, la administración de arecolina aumentaba los niveles de ACTH y corticosterona de una forma dosis-dependiente. Además, este efecto estimulador se aplanaba con la administración previa de atropina y de suero anti-CRH [Calogero y cols, 1989]; lo que sugería que la estimulación colinérgica muscarínica activa la producción de CRH. También se ha sugerido una mediación nicotínica, ya que la nicotina administrada IV o i.c.v. posee un efecto estimulador de la producción de ACTH. El hexametonium (antagonista nicotínico de acción periférica) fue incapaz de bloquear el efecto de la nicotina, mientras que la mecamilamina (antagonista nicotínico central y periférico) sí que lo bloqueó, indicando que la nicotina estimula la ACTH a través de un efecto central [Matta y cols, 1987].

Es de destacar que la administración de atropina bloquea parcialmente la acción de la arecolina sobre la ACTH, pero no afecta los niveles de corticosterona [Calogero y cols, 1989]. Esta divergencia entre los niveles de ACTH y corticosterona también se ha encontrado en otros experimentos *in vitro* [Giuffré y cols, 1988], y podría reflejar diferencias en la velocidad de aclaramiento metabólico de ACTH y glucocorticoides o bien diferencias en la sensibilidad de los receptores suprarrenales de ACTH. Otra explicación alternativa a este desajuste podría ser que la ACh active directamente la

corteza adrenal. Es conocido, a través de experimentos en bovinos, que Ach es capaz de inducir directamente la producción de cortisol por parte de la corteza adrenal *in vitro* [Walker y cols, 1990] e *in vivo*, en este caso incrementando también el flujo adrenal [Jones CT y Edwards, 1991], a través de la estimulación de receptores muscarínicos. En apoyo de un papel preponderante de la vía muscarínica, se demostró posteriormente que la administración del agonista muscarínico RU35963 a ratas conscientes, aumentaba la producción de corticosterona [Cattaneo y cols, 1993].

### **3.1.4. ESTUDIOS EN HUMANOS**

Al contrario que en los experimentos en animales de laboratorio, el papel de la vía colinérgica sobre el eje HHA en humanos es controvertido. Varios estudios han descrito un efecto estimulador utilizando inhibidores de la colinesterasa (iChE): galantamina que aumentó el cortisol [Cozanitis, 1974] y fisostigmina que aumentó el cortisol, ACTH y  $\beta$ -END, lo que orientaba hacia un mecanismo de activación central [Risch y cols, 1980, 1983 y 1986; Lewis y cols, 1984].

Con el fin de averiguar el tipo de receptores implicados en la acción estimuladora de los colinomiméticos, se han estudiado los efectos de la administración de arecolina (agonista muscarínico) y fisostigmina asociada a antagonistas muscarínicos: metescopolamina, que no atraviesa la barrera hematoencefálica, y escopolamina, que sí la atraviesa. La administración de arecolina producía un incremento en los niveles de cortisol y  $\beta$ -END [Risch y cols, 1981]. De manera similar, la asociación de fisostigmina más metescopolamina no modificaba el efecto estimulador sobre la actividad del eje HHA de la fisostigmina; mientras que la administración conjunta de fisostigmina y escopolamina atenuaba su respuesta [Risch y cols, 1986].

## Introducción

Ambos experimentos indican que los receptores muscarínicos están involucrados en la modulación colinérgica de la ACTH.

En otro experimento, cuando se compararon individuos jóvenes ( $25 \pm 1.4$  años) y ancianos ( $68 \pm 1.7$  años), los niveles basales de cortisol, ACTH y AVP fueron semejantes en ambos grupos; sin embargo, las respuestas tras la infusión de fisostigmina fueron mayores en ancianos, de manera que el efecto estimulador de la fisostigmina sólo se objetivó en este grupo [Raskind y cols, 1990].

En otro ensayo, la administración de piridostigmina (PD), iChE capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, aumentó los niveles de ACTH y cortisol, y potenció la respuesta de ACTH pero no de cortisol a CRH en controles sanos, en un estudio que comparaba controles mayores de 60 años y pacientes con demencia [Murialdo y cols, 1993]. Las respuestas observadas en el grupo de ancianos sanos fueron concordantes con las comunicadas por Raskind y cols. en 1990.

Por el contrario, otros autores no han encontrado cambios significativos en los niveles de ACTH y cortisol tras la administración de agentes iChE. En dos trabajos, la administración de PD no aumentó los niveles de cortisol ni de ACTH [Freeman y cols, 1990; Ghigo y cols, 1990].

En contraste con los trabajos previos, también se ha descrito un efecto inhibitor del sistema colinérgico sobre el eje HHA. Por ejemplo, la respuesta de ACTH a la hipoglucemia insulínica aumentaba tras atropina (antagonista muscarínico) y disminuía tras trimetafan (bloqueador de receptor nicotínico) indicando que los receptores muscarínicos y nicotínicos participan de manera diferente: los primeros inhibiendo y los segundos estimulando la secreción de ACTH [Coiro y cols, 1987].



## Introducción

Una investigación posterior demostró la existencia de un control inhibitorio de la vía colinérgica sobre la función hipófiso-adrenal en varones jóvenes sanos. La administración de PD condujo a una disminución en los niveles de ACTH, tanto basales como estimulados por CRH, en el periodo diurno y nocturno, aunque más marcada durante la noche, en comparación con el tratamiento con placebo. Este efecto inhibitorio sobre la secreción de ACTH fue bloqueado, sólo en el periodo nocturno, por el antagonista del receptor muscarínico M1 pirenzepina (PZP). PD no alteró el ritmo circadiano del eje HHA, mientras que la asociación PD y PZP aumentó las diferencias entre los valores diurnos y nocturnos de ACTH, sugiriendo que la vía colinérgica ejerce un efecto modulador sobre el ritmo circadiano de la secreción de ACTH [Llorente y cols, 1996].

Aunque queda por determinar una explicación plausible para los resultados contradictorios entre los estudios previos, es posible que puedan entrar en juego factores metodológicos, como por ejemplo la clase de diseño experimental, y el tipo y dosis de fármaco probados. Especialmente, en los estudios que utilizan iChE, los efectos secundarios como náuseas y vómitos a menudo dificultan la interpretación de los resultados; es decir, no sabemos si estamos ante un efecto directo del fármaco sobre el eje HHA o ante una respuesta inducida por el estrés [Lewis y cols, 1984].

La modulación del eje HHA por mecanismos colinérgicos puede tener importancia fisiopatológica ya que puede estar involucrada en la regulación del estrés, en los trastornos afectivos y en el deterioro cognitivo asociado a la edad. El sistema colinérgico del hipocampo puede jugar un papel importante en la respuesta neuroendocrina al estrés [Gilad y cols, 1985]. Además, los agentes colinomiméticos pueden provocar modificaciones afectivas [Davis y cols, 1976; Risch y cols, 1980]; a su vez, los trastornos afectivos se asocian a mayor sensibilidad a la estimulación colinérgica [Janowsky y cols, 1980] y a

respuestas fisiológicas exageradas a los agonistas muscarínicos (inducción del sueño de movimientos oculares rápidos de forma más temprana que en controles sanos) [Sitaram y cols, 1980; Christian y cols, 1982]. El deterioro cognitivo secundario a la degeneración de las neuronas colinérgicas se ha implicado en la etiología de la enfermedad de Alzheimer, otros tipos de demencia y el envejecimiento [Bartus, 2000].

### **3.2. SISTEMA COLINÉRGICO Y EJE SOMATOTRÓPICO**

#### **3.2.1. ESTIMULACIÓN DEL EJE SOMATOTRÓPICO POR EL SISTEMA COLINÉRGICO**

Las vías colinérgicas muscarínicas desempeñan un papel importante en la regulación de la secreción de GH y posiblemente lo hacen a través de la inhibición de la SS [Locatelli y cols, 1986]. Los agonistas colinérgicos estimulan la secreción de GH de forma aguda, y potencian las respuestas de GH a GHRH en la rata, el perro y la oveja [Locatelli y cols, 1986; Rigamonti y cols, 1998].

La administración de piridostigmina en humanos también estimula los niveles de GH, basal y tras GHRH [Massara y cols, 1986a y 1986b; Ross y cols, 1987; Peñalva y cols, 1989 y 1990; Cordido y cols, 1989; Giustina y cols, 1991]. Además la PD contrarresta el efecto inhibitorio ejercido por la administración repetida de GHRH [Massara y cols, 1986b], la infusión de GH exógena [Ross y cols, 1987], la carga oral de glucosa [Peñalva y cols, 1989] o la obesidad [Cordido y cols, 1989] sobre la respuesta de GH a GHRH. La PD administrada por vía oral repetidamente durante 48 horas, aumenta la secreción de GH de 24 horas y duplica la masa diaria de los pulsos de GH secretada en varones sanos, jóvenes y mayores, siendo la respuesta menor en obesos [Friend y cols, 1997].

## Introducción

Por el contrario, el antagonismo de la vía colinérgica con bloqueadores del receptor muscarínico, como la atropina [Taylor y cols, 1985] o pirenzepina [Peters y cols, 1986], reduce de forma marcada la secreción de GH asociada con el sueño, y prácticamente suprime la secreción de GH estimulada por varios secretagogos incluyendo la GHRH [Casanueva y cols, 1984; Massara y cols, 1986b]. Una excepción importante es que la respuesta de la GH a la hipoglucemia insulínica se conserva durante el bloqueo muscarínico, aunque no está aclarado el mecanismo por el cual esto ocurre [Evans y cols, 1985].

En el perro, PZP inhibe la secreción de GH estimulada por GHRH tanto en animales alimentados como en ayunas, mientras que la SS inhibe esta respuesta preferentemente en el estado de alimentación. Estos hallazgos se oponen a la “hipótesis de la SS”, desarrollada en base a experimentos en ratas, y según la cual la inhibición de la SS está mediada por el receptor muscarínico. Podrían explicarse asumiendo que los antagonistas muscarínicos tuviesen una acción inhibitoria sobre la GHRH, aparte de la aceptada acción estimuladora sobre la secreción de SS [Rigamonti y cols, 1998].

### **3.2.2. MECANISMOS DE ACCIÓN**

El conocimiento de los mecanismos de acción de la Ach sobre la secreción de GH está basado en la evidencia experimental en la rata, tanto *in vitro* como *in vivo* [Richardson y cols, 1980; Locatelli y cols, 1986; Peterfreund y Vale, 1983; Arce y cols, 1991]. En cultivo de células hipofisarias, ni la atropina (1 mmol / l) ni la pilocarpina (1 mmol / l) lograron alterar la secreción de GH inducida por la GHRH [Locatelli y cols, 1986], indicando que la regulación sobre la secreción de GH deben ejercerla a un nivel superior. Además, en cultivos de células de hipotálamo, la Ach y la

## Introducción

neostigmina disminuyeron la secreción de SS, y este efecto era bloqueado por la atropina pero no por el hexametonium, indicando un efecto muscarínico de la Ach [Richardson y cols, 1980]; sin embargo este hallazgo no se confirmó en otro experimento posterior [Peterfreund y Vale, 1983].

La administración de PD es capaz de estimular la secreción de GH en ratas deprivadas de alimentos [Wehrenberg y cols, 1992], situación en la que existe un aumento del tono somatostatinérgico [Arce y cols, 1991], y dicho efecto se ve disminuido por el pretratamiento de los animales con anticuerpos anti-SS, pero no por con anticuerpos anti-GHRH, lo que apoya la hipótesis de que la PD actúa mediante la inhibición de la secreción de SS [Wehrenberg y cols, 1992]. Igualmente, la PD contrarresta el efecto inhibitorio del tratamiento con glucocorticoides durante 4 días en la respuesta de la GH a GHRH en ratas macho normales; dicho tratamiento también se cree que aumenta el tono somatostatinérgico [Giustina y cols, 1995]. En apoyo de la “hipótesis de la SS”, la inhibición que ejerce la atropina sobre las respuestas de GH a GHRH en ratas normales, es abolida por el pretratamiento con antisuero anti-SS [Locatelli y cols, 1986]. Sin embargo, en la oveja, un estudio de cateterismo portal hipofisario mostró que la neostigmina, otro agonista colinérgico indirecto, aumenta los niveles de GH, la respuesta de GH a GHRH, y los niveles de GHRH sin inhibir la SS, lo que sugiere que la Ach estimula la secreción de GH a través del aumento de la liberación de GHRH [Magnan y cols, 1993]. Como conclusión, las diferencias encontradas entre especies podrían explicarse en base a las interrelaciones funcionales entre las neuronas GHRH y SS, por ejemplo, el bloqueo de la SS provocado con colinérgicos estimula de rebote la secreción de GHRH [Friend y cols, 1997].

## Introducción

En humanos, la PD restaura parcialmente la respuesta de GH a GHRH en los estados fisiológicos en los que se supone que está incrementada la secreción de SS hipotalámica; por ejemplo la respuesta de GH a tres inyecciones consecutivas de GRH (50 microgramos IV), administradas a intervalos de 2 h, se redujo de forma marcada después del segundo y tercer bolo de GRF, y la administración de PD potenció la respuesta de GH al segundo bolo [Massara y cols, 1986b]. Por otra parte, la PD mejora la respuesta de GH a GHRH en adultos normales en tratamiento con glucocorticoides [Giustina y cols, 1990a], y contrarresta parcialmente la inhibición de la GH producida por la administración de glucocorticoides en niños [Giustina y cols, 1991]. Por el contrario, en los estados de hipersecreción de GH caracterizados por un supuesto bajo tono somatostatinérgico, por ejemplo en la DM tipo 1, la PD no es capaz de potenciar el ya aumentado efecto de GH a GHRH [Giustina y cols, 1990b; Ismail y cols, 1993].

Con las salvedades anteriores, la evidencia disponible sugiere que el sistema colinérgico muscarínico es el inhibidor dominante de la secreción de SS hipotalámica, y por lo tanto regulador también de la secreción de GH en animales y en humanos. Es probable que la secreción de SS module la liberación de GHRH a través de las conexiones existentes entre las vías de GHRH y de SS en el hipotálamo [Epelbaum y cols, 1992]. Adicionalmente, las vías colinérgicos muscarínicas y nicotínicas pueden jugar funciones reguladoras opuestas (facilitadoras e inhibidoras, respectivamente), ya que los antagonistas nicotínicos mejoran la secreción de GH durante la hipoglucemia insulínica y en la respuesta al sueño, a pesar de que no son capaces de modificar la concentración de GH durante las horas diarias de luz [Mendelson y cols, 1981].

## **4. EFECTOS DE LA NICOTINA Y DEL TABACO**

### **SOBRE LOS EJES HHA Y SOMATOTRÓPICO**

La nicotina es el principal componente biológicamente activo del humo del tabaco, y una de las sustancias más adictivas para el hombre. La presencia mantenida de nicotina en sangre, junto con otros componentes del tabaco, provocan muchas complicaciones físicas y psicológicas, y cerca del 20 % de todas las muertes [Zaher y cols, 2004]. Existe amplia evidencia de que el hábito de fumar afecta el funcionamiento del eje HHA.

#### **4. 1. RESPUESTA AGUDA DEL EJE HHA AL CONSUMO DE TABACO**

La inhalación del humo del tabaco causa activación del eje HHA. Ya en 1961 Hökfelt comunicó que el consumo de dos cigarrillos en no fumadores se asociaba a un aumento de los niveles de cortisol plasmático y de los 17-hidroxiesteroides urinarios [Hökfelt, 1961]. Este resultado ha sido apoyado por varios grupos de investigación, y también se han elucidado los mecanismos por los cuales se activa el eje HHA. En individuos con dependencia a la nicotina, el muestreo venoso cada dos minutos tras fumar mostró que la ACTH aumentaba antes de los doce minutos y llegaba a un máximo a los 20 minutos, y que los niveles de ACTH se correlacionaban con los de nicotina. Por otro lado, las concentraciones de cortisol se incrementaban antes de los 20 minutos y alcanzaban un pico a los 60 minutos. Estos cambios se observaron fumando cigarrillos con alto contenido en nicotina, pero no con un contenido más bajo [Mendelson y cols, 2005]. Hallazgos similares se han encontrado también en otros experimentos, midiendo cortisol sérico y salivar [Kirschbaum y cols, 1992 y 1994], y ACTH, AVP y  $\beta$ -END [Seyler y cols, 1986; Kirschbaum y cols,

1994 ], pero sólo con cigarrillos con alto contenido en nicotina, sugiriendo que la nicotina del humo del tabaco es la responsable de los cambios hormonales.

En no fumadores, se han encontrado respuestas análogas, si bien la respuesta del cortisol es menor que en fumadores crónicos [Gossain y cols, 1986]. En este grupo, también se ha explorado la relación dosis-respuesta entre nicotina y hormonas del eje HHA administrando nicotina a diferentes concentraciones de forma intravenosa [Newhouse y cols, 1990], intranasal [Pomerleau y cols, 1992; Benowitz y cols, 2002], subcutánea y fumada [Benowitz y cols, 2002]. La ruta de administración de la nicotina parece influir en la extensión de las respuestas endocrinas: con dosis comparables de nicotina intranasal, subcutánea y fumada, las mayores respuestas se encontraron tras fumar [Benowitz y cols, 2002].

El efecto de fumar varios cigarrillos sucesivos también ha sido estudiado. Aunque fumar tres cigarrillos de alto contenido en nicotina a intervalos de 60 minutos producía incrementos de las hormonas del eje HHA, los niveles máximos no difirieron después de sucesivas cigarrillos, de manera que no se producía un fenómeno acumulativo a pesar del incremento progresivo de los niveles de nicotina [Mendelson y cols, 2008].

### **4. 2. EJE HHA EN FUMADORES CRÓNICOS**

Respecto a los niveles basales de hormonas del eje HHA en fumadores crónicos, los datos no son concluyentes debido a diferencias en los diseños y tamaños muestrales de los ensayos. Varios estudios, que incluían muestras pequeñas, no han podido demostrar diferencias entre fumadores y no fumadores [Gossain y cols, 1986; Kirschbaum y cols, 1994]. Tampoco se

han encontrado diferencias midiendo cortisol libre en orina de 24 horas [Yeh y Barbieri, 1989].

En otro ensayo, no hubo diferencias en los niveles de ACTH, mientras que el cortisol estaba elevado en aquellos que fumaban más de 20 cigarrillos al día [Del Arbol y cols, 2000]. El cortisol basal se encontró elevado en fumadores, pero sólo un 5 % más alto, en un estudio que incluía una muestra de 1241 varones de mediana edad [Field y cols, 1994]. Se obtuvieron resultados análogos midiendo el cortisol salivar en una muestra de 71 participantes [Al`Absi y cols, 2003]. Otro experimento, con una muestra de 15 fumadores y 152 no fumadores, y con un mejor diseño (los niveles de cortisol se midieron múltiples veces durante el día y se controlaron factores de confusión), demostró niveles superiores de cortisol salivar entre fumadores tras ajustar para los efectos de la edad, sexo e índice de masa corporal [Steptoe y Ussher, 2006]. Por el contrario, un estudio japonés realizado en 297 varones de mediana edad encontró niveles de cortisol más bajos en fumadores [Handa y cols, 1994].

El tabaquismo crónico puede conducir a respuestas hormonales menores, incluyendo GH y cortisol salivar, a diferentes estímulos como el ejercicio físico y el estrés psicológico; estas alteraciones no están asociadas a alteraciones del ritmo circadiano de cortisol [Kirschbaum y cols, 1993 y 1994].

### 4. 3. MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DEL EJE HHA POR LA NICOTINA

Estudios realizados en animales de experimentación *in vitro* e *in vivo*, [Buckingham y Hodges, 1979; Sladek y Joynt, 1979; Calogero y cols, 1988a; Cam y cols, 1979; Matta y cols, 1987] ilustran que la nicotina estimula el eje



## Introducción

HHA, y que actúa mediante un mecanismo central, estimulando CRH y/o AVP, que a su vez activan la secreción de ACTH.

La perfusión de nicotina ocasiona secreción de ACTH en cerebros de ratón aislados [Marty y cols, 1985], pero no en preparaciones de células hipofisarias [Matta y cols, 1987]; indicando que la nicotina ejerce el efecto estimulador a nivel hipotalámico o a un nivel superior. Por el contrario, en hipotálamo de rata, la administración de nicotina provocaba un aumento de CRA [Buckingham y Hodges, 1979] y de la secreción de iCRF-41, aunque en este caso en menor cuantía que cuando se administraba Ach [Calogero y cols, 1989]. La nicotina también estimula la secreción de AVP desde el SON a través de receptores nicotínicos [Sladek y Joynt, 1979].

Trabajos *in vivo* mostraron que la administración de nicotina producía elevación de glucocorticoides, y esta respuesta quedaba totalmente abolida tras la hipofisectomía, indicando que la respuesta a la nicotina debía estar mediada por la ACTH hipofisaria [Cam y cols, 1979]. La activación del eje HHA tras suministrar nicotina puede bloquearse con la administración sistémica de dexametasona o mecamilamina, anticuerpos anti receptor nicotínico i.c.v y la lesión del PVN [Weidenfeld y cols, 1989]. Del mismo modo, la nicotina administrada de forma IV [Andersson y cols, 1983; Matta y cols, 1987] o intraventricular [Matta y cols, 1987] posee un efecto estimulador de la producción de ACTH, y este efecto se efectúa a nivel central. No obstante, hay evidencias de que la nicotina no actúa directamente sobre el hipotálamo, sino activando las vías adrenérgicas del troncoencéfalo: la inyección de nicotina en el cuarto ventrículo estimula la liberación de norepinefrina en el PVN [Matta y cols, 1995] y su infusión en el NTS produce un incremento dosis-dependiente de la ACTH plasmática, que es bloqueado con la administración IV previa del antagonista nicotínico mecamilamina [Matta y cols, 1993].

Con el uso crónico de nicotina, hay bastante evidencia de que se produce un fenómeno de desensibilización. La inyección intraperitoneal diaria de nicotina da lugar a una adaptación de la respuesta de la corticosterona, de tal manera que esta respuesta desaparece a los 30 días de exposición, lo que habla de un fenómeno de tolerancia [Cam y Basset, 1984]. También, una única inyección de nicotina suprime por completo la respuesta a otras posteriores durante 6 horas [Sharp y Beyer, 1986]. Junto a esto, en fumadores crónicos los niveles de ACTH no se encuentran elevados, lo que podría ser debido a la desensibilización de los receptores nicotínicos [Fuxe y cols, 1989].

En relación a la influencia del sexo sobre las respuestas del eje HHA a la nicotina, los estudios que han reclutado fumadores masculinos y femeninos no han encontrado diferencias. Sin embargo, estas diferencias sí se han encontrado en estudios en animales: las respuestas de AVP fueron mayores en ratas macho, mientras que las de ACTH y corticosterona fueron mayores en ratas hembra [Rhodes y cols, 2001]. Resultados análogos fueron confirmados *in vitro* con células de hipotálamo [McKlveen y cols, 2010]. Asimismo, las respuestas de ACTH y corticosterona variaban con el ciclo de celo en las ratas hembras [Rhodes y cols, 2004].

#### **4. 4. RESPUESTA DEL EJE SOMATOTRÓPICO AL TABACO Y LA NICOTINA**

Los mecanismos colinérgicos estimulan la secreción de GH fundamentalmente a través de receptores muscarínicos, aunque en menor medida también participan los receptores nicotínicos; por ejemplo, en humanos, los análogos de los receptores nicotínicos mejoran la secreción de GH durante la hipoglucemia insulínica y durante el sueño [Mendelson y cols, 1981].

## *Introducción*

Fumar cigarrillos aumenta de forma aguda las concentraciones de GH en fumadores y en no fumadores [Seyler y *cols*, 1986; Gossain y *cols*, 1986; Kirschbaum y *cols*, 1994), no existiendo diferencias en los niveles basales de GH ni en las respuestas al fumar entre los dos grupos [Gossain y *cols*, 1986].

## **5. ALTERACIONES DEL EJE HHA Y DEL EJE SOMATOTRÓPICO EN LA DIABETES MELLITUS TIPO 1**

### **5.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y EJE HHA**

#### **5.1.1. ALTERACIONES DEL EJE HHA EN LA DM-1**

Varias observaciones han puesto de manifiesto una excesiva actividad funcional del eje HHA, aunque los resultados no son uniformes. Se han descrito hipercortisolemia y secreción de ACTH aumentada. No obstante, y en términos cuantitativos, la hiperactividad del eje HHA no es comparable a la observada en el síndrome de Cushing, pues la supresibilidad de las concentraciones de cortisol tras dosis bajas de dexametasona se encuentra en general preservada.

Las alteraciones del eje HHA asociadas a la diabetes mellitus se han catalogado como hipercortisolismo funcional, condición que también se produce en casos de depresión mayor, anorexia nerviosa, alcoholismo, obesidad simple, SOPQ, SAOS, enfermedad renal terminal, etc. Muchos de estos estados forman parte del denominado síndrome de pseudo-Cushing, en el cual los trastornos hormonales son reversibles [Tirabassi y cols, 2014].

En animales de experimentación, la diabetes no tratada y mal controlada se asocia a niveles elevados de glucocorticoides y ACTH, y a respuestas contra-reguladoras disminuidas [Chang O y cols, 2005]. Estos trastornos pueden ser debidos a la hipoinsulinemia y a la hiperglucemia *per se*, ya que la terapia insulínica, que restaura los niveles de insulina y de glucemia, es capaz de revertirlos [Chan y cols, 2005]. Por el contrario, la florizina (antidiabético glucosúrico), que normaliza los niveles de glucemia

## Introducción

sin la utilización de insulina, no recupera la actividad del eje HHA pero sí la respuesta a la hipoglucemia, sugiriendo que los defectos del eje HHA en la diabetes son debidos a la deficiencia de insulina, y que la respuesta alterada a la hipoglucemia es consecuencia de la hiperglucemia crónica *per se* [Chan y cols, 2005].

En la DM-1 es evidente cierto grado de hipercortisolismo, más marcado cuando se asocia a un mal control glucémico, de etiología poco clara. En pacientes diabéticos, el nivel de cortisol libre plasmático fue mayor que en controles; además los diabéticos con complicaciones presentaban niveles más elevados de 17-OH-CS (17-hidroxicorticoesteroides) urinarios que los diabéticos sin complicaciones y los controles [Lentle y Thomas, 1964]. Se han documentado niveles elevados de cortisol basal y a lo largo de todo el día en diabéticos tipo 1 y tipo 2 [Cameron y cols, 1987; Roy y cols, 1990 y 1993]. Asimismo, se han encontrado niveles elevados de ACTH [Roy y cols, 1990] y de CLU [Roy y cols, 1993 y 1998a; Coiro y cols, 1995; Dacou-Voutetakis y cols, 1998]. Sin embargo, estos hallazgos no son uniformes, habiéndose informado de perfiles de cortisol normales en pacientes con DM-1 con mal control y de larga evolución [Drejer y cols, 1977; Herschopf y cols, 1982] y en casos con niveles normales de ACTH [Roy y cols, 1993; Ghizzoni y cols, 1993; Coiro y cols, 1995].

Paralelamente, en el test de supresión con dexametasona, se ha informado de falta de supresión y de niveles más elevados de cortisol y ACTH en diabéticos [Hudson y cols, 1984; Cameron y cols, 1984 y 1987; Roy y cols, 1990].

Las respuestas del eje HHA a CRH sugieren hipercortisolismo leve que parece ser independiente de la secreción de ACTH. Varios estudios han encontrado respuestas aumentadas de cortisol pero no de ACTH en pacientes

DM-1 en comparación con controles sanos [Roy y cols, 1993; Ghizzoni y cols, 1993; Coiro y cols, 1995]. Por el contrario, la respuesta de la DHEA sulfato está atenuada en los adolescentes diabéticos [Ghizzoni y cols, 1993].

En diabéticos tipo 1 es frecuente encontrar respuestas disminuidas de cortisol a la administración exógena de ACTH a bajas dosis [Simunkova y cols, 2010; Gaete y cols, 2013], además en comparación con los individuos sanos, ese grupo de diabéticos presenta una disminución de la respuesta suprarrenal durante la noche a la ACTH endógena, lo cual apunta a una alteración en la adaptación al estrés del eje HHA en DM-1 [Sharma y cols, 2014].

Los mecanismos implicados en la activación del eje HHA no están claros. Se han involucrado cambios en la actividad enzimática del metabolismo de cortisol, concretamente inhibición de la  $5\alpha$ -reductasa y  $11\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2 ( $11\beta$  HSD2), que son enzimas implicadas en la inactivación del cortisol por la estimulación directa de la insulina [Remer y cols, 2006].

### **5.1.2. CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE LA ALTERACIÓN DEL EJE HHA EN LA DM-1**

La hipersecreción crónica de cortisol en la DM-1 puede contribuir al aumento de la resistencia insulínica, el empeoramiento del control metabólico y la aparición de complicaciones crónicas.

#### **5.1.2.1. EFECTOS SOBRE EL CONTROL METABÓLICO**

En muchos estudios, pero no todos, se ha encontrado una correlación positiva entre los niveles de cortisol y CLU con la glucemia basal y con la HbA1c en la DM-1 [Hudson y cols, 1984; Couch y cols, 1992; Roy y cols,

## Introducción

1993; Mosbah y cols, 2011]. Cuando se realizó el test de supresión con 1 mg de dexametasona en un grupo de 100 diabéticos, sólo siete no suprimieron de forma adecuada. No hubo relación entre el control agudo (media de cuatro mediciones de glucemia antes de recibir la dexametasona) o crónico de la glucemia (HbA1c) y las respuestas falsas positivas. Tampoco hubo correlación entre el cortisol plasmático después de dexametasona y la hemoglobina glucosilada [Kaye1 1992]. Otros trabajos tampoco han encontrado correlación entre los niveles basales de cortisol, HbA1c y glucemia basal [Kvasnickova y cols, 2015].

La comparación entre pacientes diabéticos postpuberales: 13 con buen control (HbA1c < 8 %) y 10 con mal control (HbA1c > 10 %), mostró que los mal controlados tenían niveles más altos de cortisol y menores de DHEA, produciendo una disociación entre los niveles de ambos esteroides adrenales [Couch y cols, 1992].

Otro estudio en 45 niños con DM-1, con edades de 10-15 años, encontró que los niveles de cortisol presentaban una correlación alta con la glucemia plasmática y débil con los niveles de HbA1c. Cuando se estratificó por niveles de glucemia y HbA1c, los pacientes con niveles de glucemia más elevados mostraban niveles más altos de cortisol cuando se comparaban con los que tenían niveles más bajos. Igualmente los pacientes con niveles de HbA1c  $\geq 9\%$  tenían niveles de cortisol más altos que aquellos con niveles de HbA1c < 7% [Mosbah y cols, 2011].

Las concentraciones de cortisol disminuyen con la mejora del control metabólico. En un grupo de 25 pacientes DM-1, las concentraciones circulantes de cortisol se redujeron en todos los pacientes tras dos semanas de optimización del control glucémico, aunque no cambió el patrón diurno

de secreción, ni hubo diferencias entre los que tenían péptido C residual y los que no [Würzburger y cols, 1990].

Por último, en la DM-1 se ha encontrado una respuesta pobre de la ACTH al estímulo con CRH asociada a mal control metabólico. No obstante, la respuesta a la hipoglucemia insulínica fue similar a la encontrada en diabéticos con buen control y en controles sanos, por lo que se concluyó que esta prueba debe considerarse el método de elección en la evaluación de la reserva de ACTH en diabéticos tipo 1 [Almqvist y cols, 2001].

### **5.1.2.2. EFECTO SOBRE LAS COMPLICACIONES MICROVASCULARES**

En diabéticos tipo 2, la actividad del eje HHA está aumentada en los pacientes con complicaciones diabéticas; y el grado de secreción de cortisol está relacionado con la presencia y el número de estas complicaciones [Chiodini y cols, 2007].

La neuropatía diabética se asocia con un aumento de la actividad del eje HHA. Los diabéticos con neuropatía presentan una variación circadiana de ACTH y cortisol normal, y una secreción integrada de ambas hormonas aumentada en comparación con diabéticos sin neuropatía y con controles. Estas diferencias se producían independientemente del tipo de diabetes. ACTH y cortisol no se correlacionaron con el control glucémico, retinopatía, ni proteinuria [Tsigos y cols, 1993]. Los diabéticos con neuropatía también presentan respuestas más elevadas de cortisol pero no de ACTH a la estimulación con CRH [Coiro y cols, 1995].

El CLU de 24 horas fue mayor en diabéticos tipo 1 que en controles, y también mayor en varones diabéticos, mientras que no se detectaron diferencias de sexo en los controles. El CLU se correlaciona con el grosor



de la pared arterial (íntima más media) carotídea, la endotelina urinaria, la albúmina urinaria y la presión arterial [Dacou-Voutetakis y cols, 1998]. En otro trabajo, los diabéticos tipo 1 con retinopatía y complicaciones cardiovasculares diabéticas mostraron una tendencia a cifras mayores de CLU de 24 horas que los pacientes sin estas complicaciones [Roy y cols, 1998b].

### **5.1.3. EJE HHA Y SISTEMA COLINÉRGICO EN LA DM-1**

En 21 diabéticos tipo 1, la administración de PZP oral tres veces al día produjo una reducción de los niveles de GH y glucemia en comparación con placebo, mientras que los niveles de cortisol no se modificaron [Pietschmann y Schernthaner, 1988]. En otro experimento diseñado para ver el efecto de la GH sobre el "fenómeno del alba", la administración de PZP antes de acostarse tampoco produjo cambios en los niveles de cortisol durante la noche [Mimura y cols, 1992].

## **5.2. DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y EJE SOMATOTRÓPICO**

### **5.2.1. ALTERACIONES DEL EJE SOMATOTRÓPICO EN LA DM-1**

#### **5.2.1.1. DEFECTOS EN LA SECRECIÓN DE GH**

En la DM-1, a pesar de los niveles elevados de glucemia, es frecuente encontrar niveles basales y de secreción integrada de GH elevados, así como respuestas aumentadas de GH a diferentes estímulos y disminución de la generación de IGF-1 [Hansen y cols, 1970; Hayford y cols, 1980; Horner y cols, 1981]. Al contrario de lo que ocurre en diabéticos, la hiperglucemia en personas sanas inhibe la secreción de GH, supuestamente estimulando la secreción de SS [Iranmanesh y cols, 1992].

## Introducción

La concentraciones integradas de 24 horas de GH están aumentadas en pacientes con DM-1 mal controlada o no tratada [Hayford y cols, 1980; Horner y cols, 1981; Asplin y cols, 1989]. La mejora del control metabólico se asocia a una normalización de los niveles elevados de GH y disminuidos de IGF-1 [Tamborlane y cols, 1981; Salgado y cols, 1996]. Sin embargo, otros autores han comunicado que los niveles de GH no varían tras mejorar el control glucémico [Hershcop y cols, 1982; Würsburger y cols, 1990].

Los pacientes con DM-1 presentan un patrón de secreción diurna de GH anormal, con niveles más elevados durante las horas de día, y pulsatilidad alterada [Hayford y cols, 1980; Johansen y cols, 1971]. Un estudio realizado en 20 pacientes con DM-1 mal controlada encontró que tanto la frecuencia como la amplitud máxima de los pulsos de GH estaban muy aumentados y eso producía un aumento de la concentración de GH interpulsos [Asplin y cols, 1989]. Los autores concluyeron que estas alteraciones eran compatibles con una desregulación hipotalámica que consistiría en un aumento de la frecuencia de los pulsos de GHRH y una disminución del tono de SS [Asplin y cols, 1989]. Otro estudio, usando análisis de deconvolución de los perfiles nocturnos de GH, encontró que adolescentes diabéticos tipo 1 tenían alteraciones similares que no se corregían por medio del mantenimiento de la normoglucemia obtenida por clamp euglucémico [Pal y cols, 1993].

La respuesta de GH a diferentes secretagogos también está alterada en la DM-1: se ha informado de respuestas aumentadas a clonidina [Speroni y cols, 1983], arginina [Burday y cols, 1968], dopamina [Lorenzi y cols, 1980], levodopa [Ajlouni y cols, 1975], ejercicio físico [Hansen y cols, 1970] y, en particular, la respuesta de GH a GHRH [Krassowski y cols, 1988; Schaper y cols, 1990; Giustina y cols, 1990b]. Estos secretagogos no específicos actúan por diferentes mecanismos sobre las vías nerviosas

regulando la secreción de GH. A pesar de que el control metabólico estricto disminuye las concentraciones basales e integradas de GH en estos pacientes, no parece normalizar la respuesta a GHRH [Schaper y cols, 1990]. Además, se ha descrito una respuesta paradójica de la GH a TRH y GnRH en DM-1 con mal control metabólico [Chiodera y cols, 1984; Coiro 1989]. Es de destacar que respuestas similares a TRH se producen en situaciones de privación calórica como la anorexia nerviosa.

### **5.2.1.2. DEFECTOS EN LA ACCIÓN DE GH**

La presencia de niveles elevados de GH junto con bajas concentraciones de IGF-1 en la DM-1 mal controlada, podría reflejar un estado de resistencia a la GH [Baxter y Turtle, 1978]. Estudios en animales de experimentación con diabetes inducida por estreptozotocina mostraron una disminución de la unión de GH marcada radiactivamente a las membranas hepáticas, que era debida a una reducción en el número de receptores, mientras que la afinidad por los mismos permanecía normal [Baxter y Turtle, 1978]. Curiosamente, en este estudio, la unión de GH era directamente proporcional a las concentraciones séricas de insulina. Otro ensayo posterior realizado por el mismo grupo, demostró que la reducción del *binding* de GH a las membranas hepáticas y las alteraciones en la generación de IGF-1 en la rata, se podían restablecer con el tratamiento con insulina [Baxter y cols, 1980]. Estos hallazgos no se confirmaron en otro experimento que encontró que la unión de la GH a sus receptores hepáticos, en ratas hechas diabéticas con estreptozotocina e hipofisectomizadas, no era diferente del de animales controles [Maes y cols, 1986]. La respuesta aplanada de la IGF-1 a la administración de GH bovina encontrada en este estudio llegó a plantear la hipótesis de que la supuesta resistencia a la GH en la diabetes se debía a una anomalía postreceptor y a la disminución generalizada de la síntesis proteica [Maes y cols, 1986]. Posteriormente se

## Introducción

encontró que los niveles de RNAm tanto del receptor de GH como de IGF-1 estaban reducidos en ratas en estado de ayuno y en ratas hechas diabéticas con estreptozotocina [Bornfeldt y cols, 1989]. Por tanto, la idea de resistencia a la GH está ampliamente aceptada, aunque no está claro a través de qué mecanismos.

Los niveles circulantes de la GHBP se corresponden con el dominio extracelular del receptor de GH [Leung y cols, 1987], y su concentración plasmática refleja las concentraciones tisulares del receptor [Baumann y cols, 1987]. En personas con DM-1, se ha demostrado que la GHBP está disminuida en adultos y niños [Mercado y cols, 1992; Menon y cols, 1992]. Los niveles de GHBP no se correlacionan con el control metabólico, el IMC o concentración de IGF-1 en adultos con DM-1 [Mercado y cols, 1992]. Por el contrario, los pacientes con DM-2 mal controlada presentan niveles normales de GHBP que se correlacionan con el IMC y las concentraciones de IGF-1 de manera similar a como ocurre en sujetos no diabéticos [Mercado y cols, 1992]. Además, los niveles de GHBP aumentan con la terapia insulínica en niños con DM-1 de reciente diagnóstico [Arslanian y cols, 1993]. Estas observaciones sugieren que la resistencia a la GH encontrada en el DM-1 mal controlada es debida, al menos en parte, a una reducción en el número de receptores de GH, y que la causa es la falta de insulina más que a la hiperglucemia.

Por otro lado, se ha demostrado que los niveles de GHBP están igualmente reducidos en diabéticos tipo 1 con terapia insulínica convencional y con infusión subcutánea continua de insulina (ISCI) cuando se comparan con controles. Sin embargo, la infusión intraperitoneal continua de insulina (IIPCI) con una bomba implantable aumentaba los niveles de GHBP, IGF-1, y IGFBP-3 de forma paralela a la mejora de los niveles de HbA1c. Se concluyó que la resistencia hepática a la GH en la DM-1 no se

## Introducción

relacionaba con el control glucémico sino con una insuficiente insulinización portal [Hanaire-Broutin y cols, 1996]. Hallazgos similares se encontraron cuando se midió la bioactividad de IGF-1, que fue mayor con IIPCI que con ISCI, junto con niveles más bajos de IGFBP-1, apoyando la teoría de que la vía de administración de la insulina es importante para la actividad del sistema IGF [Hedman y cols, 2014].

En apoyo de la existencia de una resistencia hepática a la acción de la GH está la observación de que la restauración de los niveles de IGF-1 mediante la administración de IGF-1 recombinante humana (rhIGF-1) en diabéticos con DM-1, disminuye los pulsos secretorios de GH [Carroll y cols, 1997]. También refuerza esta hipótesis el hallazgo de que niños con DM-1 mal controlada presentan un aumento de los niveles de IGF-1, en respuesta a la administración de GH, menor que aquellos que ostentan un mejor control glucémico [Lanes y cols, 1985].

Los IGFs son los mediadores de la mayor parte de los efectos de la GH [Froesch y cols, 1985]. Estos péptidos interactúan en el plasma con las IGFBPs que determinan sus acciones biológicas [Baxter, 1991]. De las seis IGFBP conocidas, las mejor estudiadas son la IGFBP3 y la IGFBP1 [Binoux y cols, 1991]. Las concentraciones plasmáticas de IGFBP1 varían en función del estado metabólico y nutricional del individuo [Binoux y cols, 1991]. La insulina disminuye la producción de IGFBP-1 por el hígado [Holly, 1991]. IGFBP-1 modula las actividades mitogénicas y las similares a la insulina de los IGFs [Holly, 1991]. Las concentraciones plasmáticas de IGFBP1 están aumentadas en los estados caracterizados por bajos niveles de insulina, como el ayuno, la malnutrición y la DM-1 [Holly, 1991]. IGFBP1 se considera que actúa como un inhibidor de la bioactividad de la IGF [Taylor y cols, 1990], de tal manera que sus niveles aumentados deterioran la acción de la IGF, empeorando la resistencia a la GH.

## 5.2.2. CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE LA ALTERACIÓN DEL EJE SOMATOTRÓPICO EN LA DM-1

### 5.2.2.1. EFECTOS SOBRE EL CONTROL METABÓLICO

Las alteraciones de la secreción y de la acción de la GH que ocurren en la DM-1 contribuyen al empeoramiento del control metabólico de los pacientes diabéticos [Holly y cols, 1988]. Se especula que el denominado fenómeno del alba o hiperglucemia matutina de los diabéticos es consecuencia de la elevación nocturna de la GH [Campbell y cols, 1985]. Esta elevación de la GH también se produce en individuos sanos, pero se compensa con un aumento de la secreción de insulina. Por el contrario, en pacientes con DM-1, la oleada de GH es más intensa, y no existe insulina endógena para compensar la hiperglucemia acompañante [Campbell y cols, 1985].

De forma análoga, durante la pubertad acontece una elevación de los niveles de GH que se acompaña de un aumento de la secreción de insulina [Mauras y cols, 1987]. Como esta compensación tampoco se produce en los diabéticos puberales, se tiende a empeorar el control metabólico y a incrementarse los requerimientos de insulina en este periodo del desarrollo [Amiel y cols, 1986]. Igualmente, se sabe que la administración de GH a diabéticos tipo 1 bien controlados postpuberales conduce a un aumento de la producción hepática de glucosa, a hiperglucemia y a un aumento de los AGL y de los cuerpos cetónicos [Press y cols, 1984a].

El deterioro metabólico que ocasiona la alteración del eje GH/IGF-1 en la DM-1 ha llevado a algunos investigadores a intentar suprimir la producción de GH como terapia adyuvante a la insulina [Gerich, 1986]. En esta línea, se ha demostrado que el aumento de la actividad adrenérgica  $\beta_2$

## Introducción

mediante la administración oral de salbutamol es capaz de inhibir la secreción basal y estimulada por GHRH de la GH [Martina y cols, 1989a]. Por otro lado, los análogos de la SS han demostrado que reducen los niveles de GH y mejoran el control metabólico [Ríos y cols, 1986], pero a costa de un incremento de los episodios de hipoglucemia severa [Navascues y cols, 1988]. Asimismo, la adición de rhIGF-1 al tratamiento con insulina en adultos con DM-1 corrige la hipersecreción de GH, mejora la sensibilidad a la insulina y el control glucémico, aparte de disminuir los requerimientos de insulina. No hubo incremento de las hipoglucemias ni de otros efectos adversos, incluyendo la excreción de albúmina urinaria [Carrol y cols, 1997]. En otro estudio en adolescentes y adultos jóvenes con DM-1, la administración de rhIGF-1 disminuía los requerimientos de insulina de forma independiente de la GH [Crowne y cols, 1998]. Igualmente, siete días de tratamiento con el complejo de rhIGF-1/IGFBP-3 mejoraba la sensibilidad a la insulina durante la noche y reducía los niveles de GH, pero no tenía ningún efecto sobre la hiperfiltración glomerular ni sobre la tasa de excreción de albúmina urinaria [Williams RM y cols, 2006].

### **5.2.2.2. EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO SOMÁTICO**

Aunque, en la actualidad ya no se observan las formas extremas de retraso estatural observadas al principio del siglo XX [Joslin y cols, 1925], todavía existen formas sutiles de deterioro del crecimiento; por ejemplo estudios en gemelos idénticos discordantes para la diabetes han puesto de manifiesto que la talla adulta de los diabéticos que habían desarrollado la enfermedad antes de la pubertad era menor que la de sus gemelos no diabéticos [Tattersall y Pyke, 1973]. Además, la mejora del control metabólico en chicos diabéticos con talla aparentemente normal, causaba una aceleración de la velocidad de crecimiento [Rudolf y cols, 1982; Tamborlane y cols, 1981]. También se ha demostrado en otro estudio sobre velocidad de

crecimiento en pares de gemelos idénticos discordantes para la diabetes, que en los gemelos no diabéticos y que luego desarrollaron la enfermedad, la velocidad de crecimiento disminuyó por debajo del percentil 3 desde que estaban en estadio de prediabetes [Leslie y cols, 1991].

A pesar de la terapia intensiva con insulina, la DM-1 afecta de forma negativa la secreción de IGF-1 y el crecimiento lineal, según un reciente trabajo que comparaba jóvenes DM-1 con insulina en inyecciones múltiples o en ISCI. Además, el deterioro del crecimiento era más grave en varones y se relaciona principalmente con un mal control glucémico [Bizzarri y cols, 2014].

### **5.2.2.3. EFECTOS SOBRE LAS COMPLICACIONES MICROVAS- CULARES**

Varios estudios experimentales sugieren la existencia de una relación causal entre GH y el desarrollo de complicaciones microvasculares [Lundbaek y cols, 1970]. En los años 50 del siglo XX, se describió un caso de una paciente cuya retinopatía diabética mejoró tras sufrir un infarto hipofisario postparto; por lo que se propuso que un factor hipofisario, quizás la GH, podría estar relacionado con la aparición de la retinopatía [Poulsen, 1953]. En base a esta experiencia, a muchos pacientes diabéticos se les practicó ablación hipofisaria con el objetivo de disminuir la severidad de la retinopatía diabética [Luft, 1962]. Los resultados fueron muy variables; algunos efectivamente experimentaron una mejoría de su retinopatía pero el procedimiento se asociaba a una alta morbilidad y mortalidad.

Con posterioridad, en un estudio efectuado en un grupo de niños con enanismo por déficit de GH que además padecían de diabetes, se encontró que las complicaciones microvasculares eran poco frecuentes [Merimee y



*cols*, 1978]. Sin embargo, otro estudio señaló la aparición de lesiones microvasculares en diabéticos deficitarios de GH [Radin y *cols*, 1984], con lo cual se estableció la idea de que la GH no es necesaria para la aparición de la retinopatía, aunque sí que puede contribuir a su desarrollo. En esta línea, se han utilizado análogos de la SS para intentar suprimir la secreción de GH en diabéticos con retinopatía proliferativa, habiéndose comunicado mejoría de la agudeza visual [Mallet y *cols*, 1992]. Por otro lado, se conoce poco sobre la relación entre GH y nefropatía o neuropatía. Se ha sugerido que la hipersecreción de GH está relacionada con la hiperfiltración de la DM-1 [Blankestijn y *cols*, 1993].

### **5.2.3. EJE SOMATOTRÓPICO Y SISTEMA COLINÉRGICO EN LA DM-1**

Las causas de la secreción anormal de GH en la DM-1 no se conocen pero es posible que la disfunción hipotalámica tenga un papel relevante. La respuesta exagerada de GH a la GHRH descrita por varios grupos [Krassowski y *cols*, 1988; Schaper y *cols*, 1990] y la valoración de la respuesta de GH a agonistas y antagonistas colinérgicos, sugiere que en la DM-1 existe un tono colinérgico hipotalámico aumentado, que a su vez reduce el tono somatostatinérgico, lo que permite mantener una actividad excesiva de las células somatotropas [Giustina y *cols*, 1990b y 1993; Ismail y *cols*, 1993].

En sujetos normales, la respuesta de GH a GHRH se incrementa tras la administración de piridostigmina, sin embargo, en los pacientes DM-1 las respuestas son variables. Por un lado, en los diabéticos con respuestas exageradas de GH a GHRH, el incremento en el tono colinérgico no afecta a la secreción de GH [Giustina y *cols*, 1990b]. Por otro lado, en los pacientes con respuestas normales a GHRH, la adición de PD producía respuestas

## Introducción

aditivas como en sujetos normales [Giustina y cols, 1990b]. Otro trabajo posterior del mismo grupo demostró que la administración de PD reducía la variabilidad de las respuestas a GHRH en pacientes con DM-1 [Giustina y cols, 1993].

En las respuestas anormales de GH a GnRH y TRH en pacientes DM-1 están implicados mecanismos colinérgicos muscarínicos [Chiodera y cols, 1984; Coiro y cols, 1989]. La administración de PZP a varones diabéticos inhibía la elevación de GH tras GnRH y TRH; y efectos similares se encontraron en pacientes con depresión mayor [Coiro y cols, 1989].

El estudio de las respuestas de GH a arginina, ejercicio físico y GHRH tras la administración de PZP en diabéticos tipo 1 y controles sanos mostró una reducción de los niveles de GH en ambos grupos, siendo el porcentaje de inhibición menor en los pacientes diabéticos, indicando una sensibilidad reducida al bloqueo muscarínico en la DM-1 [Coiro y cols, 1990].

La administración de PZP redujo la secreción media de GH, disminuyendo la amplitud pero no la frecuencia de los pulsos, en un estudio con adolescentes con DM-1 [Pal y cols, 1993]. El hecho de que el bloqueo colinérgico, que aumenta la secreción de SS, normalice de forma parcial la secreción de GH, avala la teoría de que en la DM-1 existe un tono de SS deficiente. El bloqueo muscarínico mediante PZP también es capaz de inhibir la secreción de GH espontánea y estimulada por arginina en pacientes con DM-2 sin afectar la secreción de insulina [Martina y cols. 1994].

En pacientes con DM-1, el tratamiento crónico con PZP inhibe la secreción de GH nocturna y mejora el control glucémico [Martina y cols, 1987 y 1989b; Atiea y cols, 1989a y 1989b].

## Introducción

Una respuesta normal de GH a la GHRH en presencia de hiperglucemia debería considerarse inapropiada. En pacientes con DM-1 y respuestas normales de GH a la GHRH, se estudiaron las respuestas de GH a dos bolos consecutivos de GHRH, el segundo con y sin la administración previa de PD oral 30 minutos antes. Los niveles circulantes basales de glucosa y GH fueron significativamente mayores en los pacientes con DM-1 que en los sujetos normales. Tanto en sujetos normales como en pacientes con DM-1, la respuesta de la GH a la segunda administración de GHRH fue más baja que la respuesta a la primera. Además, la PD restauró la capacidad de respuesta de la GH a la segunda administración de GHRH en ambos grupos, siendo la respuesta mayor en controles que en diabéticos. Puesto que el efecto estimulador de la PD sobre la GH está probablemente mediado por la inhibición de la liberación de SS hipotalámica, estos resultados sugieren que existe un deterioro de tono de la SS en pacientes con DM-1 con respuesta normal de GH a GHRH [Martina y cols, 1997].

Por último, es bien conocido que la SS modula la secreción de TSH de forma negativa [Siler y cols, 1974b]; por tanto la estimación de la concentración de TSH es un medio para valorar el tono de SS. La administración de PZP redujo la secreción de GH y TSH durante la primera fase de la noche en un grupo de nueve pacientes diabéticos tipo 1 con mal control metabólico, lo que apoya la participación de las SS en la inhibición de la secreción de GH inducida por los antagonistas colinérgicos en la DM-1 [Goñi y cols, 1997].

### **5.3. TABACO, EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO EN LA DM-1**

A pesar del exceso de riesgo, la prevalencia global de fumadores en la población diabética es comparable a la de la población general. En relación con la población no diabética, existe mayor prevalencia de tabaquismo en los

## Introducción

siguientes grupos de diabéticos en Estados Unidos: jóvenes, personas que no han terminado los estudios en la escuela secundaria, y hombres afroamericanos [Ford y Newmann, 1991].

El seguimiento de una población de diabéticos tipo 1, fumadores y no fumadores durante 10 años, puso de manifiesto la existencia de una estrecha relación entre el consumo de tabaco y la presencia de retinopatía y neuropatía a pesar de tratamiento insulínico intensivo desde el diagnóstico [Uruska y cols, 2014]. Otro estudio posterior también señaló un aumento de la frecuencia de neuropatía en fumadores tanto en pacientes DM-1 como en DM-2 [Clair y cols, 2015]. El tabaquismo también se asocia con progresión de la nefropatía diabética [Sawicki y cols, 1994].

En pacientes DM-1 fumadores, se objetivan hiperrespuestas tanto de la GH como del cortisol. El estudio de las respuestas hormonales hipofisarias cuando se compararon fumadores (diabéticos y controles) con no fumadores (diabéticos y controles) mostró niveles basales similares de GH, cortisol y AVP en todos los grupos, e incrementos mayores de GH, cortisol y AVP en fumadores diabéticos tras la inhalación del humo del tabaco de forma aguda. Junto a esto, cuando se estudió la respuesta hormonal a la hipoglucemia insulínica se encontró que la respuesta al cortisol fue similar en normales (fumadores y no fumadores) y en DM-1 no fumadores, y mayor en DM-1 fumadores; la respuesta a la AVP y GH fue mayor en los DM-1 respecto a los normales, y dentro de los DM-1 mayor en los fumadores. Estos hallazgos sugieren la existencia de interacciones entre la nicotina inhalada con el consumo de tabaco y las alteraciones neuroendocrinas inducidas por la diabetes [Chiodera y cols, 1997].

En sujetos no diabéticos, el consumo habitual de nicotina puede atenuar las respuestas de GH y cortisol ante factores estimulantes, lo que

## *Introducción*

puede expresar un mecanismo de adaptación de la neurotransmisión nicotínica durante la estimulación crónica. Sin embargo, este efecto no está presente en la DM-1, probablemente debido a las alteraciones neuroendocrinas que ocurren en la diabetes. Se estudiaron las respuestas de GH, AVP y cortisol al ejercicio físico en bicicleta ergonómica en pacientes DM-1 y controles sanos, tanto fumadores como no fumadores. Los niveles basales de GH, AVP y cortisol fueron similares en los cuatro grupos; mientras que tras el ejercicio físico, los incrementos de GH, AVP y cortisol fueron mayores en los diabéticos. En el grupo de controles, las respuestas de GH y cortisol fueron menores en fumadores. Por el contrario, el consumo habitual de tabaco, no fue capaz de disminuir las respuestas de GH y cortisol en el grupo de diabéticos como ocurría con los sujetos controles [Coiro y cols, 2004].

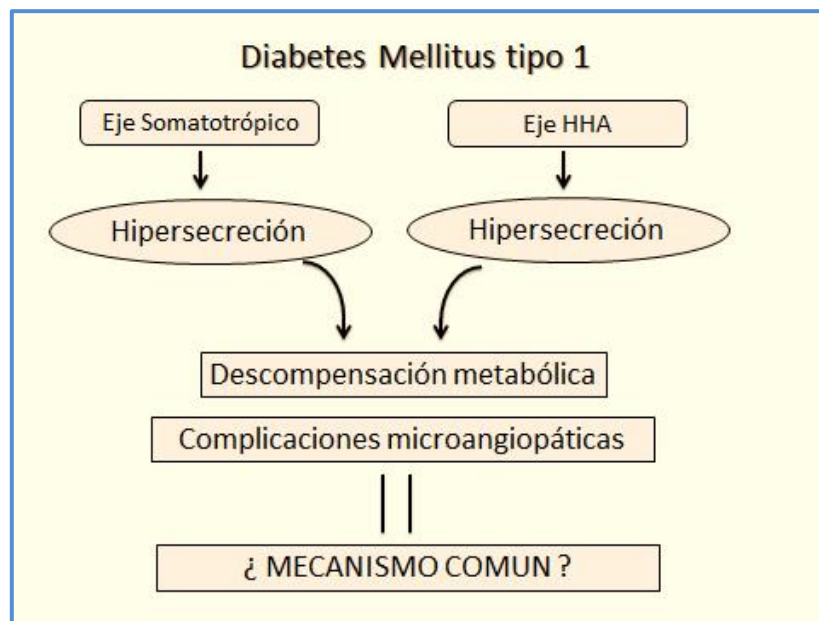
# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



## Hipótesis y Objetivos

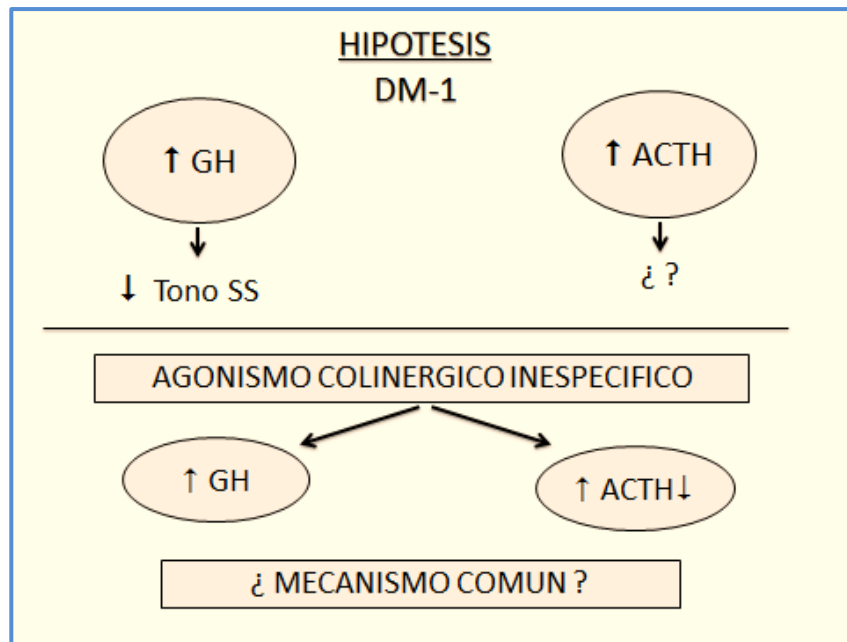
Las alteraciones del eje hipotálamo-hipófiso-somatotrópico y las del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal ocurren con frecuencia en pacientes con DM-1 descompensada. El presente trabajo se dirige a desarrollar la hipótesis según la cual ambos trastornos se encuentran relacionados con anomalías en el tono colinérgico que regula ambos ejes hormonales. En tal caso, se encontrarían trastornos en la respuesta somatotrópica y corticotropina a la administración de agonistas colinérgicos en los mismos pacientes.

Asimismo, es esperable obtener paralelismo entre las alteraciones en la secreción basal de cortisol y ACTH y su respuesta a la estimulación colinérgica con la hipersomatotropinemia y la respuesta de GH a la administración de piridostigmina (PD).



**ESQUEMA 1: ALTERACIONES DEL EJE HHA Y SOMATOTROPICO EN LA DM-1**





**ESQUEMA 2: ¿ALTERACION TONO COLINERGICO?**

Se plantearon los siguientes objetivos:

1. Valorar la secreción basal del eje HHA y la secreción basal y estimulada con GHRH del eje somatotrópico en diabéticos tipo 1 mal controlados y en controles sanos, tanto en fumadores como en no fumadores.
2. Valorar las respuestas de ambos ejes hormonales a la administración del agonista colinérgico Piridostigmina en los mismos grupos de sujetos.
3. Establecer si existen diferencias entre controles sanos fumadores y no fumadores. En el caso de que se demuestre que el tabaquismo no influye en las respuestas hormonales, se realizarán comparaciones entre diabéticos y controles.
4. Establecer correlaciones entre la secreción basal de GH, ACTH y cortisol, y entre las respuestas de cada una de estas hormonas a la administración de Piridostigmina, a fin de atribuir a una alteración del tono colinérgico las anomalías en el control de ambos ejes hormonales.
5. Relacionar las alteraciones funcionales de los ejes somatotrópico e hipotálamo-hipófiso-adrenal con el grado de control metabólico (nivel de HbA1c y fructosamina).

# SUJETOS Y MÉTODOS



## **1. SUJETOS DEL ESTUDIO**

Se estudiaron 16 individuos: 10 controles sanos y 6 pacientes afectados de diabetes mellitus tipo 1 mal controlada. Se obtuvo el consentimiento por escrito de todos los participantes después de recibir información verbal y escrita. Las características de cada grupo se describen en las tablas A, B, IA y IB.

### **INDIVIDUOS CONTROLES**

| Nº | Edad (años) | Peso (Kg) | Talla (cm) | IMC (kg/m <sup>2</sup> ) | TA Sistólica mm Hg | TA Diastólica mm Hg | Fumador |
|----|-------------|-----------|------------|--------------------------|--------------------|---------------------|---------|
| 1  | 22          | 90,0      | 189,5      | 25,06                    | 110                | 70                  | No      |
| 2  | 28          | 72,3      | 180,0      | 22,31                    | 115                | 80                  | No      |
| 3  | 25          | 80,0      | 184,0      | 23,63                    | 105                | 70                  | No      |
| 4  | 25          | 60,6      | 176,0      | 19,56                    | 90                 | 60                  | No      |
| 5  | 31          | 74,5      | 174,0      | 24,61                    | 130                | 80                  | No      |
| 6  | 23          | 65,5      | 184,0      | 19,35                    | 130                | 80                  | Si      |
| 7  | 33          | 72,0      | 174,0      | 23,78                    | 130                | 75                  | Si      |
| 8  | 28          | 88,0      | 179,5      | 27,31                    | 120                | 80                  | Si      |
| 9  | 25          | 86,5      | 178,5      | 27,15                    | 130                | 87                  | Si      |
| 10 | 23          | 82,5      | 188,5      | 23,22                    | 120                | 75                  | Si      |

**TABLA A: CARACTERÍSTICAS INDIVIDUALES DE LOS CONTROLES ESTUDIADOS**

### **PACIENTES DIABETICOS**

| Nº | Edad (años) | Peso (Kg) | Talla (cm) | IMC (kg/m <sup>2</sup> ) | TA Sist. (mm Hg) | TA Diást. (mm Hg) | T. Evol. (años) | Neuropatía | Fumador |
|----|-------------|-----------|------------|--------------------------|------------------|-------------------|-----------------|------------|---------|
| 1  | 21          | 64,8      | 174,0      | 21,40                    | 110              | 60                | 4               | No         | Si      |
| 2  | 27          | 68,0      | 168,0      | 24,10                    | 130              | 70                | 3               | Si         | No      |
| 3  | 20          | 76,0      | 176,0      | 24,53                    | 120              | 80                | 6               | No         | No      |
| 4  | 33          | 82,9      | 185,8      | 24,00                    | 115              | 75                | 10              | No         | Si      |
| 5  | 28          | 81,5      | 177,0      | 26,00                    | 120              | 80                | 3               | Si         | No      |
| 6  | 23          | 68,0      | 174,0      | 22,50                    | 120              | 80                | 12              | No         | No      |

**TABLA B: CARACTERÍSTICAS INDIVIDUALES DE LOS DIABÉTICOS ESTUDIADOS**

La idea inicial del estudio fue incluir 20 diabéticos, 10 con y 10 sin neuropatía, y 10 controles, todos no fumadores. Debido a la dificultad para reclutar voluntarios, el grupo de diabéticos se vió limitado a 6 pacientes, y se tuvieron que incluir tanto fumadores como no fumadores en el grupo de controles y en el de diabéticos. Por este motivo las comparaciones se

## *Sujetos y Métodos*

realizaron entre controles fumadores y no fumadores, y tras demostrar que no había diferencias significativas entre ambos grupos, se realizaron comparaciones entre el grupo control y el grupo de diabéticos.

Las edades de los controles variaron entre los 22 y 33 años con una edad media  $\pm$  desviación estándar de  $26.30 \pm 3.62$  años. En el grupo de diabéticos, las edades se situaron entre 20 y 33 años con una media  $\pm$  desviación estándar de  $25.33 \pm 4.93$  años.

El índice de masa corporal ( $IMC = \text{Peso}/\text{Talla}^2$ ) fue de  $23.60 \pm 2.70$   $\text{kg}/\text{m}^2$  (media  $\pm$  desviación estándar), oscilando entre un valor máximo de 27.31 y un mínimo de 19.35 en el grupo control; mientras que en el grupo de diabéticos fue de  $23.76 \pm 1.61$   $\text{kg}/\text{m}^2$ , con un valor máximo de 26.00 y un mínimo de 21.40, por lo que ninguno de los sujetos participantes se hallaba dentro del rango de obesidad.

Todos los participantes presentaban cifras de tensión arterial igual o menor a 130 mm Hg de sistólica y 87 mm Hg de diastólica. No existieron diferencias significativas entre el grupo de diabéticos y el de controles en cuanto a edad, talla, peso, IMC ni cifras de tensión arterial.

Previamente a la inclusión en el estudio se realizó en todos ellos una analítica general (hemograma, velocidad de sedimentación globular, urea, glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, bilirrubina, creatinina) y niveles de TSH, descartándose la presencia de patología hematológica, renal, hepática y endocrinológica, excepto la diabetes en el grupo de diabéticos.

Se realizó el test de Hamilton, versión en español de 17 items [Hamilton, 1960; Ramos-Brieva y Cordero-Villafafila, 1988], a cada uno de los sujetos del estudio por parte de un especialista en Psiquiatría con objeto

## *Sujetos y Métodos*

de descartar la presencia de un cuadro depresivo no manifiesto clínicamente, descartándose en todos los casos su existencia.

Todos los participantes fumadores, controles sanos y diabéticos, fumaban de forma habitual al menos diez cigarrillos diarios y no más de 20. No se realizó ninguna medición de nicotina en sangre para confirmar en consumo tabáquico.

En el grupo control se incluyeron 5 fumadores y 5 no fumadores, no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a edad, peso, talla ni IMC. Ninguno de ellos recibía tratamiento médico de forma habitual y, en ningún caso durante el período de estudio, recibieron medicación al menos en los 15 días previos a la realización de cada test.

Todos los participantes diabéticos presentaban un mal control de su diabetes, el valor de la hemoglobina A1c (media  $\pm$  error estándar) fue de  $9.22 \pm 0.38$  % y el de la fructosamina de (media  $\pm$  error estándar)  $392.33 \pm 24.39$  mmol/l. El tiempo de evolución de la diabetes se situó entre 3 y 12 años, siendo la media  $\pm$  error estándar de  $6.33 \pm 1.56$  años. En este grupo había dos fumadores y dos pacientes con neuropatía asintomática diagnosticada por un test de velocidad de conducción nerviosa anormal. Ninguno presentaba retinopatía diabética ni nefropatía, siendo el valor de la microalbuminuria en orina de 24 horas de  $2.04 \pm 0.76$  mg (media  $\pm$  error estándar). La dosis de insulina (media  $\pm$  error estándar) fue de  $72.67 \pm 11.39$  unidades/día y la dosis por kg de peso corporal de  $1 \pm 0.16$  unidades. Las pautas de insulina utilizada fueron las siguientes: 3 pacientes se encontraban con una dosis de insulina glargina y 3 de lispro al día, 1 paciente estaba con 2 dosis de insulina NPH y 3 dosis de lispro al día, un paciente estaba con 2 dosis de insulina NPH y 3 de insulina rápida al día y el paciente restante estaba con una dosis de insulina NPH y 3 dosis de rápida al día.

## *Sujetos y Métodos*

La aparición de procesos intercurrentes, fundamentalmente episodios catarrales o gripales, o el reconocimiento por parte del sujeto de encontrarse en una situación de estrés físico o psíquico, implicó la suspensión temporal de las pruebas del estudio. En el grupo de diabéticos, las pruebas debían posponerse en el caso de que la noche previa hubiesen presentado un episodio de hipoglucemia, y esto ocurrió en una ocasión.

Todos los participantes presentaban un ritmo sueño-vigilia normal y debieron seguir, al menos los tres días previos, un régimen de vida con un mínimo de siete horas de sueño durante la noche.

Durante la realización del estudio, tanto los participantes controles como los diabéticos siguieron su dieta habitual, que contenía porcentajes de principios inmediatos considerados normales.

Ninguno de los diabéticos participantes practicaba deporte de forma habitual. De los controles, siete practicaban deporte aunque ninguno era deportista de élite: dos practicaban tenis, dos gimnasia de mantenimiento, uno footing, uno fútbol y otro natación. El tiempo dedicado al deporte variaba desde una hora a la semana hasta una hora diaria. A todos los participantes se les indicó la prohibición de realizar actividades deportivas durante las 24 horas previas a cada test.

Cinco de los participantes refirieron efectos secundarios, la mayoría relacionados con la administración de piridostigmina: sueño, mareo, cefalea, aumento del peristaltismo intestinal, ganas de defecar, frialdad y disartria. La administración de GHRH produjo rubor y sensación de calor facial en tres individuos que desapareció en pocos minutos. El control de la tensión arterial no mostró cambios significativos.

En ninguna de las ocasiones hubo necesidad de suspender la prueba por los efectos secundarios. La disartria ocurrió en tres ocasiones, y se resolvió espontáneamente en menos de dos horas, salvo en un caso en que fue preciso administrar atropina IV después de terminada la prueba. En este caso el paciente rehusó continuar con las pruebas restantes del estudio.

## **2. PROCEDIMIENTOS**

### **2.1. PROTOCOLO DEL ESTUDIO**

En cada participante se midió el cortisol libre urinario en muestra de orina de 24 horas y se realizaron 4 tests dinámicos, de forma randomizada, con un intervalo mínimo de 48 horas entre cada uno de ellos. Los tests dinámicos realizados y la nomenclatura utilizada fueron los enumerados a continuación:

#### 1) TESTS SALINOS:

1.1. Test Salino Basal (SPB).

1.2. Test Salino Piridostigmina (SPD).

#### 2) TESTS GHRH:

2.1. Test GHRH Basal (GPB).

2.2. TEST GHRH Piridostigmina (GPD).

### **2.2. METODOLOGÍA DE LAS PRUEBAS**

Las pruebas se realizaron en régimen ambulatorio en la Unidad de Pruebas Funcionales del Laboratorio del Hospital Universitario de Canarias, en La Laguna, Tenerife, bajo la supervisión en todo momento de al menos un médico y un enfermero. La realización de las pruebas se efectuó desde el año 2000 al año 2004.



## *Sujetos y Métodos*

Se siguió estrictamente el horario fijado en todas las pruebas realizadas; de manera que, en todos y cada uno de los individuos y en todas las pruebas realizadas, los tiempos de inicio y de finalización fueron idénticos. Los tests se efectuaron tras un mínimo de diez horas de ayuno para evitar interferencias en la absorción de los fármacos administrados por vía oral.

En ningún momento se efectuaron más de dos tests simultáneamente, con la finalidad de realizar todas las extracciones y administraciones en el momento exacto, y de que cada sujeto estudiado fuese atendido por al menos una persona (médico o enfermero).

A los participantes, no se les informó sobre el tipo de prueba a la que iban a ser sometidos, para evitar posibles interferencias en su realización; siendo este aspecto únicamente conocido por el médico responsable del protocolo.

Los individuos permanecieron en decúbito supino durante el tiempo de duración de la prueba y no se les permitió la deambulacion. Se interrogó a cada participante por la presencia de efectos secundarios de acuerdo a un interrogatorio previamente establecido, y que fue idéntico en todas las ocasiones, con la finalidad de intentar buscar su posible implicación en las determinaciones hormonales realizadas.

Se realizó control de presión arterial sistólica y diastólica en todas las pruebas en los tiempos – 60, 0, + 15, +30 y + 120 minutos.

### **2.2.1. TESTS SALINOS**

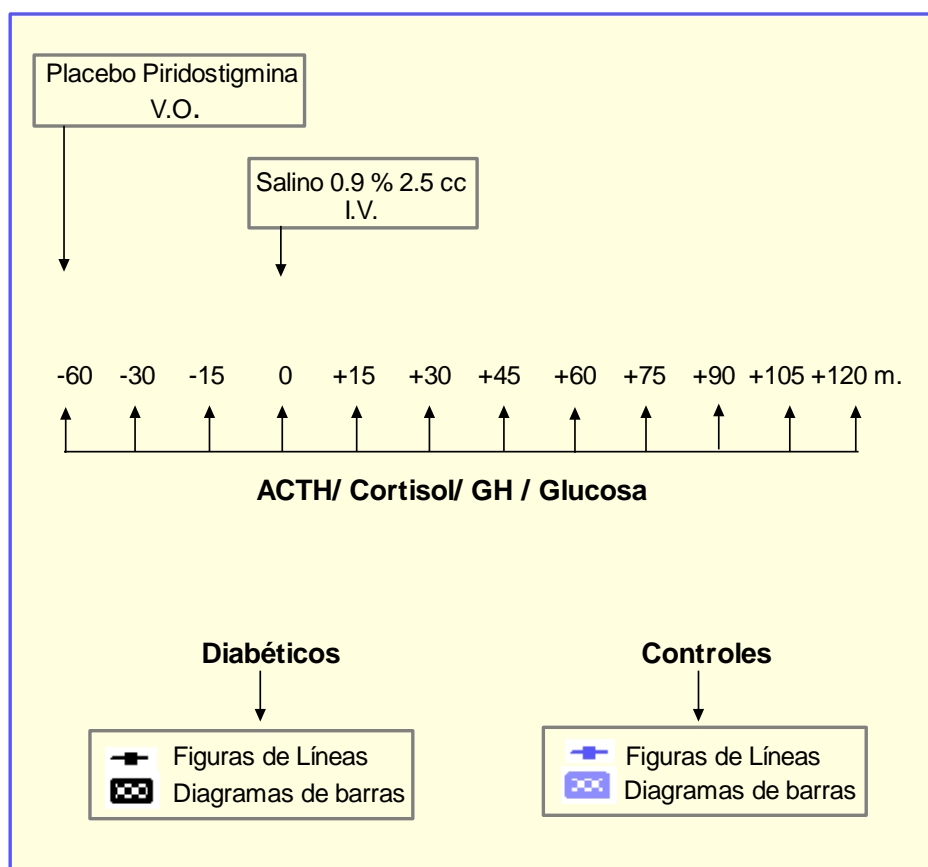
#### **2.2.1.1. TEST SALINO BASAL (SPB)**

Entre las 08:00 y 08:30 horas se introdujo un catéter Abbocath-G20 en una vena antecubital, conectándose mediante una llave de tres vías a un sistema de infusión, a través del cual se perfundió una solución de suero salino del 0.9% de 250 cc a una velocidad mínima necesaria para el mantenimiento de la vía.

A las 08:30 horas de la mañana (tiempo -60 minutos) se administró placebo de piridostigmina (dos tabletas), por vía oral. A las 09:30 horas (tiempo 0 minutos) se administraron 2.5 cc de suero salino 0.9% (utilizado como placebo de GHRH) en bolus intravenoso a través del sistema de infusión.

La primera extracción de sangre se realizó a las 08:30 horas de la mañana (tiempo -60 minutos), la segunda a las 09:00 horas y a partir de entonces cada 15 minutos hasta la finalización de la prueba a las 11:30 horas de la mañana. Se obtuvieron por tanto 4 muestras (-60, -30, -15 y 0 minutos) previas al placebo de GHRH y 8 muestras posteriores (+15, +30, +45, +60, +75, +90, +105 y +120 minutos). El procedimiento llevado a cabo en esta prueba se especifica en el ESQUEMA 3.

Se realizaron mediciones de ACTH, Cortisol, Hormona de Crecimiento (GH) y glucosa en las muestras de sangre de cada una de las extracciones.



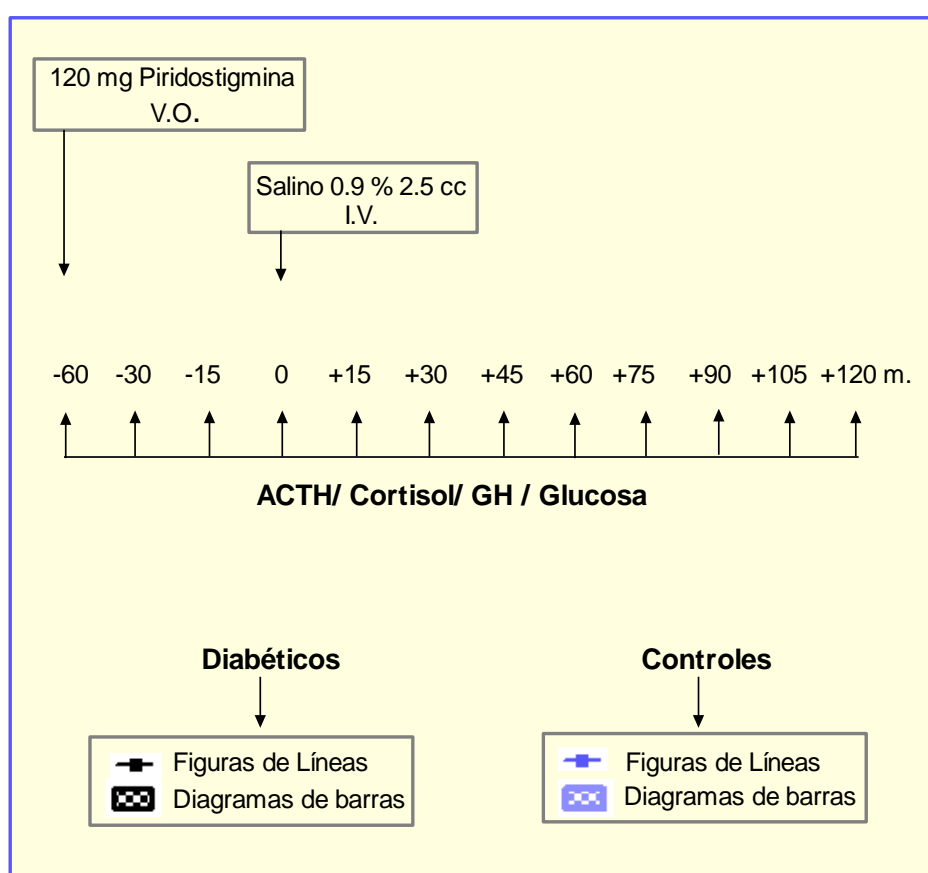
ESQUEMA 3: TEST SALINO BASAL

### 2.2.1.2. TEST SALINO PIRIDOSTIGMINA (SPD)

A las 08:30 horas de la mañana (tiempo -60 minutos) se administraron 120 miligramos (2 comprimidos de 60 miligramos) de piridostigmina (Mestinon<sup>®</sup>, Roche). La piridostigmina (PD) es un inhibidor de la acetilcolinesterasa con propiedades colinomiméticas nicotínicas y muscarínicas capaz de atravesar la barrera hematoencefálica [Aquilonius y Hartvic, 1986]. La PD es capaz de estimular la secreción de GH, probablemente a través de la inhibición de la liberación de somatostatina hipotalámica [Peñalva y cols, 1990].

## Sujetos y Métodos

Entre las 08:00 y 08:30 horas se introdujo un catéter en una vena antecubital, procediéndose a la colocación del sistema de infusión como se describió en el Test Salino Basal. A las 08:30 horas comenzaron a realizarse las extracciones, la segunda a las 09:00 horas y luego cada 15 minutos, inyectándose en el tiempo 0 minutos 2.5 ml de suero salino 0.9% en bolus intravenoso a través del sistema de infusión. El resto de determinaciones realizadas y el momento de finalización de la prueba fueron idénticos al Test Salino Basal (ESQUEMA 4).



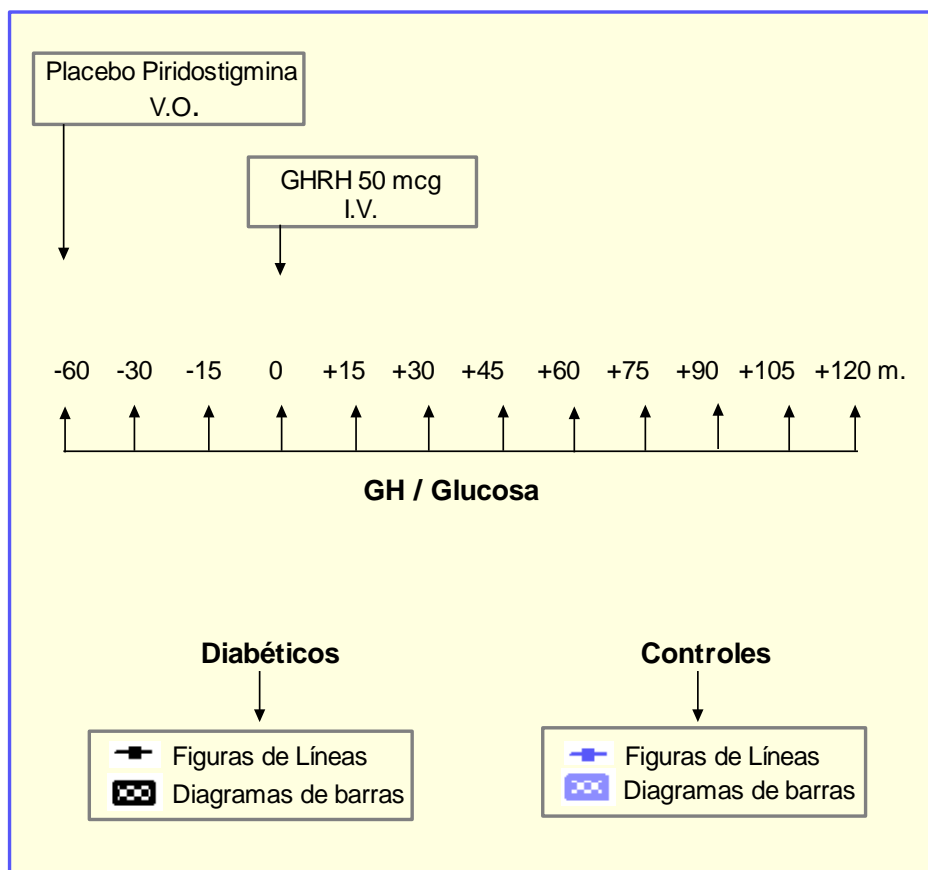
**ESQUEMA 4: TEST SALINO PIRIDOSTIGMINA**

## **2.2.2. TESTS GHRH**

### **2.2.2.1. TEST GHRH BASAL (GPB)**

A las 08:30 horas de la mañana se administró por vía oral placebo de piridostigmina (2 tabletas). Entre las 08:00 y 08:30 horas se introdujo un catéter Abbocath-G20 en una vena antecubital y se conectó, mediante llave de tres vías, a un sistema de infusión a través del que se perfundió suero salino al 0.9% de 250 ml a una velocidad mínima necesaria para el mantenimiento de la vía.

A las 08:30 horas de la mañana (tiempo -60 minutos) se realizó la primera extracción de sangre, a las 09:00 la segunda y luego una extracción cada 15 minutos, obteniéndose 4 muestras (-60, -30, -15 y 0 minutos) previamente a la administración, en el tiempo 0 minutos (09:30 horas), de 50 microgramos de GHRH sintética (GRH (1-29) NH<sub>2</sub>; Geref<sup>®</sup>, Serono) en bolus intravenoso a través del sistema de infusión y luego se realizaron 8 extracciones más en los tiempos + 15, +30, +45, +60, +90 y +120 minutos hasta la finalización de la prueba, a las 11:30 horas de la mañana. Se realizaron mediciones de GH y glucosa en las muestras de sangre de cada una de las extracciones. El procedimiento llevado a cabo en esta prueba se especifica en el ESQUEMA 5.



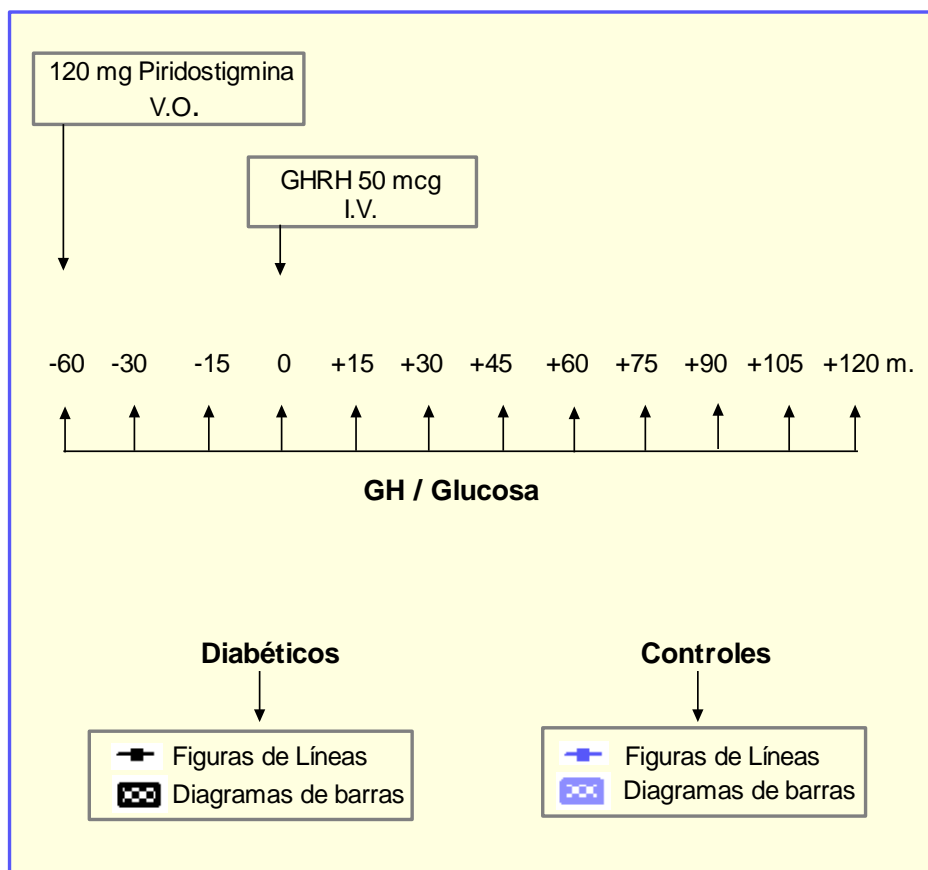
**ESQUEMA 5: TEST GHRH BASAL**

#### **2.2.2.2. TEST GHRH PIRIDOSTIGMINA (GPD)**

A las 08:30 horas se administraron 120 miligramos de piridostigmina (Mestinon<sup>®</sup>, Roche) por vía oral. Entre las 08:00 y 08:30 se introdujo un catéter de las mismas características que en el Test GHRH Basal, procediéndose de idéntica manera a la descrita.

Se realizaron las mismas determinaciones y mediciones (ESQUEMA 6) que en el Test GHRH Basal, previamente y tras la inyección en bolus intravenoso de 50 microgramos de GHRH.

## Sujetos y Métodos



**ESQUEMA 6: TEST GHRH PIRIDOSTIGMINA**

### 2.3. TÉCNICA DE RECOGIDA DE MUESTRAS

En cada determinación se extrajeron 10 ml de sangre. Cinco ml se recogieron en un tubo de EDTA para determinación de ACTH y otros 5 ml en un tubo de suero para determinación de GH, cortisol y glucosa. Todos los tubos se introdujeron inmediatamente en hielo hasta su procesamiento.

Al final de la prueba, todos los tubos obtenidos en cada extracción fueron centrifugados a 3.500 rpm, durante 10 minutos, a temperatura ambiente los tubos de suero y a 2°C los tubos EDTA. Las muestras de suero se dividieron en tres partes: una parte se utilizó para medir ese mismo día los niveles glucosa y los niveles de cortisol al día siguiente y las otras dos partes se guardaron en dos tubos Ependorf, uno para medir GH y el otro como

suero de reserva. Cada muestra de plasma se dividió en dos tubos Ependorf que se utilizaron para medir ACTH y como plasma de reserva.

Todas las muestras de suero, plasma y orina se congelaron a - 20°C hasta su procesamiento, siendo este período de tiempo siempre inferior a 60 días. Las muestras de cada individuo en cada grupo de pruebas se procesaron en el mismo ensayo.

### **3. TÉCNICAS DE LABORATORIO**

Las muestras de suero para la medición de fructosamina y HbA1c se analizaron inmediatamente tras su extracción y se procesaron por espectrofotometría la fructosamina (Autoanalizador HITACHI 717. Boehringer®) y cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) la HbA1c (Autoanalizador Menarini®). Las mediciones de glucemias se realizaron por espectrofotometría (Autoanalizador HITACHI 717. Boehringer®).

#### **3.1. CORTISOL LIBRE URINARIO (CLU)**

Se determinó mediante el mismo método que el cortisol sérico, quimioluminiscencia (Siemens Immulite 2000). La sensibilidad del ensayo es de 0.20 mcg/dl. El intervalo de referencia determinado para los adultos es de 25-120 mcg/24 horas.

#### **3.2. ACTH**

Se determinó mediante ensayo inmunoradiométrico (IRMA). La técnica de dosificación hormonal fue llevada a cabo empleando reactivos suministrados por Nichols Institute Diagnostics (Nichols Advantage ACTH Assay).



## *Sujetos y Métodos*

Los resultados están expresados en picogramos por mililitro (pg/ml). El coeficiente de variación (CV) intraensayo y la precisión total para concentraciones de ACTH entre 9 y 801 pg/ml varía de 2,5% a 4,7% y de 3,3% a 9,3%, respectivamente, con un límite de detección del ensayo de 1,7 pg/ml. El intervalo de referencia determinado para los adultos a.m. es de 9-52 pg/ml.

### **3.3. CORTISOL**

Se determinó por quimioluminiscencia, método comercializado por Siemens Immulite 2000.

Los resultados están expresados en microgramos por decilitro (mcg/dl). El límite de detección del ensayo es de 0.20 mcg/dl. El coeficiente de variación intraensayo y la precisión total para concentraciones de cortisol entre 3.3 y 31.0 mcg/dl varía de 6.1 % a 7.4 % y de 8.2 % a 9.4 %, respectivamente. El intervalo de referencia determinado para los adultos a.m. es de 5-25 mcg/dl.

### **3.4. HORMONA DE CRECIMIENTO (GH)**

Se determinó mediante ensayo inmunoradiométrico (IRMA) utilizando reactivos suministrados por Nichols Institute Diagnostics.

Los resultados están expresados en nanogramos por mililitro (ng/ml). El límite del ensayo es de 0.02 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo es de 4% y el coeficiente de variación interensayo es del 7%.

## **4. PARÁMETROS DE MEDIDA Y METODOLOGÍA ESTADÍSTICA**

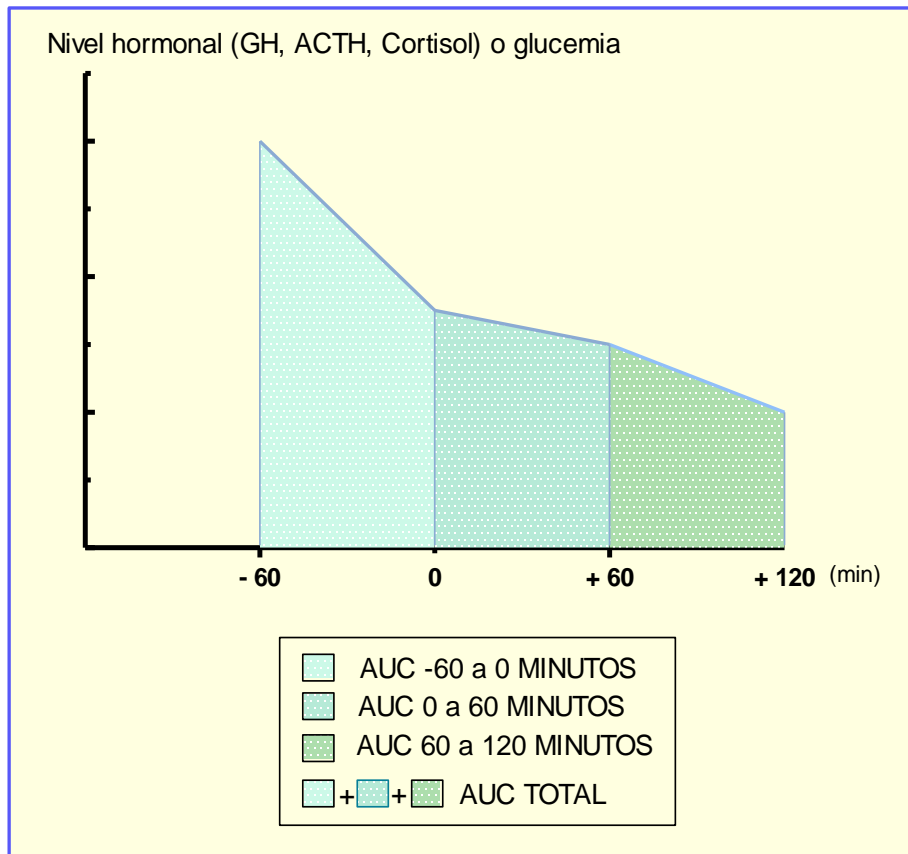
Se utilizaron métodos no paramétricos debido al pequeño número de pacientes participantes en este estudio. A pesar de que en los resultados se expresan como media  $\pm$  error estandar de la media, los test no paramétricos utilizados comparan "rangos", que no se reproducen por la complejidad que supondría y la mayor dificultad en la interpretación que conllevan. Se estableció un nivel de significación estadística para valores de  $p$  inferiores a 0.05 ( $p < 0.05$ ).

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando los paquetes estadísticos comerciales BMI SPSS Statistics 21 y GraphPad Prism 5.

### **4.1. TESTS SALINO (SPB) Y SALINO-PIRIDOSTIGMINA (SPD)**

#### **4.1.1. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS EN CADA PRUEBA**

En cada prueba se evaluaron las áreas de secreción total, que fueron medidas mediante el método de solución trapezoidal clásicamente descrito. Se estudiaron las áreas de secreción por intervalos con el objetivo de evaluar de forma secuencial la acción de los distintos fármacos empleados sobre la secreción hormonal a lo largo de las pruebas efectuadas. El estudio por intervalos de secreción se representa en el ESQUEMA 7.



**ESQUEMA 7: ÁREAS DE SECRECIÓN EVALUADAS EN LOS TESTS SALINOS**

Se establecieron los puntos de corte en 0 minutos para evaluar la secreción basal y en 60 minutos por ser el meridiano de la prueba.

- Se denomina **AUC -60 a 0 MINUTOS** al área de secreción medida entre los tiempos - 60 y 0 minutos.
- Se denomina **AUC - 0 a 60 MINUTOS** y **AUC 60 a 120 MINUTOS** a las áreas de secreción medidas entre los tiempos 0 a 60 y 60 a 120 minutos respectivamente.
- Las tres AUC se expresan en:
  - Picogramos por mililitro por 60 minutos (pg/ml/60 min) para ACTH.
  - Microgramos por decilitro por 60 minutos (mcg/dL/60 min) para cortisol.
  - Nanogramos por mililitro por 60 minutos (ng/ml/60 min) para GH.

- Miligramos por decilitro por 60 minutos (mg/dl/60 min) para glucosa.
- Denominamos AUC TOTAL a la suma de las tres áreas de secreción previamente expuestas y se expresan en:
  - Picogramos por mililitro por 180 minutos (pg/ml/180 min) para ACTH.
  - Microgramos por decilitro por 180 minutos (mcg/dL/180 min) para cortisol.
  - Nanogramos por mililitro por 180 minutos (ng/ml/180 min) para GH.
  - Miligramos por decilitro por 180 minutos (mg/dl/180 min) para glucosa.

#### **4.1.2. COMPARACIONES ESTABLECIDAS**

- **Actividad basal del eje hipófiso-adrenal y somatotrópico:** comparación de las determinaciones realizadas punto a punto y de las áreas de secreción totales y por intervalos de ACTH, cortisol, GH y glucosa del test basal (BPB); dentro del grupo control, entre fumadores y no fumadores, y entre controles y diabéticos mediante el test para grupos independientes U de Mann –Whitney.
- **Efecto de la manipulación colinérgica sobre la secreción basal del eje hipófiso-adrenal:** comparación de las determinaciones realizadas punto a punto y de las áreas de secreción totales y por intervalos de ACTH, cortisol, GH y glucosa:
  - **entre los diferentes grupos** (controles fumadores y no fumadores; controles y diabéticos): con los valores del test SPD, mediante el test para grupos independientes U de Mann –Whitney.
  - **dentro de cada grupo:** entre los resultados de los tests SPB y SPD, mediante el test para medidas repetidas de Wilcoxon.

## **4.2. TESTS GHRH (GPB) Y GHRH-PIRIDOSTIGMINA (GPD)**

### **4.2.1. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS EN CADA PRUEBA**

En cada prueba se evaluó la respuesta de GH y glucosa a GHRH. Se tomó como valor inicial el medido a 0 minutos, dada la influencia que el estrés condicionado por la toma de la vía venosa podría tener sobre, al menos, la determinación realizada en primer lugar a – 60 minutos. Se consideraron los siguientes parámetros de respuesta de GH a GHRH:

- **Pico máximo (PM):** valor máximo obtenido tras el tiempo 0 minutos, expresado en ng/ml para GH y mg/dl para glucosa.
- **Incremento absoluto (IA):** [valor máximo – valor a 0 minutos]: expresado en ng/ml para GH y mg/dl para glucosa.
- **Incremento porcentual (IP):** [valor máximo – valor a 0 minutos] ÷ [valor a los 0 minutos], Expresado en porcentaje (%) para GH y glucosa.
- **Área bajo la Curva de Respuesta (AUC de Respuesta):** obtenida mediante la fórmula:

$$\text{[Área Bajo la Curva de 0 a 120 minutos*]} - \text{[16 x valor a 0 minutos]}$$

El área bajo la curva se midió mediante el método de solución trapezoidal y se expresa en nanogramos por mililitro por 120 minutos (ng/ml/120 min) para GH y en miligramos por decilitro por 120 minutos (mg/dl/120 min) para glucosa. Con objeto de evaluar las fases de respuesta de GH a GHRH se dividió la AUC de Respuesta en dos intervalos:

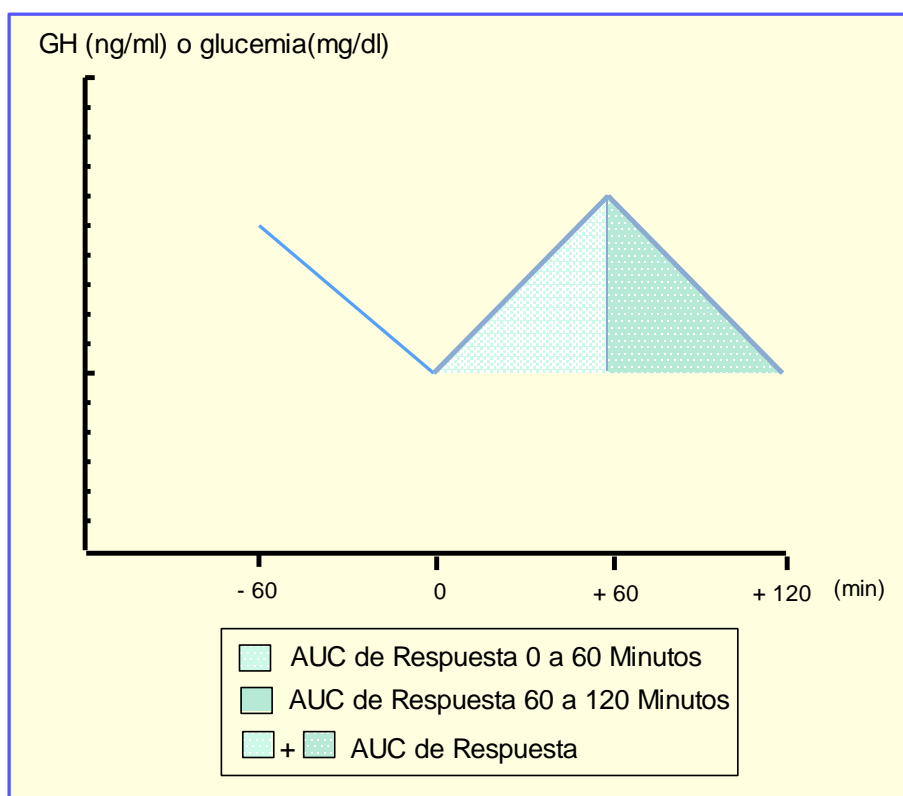
- **Área bajo la Curva de Respuesta de 0 a 60 minutos (AUC de Respuesta 0 a 60 Minutos):** expresada en nanogramos por mililitro por 60 minutos (ng/ml/60 min) para GH y en miligramos por decilitro por 60 minutos (mg/dl/60 minutos) para glucosa obtenidas mediante la fórmula:

[Área Bajo la Curva de 0 a 60 minutos\*] - [8 x valor a 0 minutos]

- **Área bajo la Curva de Respuesta de 60 a 120 minutos (AUC de Respuesta 60 a 120 Minutos):** expresada en nanogramos por mililitro por 60 minutos (ng/ml/60 min) para GH y en miligramos por decilitro por 60 minutos (mg/dl/60 minutos) para glucosa obtenidas mediante la fórmula:

[Área Bajo la Curva de 60 a 120 minutos\*] - [8 x valor a 0 minutos]

Las AUC de Respuesta se expresan en el ESQUEMA 8.



**ESQUEMA 8: ÁREAS DE RESPUESTA EN EL TEST GHRH**

#### **4.2.2. COMPARACIONES ESTABLECIDAS**

- **Respuesta del eje somatotropo a la administración de GHRH:** se realizaron comparaciones de las determinaciones puntuales, los

parámetros de respuesta y las áreas de secreción totales y por intervalos de GH y glucosa del test GPB, dentro del grupo control, entre fumadores y no fumadores, y entre controles y diabéticos mediante el test para grupos independientes U de Mann –Whitney.

- **Efecto de la manipulación colinérgica sobre la respuesta del eje somatotrópico a la administración de GHRH:** se realizarán comparaciones de las determinaciones puntuales, los parámetros de respuesta y las áreas de secreción totales y por intervalos de GH y glucosa:
  - **entre los diferentes grupos** (controles fumadores y no fumadores; controles y diabéticos): con los valores del test GPD, mediante el test para grupos independientes U de Mann –Whitney.
  - **dentro de cada grupo:** entre los resultados de los tests GPB y GPD, mediante el test para medidas repetidas de Wilcoxon.

### **4.3. CORRELACIONES**

Se utilizó el test no paramétrico de correlación (Rho de Spearman) en los análisis de comparación entre diabéticos y controles, para evaluar las correlaciones entre la edad, variables antropométricas, tiempo de evolución de la diabetes, dosis de insulina, fructosamina, hemoglobina glicosilada A1c, cortisol en orina de 24 horas, y las áreas de secreción (en los test salinos) o las áreas de respuesta (en los test GHRH) de ACTH, cortisol, GH y glucosaa de las cuatro pruebas realizadas (salino basal, salino piridostigmina, GHRH salino y GHRH piridostigmina)

# RESULTADOS





Los resultados analíticos de las pruebas realizadas aparecen reflejados en el Apéndice de Tablas.

### 1. ESTUDIOS BASALES: CLU: TABLA IA y IB.

### 2. GRUPO CONTROL: FUMADORES Y NO FUMADORES

#### 2.1. TESTS SALINOS

##### 2.1.1. Valores de cada determinación (media $\pm$ EEM)

- ACTH: TABLA II.
- Cortisol: TABLA IV.
- GH: TABLA VI.
- Glucosa: TABLA VIII.

##### 2.1.2. Áreas Bajo la Curva (media $\pm$ EEM)

- ACTH: TABLA III.
- Cortisol: TABLA V.
- GH: TABLA VII.
- Glucosa: TABLA IX.

#### 2.2. TESTS GHRH

##### 2.2.1. Valores de cada determinación (media $\pm$ EEM)

- GH: TABLA X.
- Glucosa: TABLA XIII.

##### 2.2.2. Parámetros de Respuesta (media $\pm$ EEM)

- GH: TABLA XI.
- Glucosa: TABLA XIV.

##### 2.2.3. Áreas Bajo la Curva (media $\pm$ EEM)

- GH: TABLA XII.
- Glucosa: TABLA XV.

### **3. DIABÉTICOS Y CONTROLES**

#### **3.1. TESTS SALINOS**

##### **3.1.1. Valores de cada determinación (media $\pm$ EEM)**

- ACTH: TABLA XVI.
- Cortisol: TABLA XVIII.
- GH: TABLA XX.
- Glucosa: TABLA XXII.

##### **3.1.2. Áreas Bajo la Curva (media $\pm$ EEM)**

- ACTH: TABLA XVII.
- Cortisol: TABLA XIX.
- GH: TABLA XXI.
- Glucosa: TABLA XXIII.

#### **3.2. TESTS GHRH**

##### **3.2.1. Valores de cada determinación (media $\pm$ EEM)**

- GH: TABLA XXIV.
- Glucosa: TABLA XXVII.

##### **3.2.2. Parámetros de Respuesta (media $\pm$ EEM)**

- GH: TABLA XXV.
- Glucosa: TABLA XXVIII.

##### **3.2.3. Áreas Bajo la Curva (media $\pm$ EEM)**

- GH: TABLA XXVI.
- Glucosa: TABLA XXIX.

# 1. ESTUDIOS BASALES



### **1.1. CORTISOL LIBRE URINARIO (CLU)**

El estudio mostró que el valor del cortisol libre urinario en la orina de 24 horas (CLU) se encontró dentro de límites normales en todos los participantes.

No hubo diferencias significativas entre fumadores ( $30.59 \pm 4.36$  mcg/24 horas) y no fumadores ( $33.95 \pm 3.76$  mcg/24 horas) dentro del grupo control para CLU, por consiguiente ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

Las cifras de cortisol libre urinario fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes diabéticos respecto al grupo control (DIA:  $47.21 \pm 7.29$  mcg/24 horas vs CON:  $33,70 \pm 2,63$  mcg/24 horas;  $p < 0.05$ ), siendo la magnitud de la diferencia un 47.12 % mayor en el grupo de diabéticos (Figura 1).

No existieron diferencias significativas entre ambos grupos en la creatinina en orina de 24 horas, en la creatinina urinaria por kg de peso corporal ni en el aclaramiento de creatinina, por lo cual las diferencias mostradas en el CLU no pueden ser atribuidas a diferencias en la recolección de la orina.

#### **Correlaciones en diabéticos**

El valor de CLU se correlacionó de forma negativa con la HbA1c (Rho: - 0.943;  $p < 0.01$ ), pero no se demostró correlación con el valor de fructosamina, microalbuminuria, tiempo de evolución, unidades de insulina por kg/día, edad ni variables antropométricas.

CLU se correlacionó positivamente con la ACTH plasmática y con el cortisol sérico del test salino piridostigmina (SPD), pero no con los valores

## Resultados

del test salino basal (SPB). Correlaciones con ACTH: AUC TOTAL (Rho: 0.89,  $p < 0.05$ ). Correlaciones con cortisol: AUC 60-120 MINUTOS (Rho: 0.89;  $p < 0.01$ ).

No se demostró correlación del CLU con las respuestas de GH y glucosa en ambos tests salinos.

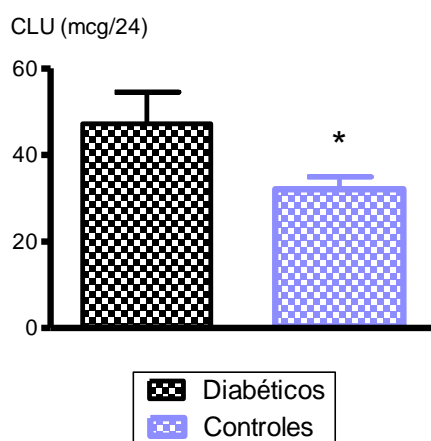


FIGURA 1. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de CLU (\* :  $p < 0.05$ ).

### Correlaciones en controles

No se demostró correlación del CLU con la edad ni con las variables antropométricas. Al contrario que en diabéticos, hubo una correlación positiva entre el CLU y la ACTH plasmática en el test salino basal (SPB): AUC 60-120 MINUTOS de ACTH (Rho: 0.73;  $p < 0.05$ ), y negativa entre el CLU y la glucemia en el test salino piridostigmina (SPD): AUC 0-60 MINUTOS de glucemia (Rho: - 0.67;  $p < 0.05$ ). No se demostró correlación entre el CLU con las respuestas de cortisol ni de GH.

## **2. TESTS SALINOS**

### **2.1. ACTIVIDAD BASAL DEL EJE HIPOTÁLAMO- HIPÓFISO-ADRENAL Y SOMATOTRÓPICO**

#### **TEST SALINO BASAL**





## **2.1.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS CONTROLES NO FUMADORES**

### **2.1.1.1. ACTH**

Los niveles medios de ACTH no fueron significativamente diferentes en ningún punto entre fumadores y no fumadores. Todas las áreas de secreción de ACTH fueron superiores en el grupo de fumadores, excepto en AUC 0 a 60 MINUTOS, pero no alcanzaron significación estadística. Al no existir diferencias significativas en las mediciones de ACTH, ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.1.1.2. CORTISOL**

Al analizar los niveles de Cortisol, se observaron valores significativamente superiores en el grupo de fumadores en los tiempos -15 (FUM:  $15.42 \pm 1.38$  vs NFU:  $10.29 \pm 1.40$  mcg/dl) y +15 minutos (FUM:  $12.96 \pm 1.14$  vs NFU:  $8.89 \pm 1.19$  mcg/dl). Todas las áreas de secreción fueron superiores en el grupo de fumadores, aunque las diferencias no fueron significativas. A pesar de la diferencia en dos determinaciones puntuales, ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.1.1.3. GH**

Los niveles medios de GH no fueron significativamente diferentes en ningún punto entre fumadores y no fumadores. Todas las áreas de secreción de GH fueron superiores en el grupo de fumadores, excepto en AUC 0 a 60 MINUTOS, pero no alcanzaron significación estadística. Al no existir

diferencias significativas, ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.1.1.4. GLUCOSA**

Todas las determinaciones puntuales y todas las áreas de secreción de glucemia fueron superiores en el grupo de fumadores, pero sólo se observó una diferencia significativa en el minuto - 15 (FUM:  $84.20 \pm 2.20$  vs NFU:  $76.00 \pm 1.26$  mg/dl). A pesar de esta diferencia, ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.1.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

#### **2.1.2.1. ACTH**

En el **grupo de diabéticos** (DIA) se observó un descenso progresivo de los niveles de ACTH desde - 60 ( $31.99 \pm 7.11$  pg/ml) hasta + 15 minutos ( $15.47 \pm 4.17$  pg/ml), siendo la cuantía de esta disminución de  $16.52 \pm 2.94$  pg/ml. Posteriormente la concentración de ACTH fue aumentando hasta los + 120 minutos, alcanzando  $21.30 \pm 5.04$  pg/ml, con un ascenso absoluto de  $5.83 \pm 0.87$  pg/ml (Figura 2).

En el **grupo de controles** (CON) se objetivó también un descenso progresivo de los niveles de ACTH desde - 60 ( $35.47 \pm 6.25$  pg/ml) hasta 0 minutos ( $19.37 \pm 2.97$  pg/ml), siendo la cuantía de esta disminución de  $16.10 \pm 3.28$  pg/ml. Posteriormente la concentración de ACTH se mantuvo oscilante, alcanzando  $21.60 \pm 3.70$  pg/ml a + 120 minutos, con un ascenso absoluto de  $2.23 \pm 0.73$  pg/ml.

Los niveles medios de ACTH no fueron significativamente diferentes en ningún punto entre diabéticos y controles (Figura 2).

## Resultados

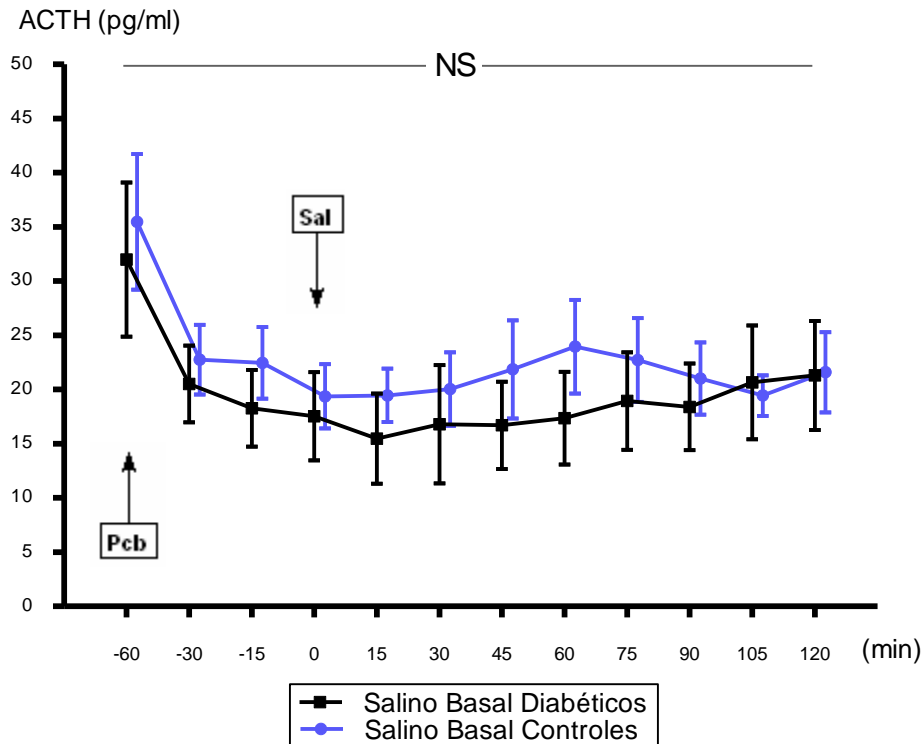


FIGURA 2. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de ACTH (NS:  $p > 0.05$ ).

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de ACTH fueron superiores en el grupo control pero no alcanzaron significación estadística en ninguno de los intervalos de tiempo analizados (Figura 3).

En el grupo de diabéticos, la ACTH se correlacionó negativamente con la talla y positivamente con los niveles de cortisol: AUC 60-120 MINUTOS de ACTH con AUC -60-0 MINUTOS de cortisol (Rho: 0.89;  $p < 0.05$ ). No hubo correlación con la GH, glucemias, HbA1c, fructosamina, microalbuminuria, dosis de insulina ni tiempo de evolución.

## Resultados

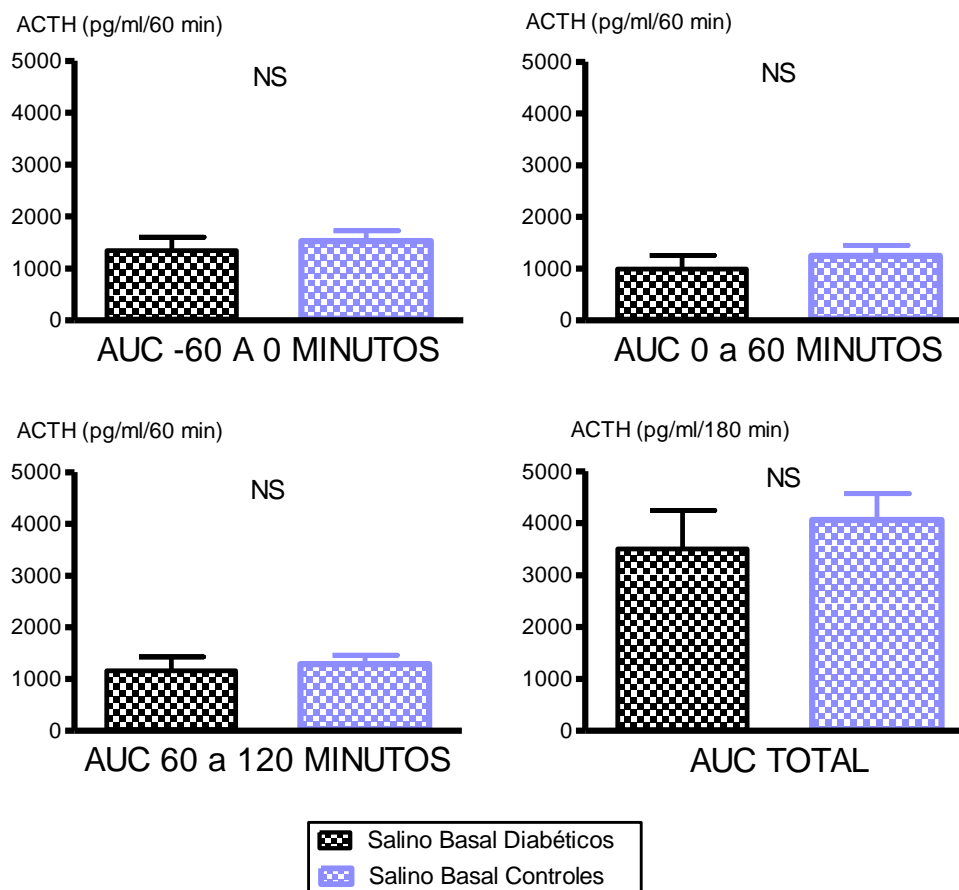


FIGURA 3. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de ACTH (NS: p NS ).

En el grupo de controles, la ACTH se correlacionó negativamente con el peso y el IMC, y de forma positiva con el cortisol y la GH: AUC TOTAL de cortisol con AUC -60-0 MINUTOS de ACTH (Rho: 0.82;  $p < 0.01$ ) y AUC 60-120 MINUTOS de GH con AUC 60-120 MINUTOS de ACTH (Rho: 0.66;  $p < 0.05$ ). No hubo correlación con los niveles de glucemia.

### 2.1.2.2. CORTISOL

En el **grupo de diabéticos** se observó un descenso progresivo de los niveles de cortisol paralelos a los de ACTH desde - 60 ( $18.40 \pm 2.58$  mcg/dl) hasta + 75 minutos ( $9.05 \pm 1.40$  mcg/dl). A partir de + 75 se inició un ligero incremento ( $1.44 \pm 0.48$  mcg/dl) hasta  $10.49 \pm 1.88$  mcg/dl a los + 105

## Resultados

minutos. La disminución entre el valor a - 60 y a + 120 minutos ( $10.18 \pm 2.02$  mcg/dl) fue de  $8.22 \pm 0.56$  mcg/dl (Figura 4).

En el **grupo de controles** se observó un descenso del cortisol desde - 60 minutos ( $19.23 \pm 1.87$  mcg/dl) hasta + 30 minutos ( $9.98 \pm 0.89$  mcg/dl), para luego ascender a + 60 minutos ( $10.25 \pm 1.57$  mcg/dl) y descender hasta  $9.42 \pm 0.99$  a + 120 minutos. La disminución entre el valor a - 60 y + 120 minutos fue de  $9.81 \pm 0.88$  mcg/dl.

En concordancia con los resultados de ACTH, los niveles de cortisol no fueron significativamente diferentes en ningún punto entre diabéticos y controles (Figura 4).

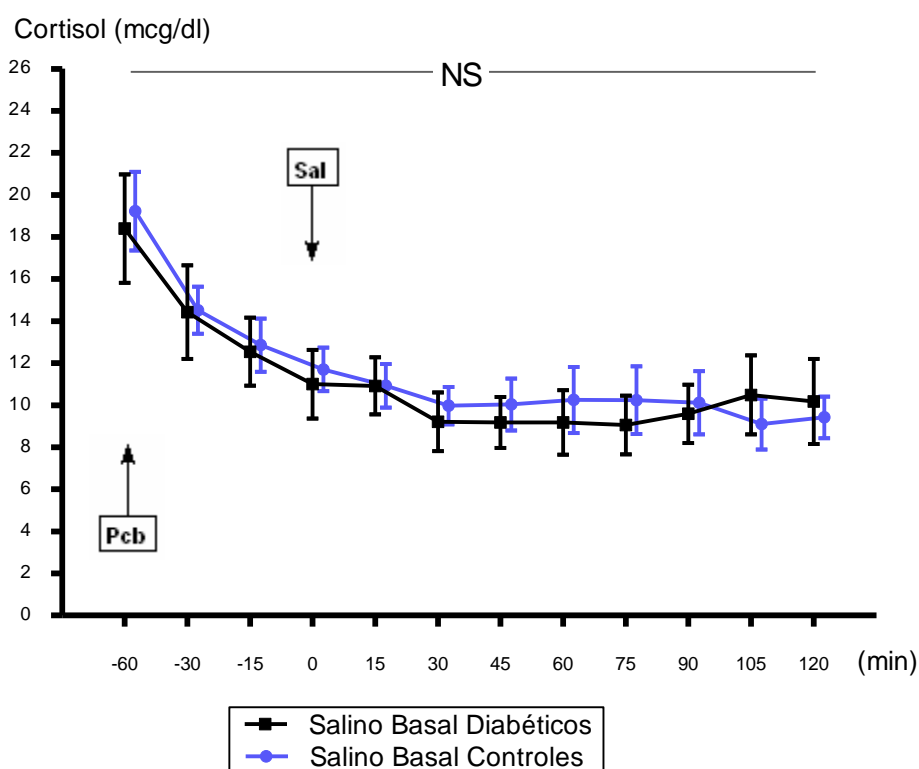


FIGURA 4. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de cortisol fueron superiores en el grupo control respecto a las del grupo de diabéticos pero las diferencias no alcanzaron significación estadística (Figura 5).

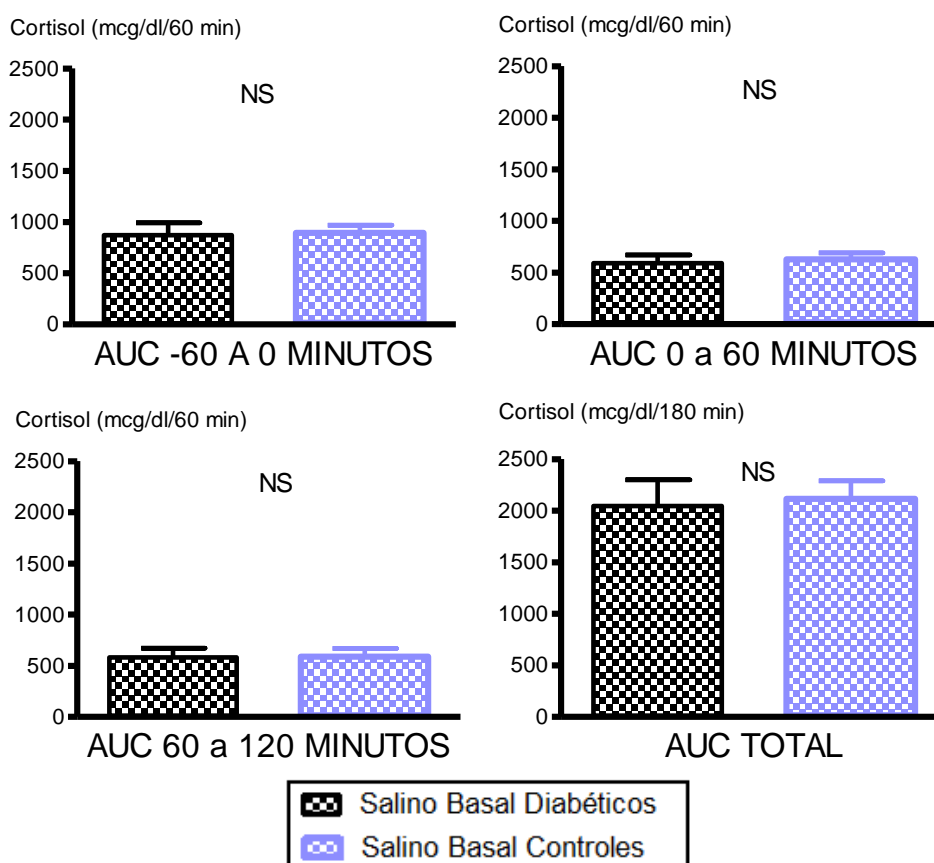


FIGURA 5. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

En el grupo de diabéticos, el cortisol sérico se relacionó de forma positiva con la microalbuminuria y, de forma negativa con la edad. No hubo correlación con la HbA1c, fructosamina, tiempo de evolución, dosis de insulina ni variables antropométricas. Hubo una correlación positiva con los niveles de glucemia y ACTH: AUC TOTAL de cortisol con AUC TOTAL de glucemia (Rho: 0.94;  $p < 0.01$ ); y AUC -60-0 MINUTOS de cortisol con AUC 60-120 MINUTOS de ACTH (Rho: 0.89;  $<0.05$ ). No hubo correlación con los niveles de GH.

## Resultados

En el grupo control, hubo una correlación negativa con la edad y positiva con la ACTH y GH: AUC 60-120 MINUTOS de cortisol con AUC 60-120 MINUTOS de ACTH (Rho: 0.72;<90.05) y AUC 60-120 MINUTOS de cortisol y AUC 60-120 MINUTOS de GH (Rho: 0.75;<0.05). No se demostró correlación con la glucemia.

### 2.1.2.3. GH

Los niveles de GH en el **grupo de diabéticos** mostraron un incremento desde - 60 ( $0.11 \pm 0.02$  ng/ml) hasta 0 minutos ( $2.15 \pm 1.89$  ng/ml), siendo la cuantía de ese aumento de  $2.04 \pm 1.87$  ng/ml. Posteriormente sus niveles disminuyeron hasta  $0.53 \pm 0.24$  a + 60 minutos y luego ascendieron de nuevo hasta  $1.83 \pm 1.22$  ng/ml a + 120 minutos (Figura 6).

En el **grupo de controles**, por el contrario, los niveles de GH permanecieron estables, ascendiendo levemente ( $0.54 \pm 0.45$  ng/ml) desde - 60 ( $0.16 \pm 0.07$  ng/ml) a + 120 minutos ( $0.70 \pm 0.52$  ng/ml).

Los niveles de GH fueron mayores en diabéticos a partir del punto - 15 minutos, siendo la diferencia significativa en los tiempos + 60 y + 75 minutos.



## Resultados

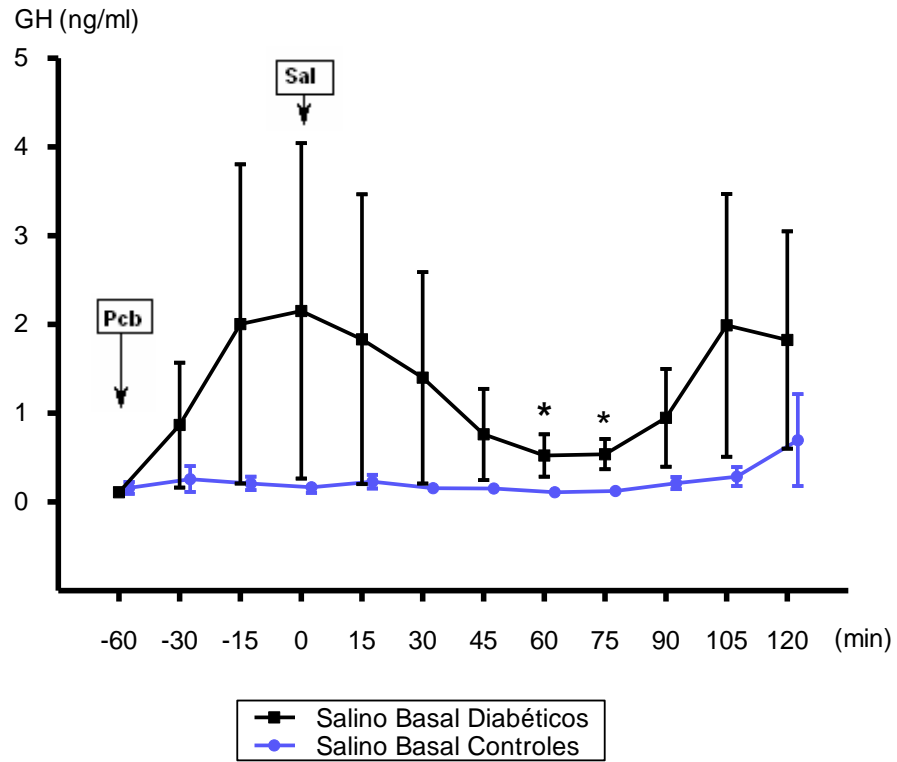


FIGURA 6. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles  
Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ).

## Resultados

Los valores de las Áreas Bajo la Curva (AUC) de GH fueron mayores en diabéticos que en controles (AUC TOTAL en diabéticos  $217.29 \pm 127.79$  ng/ml/180 minutos vs  $38.13 \pm 14.25$  ng/ml/180 minutos en controles), aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística (Figura 7).

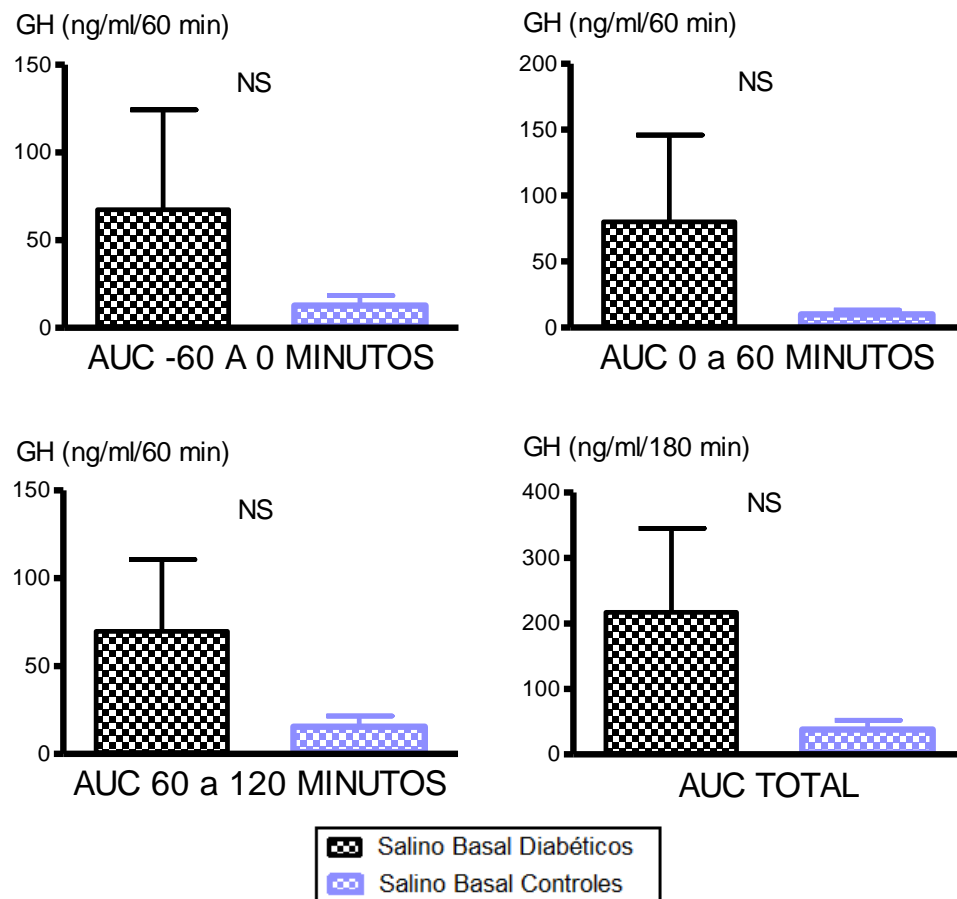


FIGURA 7. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (NS: p NS).

En el grupo de diabéticos, la GH se relacionó de forma positiva con el IMC y la fructosamina. No hubo correlación con la HbA1c, fructosamina, microalbuminuria, tiempo de evolución, dosis de insulina ni edad. La GH tampoco se relacionó con la ACTH, cortisol ni glucemia.

En el grupo control, la GH se correlacionó con la ACTH y cortisol: AUC 60-120 MINUTOS de GH con AUC 60-120 MINUTOS de ACTH

## Resultados

(Rho: 0.66;<90.05); AUC 60-120 MINUTOS de cortisol con AUC 60-120 MINUTOS de GH\_(Rho: 0.75;<0.05). No hubo correlación con la glucemia.

### 2.1.2.4. GLUCOSA

°Tanto en **diabéticos** como en **controles** los niveles de glucemia permanecieron estables con muy pequeñas oscilaciones: valor mínimo  $171.00 \pm 34.84$  y máximo  $180.17 \pm 30.61$  mg/dl en diabéticos y valor mínimo  $77.80 \pm 1.97$  y máximo  $84.60 \pm 2.02$  mg/dl en controles (Figura 8).

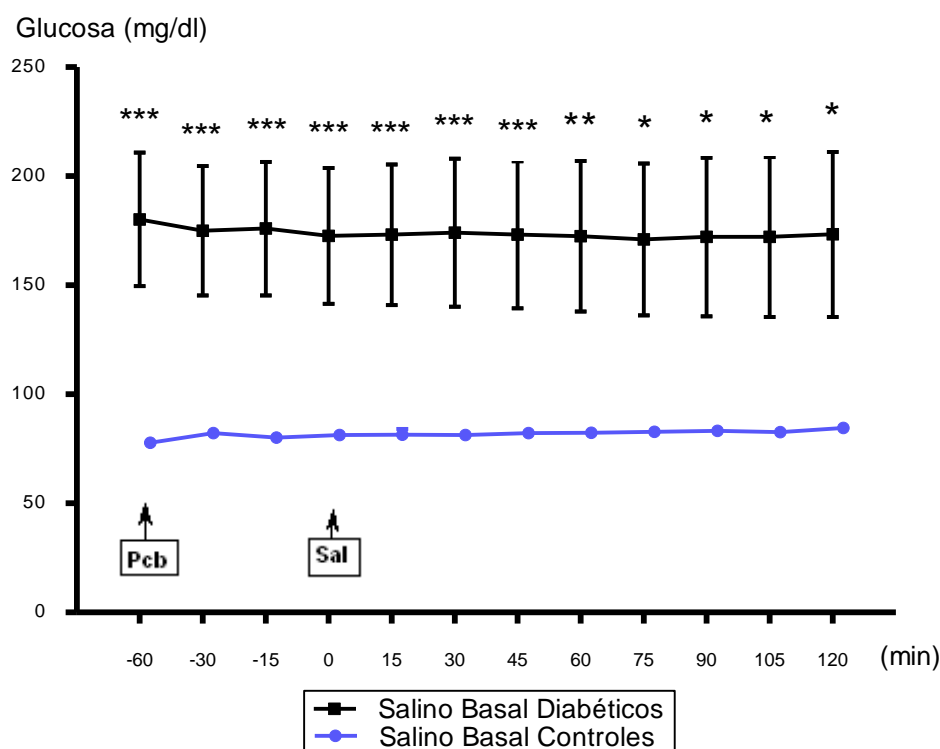


FIGURA 8. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.001$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

Como era esperable, los niveles de glucemia fueron significativamente superiores en diabéticos respecto a controles en todos los puntos estudiados (Figura 8).

## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de glucosa fueron significativamente mayores en diabéticos que en controles para todos los intervalos evaluados: AUC -60 a 0 MINUTOS (DIA:  $10575 \pm 1816$  vs CON:  $4829 \pm 118$  mg/dl/60 minutos), AUC 0 a 60 MINUTOS (DIA:  $10396 \pm 1990$  vs CON:  $4905 \pm 133$  mg/dl/60 minutos), AUC 60 a 120 MINUTOS (DIA:  $10324 \pm 2159$  vs CON:  $4982 \pm 124$  mg/dl/60 minutos) y AUC TOTAL (DIA:  $31295 \pm 5953$  vs CON:  $14715 \pm 370$  mg/dl/180 minutos). El AUC TOTAL fue un 112.67 % superior en diabéticos (Figura 9).

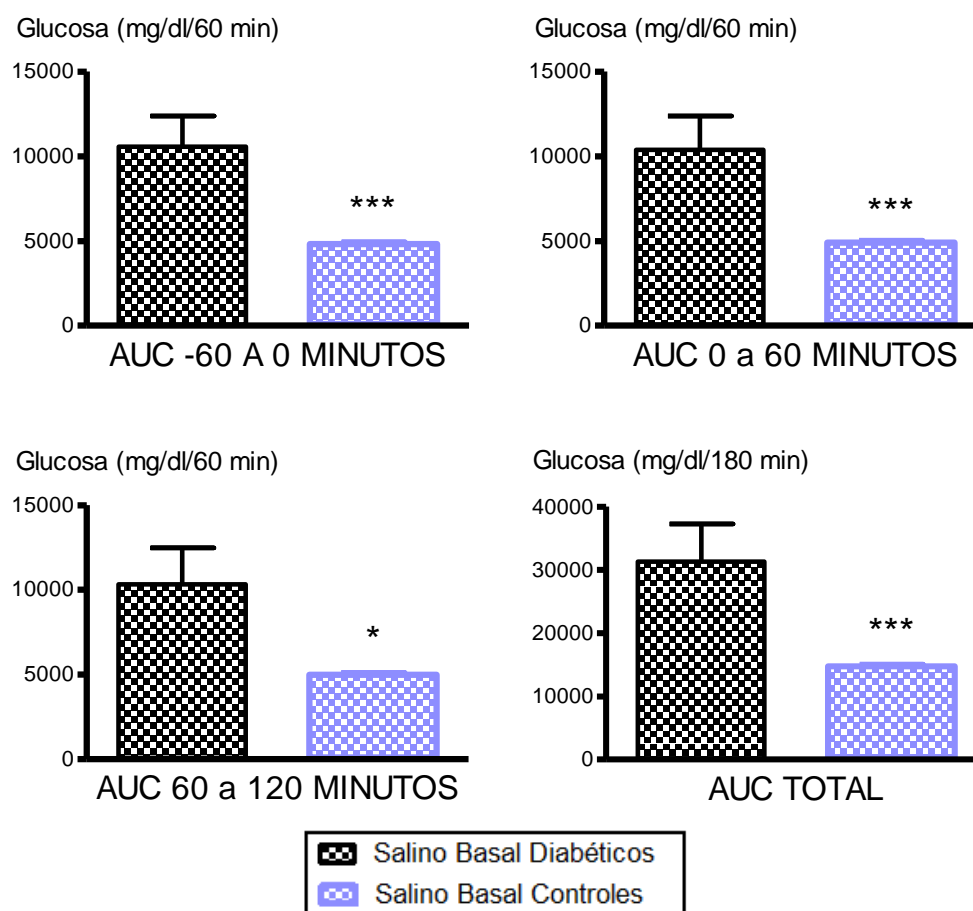


FIGURA 9. Test Salino Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (\* :  $p < 0.05$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ).

En el grupo de diabéticos, la glucemia presentó una correlación positiva con la microalbuminuria y el cortisol sérico: AUC TOTAL de cortisol con AUC TOTAL glucemia (Rho: 0.94;  $p < 0.01$ ). No se relacionó

## *Resultados*

con la GH ni ACTH, tampoco con la HbA1c, fructosamina, edad, tiempo de evolución, dosis de insulina ni variables antropométricas. En el grupo control, no se demostraron correlaciones entre la glucemia y la ACTH, cortisol ni GH.

## **2. TESTS SALINOS**

### **2.2. EFECTO DE LA MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA SECRECIÓN BASAL DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO**

#### **TEST SALINO PIRIDOSTIGMINA**



## **2.2.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

### **2.2.1.1. ACTH**

Los niveles de ACTH fueron superiores en fumadores en todas las determinaciones puntuales y en todas las áreas de secreción, AUC TOTAL (FUM:  $4956.00 \pm 932.69$  % vs NFU:  $3022.80 \pm 438.02$  pg/ml/180 minutos), sin embargo esta diferencia no alcanzó significación estadística. Ambos grupos fueron considerados similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.2.1.2. CORTISOL**

No se observaron diferencias significativas ni en las determinaciones puntuales ni en las áreas de secreción de los niveles séricos de cortisol, por lo que ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.2.1.3. GH**

Al analizar los niveles de GH, no se observaron diferencias significativas, ni en las determinaciones puntuales ni en las áreas de secreción, por lo que ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **2.2.1.4. GLUCOSA**

No se observaron diferencias significativas, ni en las determinaciones puntuales ni en las áreas de secreción, en los niveles séricos de glucosa, por lo que ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.



## 2.2.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES

### 2.2.2.1. ACTH

En el **grupo de diabéticos** se observó un descenso de los niveles de ACTH desde - 60 ( $27.94 \pm 6.13$  pg/ml) hasta + 15 minutos ( $17.33 \pm 4.45$  pg/ml), siendo la cuantía de esta disminución de  $10.61 \pm 1.68$  pg/ml. Posteriormente la concentración de ACTH permaneció sin grandes cambios hasta los + 120 minutos, alcanzando  $20.48 \pm 4.21$  pg/ml (Figura 10).

En el **grupo de controles** se observó también un descenso de los niveles de ACTH desde - 60 ( $53.99 \pm 17.25$  pg/ml) hasta +30 minutos ( $17.17 \pm 2.13$  pg/ml), siendo la cuantía de esta disminución de  $36.82 \pm 15.12$  pg/ml. A partir +30 y hasta + 120 minutos no hubo grandes cambios en la concentración de ACTH, alcanzando  $19.24 \pm 1.93$  pg/ml.

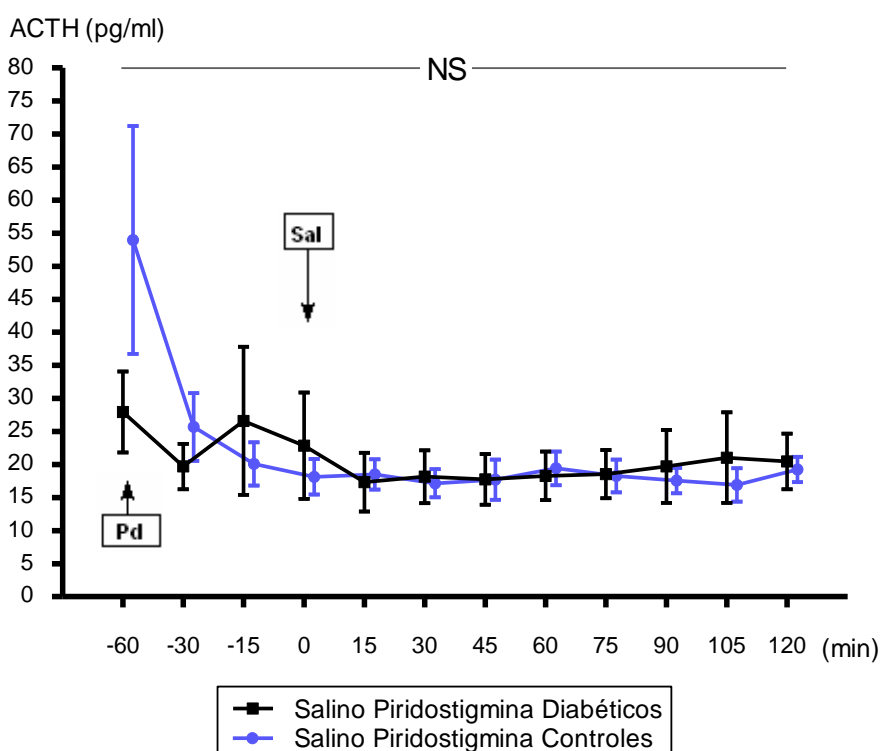


FIGURA 10. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de ACTH (NS: p NS ).

## Resultados

Los niveles medios de ACTH no fueron significativamente diferentes en ningún punto entre los diabéticos y los controles (Figura 26).

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de ACTH tampoco fueron significativamente diferentes entre diabéticos y controles (Figura 11).

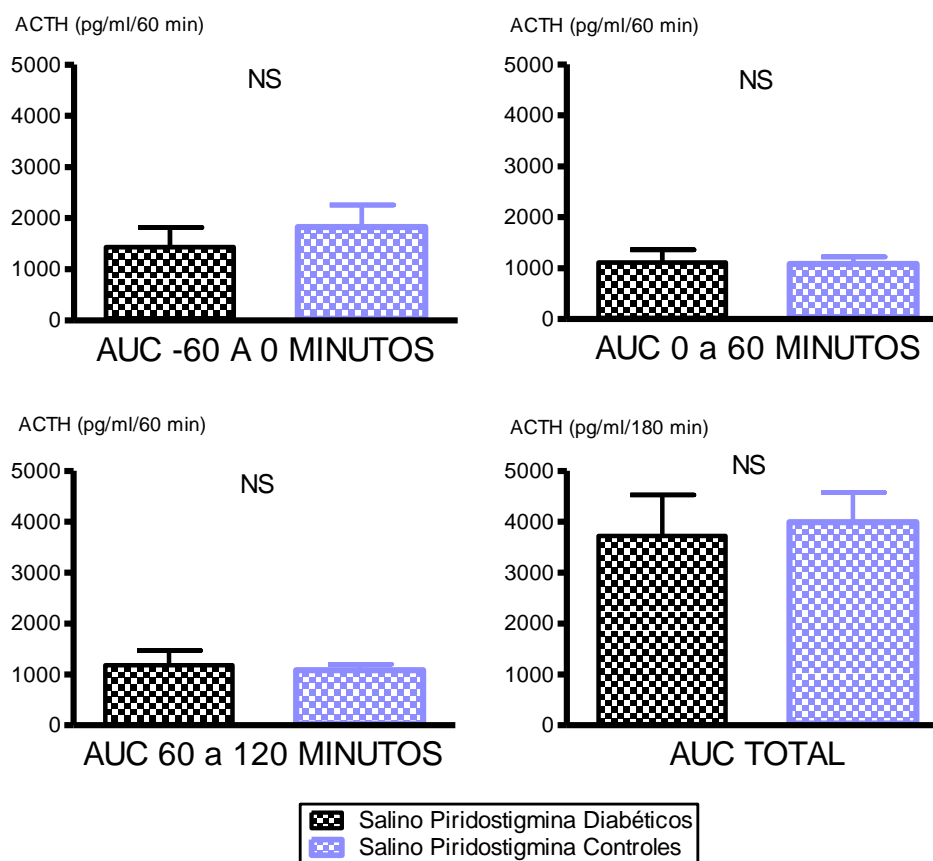


FIGURA 11. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de ACTH (NS: p NS).

En diabéticos, la ACTH presentó una correlación positiva con la HbA1c, Cortisol y glucemia; y negativa con la el peso, la talla y GH: AUC TOTAL de ACTH con AUC 60-120 MINUTOS de cortisol (Rho: 0.89;  $p < 0.05$ ); AUC -60-0 MINUTOS de ACTH con AUC 60-120 MINUTOS de glucemia (Rho: 0.83;  $p < 0.05$ ) y AUC 60-120 MINUTOS de ACTH con AUC TOTAL de GH (Rho: - 83;  $p < 0.05$ ). No hubo correlación con la fructosamina, microalbuminuria, dosis de insulina ni tiempo de evolución.

## Resultados

En controles, hubo una correlación positiva con la talla, el cortisol y la glucemia: AUC TOTAL de ACTH y AUC TOTAL de cortisol (Rho: 0.65;  $p < 0.05$ ) y AUC TOTAL de ACTH con AUC TOTAL de glucemia (Rho: 0.74;  $p < 0.05$ ).

### 2.2.2.2. CORTISOL

En el **grupo de diabéticos** se observó un descenso de los niveles de cortisol paralelos a los de ACTH desde - 60 ( $15.78 \pm 1.86$  mcg/dl) hasta + 30 minutos ( $8.81 \pm 1.60$  mcg/dl). A partir de ahí, los valores oscilaron levemente, llegando a  $9.54 \pm 1.20$  mcg/dl a + 120 minutos (Figura 12).

En el **grupo de controles** se observó un descenso del cortisol desde - 60 minutos ( $21.43 \pm 2.41$  mcg/dl) hasta + 120 minutos ( $7.77 \pm 1.06$  mcg/dl), siendo la magnitud de la disminución de ( $13.66 \pm 1.35$  mcg/dl).

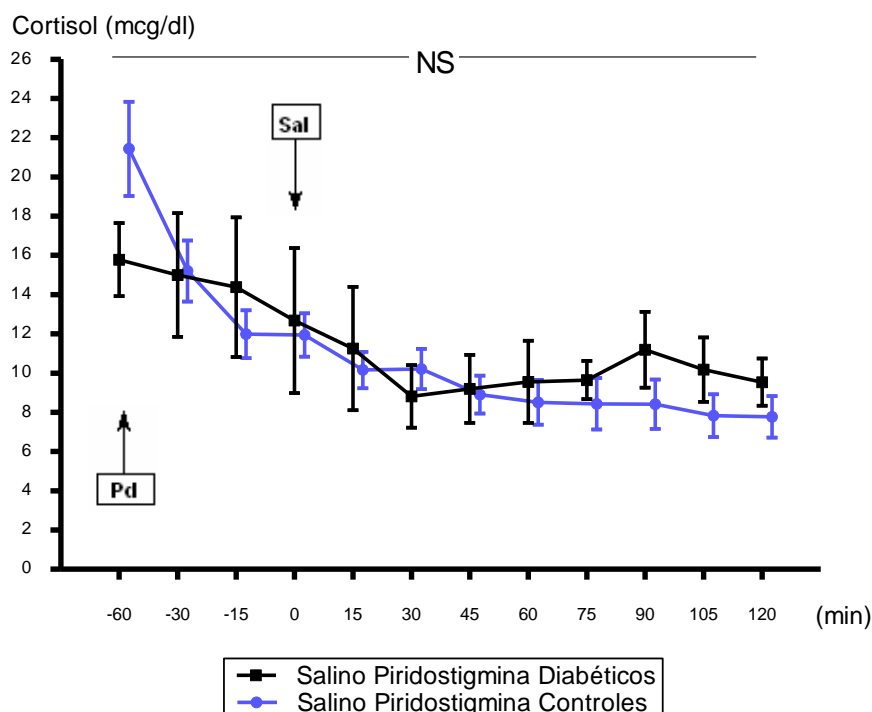


FIGURA 12. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Cortisol (NS:  $p > 0.05$ ).

## Resultados

En concordancia con los resultados de ACTH, los niveles de cortisol no fueron significativamente diferentes en ningún punto entre los diabéticos y los controles (Figura 28).

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de cortisol no fueron significativamente diferentes entre diabéticos y controles, si bien los valores fueron menores en controles en los intervalos AUC TOTAL, 0 a 60 MINUTOS y 60 a 120 MINUTOS (Figura 13).

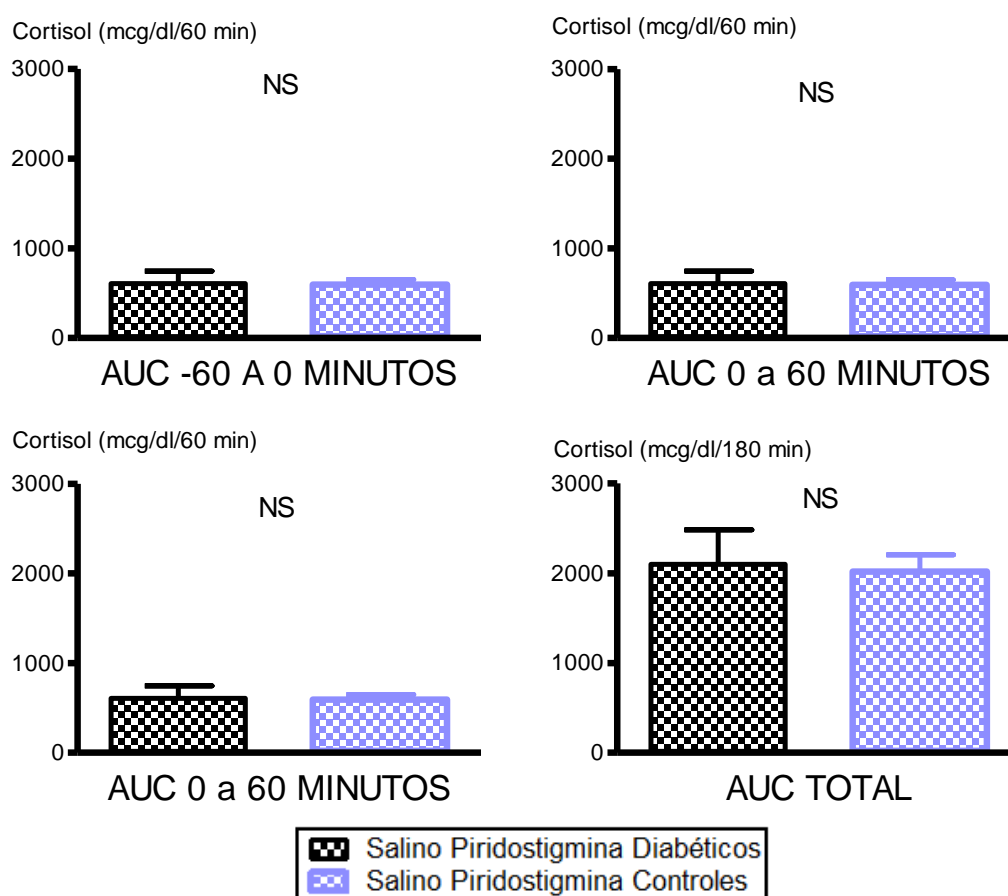


FIGURA 13. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

En diabéticos, el cortisol tuvo una correlación positiva con la HbA1c, la microalbuminuria, la dosis diaria de insulina, ACTH y glucemia; y negativa con la edad: AUC 60-120 MINUTOS de cortisol con AUC TOTAL

## Resultados

de ACTH (Rho: 0.89;  $p < 0.05$ ); AUC 60-120 MINUTOS de cortisol con AUC TOTAL de glucemia (Rho: 0.83;  $p < 0.05$ ). No se demostró correlación con la GH, fructosamina, tiempo de evolución ni variables antropométricas.

En controles, hubo una correlación positiva con la ACTH: AUC TOTAL de cortisol con AUC TOTAL de ACTH (Rho: 0.65;  $p < 0.05$ ). No se demostró correlación con la GH ni glucemia.

### 2.2.2.3. GH

Los niveles de GH en el **grupo de diabéticos** mostraron un incremento desde -60 ( $0.87 \pm 0.76$  ng/ml) hasta +15 minutos ( $9.64 \pm 4.08$  ng/ml), siendo la cuantía de ese aumento de  $7.18 \pm 3.02$  ng/ml. Posteriormente sus niveles disminuyeron de forma progresiva hasta +120 minutos ( $2.46 \pm 1.06$ ) (Figura 14).

En el **grupo de controles**, la GH se incrementó desde  $0.21 \pm 0.09$  ng/ml a los -60 minutos hasta  $7.04 \pm 3.44$  ng/ml a los +60 minutos, siendo la cuantía de ese aumento de  $6.83 \pm 3.35$  ng/ml. Posteriormente los niveles disminuyeron de forma progresiva hasta +120 minutos ( $2.46 \pm 1.02$ ).

Los niveles de GH fueron significativamente superiores en los tiempos -30, -15 y 0 minutos en el grupo de diabéticos respecto a los controles (Figura 14).

## Resultados

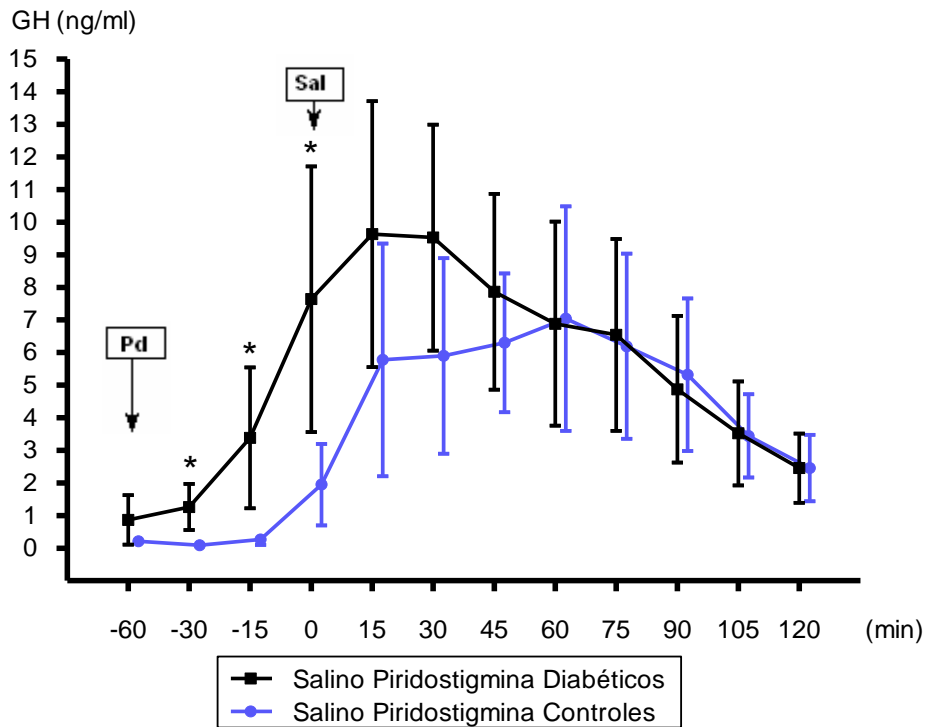


FIGURA 14. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (\*:p < 0.05).

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de GH fueron mayores en diabéticos que en controles en los intervalos -60 a 0 MINUTOS, 0 a 60 MINUTOS y TOTAL, pero la diferencia fue significativa sólo en el intervalo -60 a 0 MINUTOS (DIA:  $149.46 \pm 82.34$  vs CON:  $23.68 \pm 12.01$  ng/ml/60 minutos). (Figura 15).

## Resultados

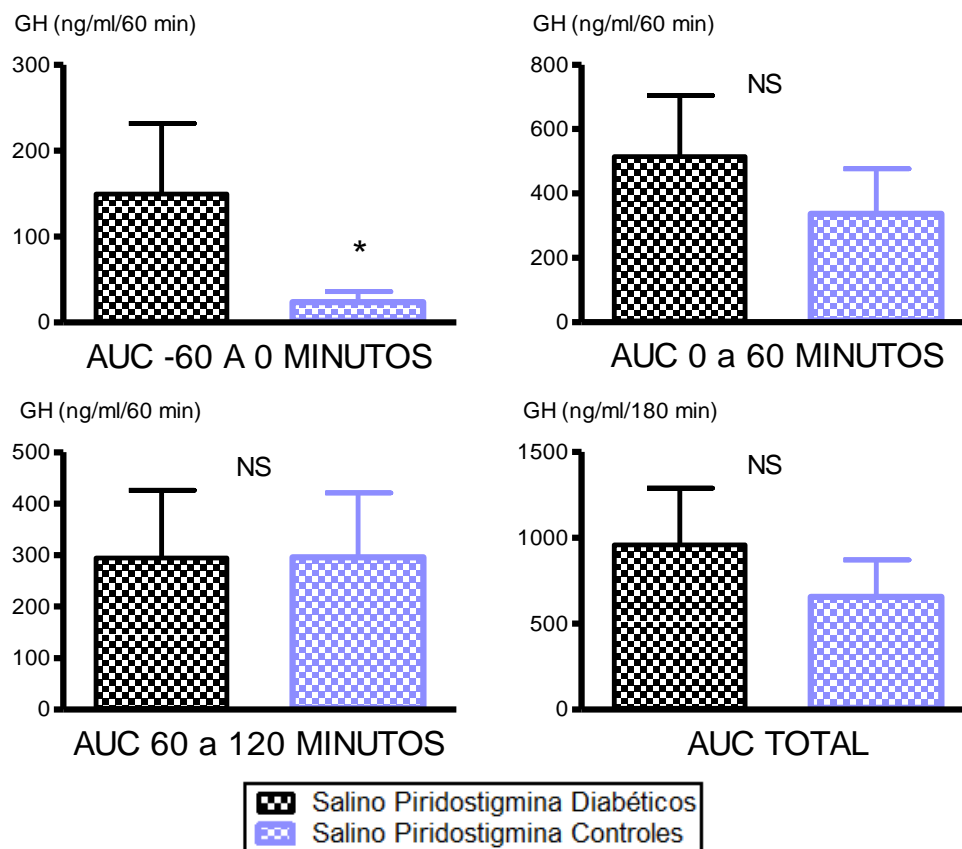


FIGURA 15. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (\* :  $p < 0.05$ ; NS :  $p > 0.05$ ).

En diabéticos, la GH presentó una correlación positiva con la talla, el peso e IMC, y negativa con dosis de insulina por kg de peso corporal. También hubo una correlación negativa con la ACTH: AUC de GH con AUC 60-120 de ACTH (Rho: - 83;  $p < 0.05$ ). No hubo correlación con el cortisol, glucemia, HbA1c, fructosamina, microalbuminuria ni tiempo de evolución.

En controles, hubo una correlación negativa con el IMC. No hubo correlación con ACTH, cortisol ni glucemia.

### 2.2.2.4. GLUCOSA

Tanto en **diabéticos** como en **controles** los niveles de glucemia permanecieron estables con muy pequeñas oscilaciones: valor mínimo  $144.67 \pm 36.76$  y máximo  $159.17 \pm 34.68$  mg/dl en diabéticos y valor mínimo  $78.50 \pm 2.99$  y máximo  $83.80 \pm 2.23$  mg/dl en controles (Figura 16).

Los niveles de glucemia fueron significativamente superiores en los diabéticos respecto a los controles en las determinaciones -60, -30, +105 y +120 minutos.

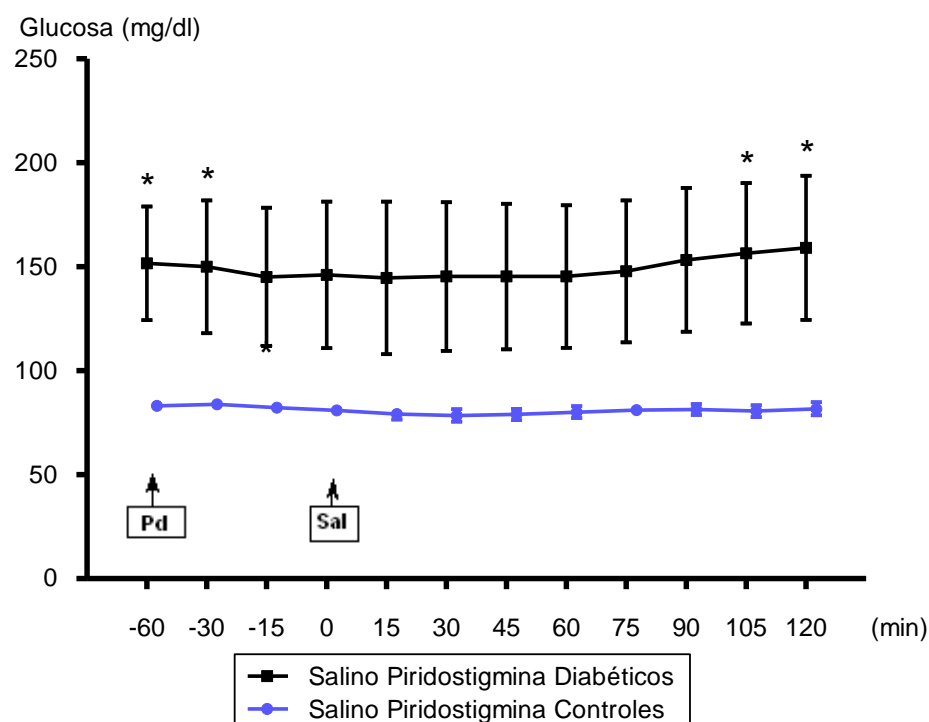


FIGURA 16. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (\*:p <0.05).

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de glucosa fueron mayores en diabéticos que en controles para todos los intervalos evaluados, pero sólo se demostró una diferencia significativa en el intervalo -60 a 0 MINUTOS (DIA:  $8924 \pm 1888$  mg/dl/180 minutos vs CON:  $4972 \pm 101$  mg/dl/180 minutos), siendo un 79.49 % superior en diabéticos (Figura 17).



## Resultados

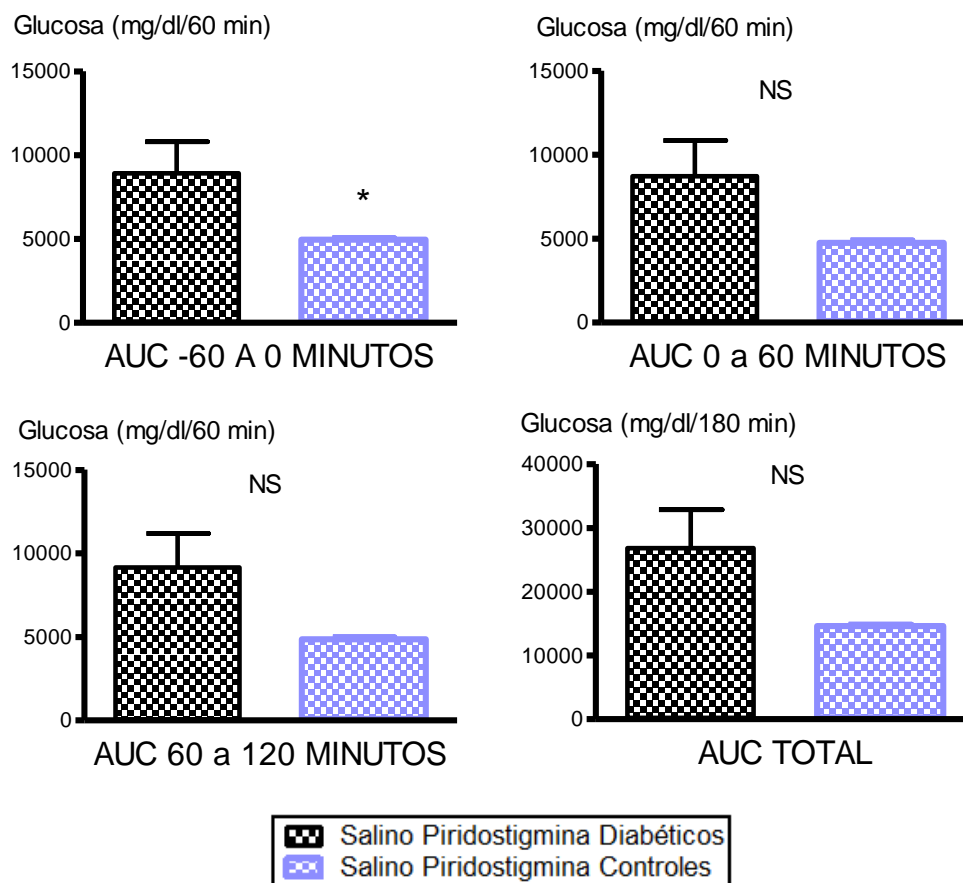


FIGURA 17. Test Salino Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p > 0.05$ ).

En diabéticos, la glucemia mostró una correlación negativa con la edad y positiva con la ACTH y cortisol: AUC 60-120 MINUTOS de glucemia con AUC -60-0 MINUTOS de ACTH (Rho: 0.83;  $p < 0.05$ ); AUC MINUTOS de glucemia con AUC 60-120 MINUTOS de cortisol (Rho: 0.83;  $p < 0.05$ ). No hubo correlación con la GH, HbA1c, fructosamina, microalbuminuria, dosis de insulina, ni tiempo de evolución ni variables antropométricas.

En controles, hubo una correlación positivas con la ACTH: AUC TOTAL de glucemia con AUC TOTAL de ACTH (Rho: 0.74;  $p < 0.05$ ). No hubo correlación con el cortisol ni con la GH.

## **2. TESTS SALINOS**

### **2.3. EFECTO DE LA MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA SECRECIÓN BASAL DEL EJE HHA Y EJE SOMATOTRÓPICO**

#### **TEST SALINO BASAL VERSUS TEST SALINO PIRIDOSTIGMINA**



## **2.3.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS CONTROLES NO FUMADORES**

### **2.3.1.1. EN FUMADORES**

#### **2.3.1.1.1. ACTH**

La administración de piridostigmina no modificó de forma significativa los niveles puntuales ni las áreas de secreción de ACTH en relación a los medidos en el Test Salino Basal, si bien el AUC TOTAL y AUC -60 a 0 MINUTOS fueron mayores tras PD.

#### **2.3.1.1.2. CORTISOL**

La administración de piridostigmina disminuyó los niveles de cortisol a partir del minuto - 30, y todas las áreas de secreción, alcanzando significación estadística sólo a los -15 minutos (SPB:  $15.42 \pm 1.38$  vs SPD:  $13.20 \pm 1.50$  mcg/dl).

#### **2.3.1.1.3. GH**

La administración de piridostigmina aumentó de forma significativa los niveles de GH desde el tiempo + 30 (SPB:  $0.14 \pm 0.07$  vs  $8.43 \pm 5.74$  ng/ml) hasta el tiempo + 90 minutos (SPB:  $0.16 \pm 0.03$  vs  $2.21 \pm 1.05$ ), y las áreas de secreción: AUC TOTAL (SPB:  $42.35 \pm 26.98$  vs  $584.75 \pm 334.49$  ng/ml/180 minutos ), AUC 0-60 MINUTOS (SPB:  $8.15 \pm 4.49$  vs  $411.87 \pm 268.83$  ng/ml/60 minutos) y AUC 60-120 MINUTOS (SPB:  $17.81 \pm 11.58$  vs  $135.22 \pm 64.89$  ng/ml/60 minutos).

#### **2.3.1.1.4. GLUCOSA**

La administración de piridostigmina disminuyó de forma significativa las glucemias en los puntos + 45 (SPB:  $85.20 \pm 2.44$  vs  $81.00 \pm 1.87$  mg/dl)

y + 60 minutos (SPB:  $86.40 \pm 2.32$  vs  $82.80 \pm 2.63$  mg/dl) y también disminuyó todas las áreas de secreción de forma no significativa.

### **2.3.1.2. EN NO FUMADORES**

#### **2.3.1.2.1. ACTH**

La administración de piridostigmina redujo de forma significativa los niveles de ACTH en el punto + 105 minutos (SPB:  $16.87 \pm 1.54$  vs SPD:  $12.49 \pm 1.65$  pg/ml). Todas las áreas de secreción fueron menores tras PD, pero sin alcanzar significación estadística.

#### **2.3.1.2.2. CORTISOL**

La administración de piridostigmina aumentó los niveles de cortisol desde - 60 hasta + 30 minutos y los redujo desde + 45 hasta +120 minutos, aunque de forma no significativa. También se produjo un incremento no significativo de las áreas de secreción AUC TOTAL, AUC -60-0 MINUTOS y AUC 0-60 MINUTOS.

#### **2.3.1.2.3. GH**

La administración de piridostigmina aumentó de forma significativa los niveles de GH desde el tiempo + 30 (SPB:  $0.17 \pm 0.08$  vs  $3.36 \pm 2.05$  ng/ml) hasta el tiempo + 90 minutos (SPB:  $0.27 \pm 0.14$  vs  $8.43 \pm 4.33$  ng/ml), y las áreas de secreción: AUC TOTAL (SPB:  $33.90 \pm 13.32$  vs  $727.94 \pm 305.47$  ng/ml/180 minutos ), AUC 0-60 MINUTOS (SPB:  $12.06 \pm 4.48$  vs  $262.23 \pm 116.61$  ng/ml/60 minutos) y AUC 60-120 MINUTOS (SPB:  $13.04 \pm 5.97$  vs  $456.00 \pm 231.49$  ng/ml/60 minutos).

#### **2.3.1.2.4. GLUCOSA**

La administración de piridostigmina aumentó de forma significativa las glucemias en el minutos -60 (SPB:  $73.80 \pm 2.50$  vs  $84.00 \pm 3.83$  mg/dl) y el AUC -60- 0 MINUTOS (SPB:  $4605 \pm 156$  vs  $4989 \pm 212$  mg/dl/60 minutos).

#### **2.3.1.3. COMPARACIÓN ENTRE CONTROLES FUMADORES Y CONTROLES NO FUMADORES**

##### **2.3.1.3.1. ACTH**

El porcentaje de variación en el área de secreción total de ACTH cuando se compararon los test SPB y SPD entre fumadores y no fumadores no fue significativamente diferente (FUM:  $18.54 \pm 29.24$  vs NFU:  $-9.52 \pm 14.67$  %).

##### **2.3.1.3.2. CORTISOL**

El porcentaje de variación en el área de secreción total de cortisol cuando se compararon los test SPB y SPD entre fumadores y no fumadores tampoco fue significativamente diferente (FUM:  $-12.85 \pm 9.00$  % vs NFU:  $5.50 \pm 6.58$  %).

##### **2.3.1.3.3. GH**

En cuanto a la GH, no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total cuando se compararon los test SPB y SPD entre fumadores y no fumadores (FUM:  $1592.56 \pm 533.57$  vs NFU:  $2990.51 \pm 798.50$  %).

**2.3.1.3.4. GLUCOSA**

En cuanto a la glucosa, tampoco se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total cuando se compararon los test SPB y SPD entre fumadores y no fumadores (FUM:  $2.42 \pm 1.42$  vs NFU:  $1.15 \pm 3.63$  %).

## 2.3.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES

### 2.3.2.1. EN DIABÉTICOS

#### 2.3.2.1.1 ACTH

La administración de piridostigmina (PD) no modificó de forma significativa los niveles de ACTH en relación a los medidos en el Test Salino Basal, sin embargo hubo una tendencia a valores superiores tras PD en los puntos -15, 0, +30, +45, +60, +90 y +105 minutos (Figura 18).

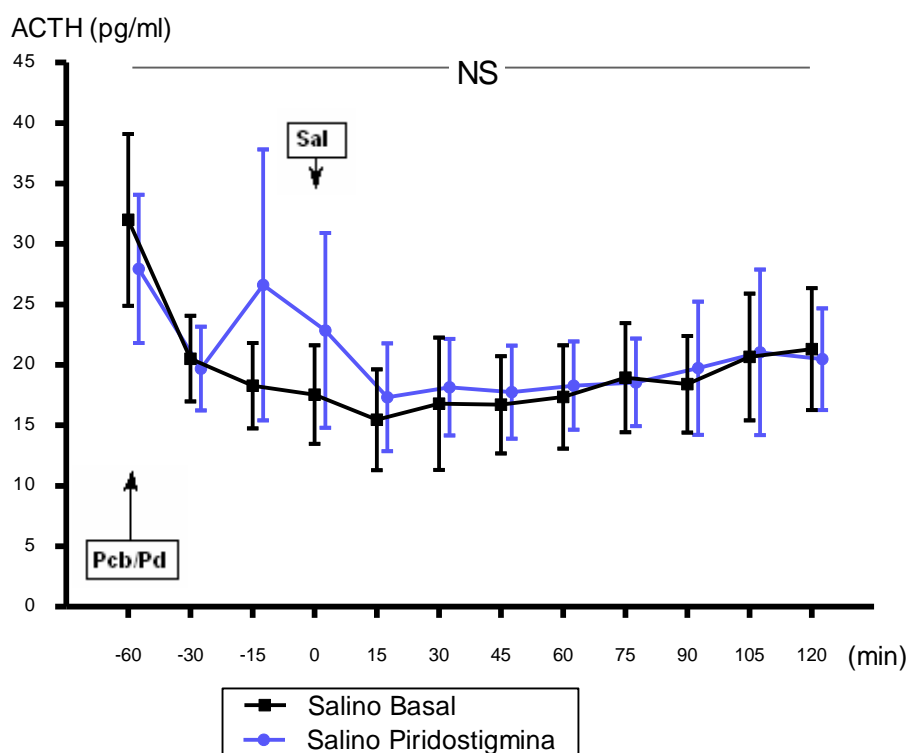


FIGURA 18. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de ACTH (NS:  $p > NS$ ).



## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de ACTH fueron superiores tras la administración de piridostigmina pero no alcanzaron significación estadística en ninguno de los intervalos de tiempo analizados (Figura 19).

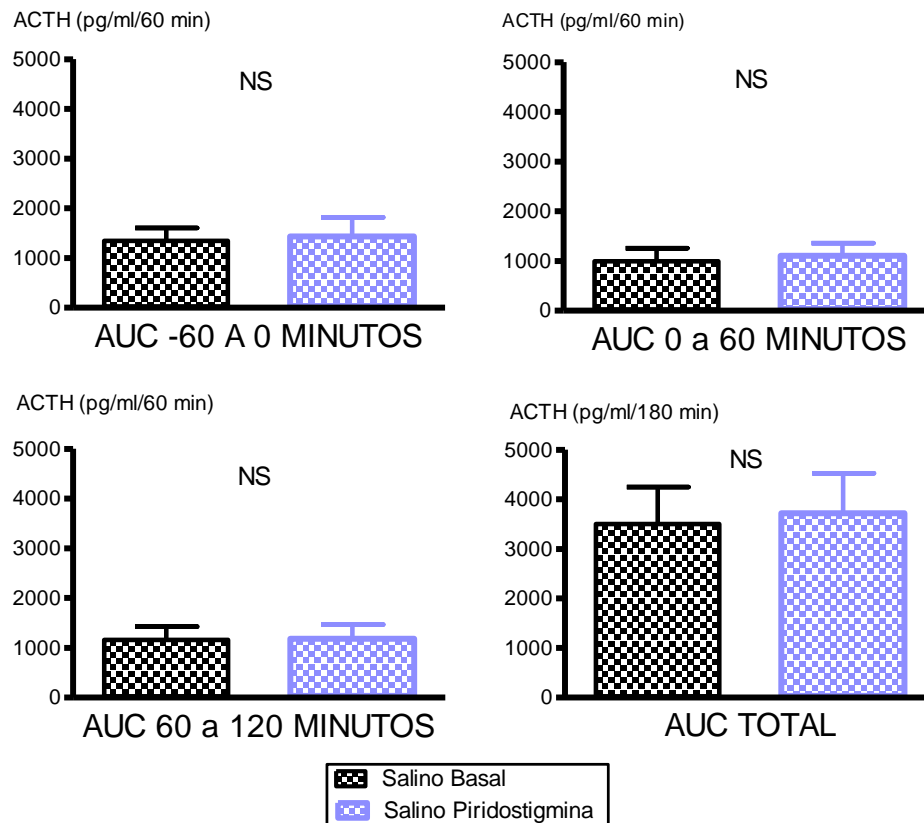


FIGURA 19 . Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de ACTH (NS: p NS).

**2.3.2.1.2. CORTISOL**

La administración de PD no modificó de forma significativa el perfil de secreción de cortisol en los diabéticos, pero hubo una tendencia al aumento en los minutos -30, -15, 0, +15, +45, +60, +75 y +90. (Figura 20).

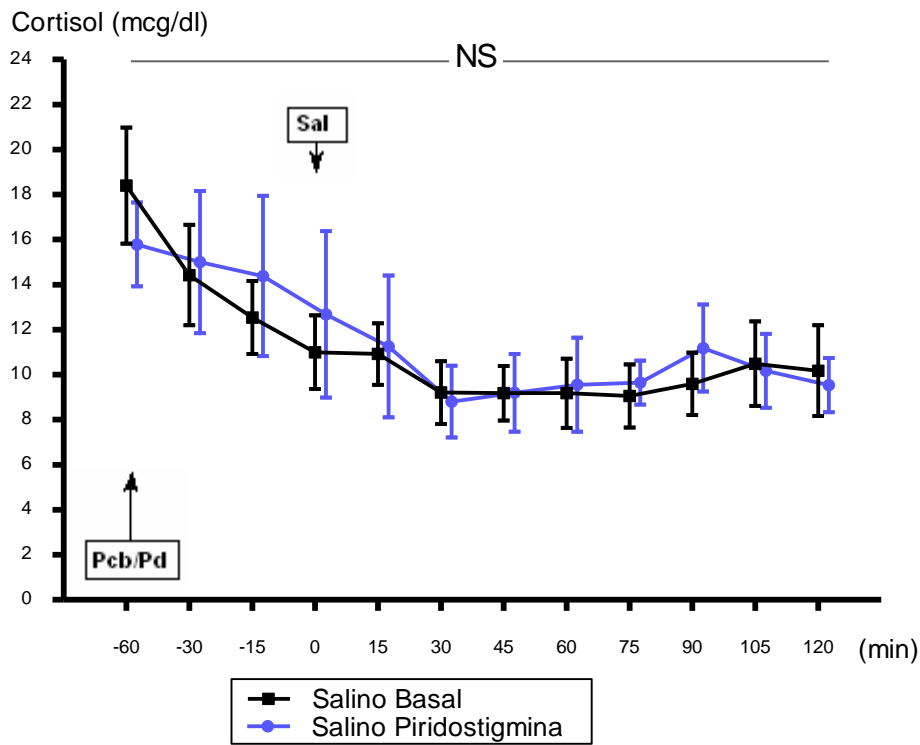


FIGURA 20. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de cortisol fueron superiores tras la administración de piridostigmina pero las diferencias tampoco fueron significativas en ninguno de los intervalos de tiempo analizados (Figura 21).

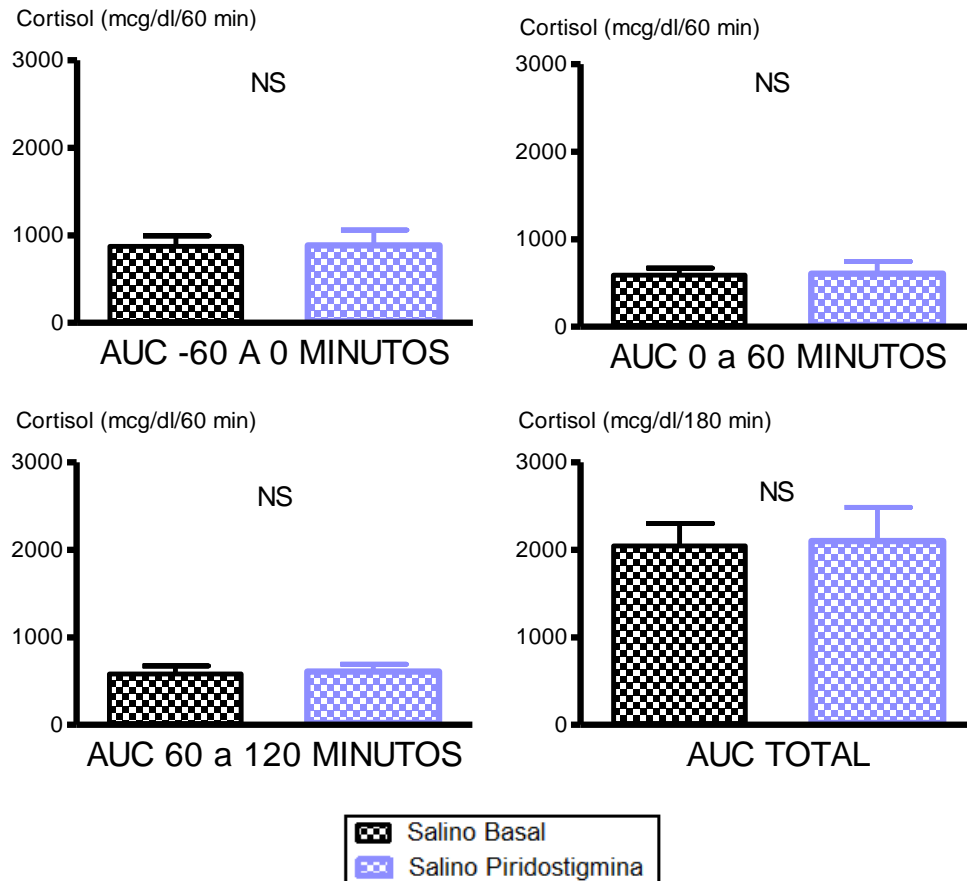


FIGURA 21. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

2.3.2.1.3 GH

La administración de PD supuso un incremento significativo de los niveles de GH respecto a los evaluados en condiciones basales desde el tiempo -15 (SPB:  $2.01 \pm 1.80$  vs SPD:  $3.38 \pm 2.16$  ng/ml) hasta + 75 minutos (SPB:  $0.54 \pm 0.17$  vs SPD:  $6.54 \pm 2.94$  ng/ml), de acuerdo con una activación colinérgica responsable del estímulo de la secreción de GH (Figura 22).

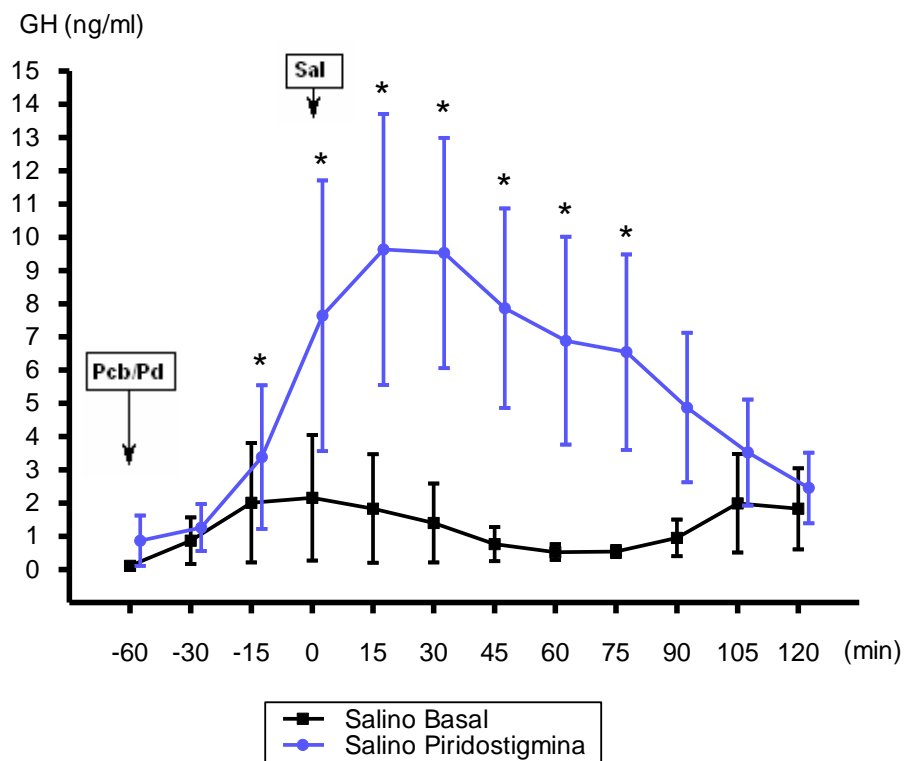


FIGURA 22. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ).

## Resultados

El AUC TOTAL fue significativamente superior tras piridostigmina (SPB:  $217.29 \pm 127.79$  vs SPD:  $958.03 \pm 331.26$  ng/ml/180 minutos). El análisis de los intervalos de secreción de GH también evidenció el estímulo de la secreción de GH por PD en los intervalos AUC -60 a 0 MINUTOS (SPB:  $67.40 \pm 56.93$  vs SPD:  $149.46 \pm 82.34$  ng/ml/60 minutos) y AUC 0 a 60 MINUTOS (SPB:  $80.04 \pm 65.95$  vs SPD:  $514.41 \pm 190.18$  ng/ml/60 minutos) (Figura 23).

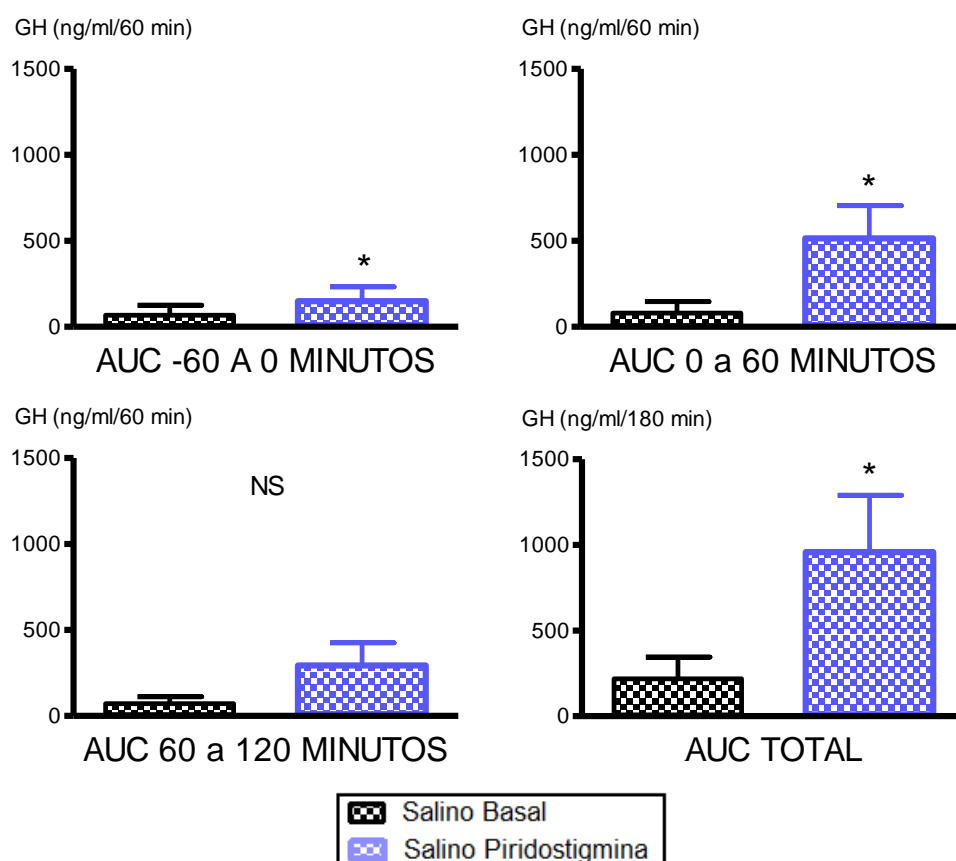


FIGURA 23. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de GH (\* :  $p < 0.05$ ; NS:  $p \text{ NS}$ ).

**2.3..2.1.4. GLUCOSA**

Tras la administración de PD los niveles de glucemia fueron menores, aunque no se demostraron diferencias significativas (Figura 24).

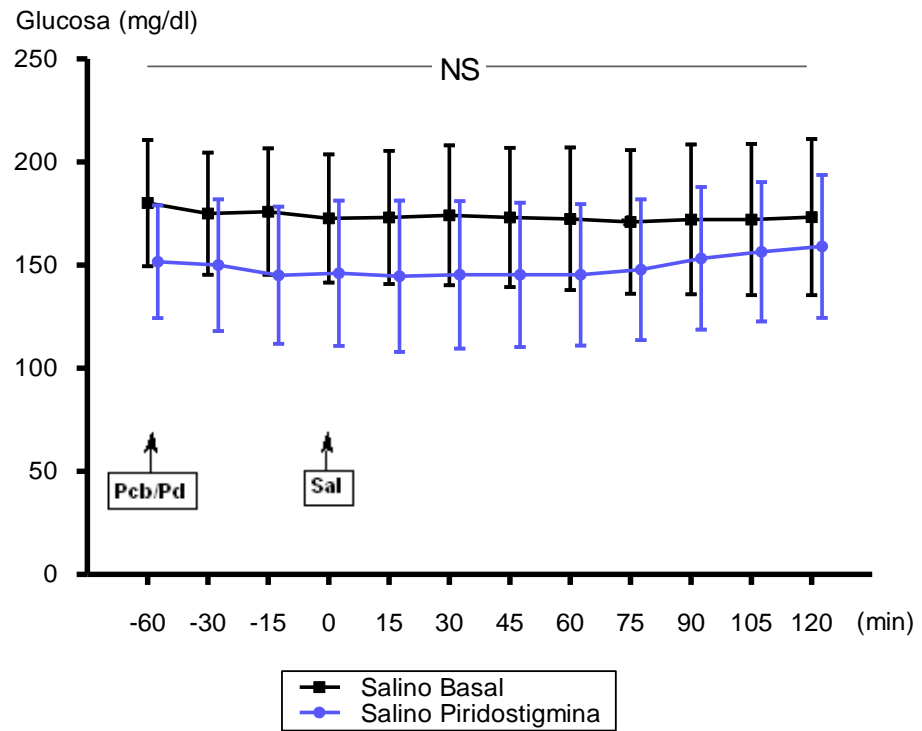


FIGURA 24. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de las glucemias fueron inferiores tras la administración de piridostigmina, pero tampoco se demostraron diferencias significativas (Figura 25).

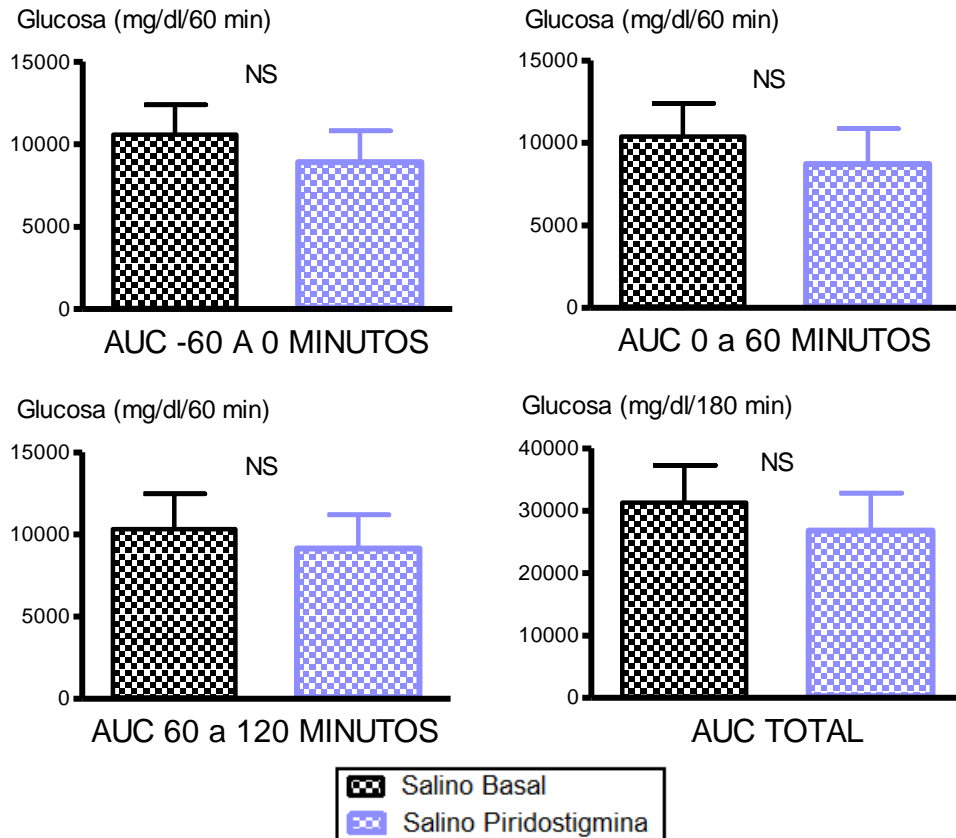


FIGURA 25. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

**2.3.2.2. EN CONTROLES**

**2.3.2.2.1. ACTH**

La administración de piridostigmina (PD) no modificó de forma significativa los niveles de ACTH en relación a los medidos en el Test Salino Basal, sin embargo hubo una tendencia a valores menores tras PD desde el tiempo – 15 hasta + 120 minutos (Figura 26).

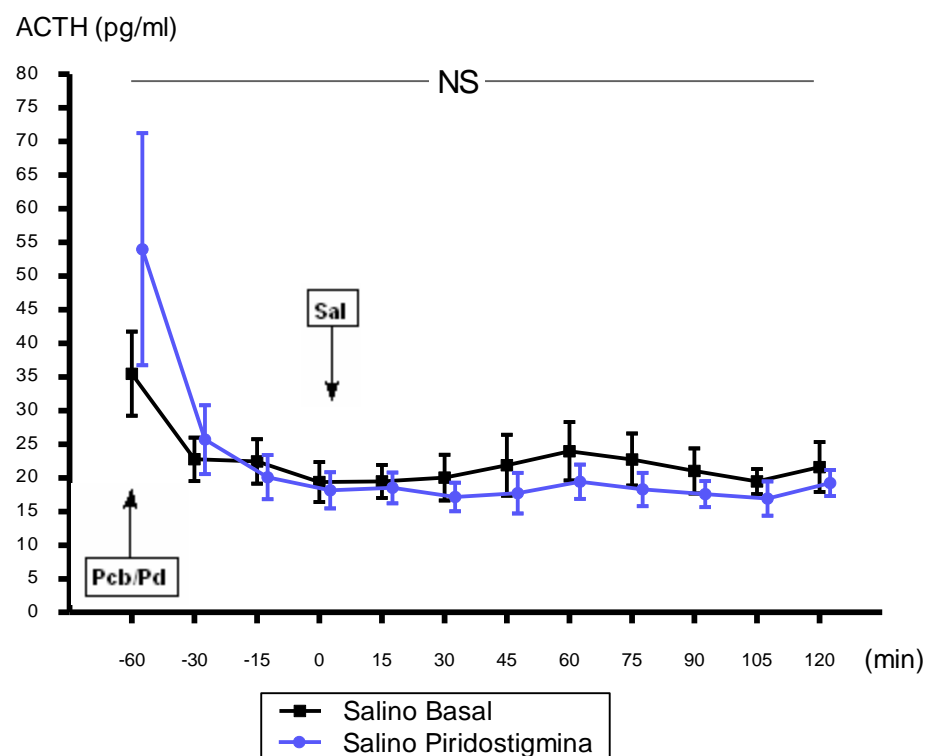


FIGURA 26. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de ACTH (NS: p NS).



## Resultados

Las AUC TOTAL, AUC 0 a 60 MINUTOS y AUC 60 a 120 MINUTOS de ACTH fueron menores tras la administración de piridostigmina, al contrario del aumento que se observó en diabéticos, aunque no alcanzaron diferencias significativas (Figura 27).

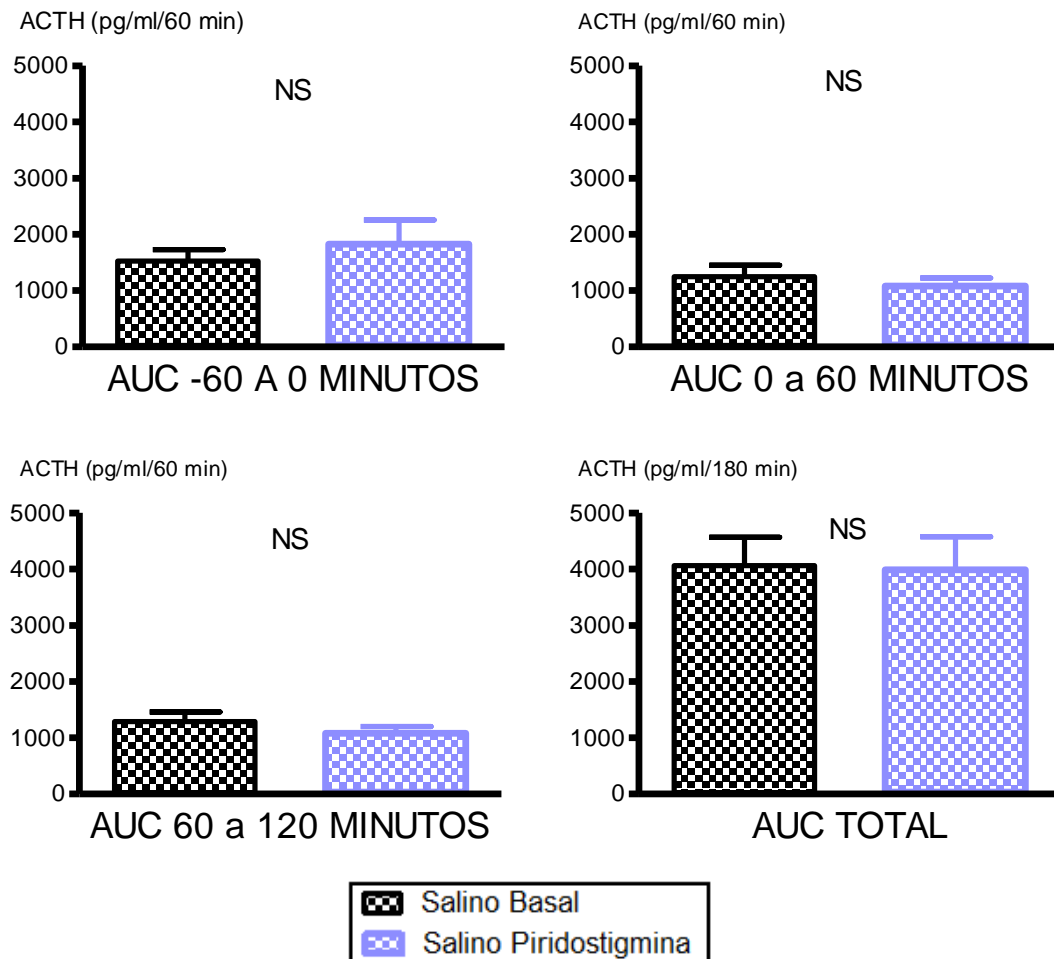


FIGURA 27. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de ACTH (NS: p NS).

2.3.2.2.2. CORTISOL

La administración de PD no modificó de forma significativa el perfil de secreción de cortisol en los controles, pero hubo una tendencia a la disminución en los minutos -15, +15, +45, +60, +75, +90, +105 y +120 (Figura 28).

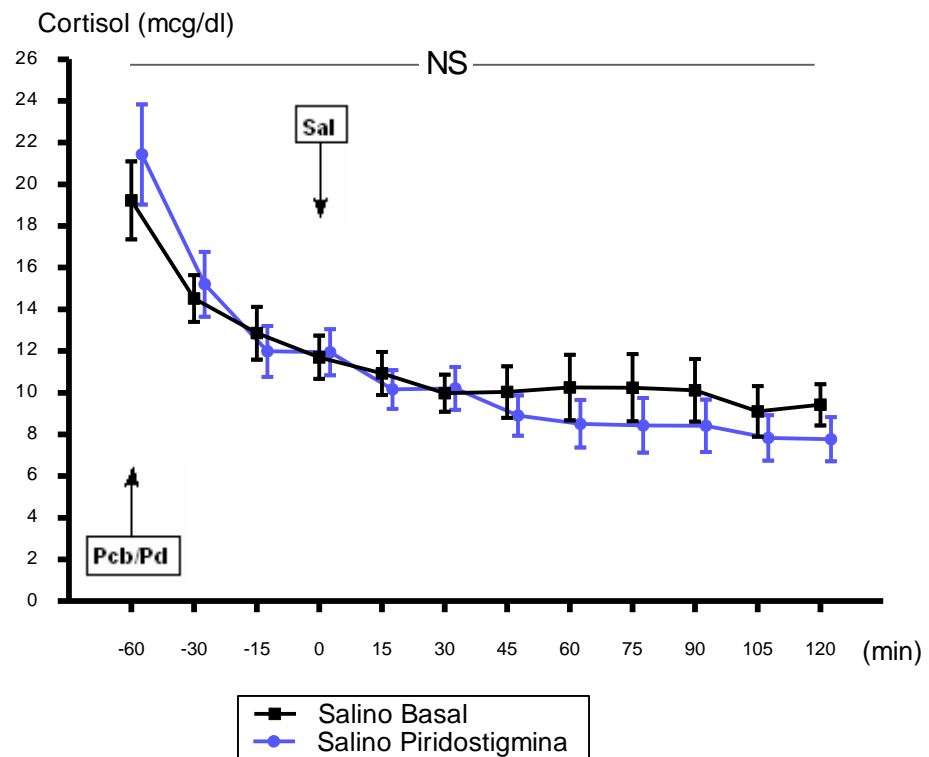


FIGURA 28 . Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC TOTAL, AUC 0 a 60 MINUTOS y AUC 60 a 120 MINUTOS) de cortisol fueron menores tras la administración de piridostigmina, al contrario del aumento que se observó en diabéticos, aunque no alcanzaron diferencias significativas, (Figura 29).

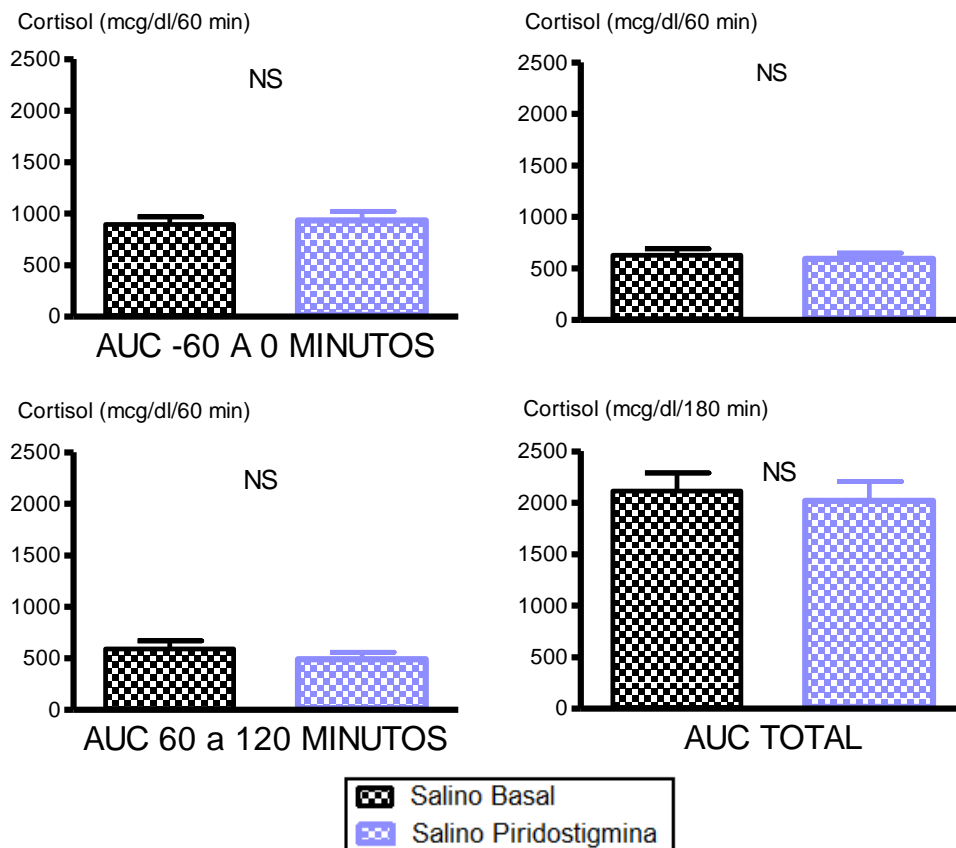


FIGURA 29. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Cortisol (NS: p NS).

2.3.2.2.3. GH

La administración de PD produjo un incremento significativo de los niveles de GH respecto a los evaluados en condiciones basales desde el tiempo +15 (SPB:  $0.23 \pm 0.08$  vs SPD:  $5.78 \pm 3.57$  ng/ml) hasta + 105 minutos (SPB:  $0.29 \pm 0.11$  vs SPD:  $3.44 \pm 1.27$  ng/ml), de acuerdo con una activación colinérgica responsable del estímulo de la secreción de GH (Figura 30).

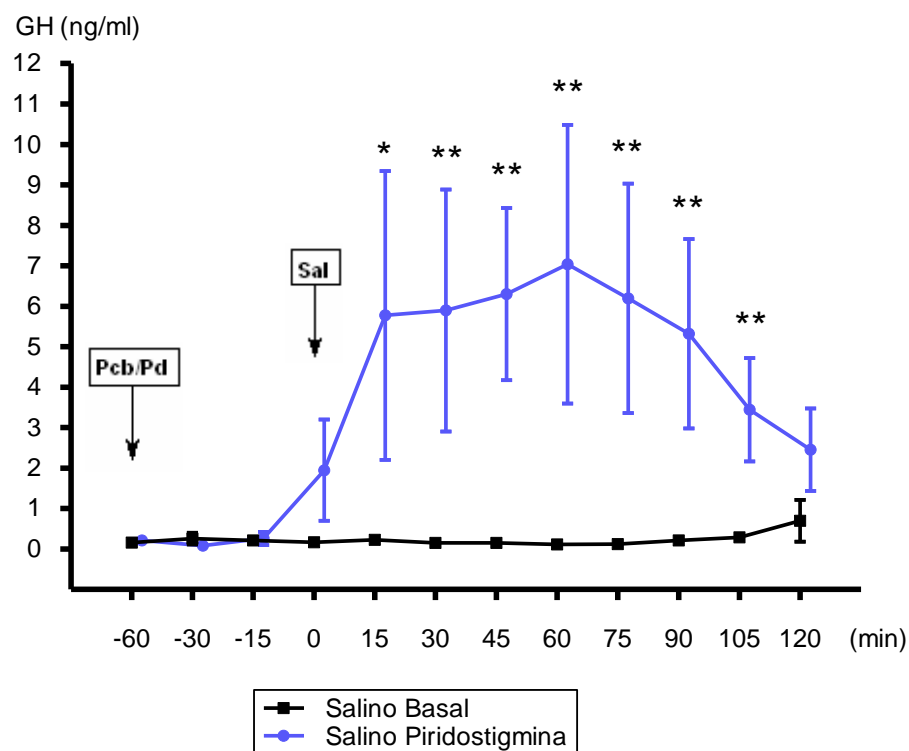


FIGURA 30. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ).

## Resultados

El AUC TOTAL fue significativamente superior tras piridostigmina (SPB:  $38.13 \pm 14.25$  vs SPD:  $656.35 \pm 214.87$  ng/ml/180 minutos). También se evidenció una estimulación de la secreción de GH por PD en los intervalos 0 a 60 MINUTOS (SPB:  $10.10 \pm 3.06$  vs SPD:  $337.05 \pm 140.37$  ng/ml/60 minutos) y 60 a 120 MINUTOS (SPB:  $15.42 \pm 6.19$  vs SPD:  $295.61 \pm 125.31$  ng/ml/60 minutos) (Figura 31).

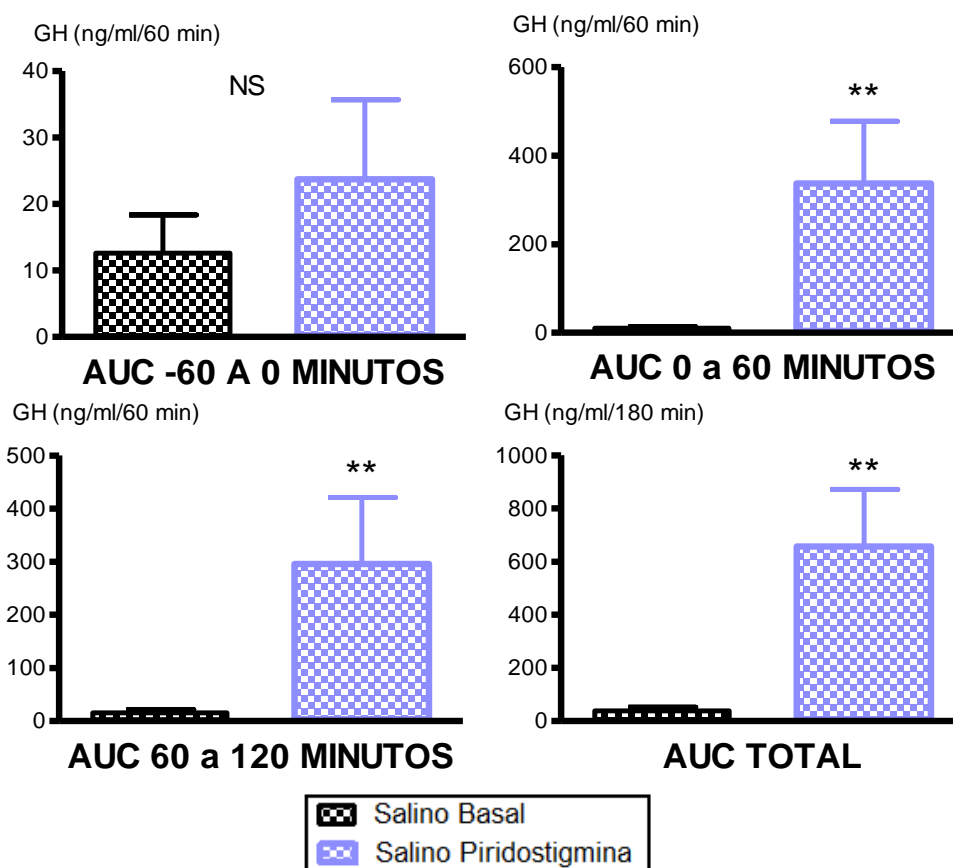


FIGURA 31. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*\*:  $p < 0.01$ ; NS:  $p$  NS).

**2.3.2.2.4. GLUCOSA**

Tras la administración de PD los niveles de glucemia no experimentaron cambios significativos respecto al test SPB (Figura 32).

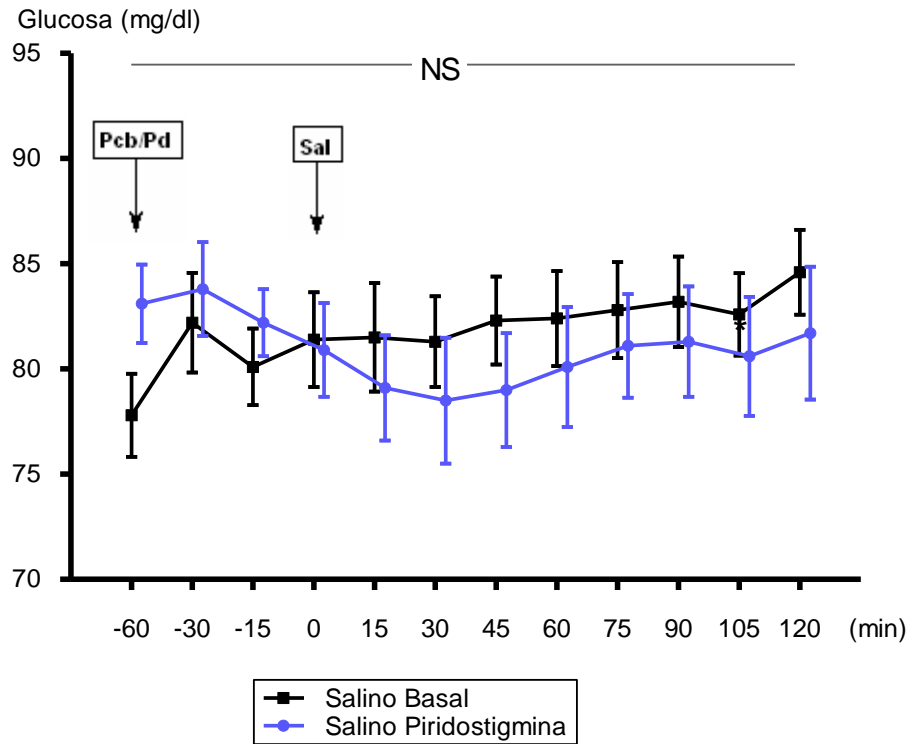


FIGURA 32. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

## Resultados

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de glucemias fueron inferiores en los intervalos TOTAL, 0 a 60 MINUTOS y 60 a 120 MINUTOS tras la administración de PD, pero estas diferencias no fueron significativas (Figura 33).

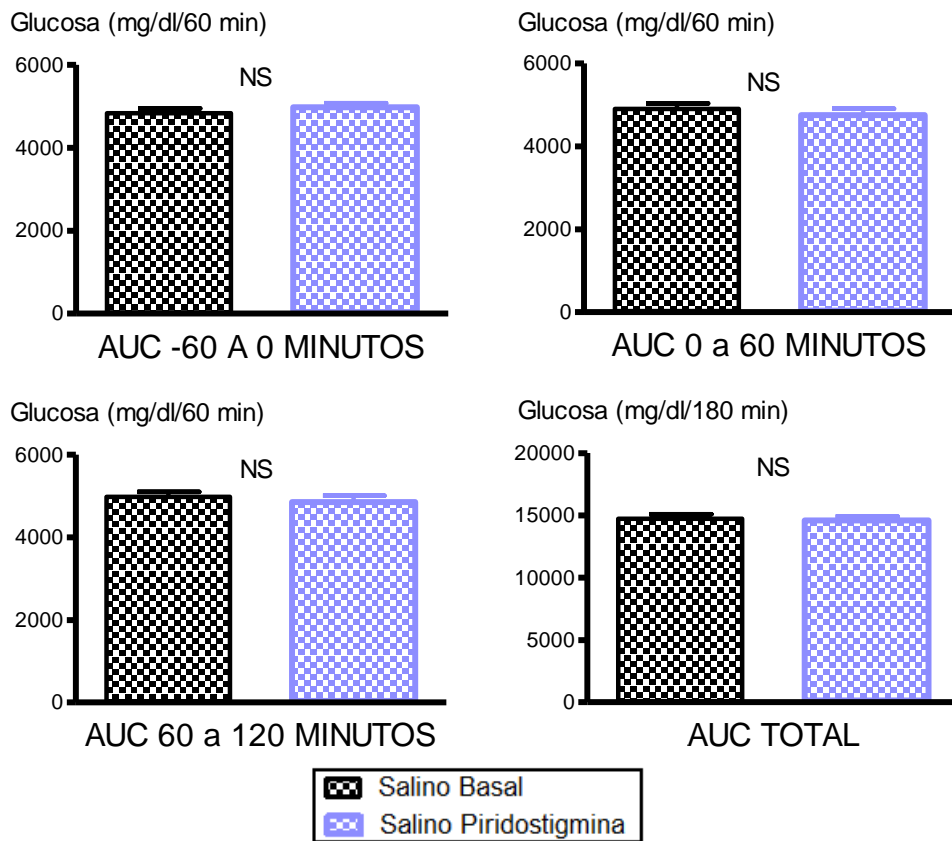


FIGURA 33. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test Salino Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

### 2.3.2.3. COMPARACIÓN ENTRE DIABÉTICOS Y CONTROLES

#### 2.3.2.3.1. ACTH

El porcentaje de variación en el área de secreción total de ACTH cuando se compararon los test SPB y SPD entre diabéticos y controles (Figura 34) no fue significativamente diferente (DIA:  $12.26 \pm 15.40$  % vs CON:  $4.51 \pm 16.12$  % ).

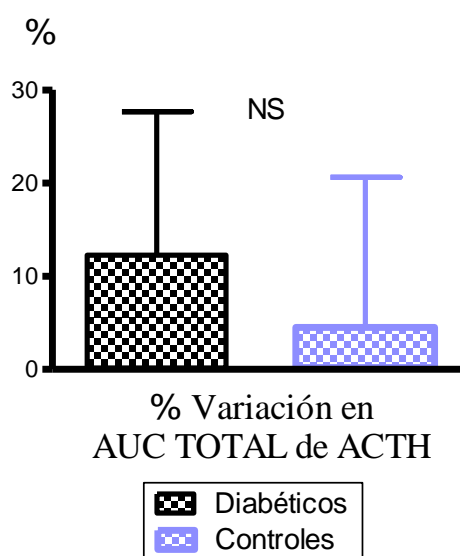


FIGURA 34. Porcentaje de variación en el área de secreción total de ACTH entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

#### 2.3.2.3.2. CORTISOL

El porcentaje de variación en el área de secreción total de cortisol (Figura 35) cuando se compararon los test SPB y SPD entre diabéticos y controles tampoco fue significativamente diferente (DIA:  $2.75 \pm 9.99$  % vs CON:  $-3.67 \pm 6.08$  %).



## Resultados

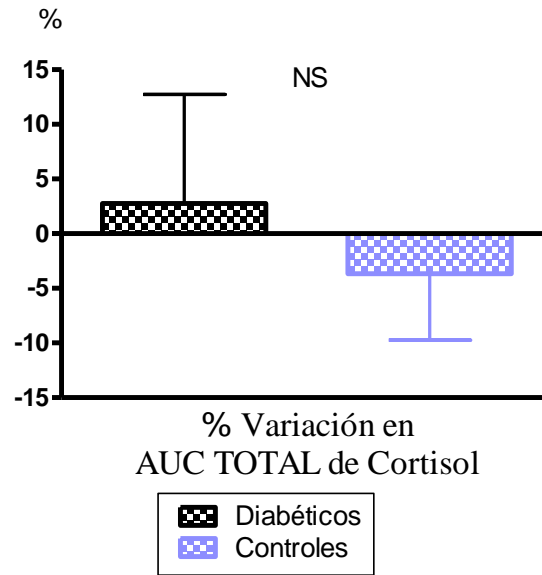


FIGURA 35. Porcentaje de variación en el área de secreción total de Cortisol entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

### 2.3.2.3.3. GH

En cuanto a la GH (Figura 36), no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total cuando se compararon los test SPB y SPD entre diabéticos y controles (DIA:  $1108.91 \pm 448.64$  % vs CON:  $2291.54 \pm 509.15$  %).

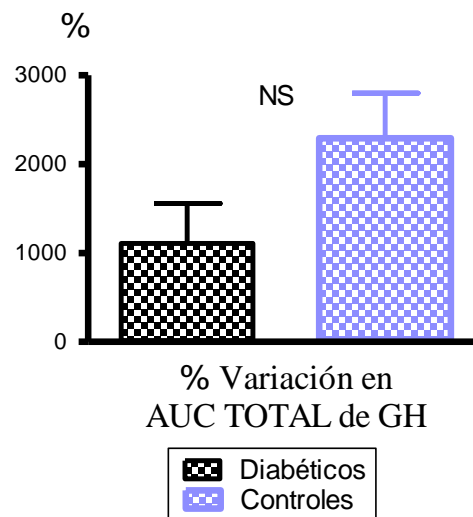


FIGURA 36. Porcentaje de variación en el área de secreción total de GH entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

**2.3.2.3.4. GLUCOSA**

En cuanto a la glucosa, tampoco se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de reducción en el área de secreción total cuando se compararon los test SPB y SPD entre diabéticos y controles (DIA:  $-13.18 \pm 12.94$  % vs CON:  $-0.64 \pm 1.93$  % (Figura 37).

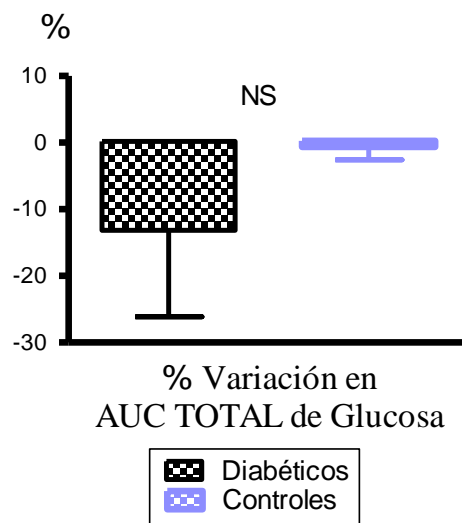


FIGURA 37. Porcentaje de variación en el área de secreción total de Glucosa entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

## *Resultados*

## **3. TESTS GHRH**

### **3.1. RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A LA ADMINISTRACIÓN DE GHRH**

#### **TESTS GHRH BASAL**



### **3.1.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

#### **3.1.1.1. GH**

En los fumadores, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la secreción de GH, como se observó al evaluar la diferencia existente entre la concentración de GH medida en 0 minutos y el Pico Máximo (PM) obtenido (0 minutos:  $0.88 \pm 0.59$  vs PM:  $15.23 \pm 7.8$  ng/ml;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los + 15 y + 60 minutos.

La administración de GHRH en los no fumadores estimuló los niveles de GH, al observarse la presencia de una diferencia estadísticamente significativa entre el nivel medido a 0 minutos y el PM (0 minutos:  $0.08 \pm 0.04$  vs PM:  $9.00 \pm 1.57$  ng/ml;  $p < 0.01$ ), que tuvo lugar entre los minutos + 30 y + 60.

Todos los valores puntuales, todos los parámetros de respuesta excepto el incremento porcentual y todas las áreas de secreción de GH fueron mayores en fumadores, pero sólo se encontró una diferencia significativa en el punto 0 minutos de GH (FUM:  $0.88 \pm 0.59$  vs NFU:  $0.08 \pm 0.04$  ng/ml), por lo que ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

En fumadores no se demostró correlación entre los niveles de GH y las glucemias. En los no fumadores, por el contrario, hubo una correlación positiva entre ambos.

#### **3.1.1.2. GLUCOSA**

En los fumadores, la administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de glucemia al evaluar la diferencia existente entre la concentración de glucosa medida a 0 minutos y el Pico Máximo

## *Resultados*

(PM) observado (0 minutos:  $82.00 \pm 3.78$  vs PM:  $96.40 \pm 9.57$  mg/dl;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los -60 y +120 minutos. Por el contrario en los no fumadores no se produjeron modificaciones en los niveles de glucemia.

Todos los valores puntuales, todos los parámetros de respuesta y todas las áreas de secreción de glucosa fueron mayores en fumadores, pero las diferencias no fueron significativas, por lo que ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **3.1.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

#### **3.1.2.1. GH**

En los diabéticos, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la secreción de GH, como se observó al evaluar la diferencia existente entre la concentración de GH medida en 0 minutos y el Pico Máximo (PM) obtenido (0 minutos:  $1.80 \pm 1.12$  vs PM:  $31.74 \pm 17.88$  ng/ml;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los + 15 y + 45 minutos.

La administración de GHRH en los controles estimuló los niveles de GH, al observarse la presencia de una diferencia estadísticamente significativa entre el nivel medido a 0 minutos y el PM (0 minutos:  $0.48 \pm 0.31$  vs PM:  $12.12 \pm 3.89$  ng/ml;  $p < 0.01$ ), que tuvo lugar entre los minutos + 15 y + 60.

En diabéticos, se observaron correlaciones significativas entre el valor de GH previo a la administración de GHRH (GH a 0 minutos) y el PM (Rho: 0.943;  $p < 0.01$ ), el IA (Rho: 0.829;  $p < 0.05$ ), el AUC de Respuesta (Rho: 1;  $p < 0.001$ ) y el AUC de Respuesta 0 a 60 minutos (Rho: 1;  $p < 0.001$ ); mientras

## Resultados

que en controles la GH a 0 minutos sólo se correlacionó con el IP (Rho: -0.860;  $p < 0.01$ ).

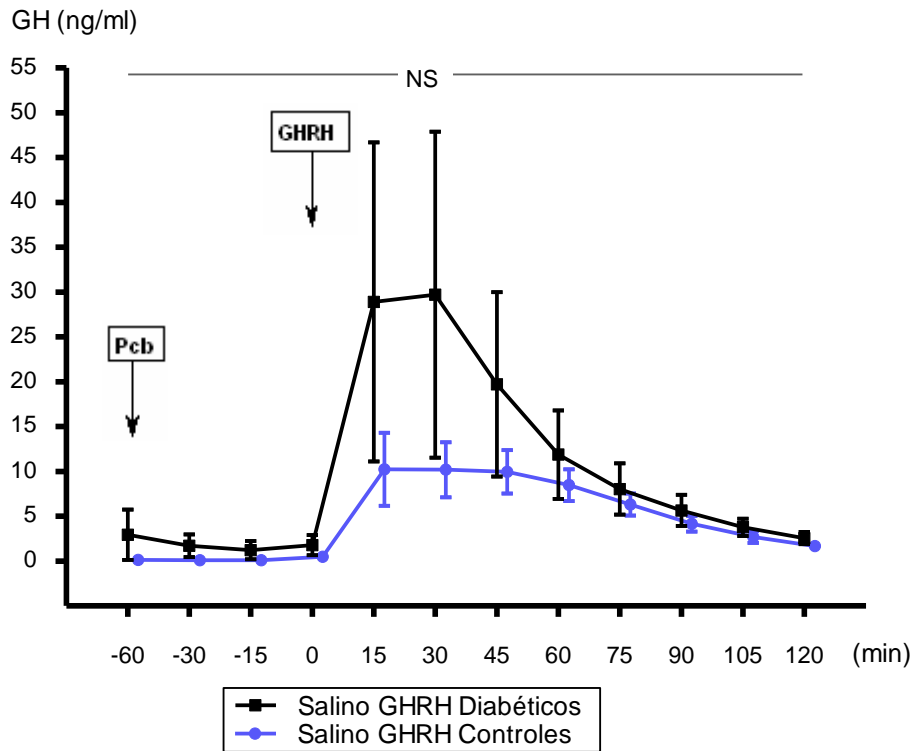


FIGURA 38. Test GHRH Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (NS:  $p > 0.05$ ).

Los diabéticos presentaron respuestas mayores de GH a GHRH que los controles, aunque no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las determinaciones (Figura 38).



## Resultados

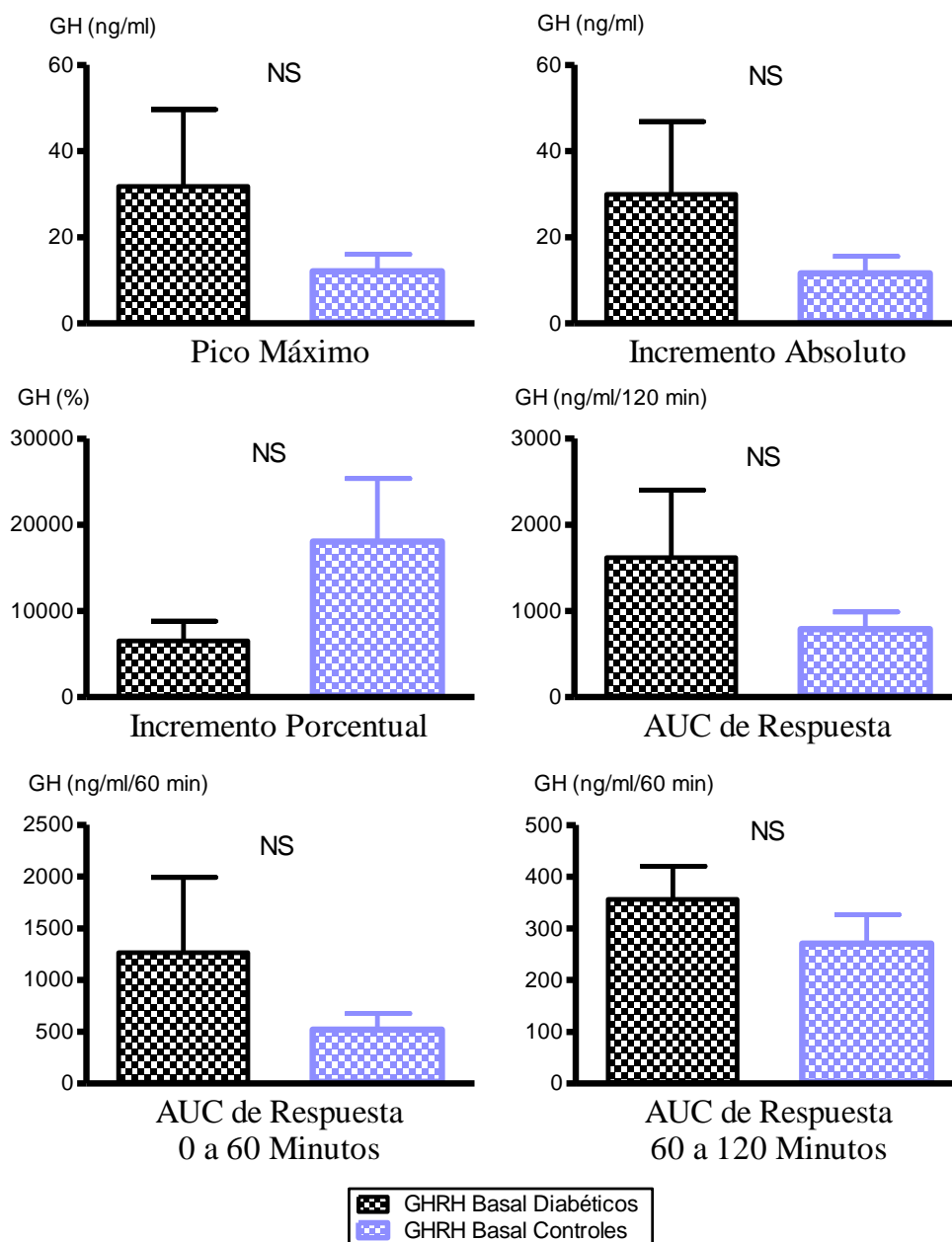


FIGURA 39. Test GHRH Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Parámetros de Respuesta de GH (NS: p NS).

La respuesta de GH a GHRH fue mayor en diabéticos considerando el Pico Máximo obtenido (PM DIA:  $31.74 \pm 17.88$  vs CON:  $12.12 \pm 3.89$  ng/ml; p NS) y el Incremento Absoluto (IA DIA:  $29.94 \pm 16.87$  vs CON:  $11.63 \pm 3.93$  ng/ml; p NS) y menor en relación al Incremento Porcentual (IP DIA:  $6523.94 \pm 2281.27$  vs CON:  $18057.71 \pm 7321.28$  %; p NS) sobre el nivel de GH a los 0 minutos, si bien estas diferencias no fueron

## Resultados

significativas. El Área Bajo la Curva de Respuesta (AUC de Respuesta) fue superior asimismo en diabéticos, tanto evaluada en conjunto (DIA:  $1619.90 \pm 784.79$  vs CON:  $789.93 \pm 200.65$  ng/ml/120 minutos; p NS) como en los intervalos de 0 a 60 (DIA:  $1263.47 \pm 729.26$  vs CON:  $519.64 \pm 154.74$  ng/ml/60 minutos; p NS) y de 60 a 120 Minutos (DIA:  $356.29 \pm 63.77$  vs CON:  $270.35 \pm 56.34$  ng/ml/60 minutos; p NS), aunque las diferencias tampoco fueron significativas (Figura 39).

La diferencia en los Parámetros de Respuesta entre diabéticos y controles, en términos porcentuales fue de 162 % mayor en el PM, de 157 % mayor en el IA, de 64 % menor en el IP y de 105 % mayor en el AUC de Respuesta.

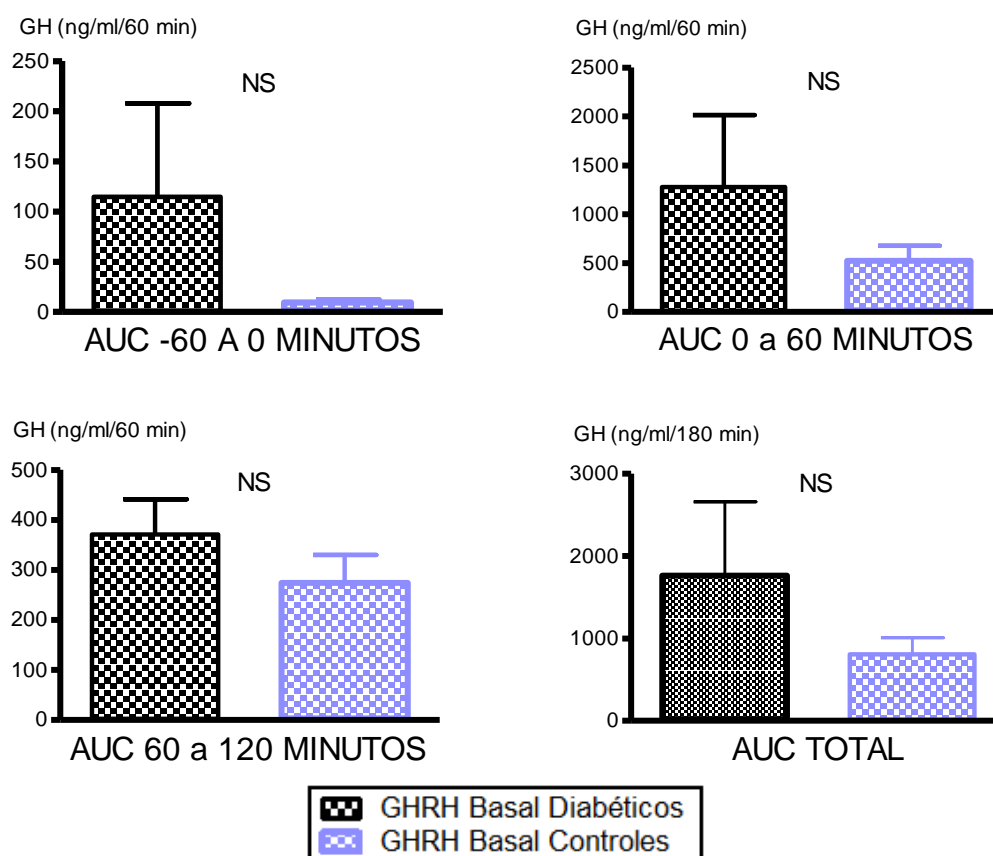


FIGURA 40. Test GHRH Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (NS: p NS).

## Resultados

Los valores de las Áreas Bajo la Curva (AUC) de GH fueron mayores en diabéticos que en controles en todos los intervalos estudiados, aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística (Figura 40). AUC TOTAL (DIA:  $1763.38 \pm 893.59$  ng/ml/180 minutos vs CON:  $807.07 \pm 200.75$  ng/ml/180 minutos), AUC -60 a 0 MINUTOS (DIA:  $114.86 \pm 92.90$  ng/ml/60 minutos vs CON:  $9.38 \pm 2.87$  ng/ml/60 minutos), AUC 0 a 60 MINUTOS (DIA:  $1277.83 \pm 737.51$  ng/ml/60 minutos vs CON:  $523.50 \pm 154.52$  ng/ml/60 minutos) y AUC 60 a 120 MINUTOS (DIA:  $370.65 \pm 70.60$  ng/ml/60 minutos vs CON:  $274.22 \pm 55.49$  ng/ml/60 minutos).

En diabéticos, la GH presentó una correlación positiva con el peso y el IMC, y negativa con la microalbuminuria y la dosis de insulina por kg de peso corporal. No hubo correlación con la glucemia.

En controles, no hubo correlación con la glucemia.

### 3.1.2.2. GLUCOSA

En los diabéticos, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la concentración de glucosa, como se observó al evaluar la diferencia existente entre la concentración de glucosa medida en el minuto 0 y el Pico Máximo (PM) obtenido (0 minutos:  $179 \pm 50.64$  vs PM:  $185.17 \pm 50.48$  mg/dl;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los -60 y + 120 minutos.

En los controles se observó también un aumento al evaluar la diferencia existente entre la concentración de glucosa medida a 0 minutos y el Pico Máximo (PM) observado (0 minutos:  $79.40 \pm 2.62$  vs PM:  $89.30 \pm 5.20$  mg/dl;  $p < 0.01$ ), que tuvo lugar entre los + 15 y +120 minutos.

En diabéticos, no se observaron correlaciones significativas entre el valor de glucosa previo a la administración de GHRH (glucosa a 0 minutos)

## Resultados

y los Parámetros de Respuesta, por el contrario, en controles se encontraron correlaciones con el PM (Rho: 0.798;  $p < 0.01$ ), el AUC de Respuesta (Rho: 0.829;  $p < 0.01$ ), el AUC de Respuesta 0 a 60 MINUTOS (Rho: 0.902;  $p < 0.001$ ) y el AUC de Respuesta 60 a 120 MINUTOS (Rho: 0.799;  $p < 0.01$ ).

Los niveles de glucemia fueron significativamente superiores en los diabéticos respecto a los controles en todos los puntos estudiados (Figura 41).

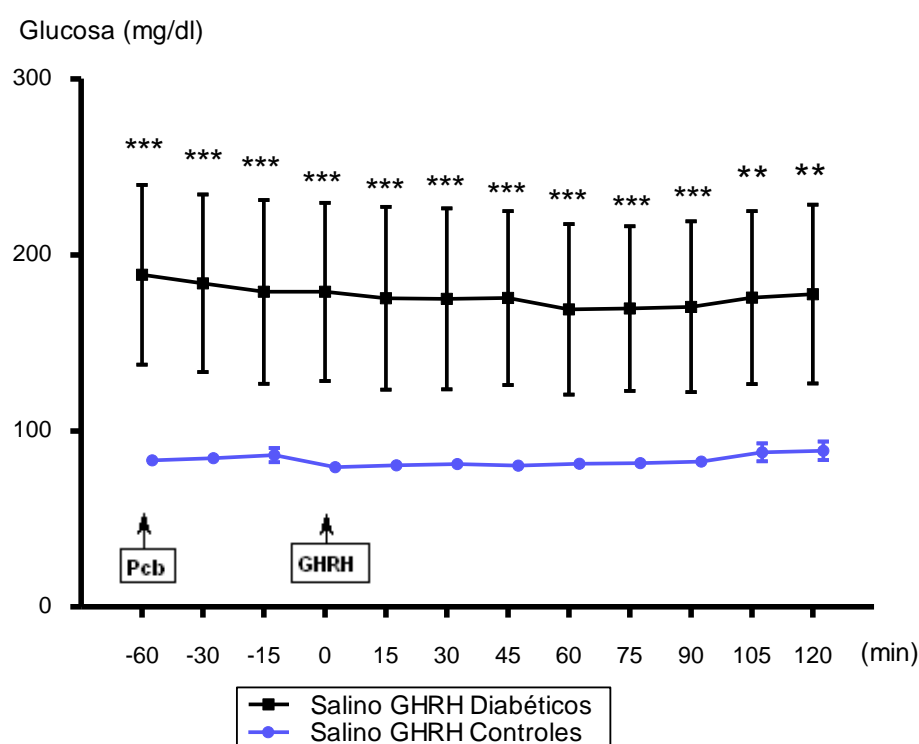


FIGURA 41. Test GHRH Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa ( \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

Los niveles de glucosa tras GHRH (Figura 42) fueron mayores en diabéticos considerando el Pico Máximo obtenido (PM DIA:  $185.17 \pm 50.48$  vs CON:  $89.30 \pm 5.20$  mg/dl;  $p < 0.001$ ). No hubo diferencias significativas en el Incremento Absoluto (IA DIA:  $6.17 \pm 7.66$  vs CON:  $9.90 \pm 4.00$  mg/dl;  $p$  NS) ni en el Incremento Porcentual (IP DIA:  $4.68 \pm 5.85$  vs CON:  $12.38 \pm 4.53$  %;  $p$  NS) sobre el nivel de glucosa a los 0 minutos. El Área Bajo la

## *Resultados*

Curva de Respuesta fue superior también en diabéticos, tanto cuando se valoró en conjunto (AUC de Respuesta, DIA:  $17968.67 \pm 5130.43$  vs CON:  $8621.70 \pm 231.85$  mg/dl/120 minutos;  $p < 0.001$ ) como por intervalos (AUC de Respuesta 0 a 60 MINUTOS, DIA:  $9065.83 \pm 2629.18$  vs CON:  $4199.50 \pm 103.22$  mg/dl/60 minutos;  $p < 0.001$  y AUC de Respuesta 60 a 120 MINUTOS, DIA:  $8903.17 \pm 2510.19$  vs CON:  $4422.30 \pm 142.54$  mg/dl/60 minutos;  $p < 0.001$ ).

Las diferencias en términos porcentuales entre diabéticos y controles fueron: 107 % mayor en el PM, 108 % mayor en AUC de Respuesta, 38 % menor en IA y 62 % menor en IP.

## Resultados

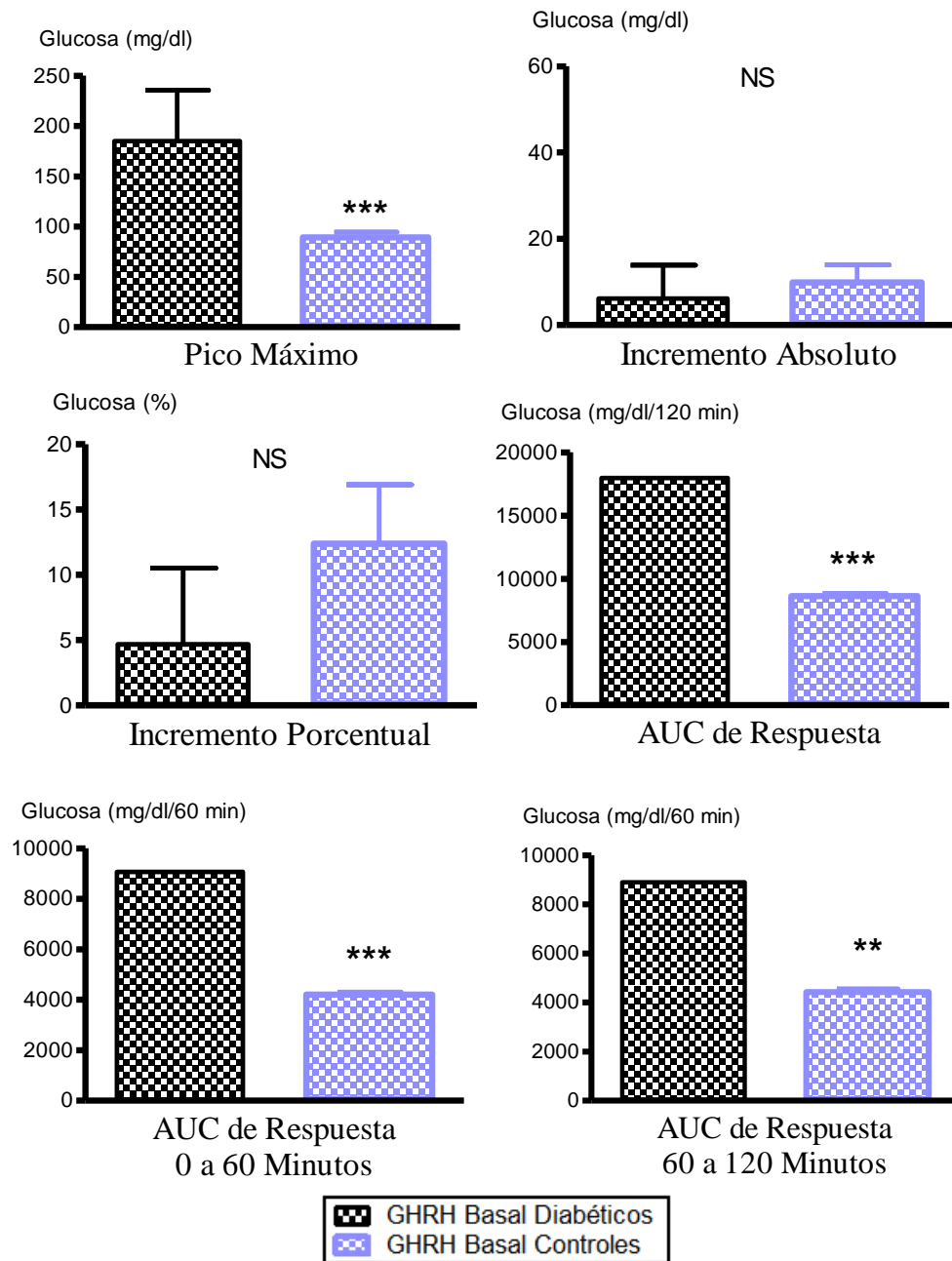


FIGURA 42. Test GHRH Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Parámetros de Respuesta de Glucosa (\*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; NS:  $p \text{ NS}$ ).

Las Áreas Bajo la Curva de glucosa fueron significativamente mayores en diabéticos que en controles para todos los intervalos evaluados: AUC TOTAL (DIA:  $31827 \pm 8961$  vs CON:  $14928 \pm 383$  mg/dl/180 minutos;  $p < 0.001$ ), AUC de -60 a 0 MINUTOS (DIA:  $10994 \pm 3059$  vs CON:  $5036 \pm 133$  mg/dl/60 minutos;  $p < 0.001$ ), AUC 0 a 60 MINUTOS (DIA:  $10498 \pm 3033$  vs CON:  $4835 \pm 122$  mg/dl/60 minutos;  $p < 0.001$ ) y

## Resultados

AUC 60 a 120 MINUTOS (DIA:  $10335 \pm 2908$  vs CON:  $5058 \pm 158$  mg/dl/60 minutos;  $p < 0.001$ ). El AUC TOTAL fue un 118 % superior en diabéticos (Figura 43).

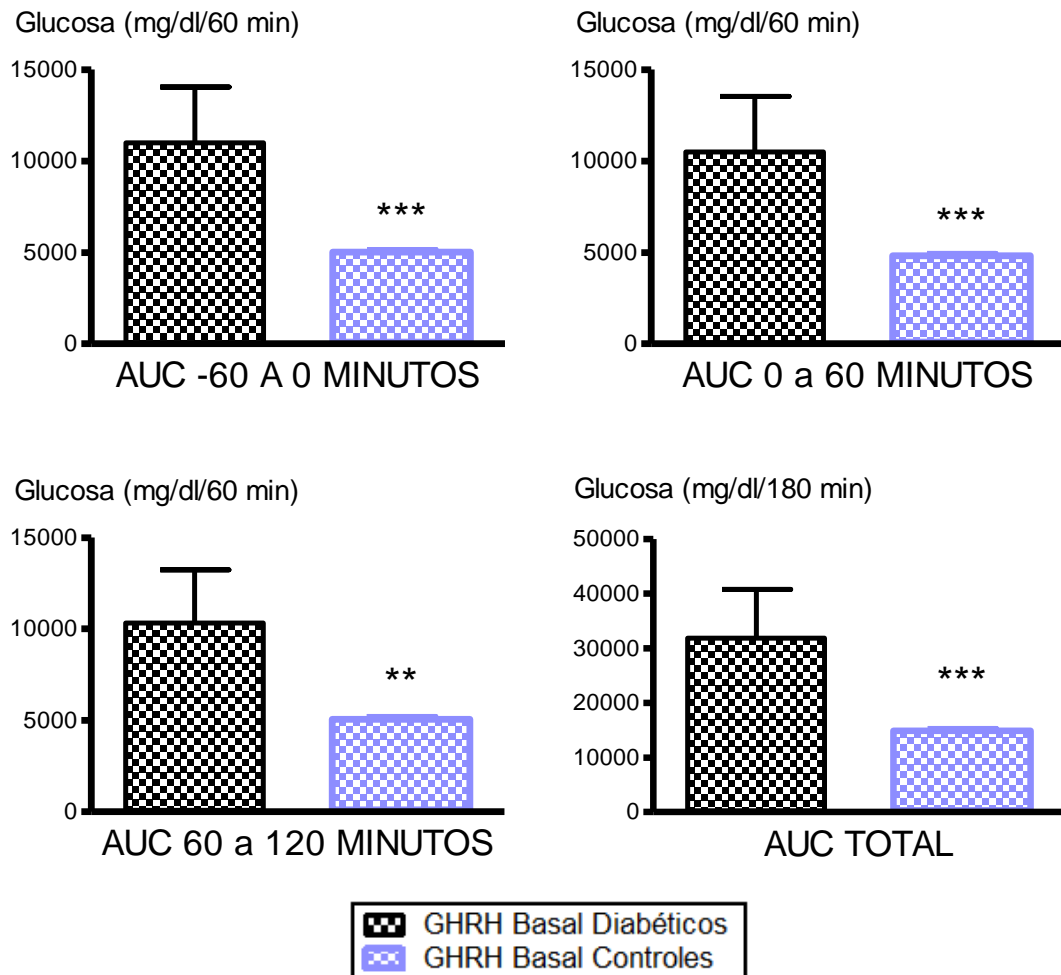


FIGURA 43. Test GHRH Basal. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (\*\* :  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $< 0.001$ ).

En diabéticos, la glucemia mostró una correlación positiva con la microalbuminuria. No hubo correlación con la GH.

En controles, hubo una correlación positiva con el peso y el IMC. No hubo correlación con los niveles de GH.

### **3. TESTS GHRH**

#### **3.2. EFECTO DE LA MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A GHRH**

#### **TEST GHRH PIRIDOSTIGMINA**





### **3.2.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

#### **3.2.1.1. GH**

En los fumadores, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la secreción de GH, como se observó al evaluar la diferencia existente entre la concentración de GH medida en 0 minutos y el Pico Máximo (PM) obtenido (0 minutos:  $7.31 \pm 3.94$  vs PM:  $34.01 \pm 6.27$  ng/ml;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los + 15 y + 60 minutos.

La administración de GHRH en los no fumadores estimuló los niveles de GH, al observarse la presencia de una diferencia estadísticamente significativa entre el nivel medido a 0 minutos y el PM (0 minutos:  $10.18 \pm 9.99$  vs PM:  $23.32 \pm 8.40$  ng/ml;  $p < 0.01$ ), que tuvo lugar entre los minutos + 15 y + 30.

Diez de los valores puntuales, todos los parámetros de respuesta, excepto el incremento porcentual, y todas las áreas de secreción de GH, excepto AUC – 60 a 0 MINUTOS, fueron mayores en fumadores, no demostrándose diferencias significativas entre ambos grupos. Ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

En fumadores no se demostró correlación entre los niveles de GH y las glucemias. En los no fumadores, por el contrario, hubo una correlación negativa entre ambos.

#### **3.2.1.2. GLUCOSA**

En los fumadores, la administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de glucemia al evaluar la diferencia existente entre la concentración de glucosa medida a 0 minutos y el Pico Máximo

## *Resultados*

(PM) observado (0 minutos:  $84.40 \pm 3.57$  vs PM:  $91.60 \pm 3.53$  mg/dl;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los - 30 y +120 minutos. Por el contrario en los no fumadores no se produjeron modificaciones en los niveles de glucemia.

Todos los valores puntuales, todos los parámetros de respuesta, excepto el IA y el IP, y todas las áreas de secreción de glucosa fueron mayores en fumadores, pero sólo se demostró una diferencia significativa en los minutos + 90 (FUM:  $88.80 \pm 3.23$  vs NFU:  $78.40 \pm 2.93$  mg/dl), + 105 (FUM:  $89.60 \pm 3.12$  vs NFU:  $78.00 \pm 3.00$  mg/dl) y + 120 (FUM:  $91.20 \pm 3.57$  vs NFU:  $79.40 \pm 2.86$  mg/dl). A pesar de estas diferencias en tres valores puntuales de glucemia, ambos grupos se consideraron similares para compararlos como grupo control frente al grupo de diabéticos.

### **3.2.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

#### **3.2.2.1. GH**

En los diabéticos, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la secreción de GH, como se observó al evaluar la diferencia existente entre la concentración de GH medida en 0 minutos y el Pico Máximo (PM) obtenido (0 minutos:  $5.04 \pm 2.97$  vs PM:  $66.67 \pm 26.48$  ng/ml;  $p < 0.05$ ), que ocurrió entre los +15 y + 60 minutos.

La administración de GHRH en los controles también estimuló los niveles de GH, al observarse la presencia de una diferencia estadísticamente significativa entre el nivel medido a 0 minutos y el PM (0 minutos:  $8.75 \pm 5.09$  vs PM:  $28.67 \pm 6.16$  ng/ml;  $p < 0.01$ ), que tuvo lugar entre los +15 y + 60 minutos.

## Resultados

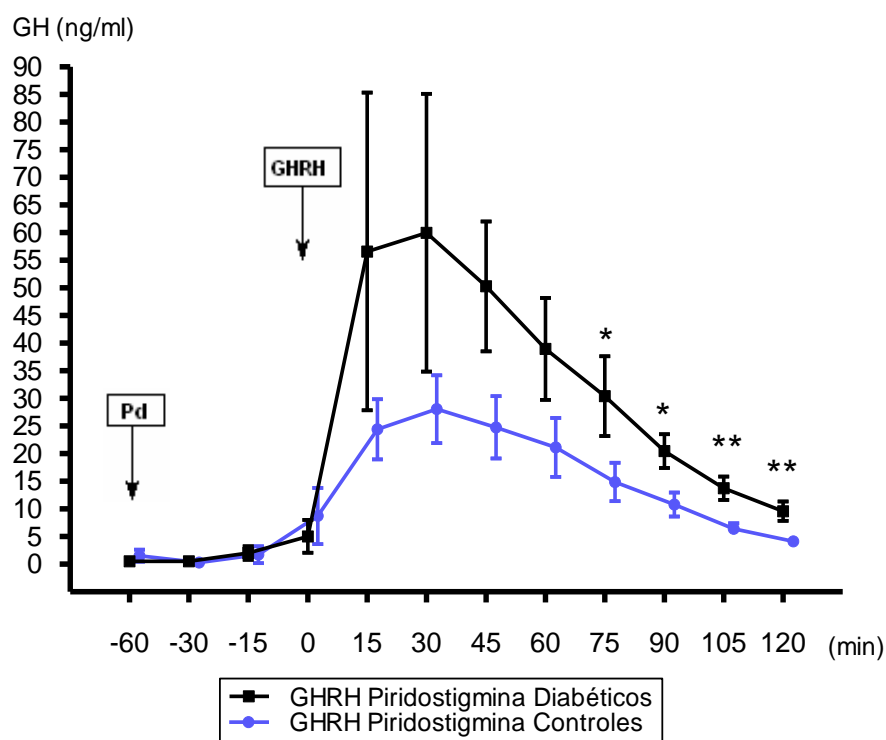


FIGURA 44. Test GHRH Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.001$ ).

No se observó correlación significativa del valor de GH previo a la administración de GHRH (GH a 0 minutos) con ninguno de los Parámetros de Respuesta de GH en diabéticos, mientras que en los controles se observaron correlaciones significativas con el PM (Rho: 0.830;  $p < 0.05$ ), el IP (Rho: - 0.952;  $p < 0.001$ ), el AUC de Respuesta (Rho: 0.842;  $p < 0.01$ ) y el AUC de Respuesta 0 a 60 MINUTOS (Rho: 0.830;  $p < 0.01$ ).

Los niveles de GH fueron superiores en diabéticos a partir del minuto 0 (Figura 44), encontrándose diferencias significativas en los tiempos + 75 (DIA:  $30.40 \pm 7.23$  ng/ml vs CON:  $14.88 \pm 3.46$  ng/ml), + 90 (DIA:  $20.47 \pm 3.06$  ng/ml vs CON:  $10.79 \pm 2.18$  ng/ml), +105 (DIA:  $13.75 \pm 2.12$  ng/ml vs CON:  $6.43 \pm 0.97$  ng/ml) y + 120 minutos (DIA:  $9.60 \pm 1.76$  ng/ml vs CON:  $4.16 \pm 0.72$  ng/ml).

## Resultados

Las respuestas de GH a GHRH fueron mayores en diabéticos que en controles (Figura 45) en cuanto al Pico Máximo obtenido, el Incremento Absoluto, el AUC de Respuesta, y los intervalos de Respuesta 0 a 60 y 60 a 120 MINUTOS. Sin embargo esta diferencia fue significativa sólo en el IA (DIA:  $61.63 \pm 24.10$  vs CON:  $19.92 \pm 4.61$  ng/ml;  $p < 0.05$ ), el AUC de Respuesta (DIA:  $4085.83 \pm 1227.86$  ng/ml/120 minutos vs CON:  $1914.46 \pm 385.06$  ng/ml/120 minutos;  $p < 0.05$ ) y el AUC de Respuesta 60 a 120 MINUTOS (DIA:  $1293.27 \pm 237.48$  ng/ml/60 minutos vs CON:  $601.48 \pm 134.89$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ). El Incremento Porcentual no fue significativamente diferente entre diabéticos y controles.

La diferencia en los Parámetros de Respuesta entre diabéticos y controles, en términos porcentuales fue de 209 % mayor en el IA y 113 % mayor en el AUC de Respuesta.

## Resultados

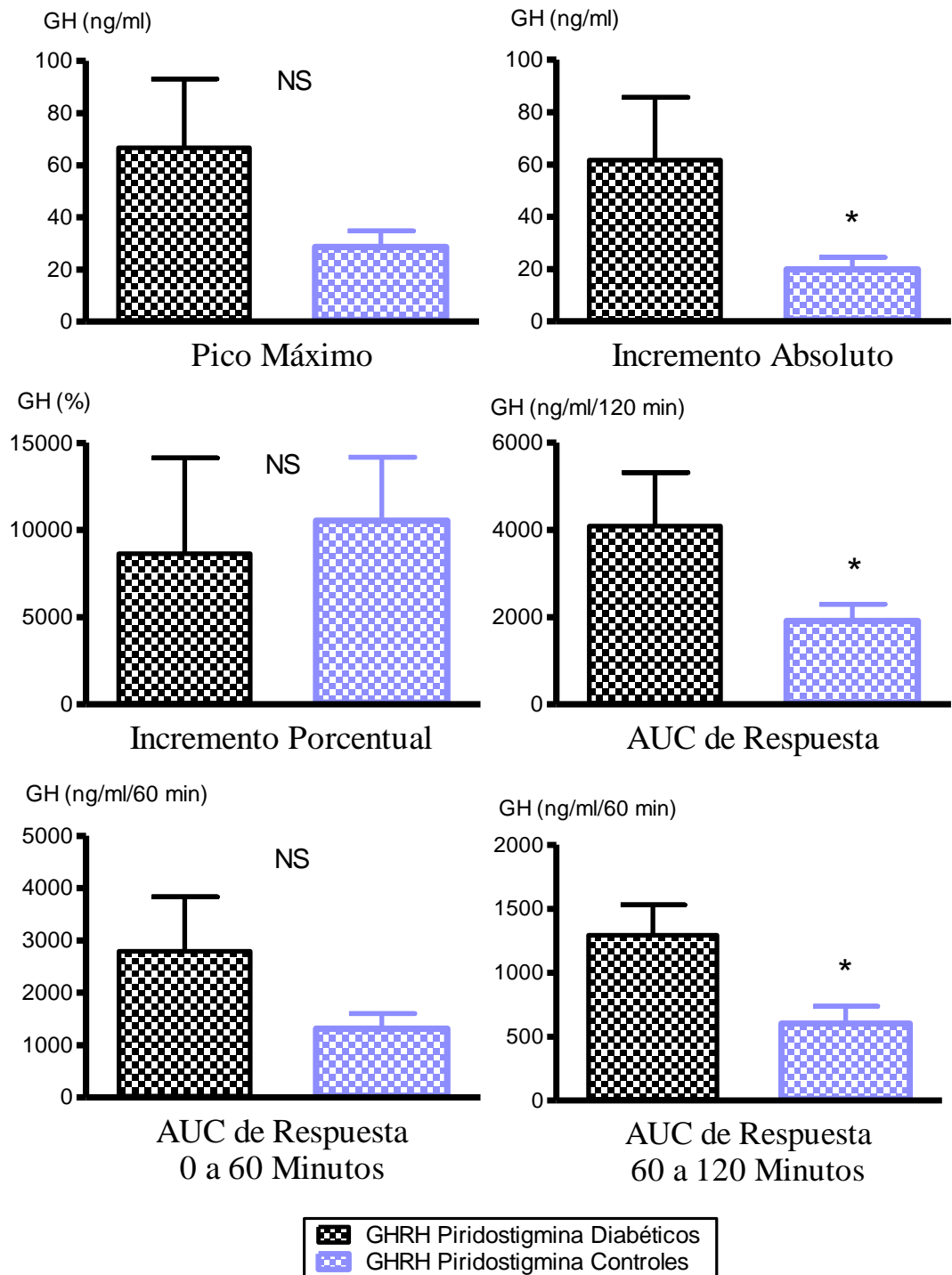


FIGURA 45. Test GHRH Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p \text{ NS}$ ).

## Resultados

Las AUC TOTAL, AUC 0 a 60 MINUTOS y AUC 60 a 120 MINUTOS fueron mayores en diabéticos que en controles (Figura 46), aunque sólo alcanzó significación estadística en el intervalo AUC 60 a 120 MINUTOS (DIA:  $1333.60 \pm 246.70$  ng/ml/60 min. vs CON:  $671.45 \pm 138.73$  ng/ml/60 min.;  $p < 0.05$ ).

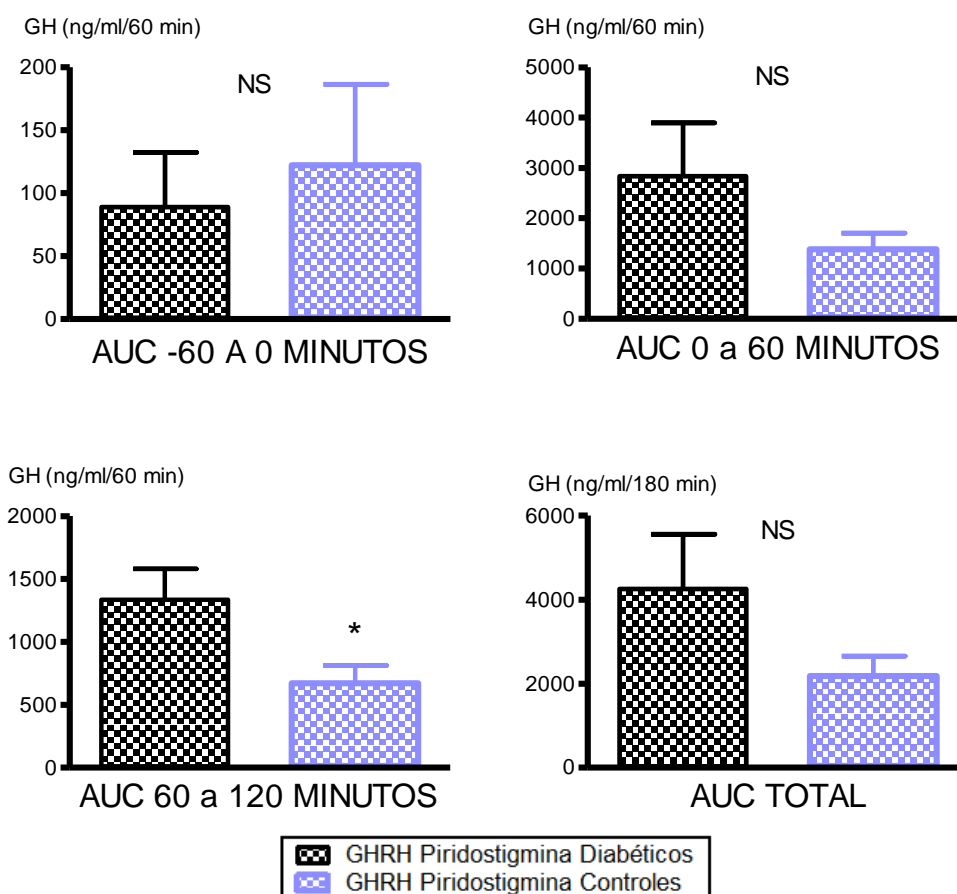


FIGURA 46. Test GHRH Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p \geq 0.05$ ).

En diabéticos, la GH presentó una correlación positiva con la edad. No hubo correlación con la glucemia.

En controles, no hubo correlación con la glucemia.

### **3.2.2.2. GLUCOSA**

En los diabéticos, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la concentración de glucosa, como se observó al evaluar la diferencia existente entre la concentración de glucosa medida en el minuto 0 y el Pico Máximo (PM) obtenido (0 minutos:  $135 \pm 29.37$  vs PM:  $142.83 \pm 28.93$  mg/dl;  $p < 0.05$ ), que tuvo lugar entre los -60 y + 15 minutos.

En los controles se observó también un aumento al evaluar la diferencia existente entre la concentración de glucosa medida en el minuto 0 y el Pico Máximo (PM) observado (0 minutos:  $83.30 \pm 2.79$  vs PM:  $86.20 \pm 2.93$  mg/dl;  $p < 0.01$ ), que tuvo lugar entre los -60 y +120 minutos.

No se observó correlación significativa del valor de glucosa previo a la administración de GHRH (glucosa a 0 minutos) con ninguno de los Parámetros de Respuesta de glucosa ni en diabéticos ni en controles.

Los niveles medios de glucosa (Figura 47) fueron superiores en diabéticos en todos los puntos, aunque sólo se demostró una diferencia significativa en el punto - 60 minutos (DIA:  $150.00 \pm 27.44$  mg/dl vs CON:  $83.30 \pm 2.25$  mg/dl;  $p < 0.05$ ).



## Resultados

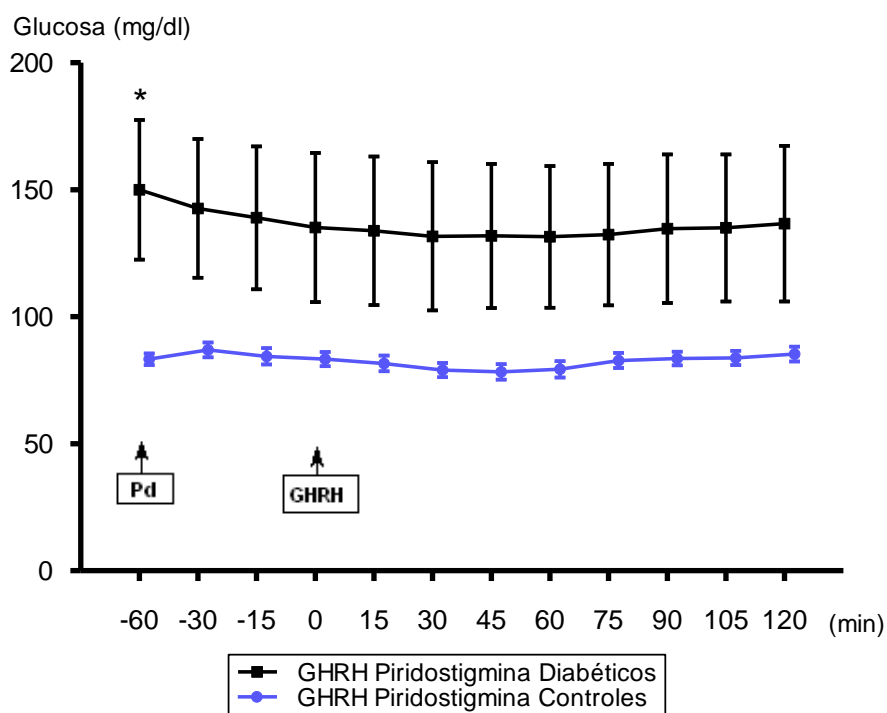


FIGURA 47. Test GHRH Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (\*:  $p < 0.05$ ).

Los niveles de glucosa tras la administración de GHRH fueron mayores en diabéticos que en controles considerando el Pico Máximo obtenido (DIA:  $142.83 \pm 28.93$  vs CON:  $86.20 \pm 2.93$  mg/dl;  $p < 0.05$ ). No hubo diferencias significativas en los otros parámetros de respuesta (Figura 48).

La diferencia en términos porcentuales en el PM de glucosa fue de 66 % mayor en diabéticos.

## Resultados

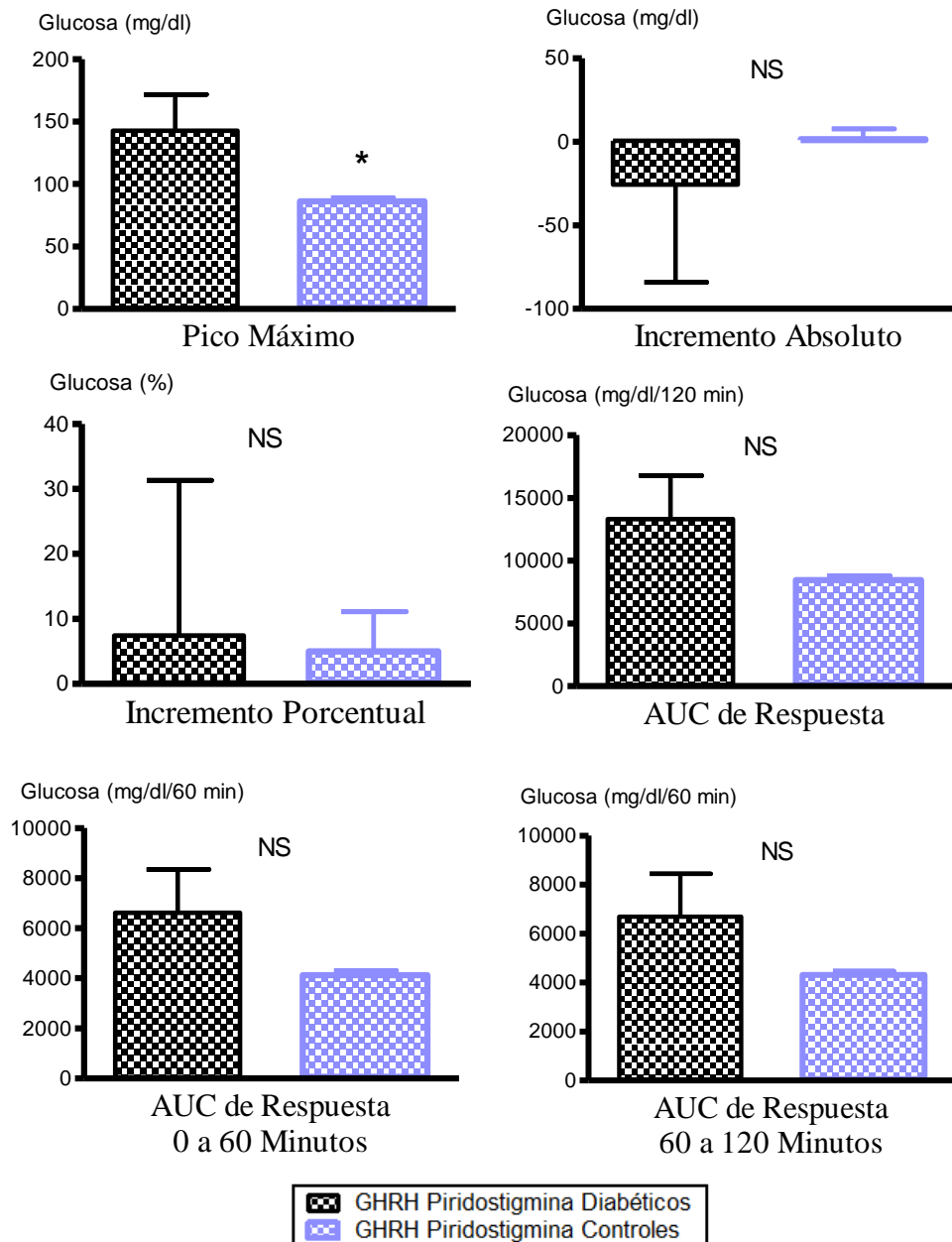


FIGURA 48. Test GHRH Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Parámetros de Respuesta de Glucosa (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p \geq 0.05$ ).

Las Áreas Bajo la Curva (AUC) de glucosa fueron mayores en diabéticos que en controles, pero las diferencias no fueron significativas en ninguno de los intervalos de tiempo analizados (Figura 49).

## Resultados

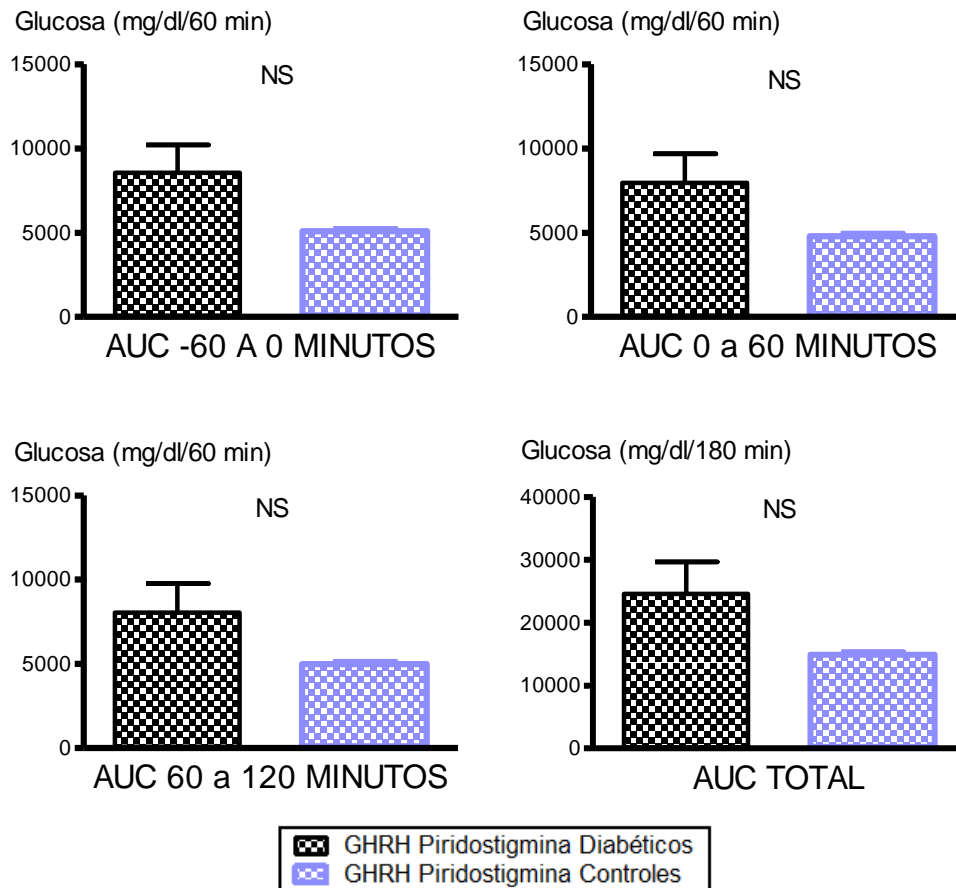


FIGURA 49. Test GHRH Piridostigmina. Comparación Diabéticos vs Controles. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

En diabéticos, la glucemia mostró una correlación positiva con la microalbuminuria. No hubo correlación con la GH.

En controles, no hubo correlación con el cortisol ni con la GH.

### **3. TESTS GHRH**

#### **3.3. EFECTO DE LA MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A GHRH**

#### **TEST GHRH BASAL VERSUS TEST GHRH PIRIDOSTIGMINA**



### **3.3.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS CONTROLES NO FUMADORES**

#### **3.3.1.1. EN FUMADORES**

##### **3.3.1.1.1. GH**

Tras la administración de piridostigmina, todos los valores de GH fueron superiores respecto al test basal (GPB), pero la diferencia alcanzó significación estadística sólo en los minutos + 15 (GPB:  $13.75 \pm 8.07$  vs GPD:  $27.59 \pm 7.00$  ng/ml), + 30 (GPB:  $12.88 \pm 6.08$  vs GPD:  $33.57 \pm 9.12$  ng/ml), + 45 (GPB:  $11.65 \pm 4.83$  vs GPD:  $29.56 \pm 8.33$  ng/ml) y + 120 (GPB:  $1.95 \pm 0.72$  vs GPD:  $5.32 \pm 1.15$  ng/ml).

De los parámetros de respuesta, el PM (GPB:  $15.23 \pm 7.8$  vs GPD:  $34.01 \pm 9.27$  ng/ml), el AUC de respuesta (GPB:  $951.47 \pm 394.35$  vs GPD:  $2328.58 \pm 622.93$  ng/ml/120 min.) y el AUC de respuesta 0 a 60 (GPB:  $647.82 \pm 307.79$  vs GPD:  $1555.65 \pm 423.46$  ng/ml/60 min.) fueron significativamente mayores tras la administración de PD, al igual que el AUC TOTAL (GPB:  $979.90 \pm 391.69$  vs GPD:  $2561.20 \pm 680.06$  ng/ml/180 min.) y el AUC 0-60 MINUTOS (GPB:  $654.88 \pm 306.60$  vs GPD:  $1614.16 \pm 441.68$  ng/ml/60 minutos).

En fumadores no se demostró correlación entre los niveles de GH y las glucemias. En los no fumadores, por el contrario, hubo una correlación negativa entre ambos.

##### **3.3.1.1.2. GLUCOSA**

La administración de piridostigmina no modificó de forma significativa los valores puntuales, los parámetros de respuesta ni las áreas de secreción.

### **3.3.1.2. EN NO FUMADORES**

#### **3.3.1.2.1. GH**

Tras la administración de piridostigmina, todos los valores de GH fueron superiores respecto al test basal (GPB), pero la diferencia alcanzó significación estadística sólo en los minutos + 90 (GPB:  $3.62 \pm 0.74$  vs GPD:  $8.55 \pm 1.46$  ng/ml) y + 105 (GPB:  $2.23 \pm 0.52$  vs GPD:  $5.34 \pm 1.09$  ng/ml).

Todos los parámetros de respuesta, excepto el incremento porcentual, y todas las áreas de secreción fueron mayores tras PD, pero no alcanzaron significación estadística.

#### **3.3.1.2.2. GLUCOSA**

La administración de piridostigmina no modificó de forma significativa los valores puntuales, los parámetros de respuesta ni las áreas de secreción.

### **3.3.1.3. COMPARACIÓN ENTRE FUMADORES Y NO FUMADORES**

#### **3.3.1.3.1. RESPUESTAS DE GH A GHRH**

##### **3.3.1.3.1.1. PICO MÁXIMO (PM)**

En cuanto al Pico Máximo, la administración de piridostigmina determinó un incremento porcentual mayor en fumadores que en no fumadores respecto al test basal, aunque la diferencia no fue significativa (FUM:  $276.92 \pm 133.68$  % vs NFU:  $233.38 \pm 134.48$  %).

### **3.3.1.3.1.2. INCREMENTO ABSOLUTO (IA)**

Igualmente ocurrió con el Incremento Absoluto: la administración de piridostigmina se asoció a un aumento porcentual en ambos grupos, que fue mayor en fumadores que en no fumadores, cuando se comparó al test basal, aunque la diferencia tampoco fue significativa (FUM:  $357.51 \pm 197.48$  % vs NFU:  $94.63 \pm 86.31$  %).

### **3.3.1.3.1.3. INCREMENTO PORCENTUAL (IP)**

El Incremento Porcentual tras la administración de piridostigmina fue positivo en fumadores y negativo en no fumadores, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística (FUM:  $140.83 \pm 145.09$  % vs NFU:  $- 5.02 \pm 42.08$  %).

### **3.3.1.3.1.4. AUC DE RESPUESTA**

La administración de piridostigmina determinó un aumento porcentual del AUC de Respuesta mayor en fumadores que en no fumadores, aunque no significativo, cuando se comparó con el test basal (FUM:  $304.66 \pm 152.69$  % vs NFU:  $207.36 \pm 112.46$  %).

### **3.3.1.3.2. RESPUESTAS DE GLUCOSA GHRH**

#### **3.3.1.3.2.1. PICO MÁXIMO (PM)**

La administración de piridostigmina se asoció a una reducción porcentual de los Picos Máximos de glucosa en ambos grupos cuando se comparó a los niveles basales, siendo la reducción mayor en fumadores (FUM:  $- 2.05 \pm 8.23$  % vs NFU:  $- 1.82 \pm 2.15$  %).



### **3.3.1.3.2.2. INCREMENTO ABSOLUTO (IA)**

En cuanto al IA, la administración de piridostigmina se asoció a una reducción porcentual en fumadores y a un incremento porcentual en no fumadores cuando se les comparó con los valores basales, siendo la diferencia no significativas entre ambos grupos (FUM:  $- 10.12 \pm 153.91$  % vs NFU:  $176.67 \pm 207.07$  %).

### **3.3.1.3.2.3. INCREMENTO PORCENTUAL (IP)**

La administración de piridostigmina vino asociada a un aumento del Incremento Porcentual en ambos grupos, mayor en no fumadores, aunque la diferencia no fue significativa (FUM:  $37.96 \pm 142.15$  % vs NFU:  $244.85 \pm 277.17$  %).

### **3.3.1.3.2.4. AUC DE RESPUESTA**

La administración de piridostigmina se asoció a una reducción porcentual del AUC de Respuesta en no fumadores y a un pequeño aumento en fumadores, siendo la diferencia entre ambos grupos no significativa (FUM:  $0.32 \pm 5.88$  % vs NFU:  $- 4.48 \pm 3.37$  %).

### 3.3.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES

#### 3.3.2.1. EN DIABÉTICOS

##### 3.3.2.1.1. GH

Previamente a la administración de GHRH, el tratamiento con PD no produjo cambios significativos en la concentración de GH (Figura 60). Tras la inyección de GHRH, los niveles medios de GH fueron superiores tras PD que los obtenidos en condiciones basales, si bien sólo alcanzaron significación estadística en los tiempos + 75 (GPB:  $8.04 \pm 2.85$  vs GPD:  $30.40 \pm 7.23$  ng/ml), + 90 (GPB:  $5.66 \pm 1.73$  vs GPD:  $20.47 \pm 3.06$  ng/ml), + 105 (GPB:  $3.78 \pm 0.97$  vs GPD:  $13.75 \pm 2.12$  ng/ml) y +120 minutos (GPB:  $2.57 \pm 0.68$  vs GPD:  $9.60 \pm 1.79$  ng/ml;  $p < 0.05$  en todos los casos).

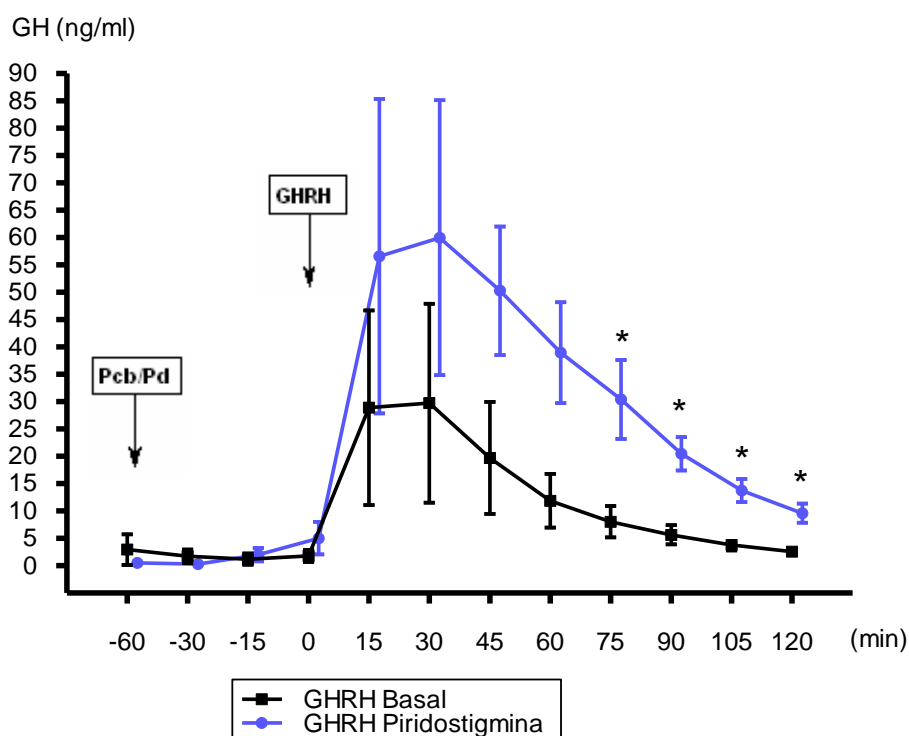


FIGURA 50. Diabéticos. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ).

## Resultados

Todos los Parámetros de Respuesta fueron mayores tras la administración de piridostigmina (Figura 61), si bien sólo se demostró una diferencia significativa en el AUC de Respuesta 60 a 120 MINUTOS (GPB:  $356.29 \pm 63.77$  vs GPD:  $1293.27 \pm 237.48$  ng/ml/60 min.;  $p < 0.05$ ).

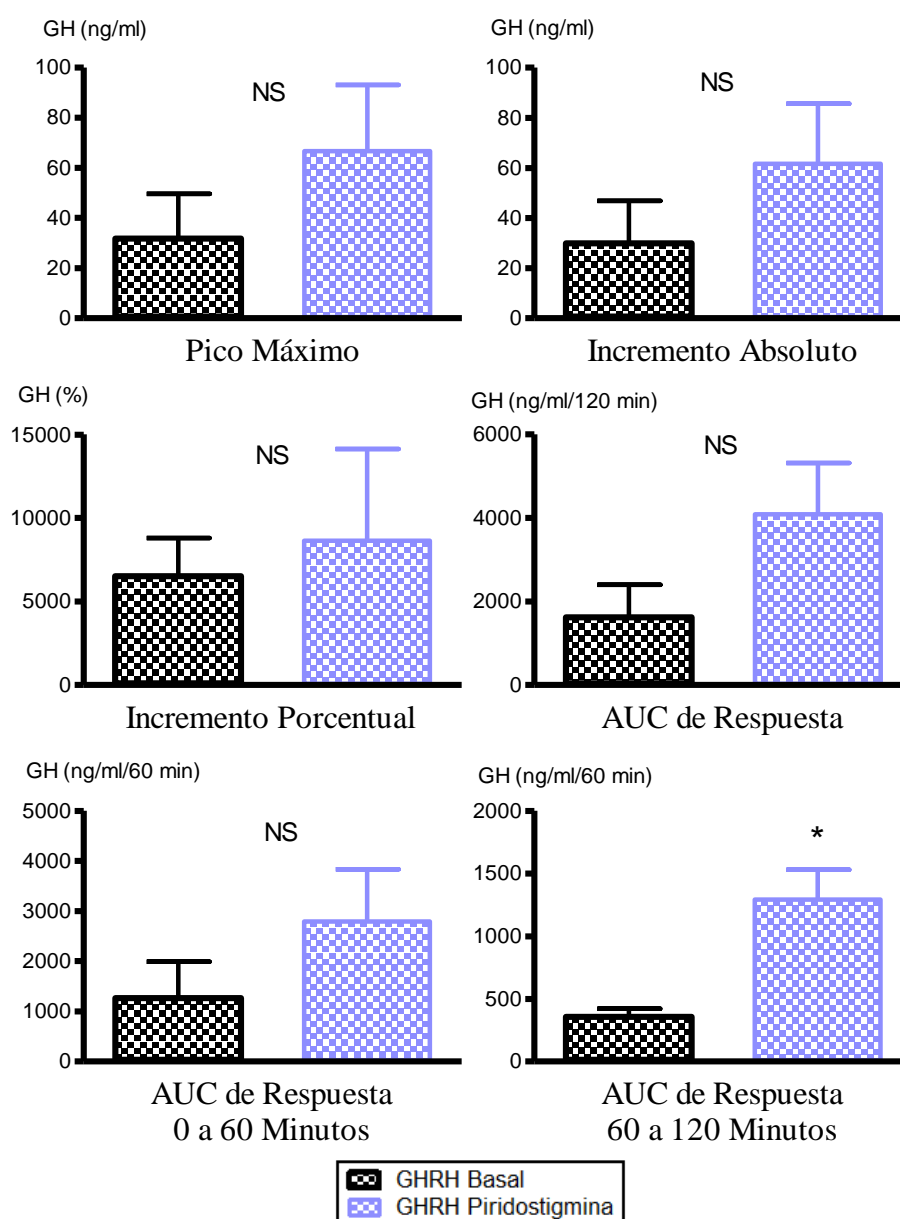


FIGURA 51. Diabéticos. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\* :  $p < 0.05$ ; NS:  $p \geq 0.05$ ).

## Resultados

El AUC 60 a 120 MINUTOS (Figura 52) fue significativamente superior tras PD (GPB:  $370 \pm 70.60$  vs GPD:  $1333.60 \pm 246.70$  ng/ml/60 min;  $p < 0.05$ ). El resto de las AUC, excepto el AUC -60 a 0 MINUTOS, fueron también superiores tras PD, aunque no alcanzaron significación estadística.

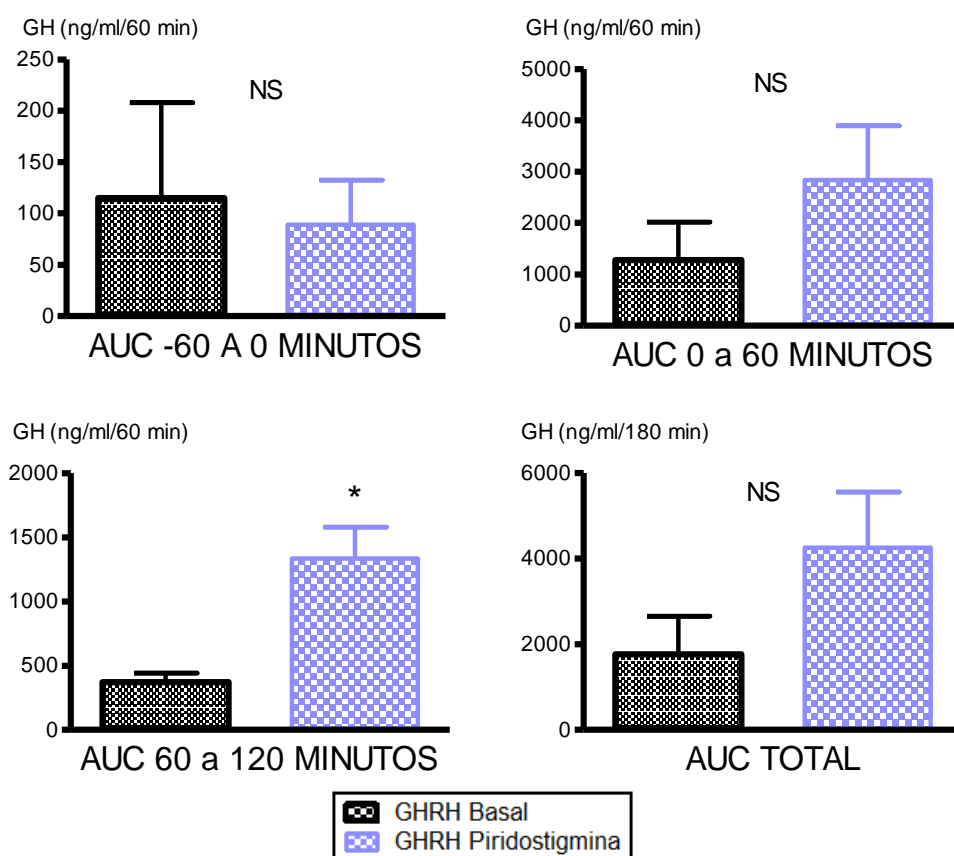


FIGURA 52. Diabéticos. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH ( \* :  $p < 0.05$ ; NS:  $p$  NS ).

### 3.3.2.1.2. GLUCOSA

No se observaron diferencias significativas en los niveles de glucosa ni antes ni después de la administración de piridostigmina en ninguna de las determinaciones realizadas como se representa en la Figura 53.

## Resultados

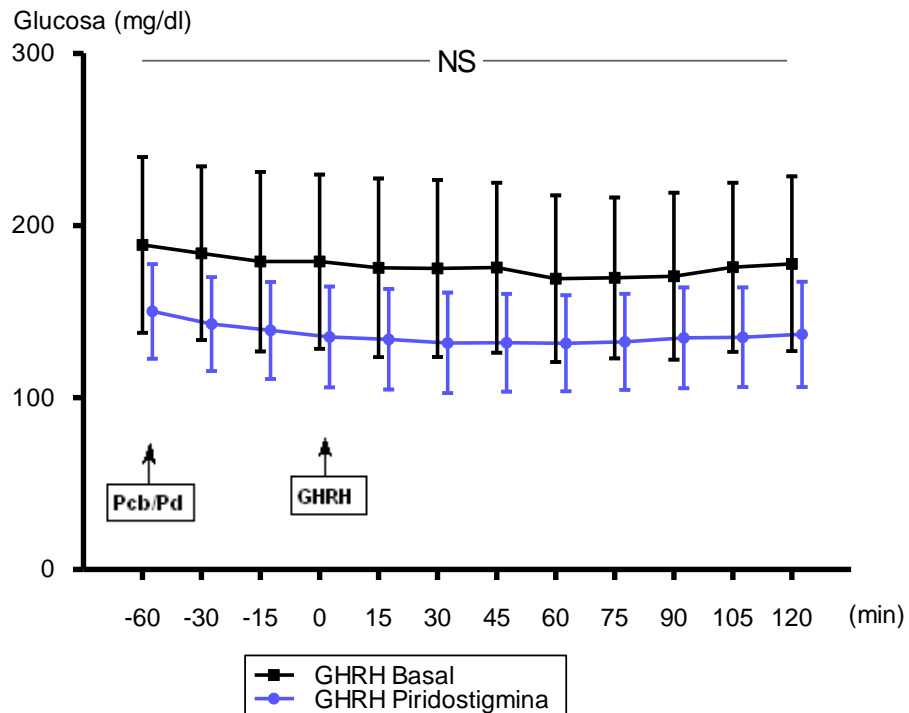


FIGURA 53. Diabéticos. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

Tampoco se observó ninguna diferencia significativa entre ambas pruebas al evaluar los Parámetros de Respuesta de glucosa tras GHRH (Figura 54).

## Resultados

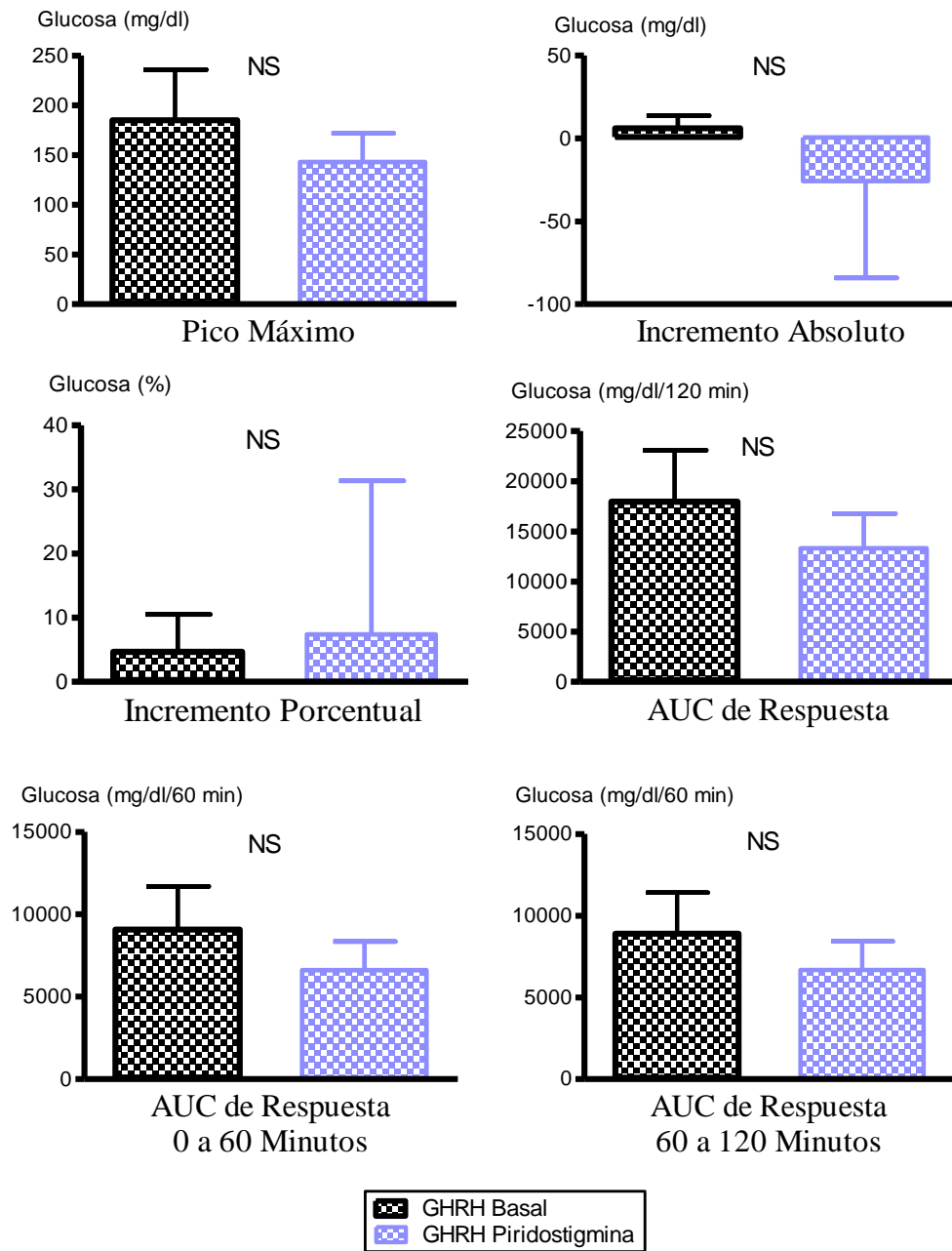


FIGURA 54. Diabéticos. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

El estudio de la secreción integrada de glucosa como Áreas Bajo la Curva mostró la ausencia de diferencias significativas entre ambas pruebas tanto al evaluarlas globalmente como en cada uno de los intervalos de secreción (Figura 55).

## Resultados

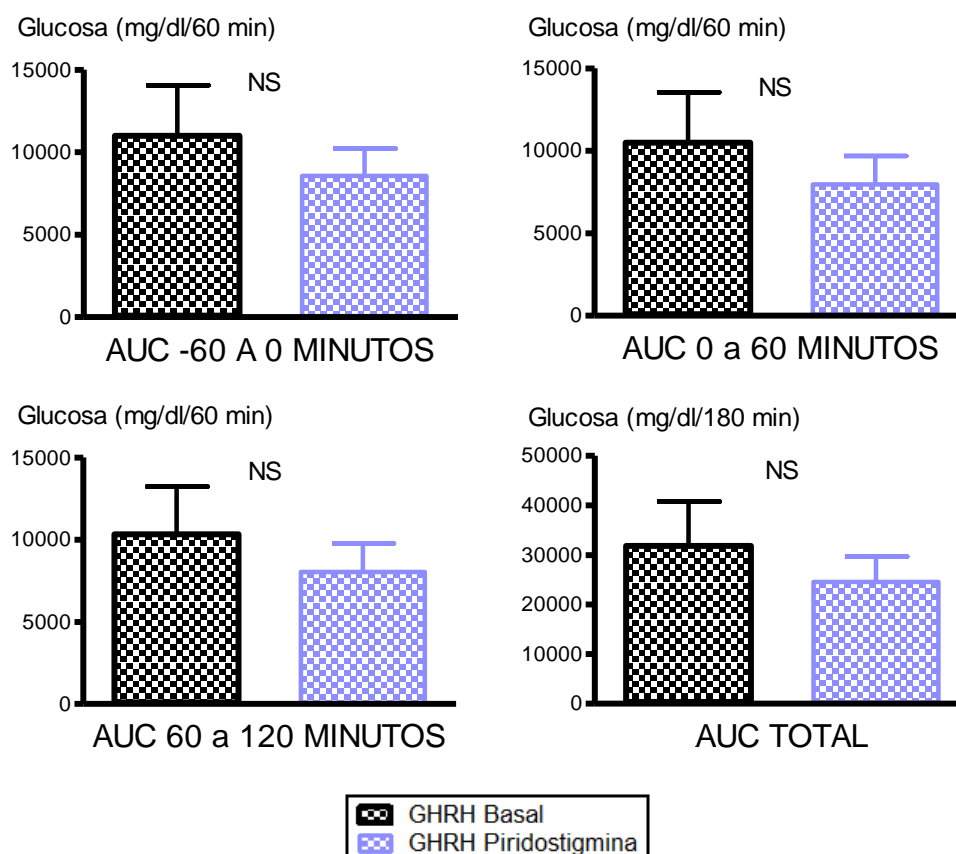


FIGURA 55. Diabéticos. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH ( NS: p NS ).

### 3.3.2.2. EN CONTROLES

#### 3.3.2.2.1. GH

Previamente a la administración de GHRH, el tratamiento con PD aumentó la concentración de GH de forma significativa a los 0 minutos (GPB:  $0.48 \pm 0.31$  vs GPD:  $8.75 \pm 5.09$  ng/ml;  $p < 0.05$ ). Tras la inyección de GHRH (Figura 56), los niveles medios de GH fueron superiores tras PD que los obtenidos en condiciones basales en todos los puntos estudiados: +15 (GPB:  $10.25 \pm 4.07$  vs GPD:  $24.41 \pm 5.44$  ng/ml;  $p < 0.05$ ); +30 (GPB:  $10.20 \pm 3.06$  vs GPD:  $28.07 \pm 6.13$  ng/ml;  $p < 0.05$ ); +45 (GPB:  $9.97 \pm 2.43$  vs GPD:  $24.77 \pm 5.64$  ng/ml;  $p < 0.05$ ); +60 (GPB:  $8.48 \pm 1.77$  vs GPD:  $21.16 \pm 5.32$  ng/ml;  $p < 0.05$ ); +75 (GPB:  $6.32 \pm 1.24$  vs GPD:  $14.88 \pm 3.46$  ng/ml;

## Resultados

$p < 0.05$ ); +90 (GPB:  $4.18 \pm 0.87$  vs GPD:  $10.79 \pm 2.18$  ng/ml;  $p < 0.01$ ); +105 (GPB:  $2.71 \pm 0.67$  vs GPD:  $6.43 \pm 0.97$  ng/ml;  $p < 0.01$ ) y +120 (GPB:  $1.67 \pm 0.39$  vs GPD:  $16 \pm 0.72$  ng/ml;  $p < 0.01$ ).

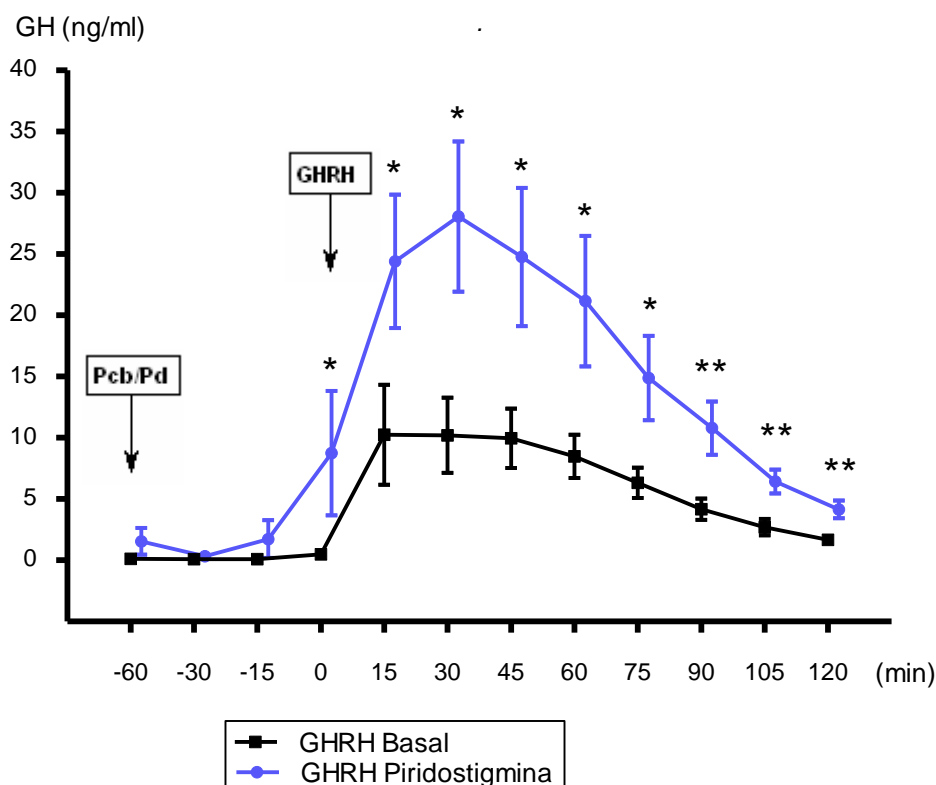


FIGURA 56. Controles. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ).

Todos los Parámetros de Respuesta fueron mayores tras la administración de piridostigmina, excepto el incremento porcentual que fue menor (Figura 57). Las diferencias fueron estadísticamente significativas en el PM (GPB:  $12.12 \pm 3.89$  vs GPD:  $28.67 \pm 6.16$  ng/ml;  $p < 0.05$ ), AUC de Respuesta (GPB:  $789.93 \pm 200.65$  vs GPD:  $1914.46 \pm 385.06$  ng/ml/120 min.;  $p < 0.05$ ), AUC 0 a 60 (GPB:  $519.64 \pm 154.74$  vs GPD:  $1313.04 \pm 290.87$  ng/ml/60 min.;  $p < 0.05$ ) y AUC 60 a 120 MINUTOS (GPB:  $270.35 \pm 56.34$  vs GPD:  $601.48 \pm 134.89$  ng/ml/60 min.;  $p < 0.05$ ).



## Resultados

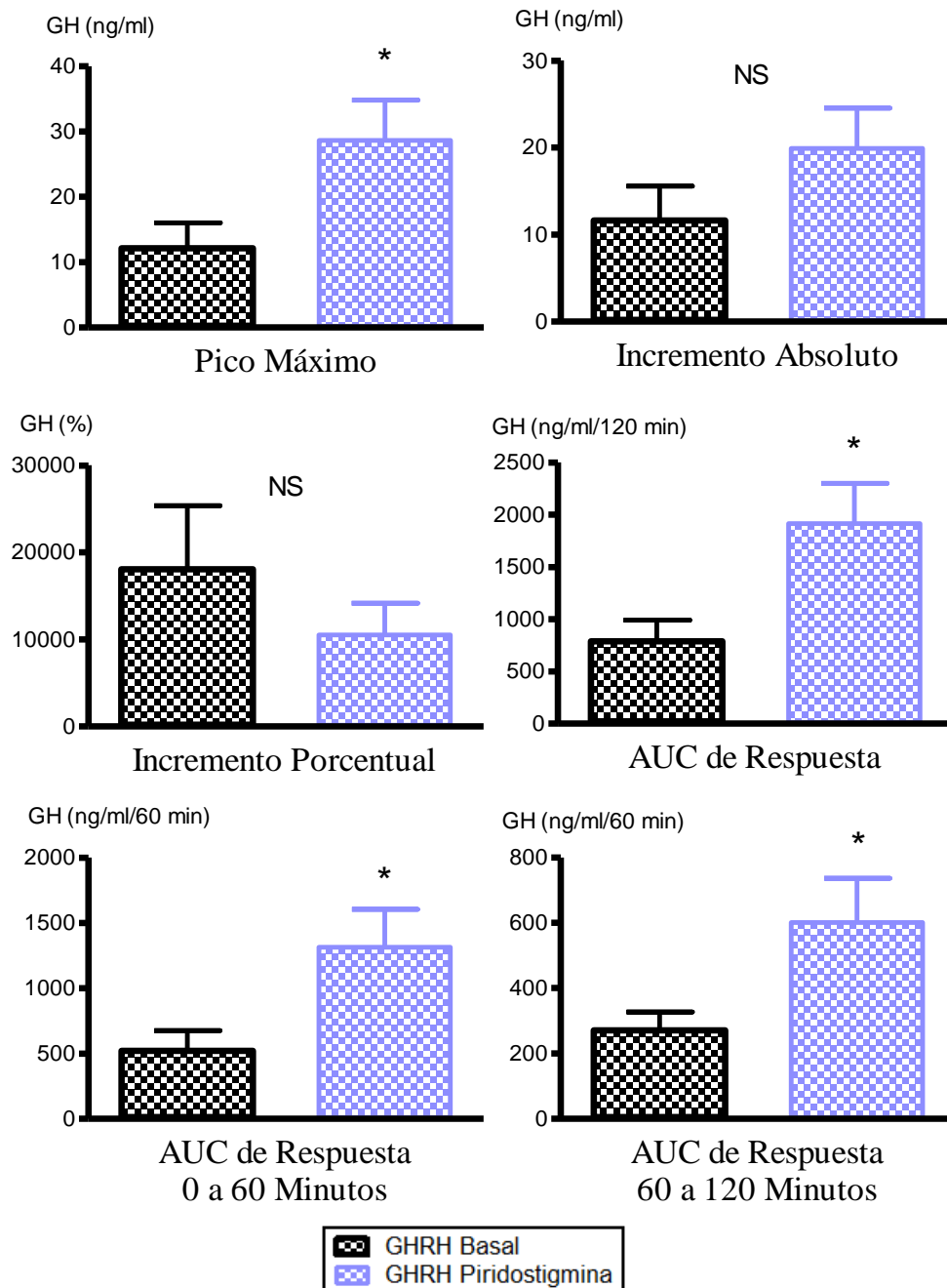


FIGURA 57. Controles. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p \text{ NS}$ ).

El AUC TOTAL (Figura 58) fue significativamente mayor tras piridostigmina (GPB:  $807.07 \pm 200.75$  vs GPD:  $2176.72 \pm 479.33$  ng/ml/180 min.;  $p < 0.05$ ), siendo en términos porcentuales un 169 % mayor. Este aumento tuvo lugar en los intervalos de -60 a 0 (GPB:  $9.38 \pm 2.87$  vs GPD:  $122.26 \pm 64.19$  ng/ml/60 min;  $p < 0.05$ ), 0 a 60 (GPB:  $523.50 \pm 154.52$  vs

## Resultados

GPD:  $1383.01 \pm 320.75$  ng/ml/60 min.;  $p < 0.05$ ) y 60 a 120 MINUTOS (GPB:  $274.22 \pm 55.49$  vs GPD:  $671.45 \pm 138.73$  ng/ml/60 min.;  $p < 0.05$ ).

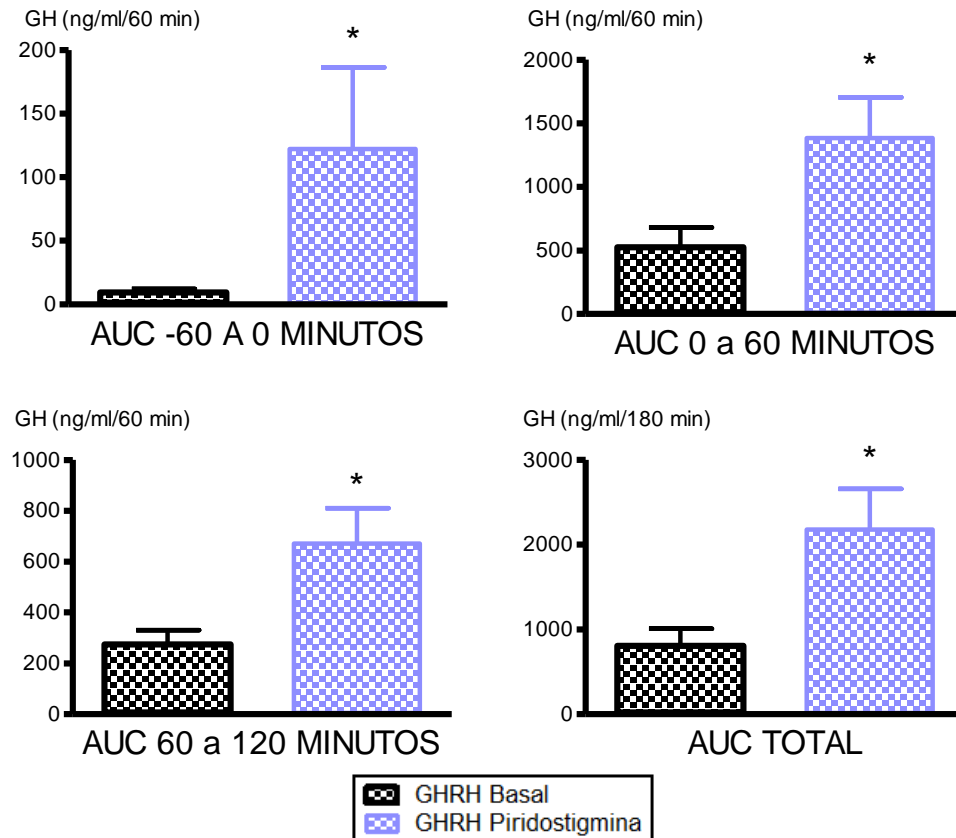


FIGURA 58. Controles. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\* :  $p < 0.05$ ).

### 3.3.2.2.2. GLUCOSA

No se observaron diferencias significativas en los niveles de glucosa medidos en situación basal y tras piridostigmina en ninguna de las determinaciones realizadas como se representa en la Figura 59.

## Resultados

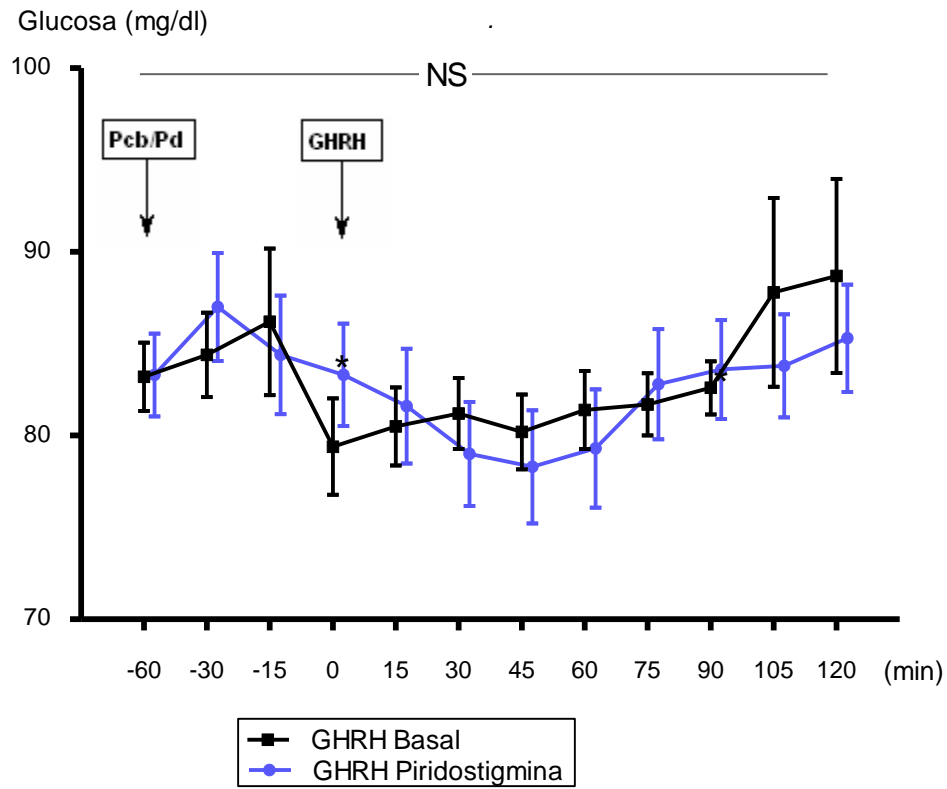


FIGURA 59 . Controles. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

## Resultados

Tampoco se observaron diferencias significativas entre ambas pruebas al evaluar los Parámetros de Respuesta de glucosa tras GHRH (Figura 60).

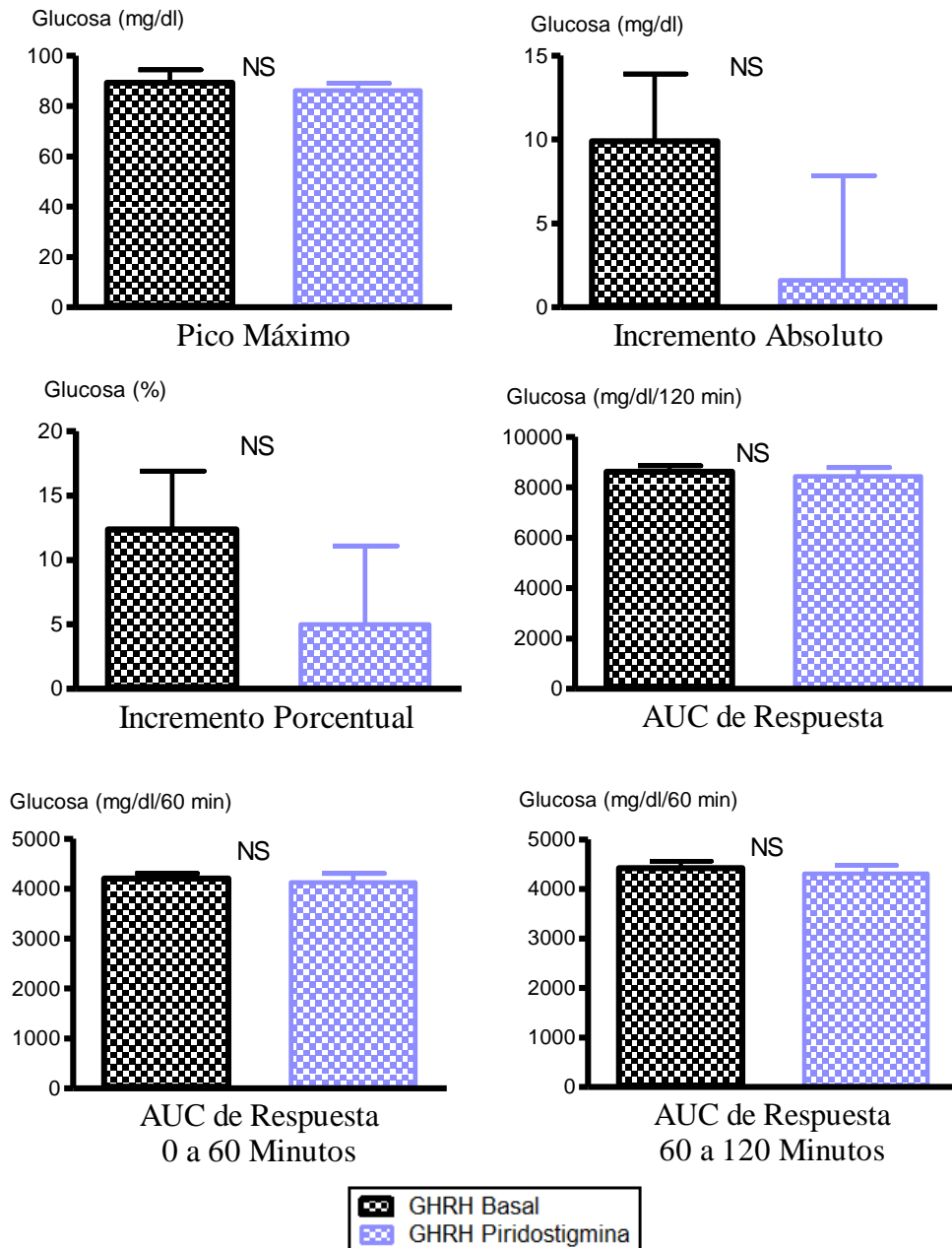


FIGURA 60. Controles. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

## Resultados

El estudio de las Áreas Bajo la Curva no mostró diferencias significativas entre ambas pruebas tanto en la evaluación global como en cada uno de los intervalos de secreción (Figura 61).

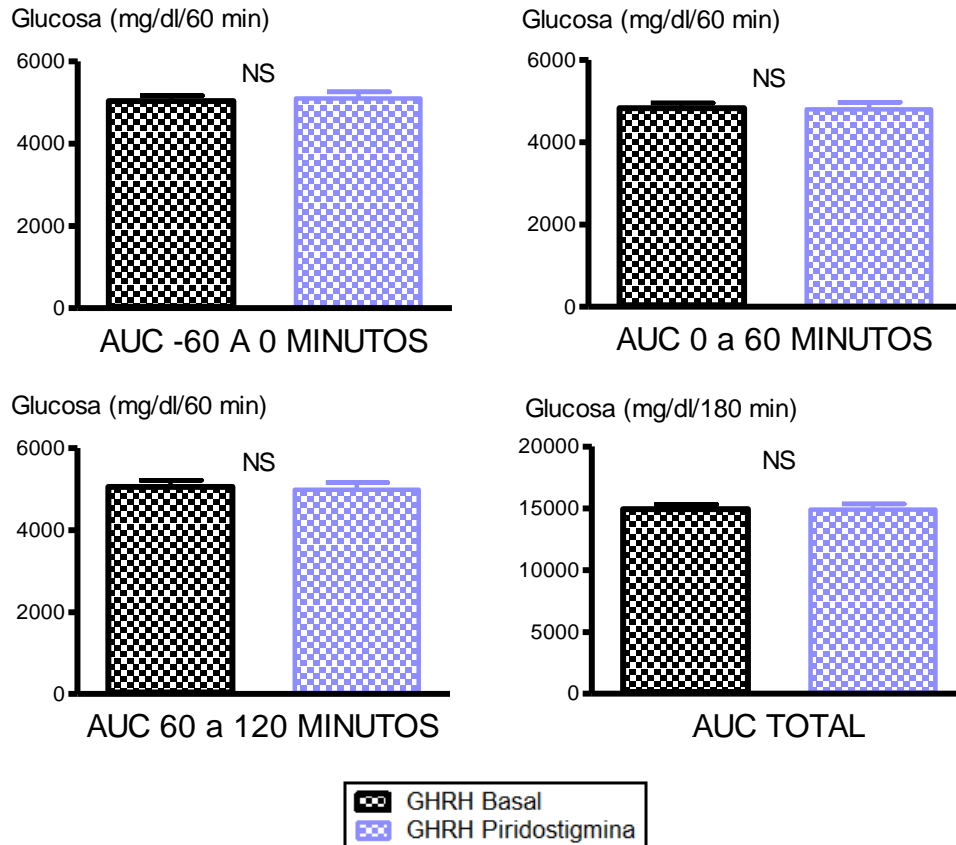


FIGURA 61 . Controles. Comparación Test GHRH Basal vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa ( NS: p NS ).

### **3.3.2.3. COMPARACIÓN ENTRE DIABÉTICOS Y CONTROLES**

#### **3.3.2.3.1. RESPUESTAS DE GH A GHRH**

##### **3.3.2.3.1.1. PICO MÁXIMO (PM)**

En cuanto al Pico Máximo (Figura 62), la administración de Piridostigmina determinó un incremento porcentual mayor en diabéticos que en controles cuando se comparó al test basal, aunque la diferencia no fue significativa (DIA:  $383.11 \pm 147.02$  % vs CON:  $255.15 \pm 89.68$  %).

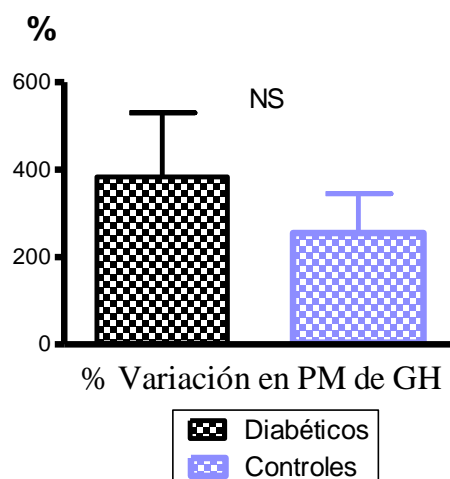


FIGURA 62. Porcentaje de variación en el Pico Máximo de GH entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

##### **3.3.2.3.1.2. INCREMENTO ABSOLUTO (IA)**

Igualmente ocurrió con el Incremento Absoluto (Figura 63), la administración de Piridostigmina se asoció a un aumento porcentual en ambos grupos, que fue mayor en diabéticos que en controles, cuando se comparó al test basal, aunque la diferencia tampoco fue significativa (DIA:  $366.52 \pm 141.49$  % vs CON:  $226.07 \pm 110.64$  %).

## Resultados

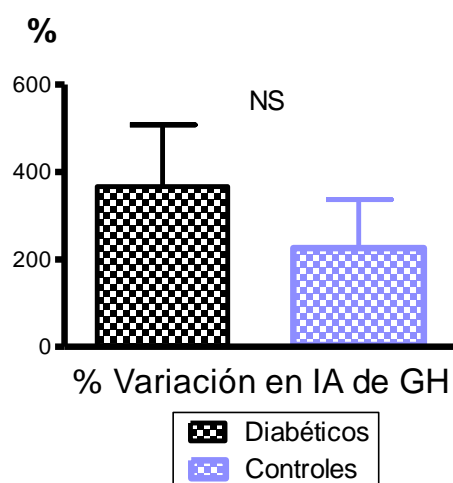


FIGURA 63. Porcentaje de variación en el Incremento Absoluto de GH entre Diabéticos y Controles (NS:  $p > 0.05$ ).

### 3.3.2.3.1.3. INCREMENTO PORCENTUAL (IP)

La respuesta del Incremento Porcentual tras la administración de Piridostigmina con respecto al nivel basal (Figura 64) consistió de un aumento en ambos grupos. Este aumento fue menor en diabéticos que en controles, pero la diferencia no alcanzó significación estadística (DIA:  $63.06 \pm 74.05$  % vs CON:  $67.91 \pm 75.25$  %).

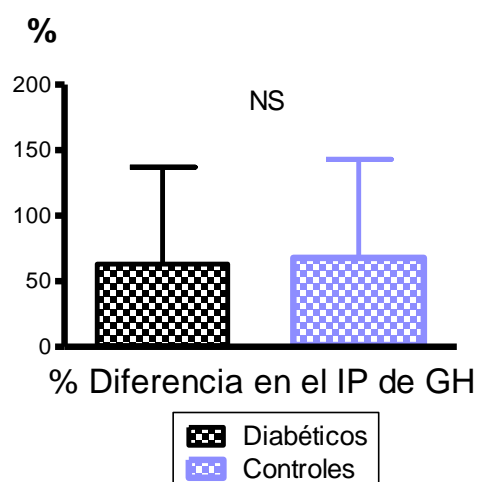


FIGURA 64. Porcentaje de variación en el Incremento Porcentual de GH entre Diabéticos y Controles (NS:  $p > 0.05$ ).

### 3.3.2.3.1.4. AUC DE RESPUESTA

En cuanto al AUC de Respuesta (Figura 65), la administración de Piridostigmina determinó un aumento porcentual mayor en diabéticos que en controles, aunque no significativo, cuando se comparó con el test basal (DIA:  $376.40 \pm 151.14$  % vs CON:  $256.01 \pm 90.85$  %).

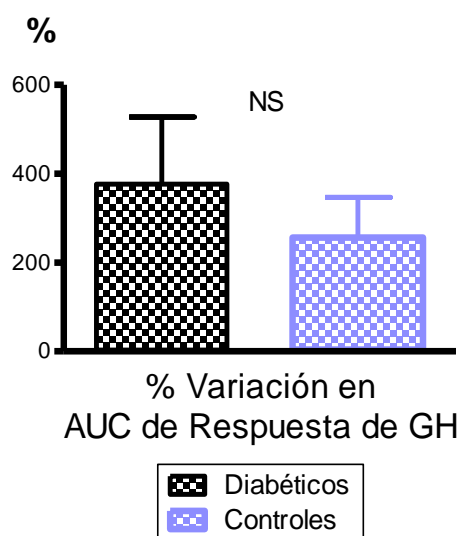


FIGURA 65. Porcentaje de variación en el AUC de Respuesta de GH entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

### 3.3.2.3.2. RESPUESTAS DE GLUCOSA A GHRH

#### 3.3.2.3.2.1. PICO MÁXIMO (PM)

La administración de Piridostigmina (Figura 66) se asoció a una reducción porcentual de los Picos Máximos de glucosa en ambos grupos cuando se comparó a los niveles basales, siendo la reducción mayor en diabéticos que en controles, aunque no significativa (DIA:  $-16.66 \pm 11.63$  % vs CON:  $-1.94 \pm 4.01$  %), aunque no significativa.



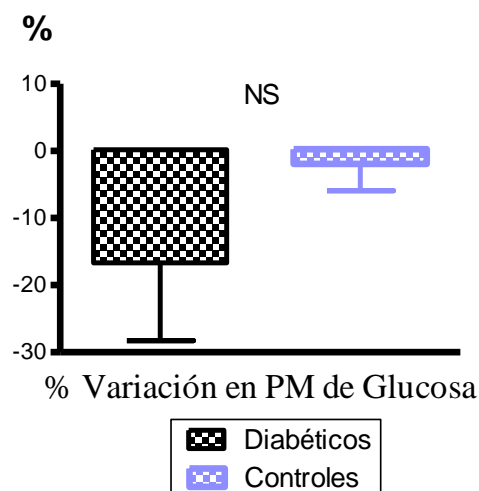


FIGURA 66. Porcentaje de variación en el Pico Máximo de Glucosa entre Diabéticos y Controles. (NS: p NS ).

### 3.3.2.3.2.2. INCREMENTO ABSOLUTO (IA)

En cuanto al Incremento Absoluto (Figura 67), la administración de Piridostigmina se asoció a una reducción porcentual en diabéticos y a un incremento porcentual en controles cuando se les comparó con los valores basales (DIA:  $-1048.71 \pm 1869.08$  % vs CON:  $83.27 \pm 125.54$  %); tampoco hubo diferencias significativas entre ambos grupos.

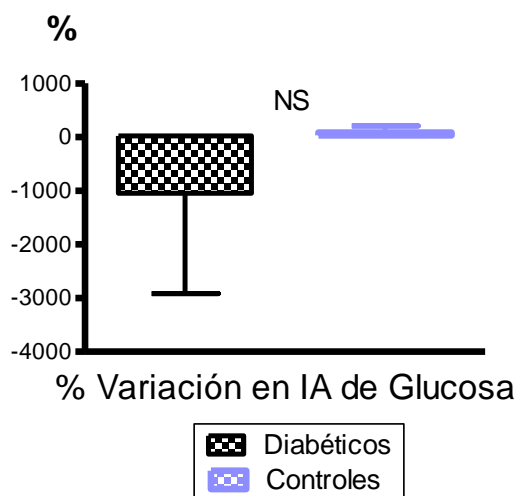


FIGURA 67. Porcentaje de variación en el Incremento Absoluto de Glucosa entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

**3.3.2.3.2.3. INCREMENTO PORCENTUAL (IP)**

La administración de piridostigmina (Figura 68) vino asociada a un aumento del Incremento Porcentual tanto en diabéticos como en controles cuando se comparó con los niveles basales, no demostrándose diferencias significativas entre ambos grupos (DIA:  $1497.38 \pm 2113.12$  % vs CON:  $141.40 \pm 150.84$  %).

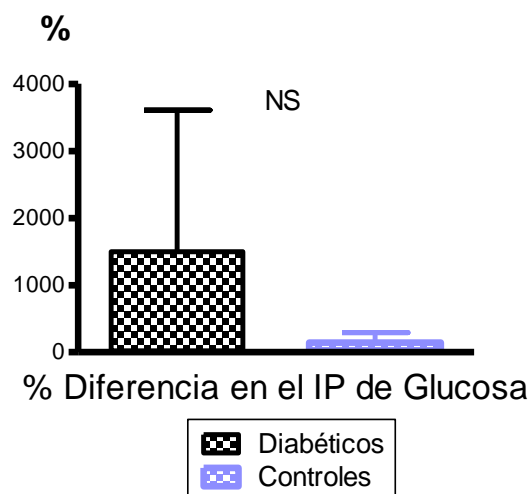


FIGURA 68. Porcentaje de variación en el Incremento Porcentual de Glucosa entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

### 3.3.2.3.2.4. AUC DE RESPUESTA

La administración de piridostigmina se asoció a una reducción porcentual del AUC de Respuesta (Figura 69), tanto en diabéticos como en controles, siendo esta reducción significativamente mayor en diabéticos (DIA:  $-23.59 \pm 10.47$  % vs CON:  $-2.08 \pm 3.29$  %).

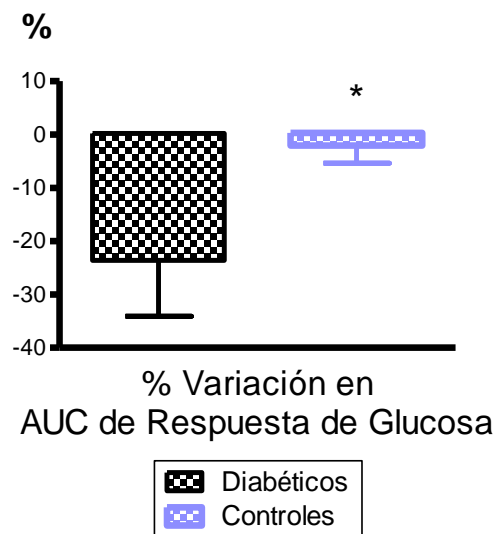


FIGURA 69. Porcentaje de variación en el AUC de Respuesta de Glucosa entre Diabéticos y Controles (\*:  $p < 0.05$ ).

## **4. COMPARACIONES ENTRE TESTS SALINOS Y TESTS GHRH**

### **4.1. SALINO BASAL VERSUS GHRH BASAL**



#### **4.1.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

##### **4.1.1.1. EN FUMADORES**

###### **4.1.1.1.1. GH**

No se demostraron diferencias entre ambas pruebas desde – 60 hasta 0 minutos. La administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de GH a partir del minuto + 15 y se prolongó hasta el minuto + 105.

La administración de GHRH produjo un aumento significativo de las áreas de secreción total y por intervalos desde el minuto 0 al minuto + 120. AUC 0-60 MINUTOS (SPB:  $8.15 \pm 4.49$  vs GPB:  $654.88 \pm 306.60$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ), AUC 60-120 MINUTOS (SPB:  $17.81 \pm 11.58$  vs GPB:  $310.80 \pm 104.79$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ) y AUC TOTAL (SPB:  $42.35 \pm 26.98$  vs GPB:  $979.90 \pm 391.69$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.05$ ).

###### **4.1.1.1.2. GLUCOSA**

La administración de GHRH no se asoció a cambios en la concentración de glucosa ni de sus áreas de secreción.

##### **4.1.1.2. EN NO FUMADORES**

###### **4.1.1.2.1. GH**

El valor de GH fue significativamente mayor en el minuto 0 durante el test salino basal (SPB:  $0.17 \pm 0.07$  vs GPB:  $0.08 \pm 0.04$  ng/ml). La administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de GH a partir del minuto + 15 y se prolongó hasta el minuto + 120.

## *Resultados*

La administración de GHRH produjo un aumento significativo de las áreas de secreción total y por intervalos desde el minuto 0 al minuto + 120. AUC 0-60 MINUTOS (SPB:  $12.06 \pm 4.48$  vs GPB:  $392.12 \pm 69.38$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ), AUC 60-120 MINUTOS (SPB:  $13.04 \pm 5.97$  vs GPB:  $237.64 \pm 46.95$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ) y AUC TOTAL (SPB:  $33.90 \pm 13.32$  vs GPB:  $634.24 \pm 113.97$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.05$ ).

### **4.1.1.2.2. GLUCOSA**

La administración de GHRH no se asoció a cambios en la concentración de glucosa ni a sus áreas de secreción.

### **4.1.1.3. COMPARACION ENTRE FUMADORES Y NO FUMADORES**

#### **4.1.1.3.1. GH**

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total cuando se compararon los test SPB y GPB entre fumadores y no fumadores (FUM:  $3359 \pm 1162$  vs NFU:  $3799 \pm 1016$  %).

#### **4.1.1.3.2. GLUCOSA**

El porcentaje de variación del área de secreción total cuando se compararon los test SPB y GPB entre fumadores y no fumadores no fue estadísticamente diferente (FUM:  $0.20 \pm 2.84$  vs NFU:  $-0.40 \pm 3.72$  %).

## 4.1.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES

### 4.1.2.1. EN DIABÉTICOS

#### 4.1.2.1.1. GH

No se demostraron diferencias entre ambas pruebas desde – 60 hasta 0 minutos (Figura 70). La administración de GHRH produjo un aumento de los niveles de GH a partir del minuto 15, siendo las diferencias significativas en los tiempos + 15, +30, +45, + 60, + 75 y + 90 minutos.

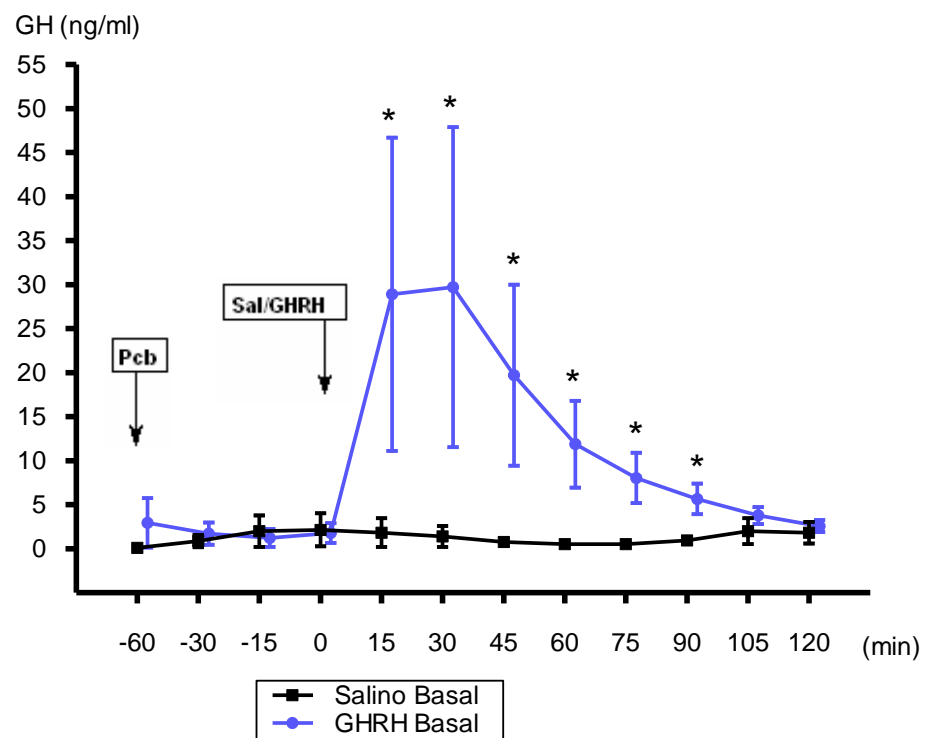


FIGURA 70. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ).



## Resultados

La administración de GHRH (Figura 71) produjo un aumento significativo de las áreas de secreción total y por intervalos desde el minuto 0 al minuto + 120. AUC 0 a 60 MINUTOS (SPB:  $80.04 \pm 65.95$  vs GPB:  $1277.83 \pm 737.51$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ), AUC 60 a 120 MINUTOS (SPB:  $69.84 \pm 40.74$  vs GPB:  $370.65 \pm 70.60$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ) y AUC TOTAL (SPB:  $217.29 \pm 127.79$  vs GPB:  $1763.38 \pm 893.59$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.05$ ). La magnitud del incremento para el AUC TOTAL fue de 711,53 %.

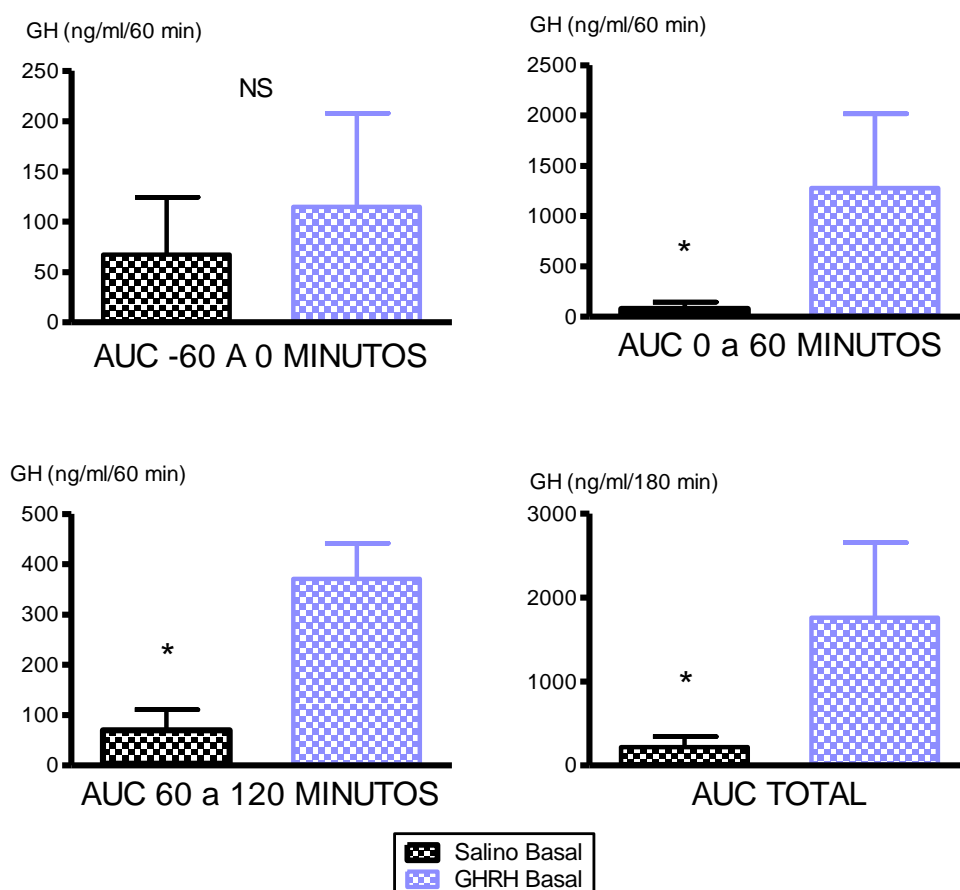


FIGURA 71. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p \text{ NS}$ ).

4.1.2.1.2. GLUCOSA

La administración de GHRH no se asoció a cambios en la concentración de glucosa (Figura 72).

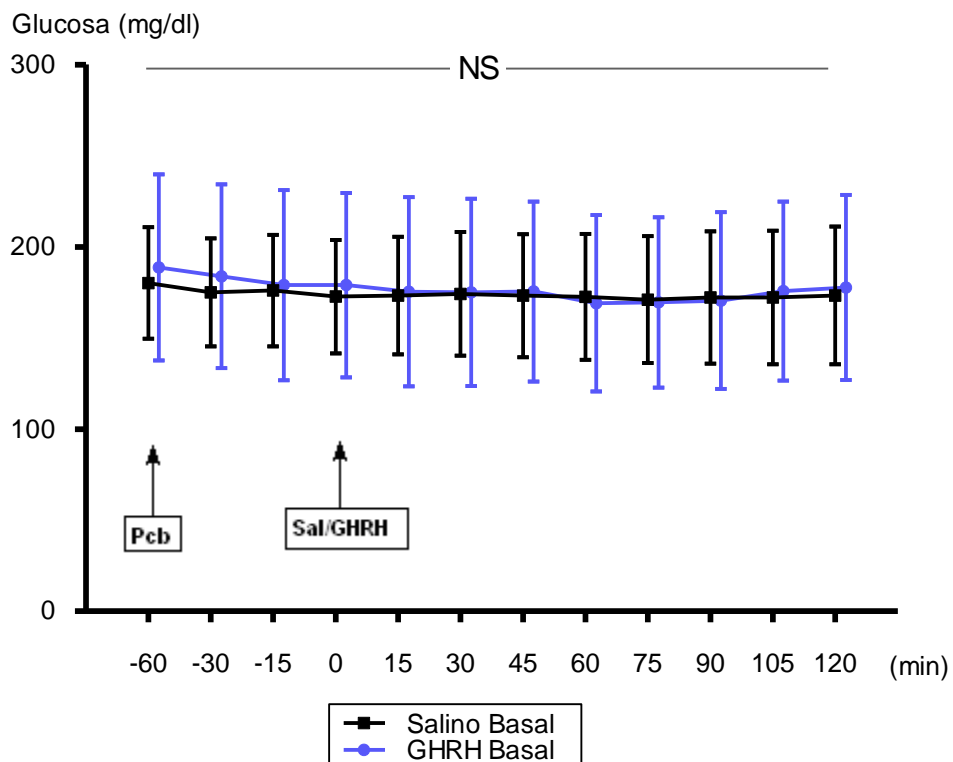


FIGURA 72. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

## Resultados

Las áreas de secreción de glucosa tampoco se modificaron tras la administración de GHRH (Figura 73).

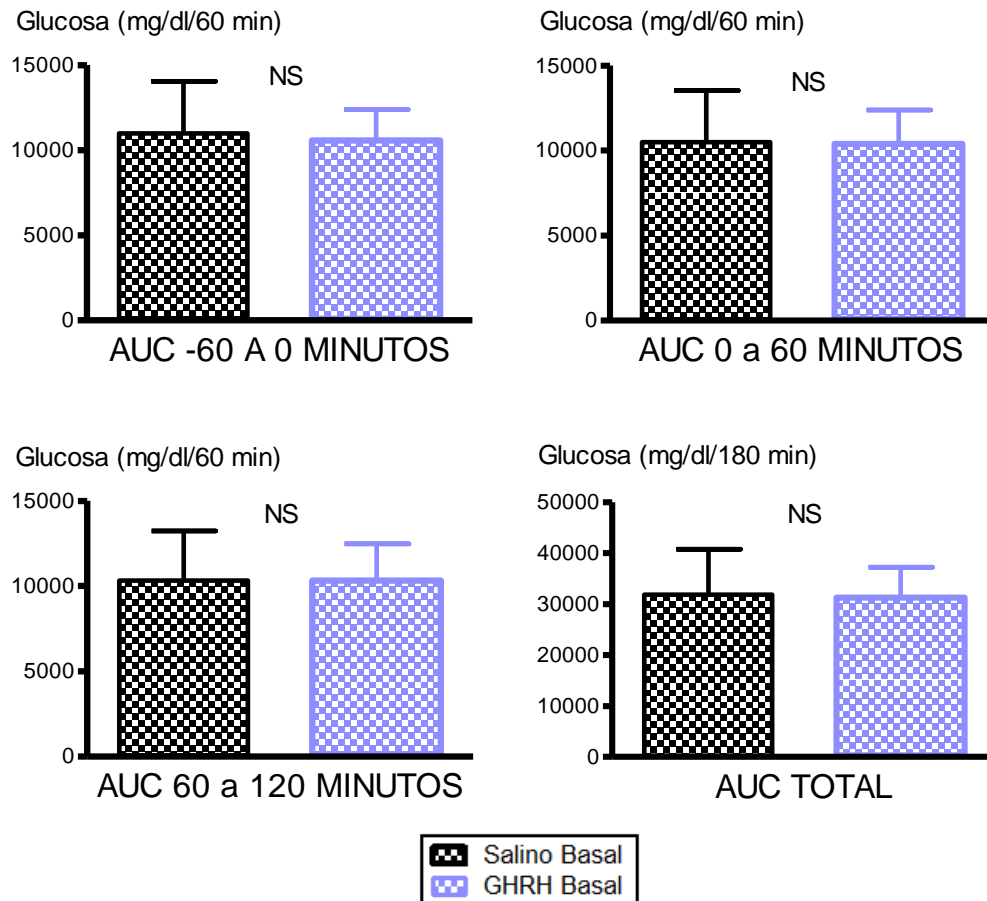


FIGURA 73. Diabéticos. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

4.1.2.2. EN CONTROLES

4.1.2.2.1. GH

No hubo diferencias significativas entre las dos pruebas en los puntos previos a la administración de GHRH excepto en el minuto - 15 minutos (Figura 74). La administración de GHRH produjo un aumento de los niveles de GH a partir del minuto 15, siendo las diferencias significativas en los tiempos + 15, +30, +45, + 60, + 75, + 90 y + 105 minutos.

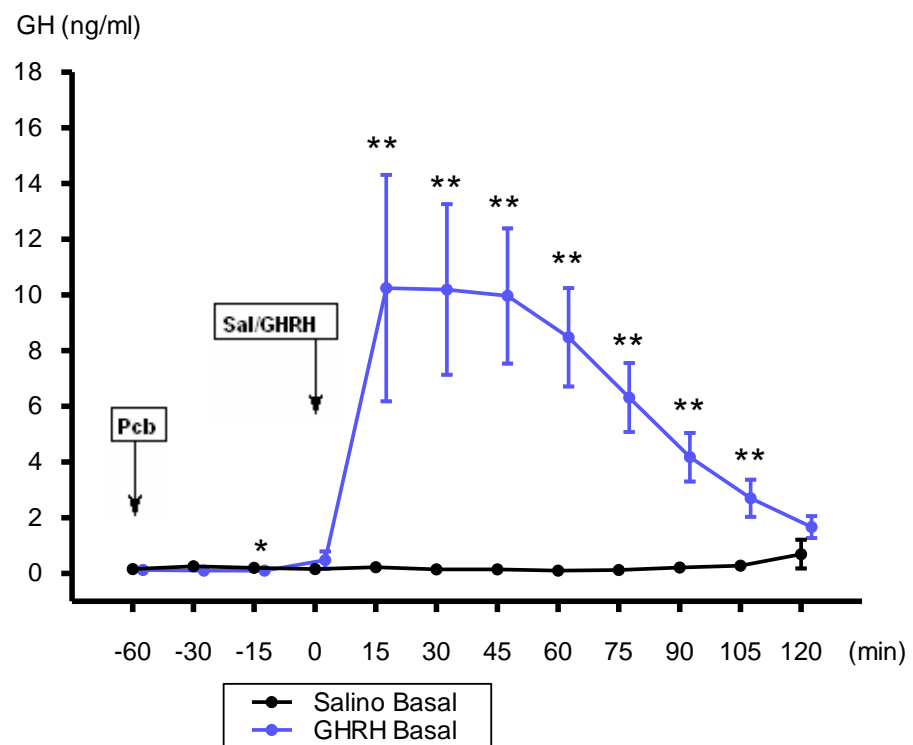


FIGURA 74. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de GH ( \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ).

## Resultados

La administración de GHRH produjo un aumento de las áreas de secreción total y por intervalos (Figura 75), siendo este aumento significativo en los periodos AUC 0 a 60 MINUTOS (SPB:  $10.10 \pm 3.06$  vs GPB:  $523.50 \pm 154.52$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.01$ ), AUC 60 a 120 MINUTOS (SPB:  $15.42 \pm 6.19$  vs GPB:  $274.22 \pm 55.49$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.01$ ) y AUC TOTAL (SPB:  $38.13 \pm 14.25$  vs GPB:  $807.07 \pm 200.75$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.01$ ). La magnitud del incremento del AUC TOTAL fue de 2016.63 %.

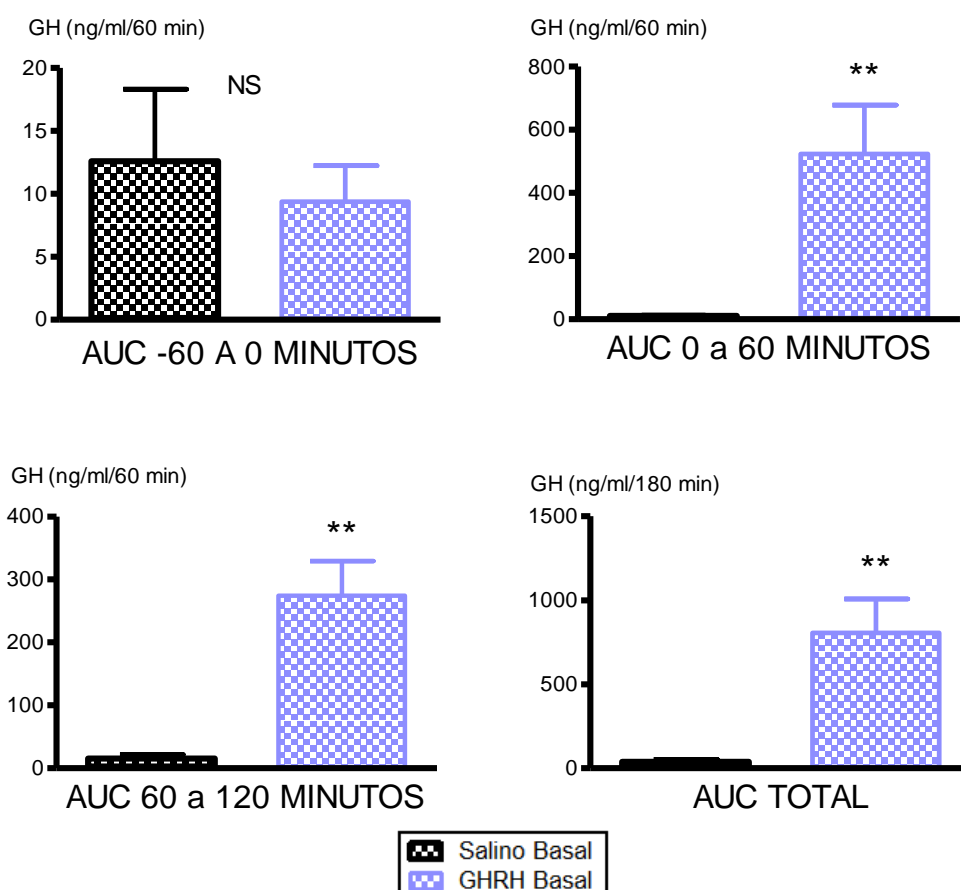


FIGURA 75. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de GH (\*\*:  $p < 0.01$ ; NS:  $p$  NS).

4.1.2.2.2. GLUCOSA

La administración de GHRH no se asoció a cambios en la concentración de glucosa, excepto en el minuto - 15 (Figura 76).

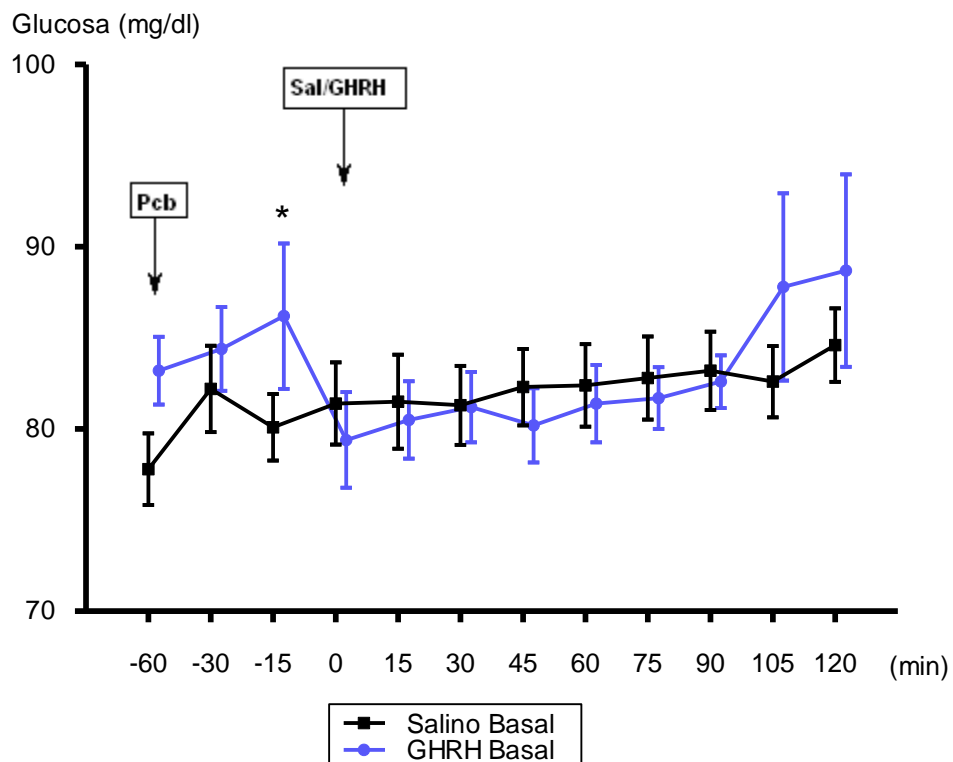


FIGURA 76. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de Glucosa (\*:  $p < 0.05$ ).

## Resultados

Las áreas de secreción de glucosa tampoco se modificaron en los controles tras la administración de GHRH (Figura 77).

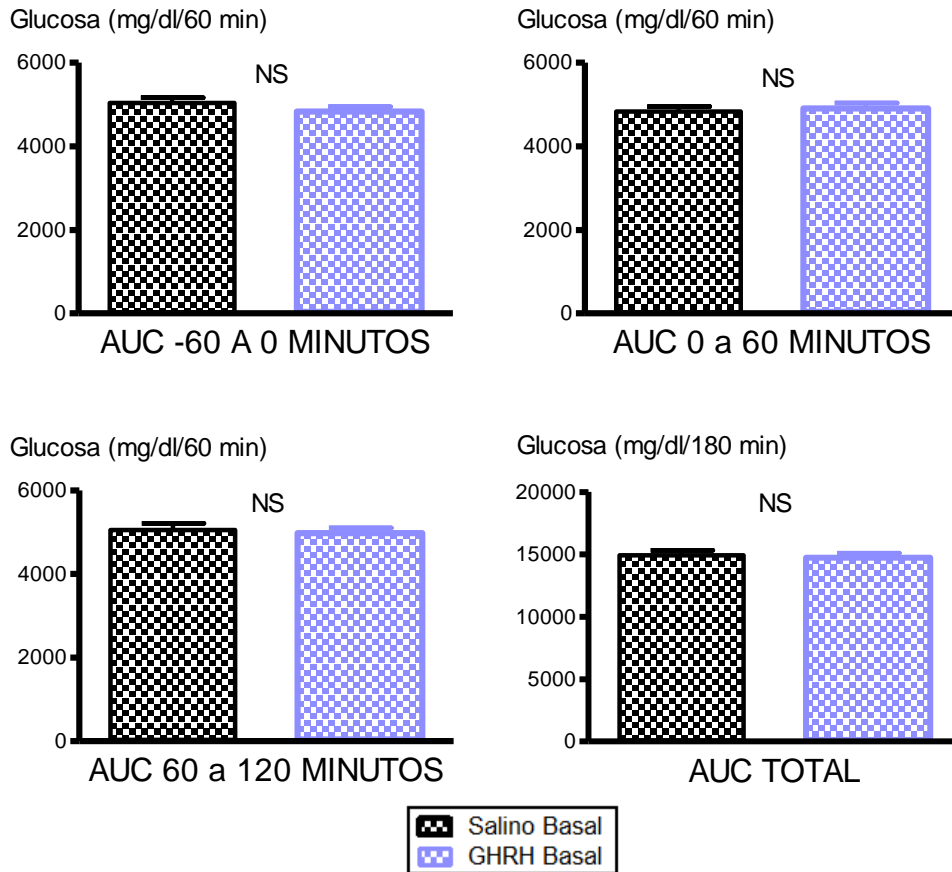


FIGURA 77. Controles. Comparación Test Salino Basal vs Test GHRH Basal. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

### 4.1.2.3. COMPARACIÓN ENTRE DIABÉTICOS Y CONTROLES

#### 4.1.2.3.1. GH

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total (Figura 78) cuando se compararon los test SPB y GPB entre diabéticos y controles (DIA:  $2381 \pm 989$  vs CON:  $3579 \pm 731$  %).

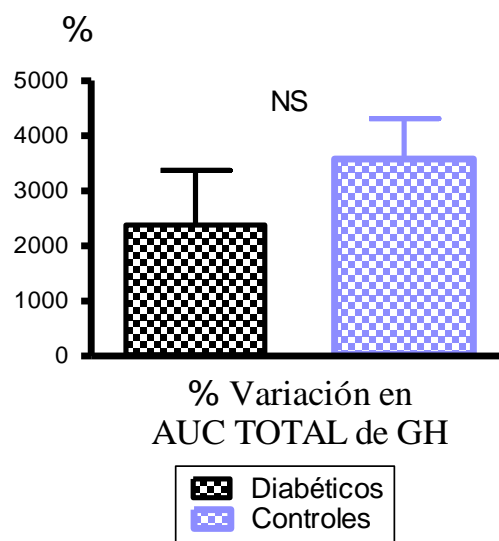


FIGURA 78. Porcentaje de variación en el área de secreción total de GH entre Diabéticos y Controles (NS:  $p > 0.05$ ).



#### 4.1.2.3.2. GLUCOSA

El porcentaje de variación del área de secreción total (Figura 79) cuando se compararon los test SPB y GPB entre diabéticos y controles no fue estadísticamente diferente (DIA:  $1.65 \pm 2.15$  vs CON:  $1.85 \pm 13.45$  %).

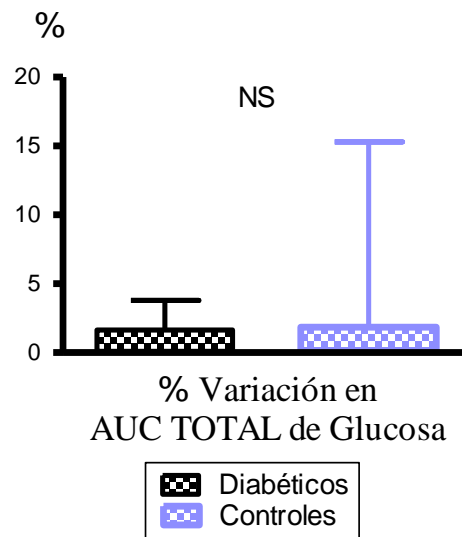


FIGURA 79. Porcentaje de variación en el área de secreción total de Glucosa entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

## **5. COMPARACIONES ENTRE TESTS SALINOS Y TESTS GHRH**

### **5.2. SALINO PIRIDOSTIGMINA VERSUS GHRH PIRIDOSTIGMINA**



## **4.2.1. CONTROLES FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

### **4.2.1.1. EN FUMADORES**

#### **4.2.1.1.1. GH**

El valor de GH fue significativamente mayor en el minuto 0 durante el test salino piridostigmina (SPD:  $7.31 \pm 3.94$  vs GPB:  $3.31 \pm 2.43$  ng/ml). La administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de GH a partir del minuto + 15 y se prolongó hasta el minuto + 120.

El AUC -60-0 MINUTOS fue mayor durante el test GHRH piridostigmina (SPD:  $37.68 \pm 23.12$  vs GPB:  $115.58 \pm 62.34$  ng/ml/60 minutos). La administración de GHRH produjo un aumento significativo de las áreas de secreción total y por intervalos desde el minuto 0 al minuto + 120. AUC 0-60 MINUTOS (SPB:  $411.87 \pm 268.83$  vs GPB:  $1614.16 \pm 441.68$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ), AUC 60-120 MINUTOS (SPB:  $135.22 \pm 64.89$  vs GPB:  $831.54 \pm 245.72$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ) y AUC TOTAL (SPB:  $584.75 \pm 334.49$  vs GPB:  $2561.20 \pm 680.06$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.05$ ). La magnitud del incremento para el AUC TOTAL fue de 438 %.

#### **4.2.1.1.2. GLUCOSA**

La administración de GHRH no se asoció a cambios en la concentración de glucosa ni a sus áreas de secreción.

### **4.2.1.2. EN NO FUMADORES**

#### **4.2.1.2.1. GH**

La administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de GH en los minutos + 15, + 30 y + 45.

## *Resultados*

La administración de GHRH produjo un aumento significativo de la AUC 0-60 MINUTOS (SPB:  $262.23 \pm 116.61$  vs GPB:  $1151.86 \pm 491.07$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ).

### **4.2.1.2.2. GLUCOSA**

La administración de GHRH no se asoció a cambios en la concentración de glucosa ni a sus áreas de secreción.

### **4.2.1.3. COMPARACIÓN ENTRE FUMADORES Y NO FUMADORES**

#### **4.2.1.3.1. GH**

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total cuando se compararon los test SPB y GPD entre fumadores y no fumadores (FUM:  $268 \pm 122$  vs NFU:  $821 \pm 295$  %).

#### **4.2.1.3.2. GLUCOSA**

El porcentaje de variación del área de secreción total cuando se compararon los test SPB y GPD entre fumadores y no fumadores no fue estadísticamente diferente (FUM:  $0.20 \pm 2.84$  vs NFU:  $4.00 \pm 4.44$  %).

## 4.2.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES

### 4.2.2.1. EN DIABÉTICOS

#### 4.2.2.1.1. GH

No se demostraron diferencias entre ambas pruebas desde - 60 hasta 0 minutos (Figura 80). La administración de GHRH produjo un aumento de los niveles de GH a partir del minuto 15, siendo las diferencias significativas en los tiempos + 15, +30, +45, + 60, + 75, + 90, + 105 y + 120 minutos.

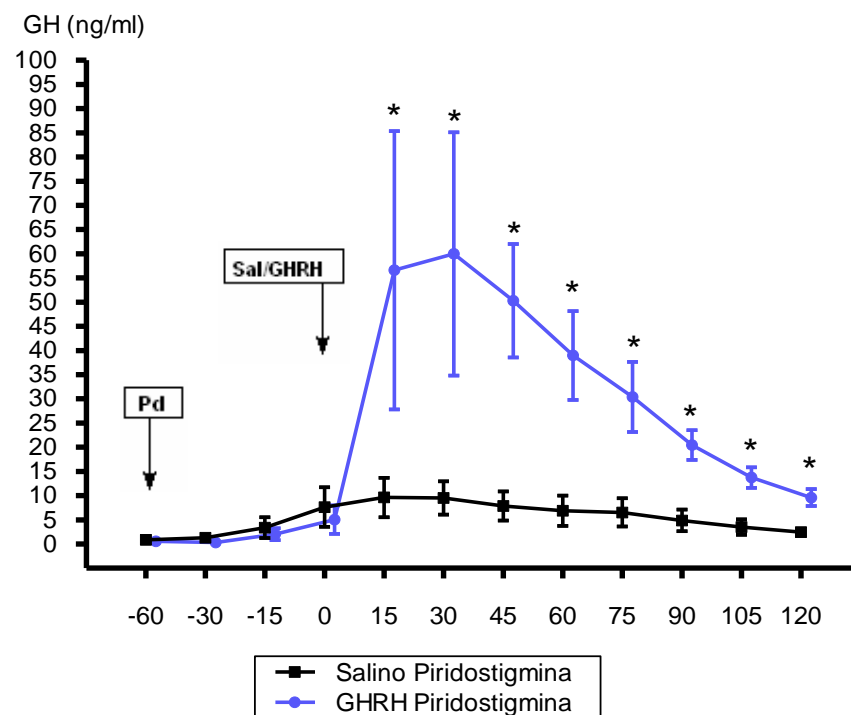


FIGURA 80. Diabéticos. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ).

## Resultados

La administración de GHRH (Figura 81) produjo un aumento significativo de GH en los periodos AUC 0 a 60 MINUTOS (SPD:  $514.41 \pm 190.18$  vs GPD:  $2833.17 \pm 1059.98$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ), AUC 60 a 120 MINUTOS (SPD:  $294.13 \pm 131.64$  vs GPD:  $1333.60 \pm 246.70$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ) y AUC TOTAL (SPD:  $958.03 \pm 331.26$  vs GPD:  $4255.67 \pm 1301.75$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.05$ ). La magnitud del incremento para el AUC TOTAL fue de 327.21 %.

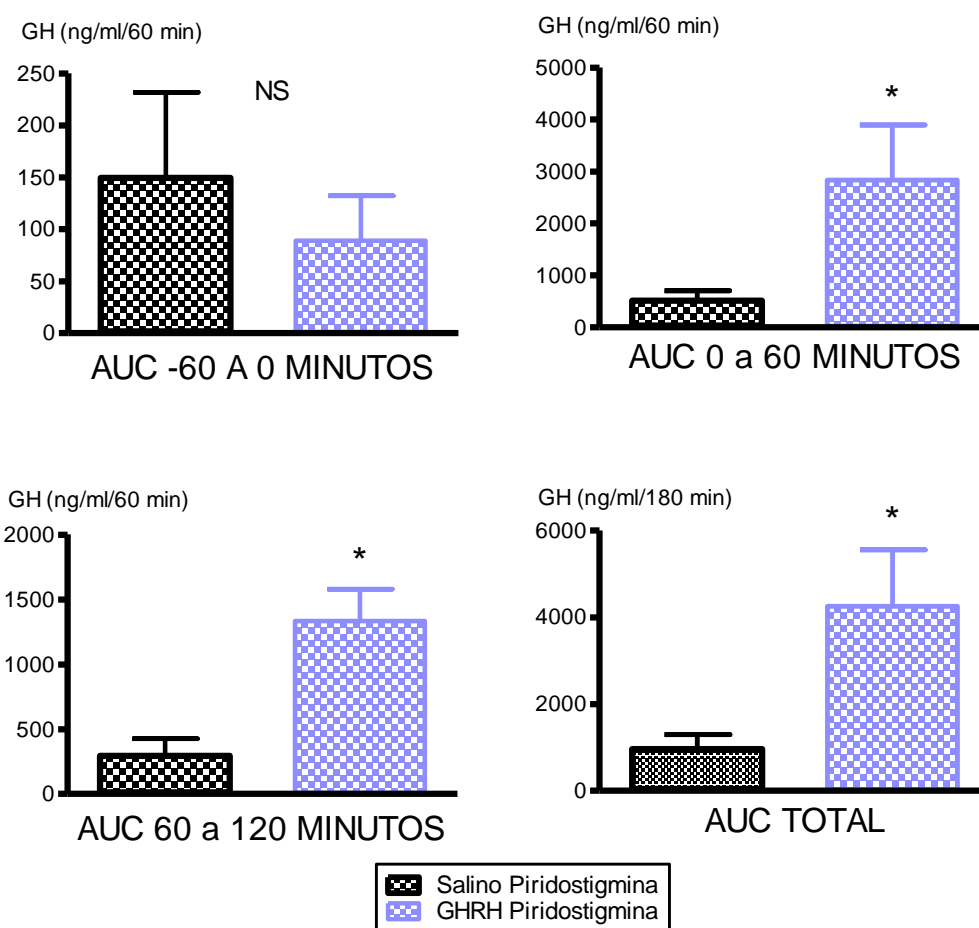


FIGURA 81. Diabéticos. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; NS:  $p$  NS).

4.2.2.1.2. GLUCOSA

No hubo cambios en las concentraciones de glucosa asociados a la administración de GHRH (Figura 82).

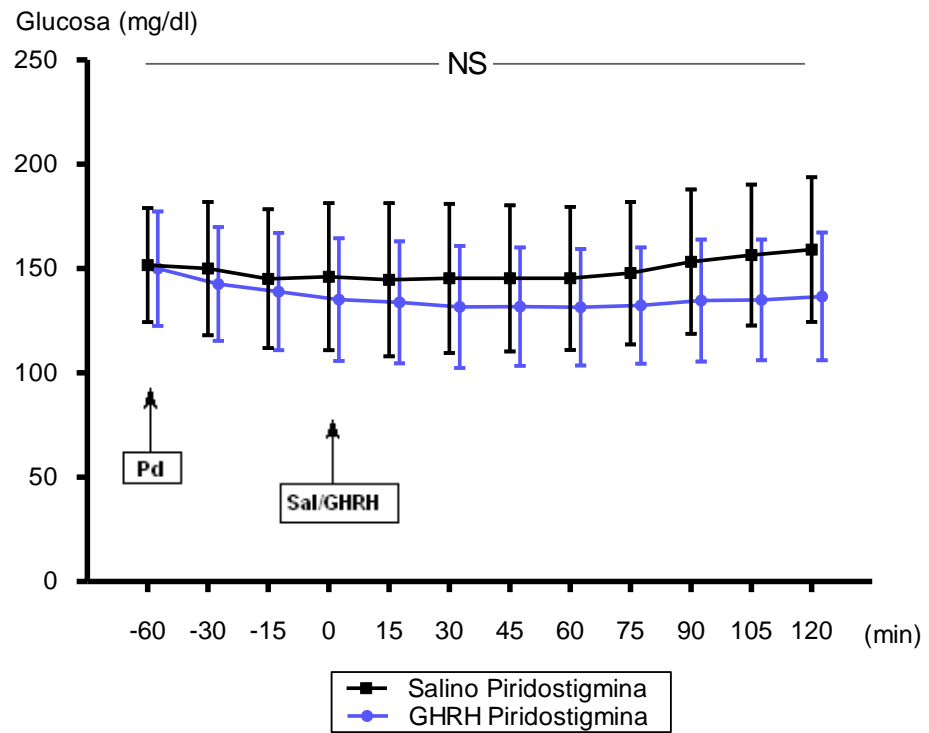


FIGURA 82. Diabéticos. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).



## Resultados

Las áreas de secreción de glucosa tampoco se modificaron tras la administración de GHRH (Figura 83).

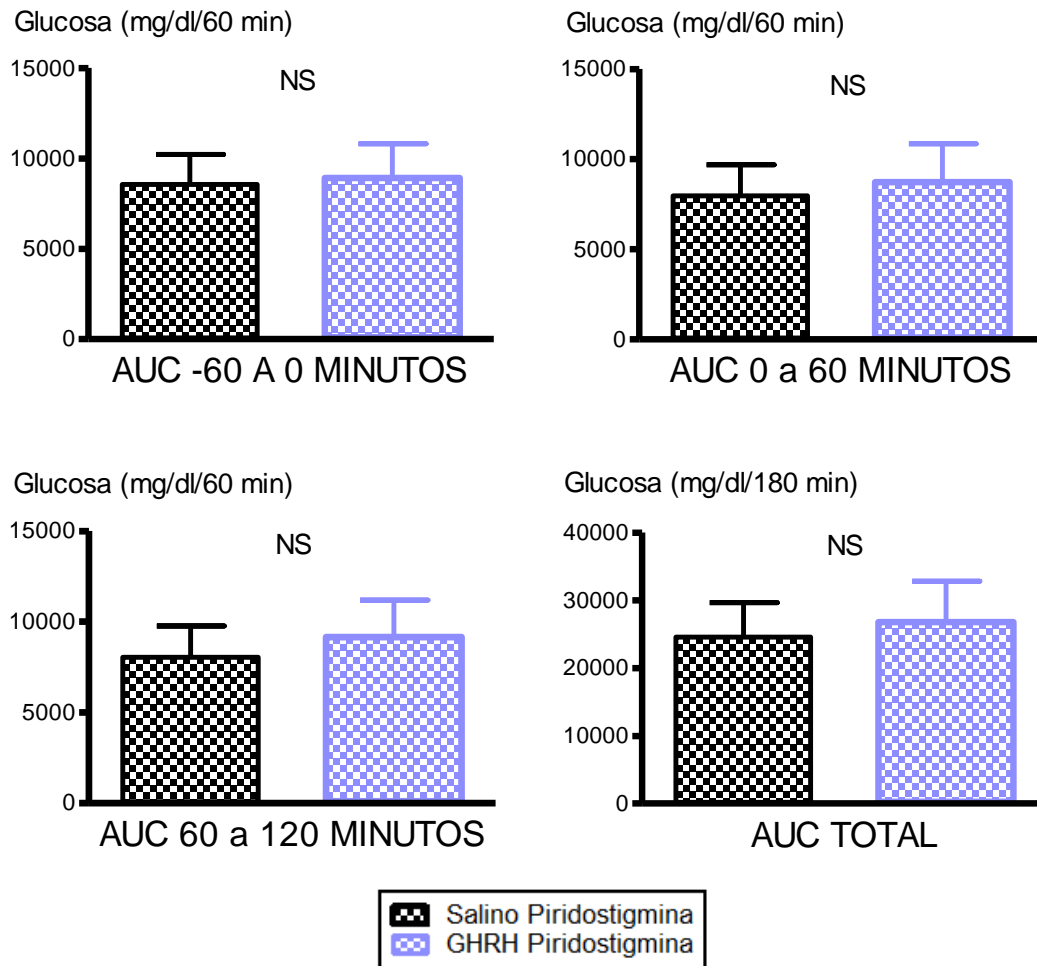


FIGURA 83. Diabéticos. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS:  $p > NS$ ).

4.2.2.2. EN CONTROLES

4.2.2.2.1. GH

Sólo se demostró un aumento significativo de los niveles de GH en el minuto 0 previo a la administración de GHRH (Figura 84). La administración de GHRH produjo un aumento de los niveles de GH a partir del minuto 15, siendo las diferencias significativas en los tiempos + 15, + 30, + 45 y + 60 minutos.

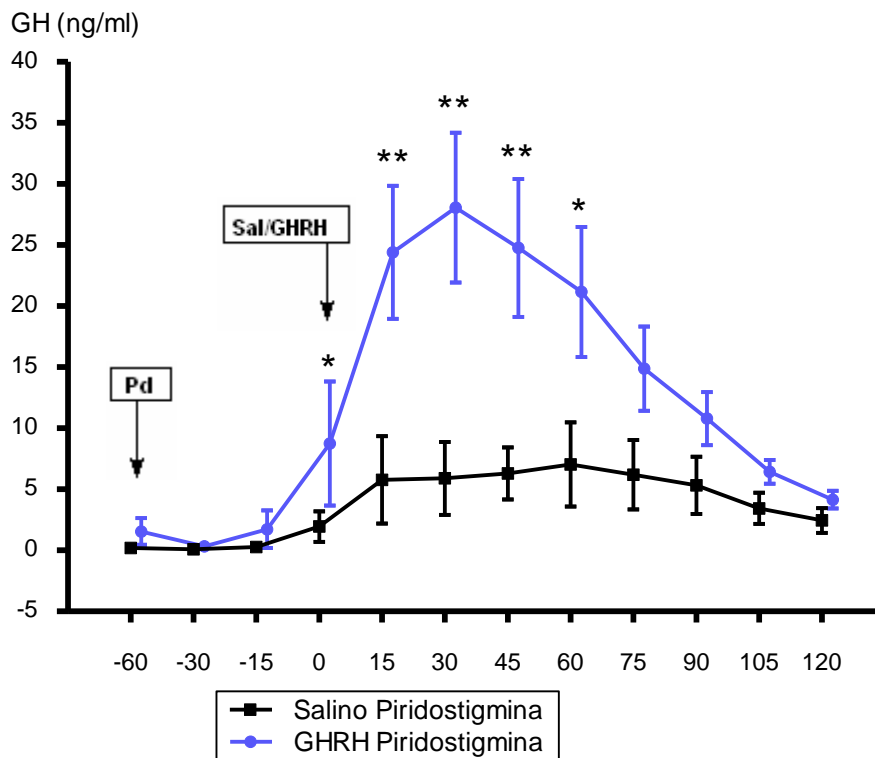


FIGURA 84. Controles. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ).

## Resultados

La administración de GHRH (Figura 85) indujo un incremento significativo de las áreas de secreción en los periodos AUC -60 a 0 MINUTOS (SPD:  $23.68 \pm 12.01$  vs GPD:  $122.26 \pm 64.19$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.05$ ) 0 a 60 MINUTOS (SPD:  $337.05 \pm 140.37$  vs GPD:  $1383.01 \pm 320.75$  ng/ml/60 minutos;  $p < 0.01$ ) y AUC TOTAL (SPD:  $656.35 \pm 214.87$  vs GPD:  $2176.72 \pm 479.33$  ng/ml/180 minutos;  $p < 0.05$ ). La magnitud del incremento para el AUC TOTAL fue de 231.64 %.

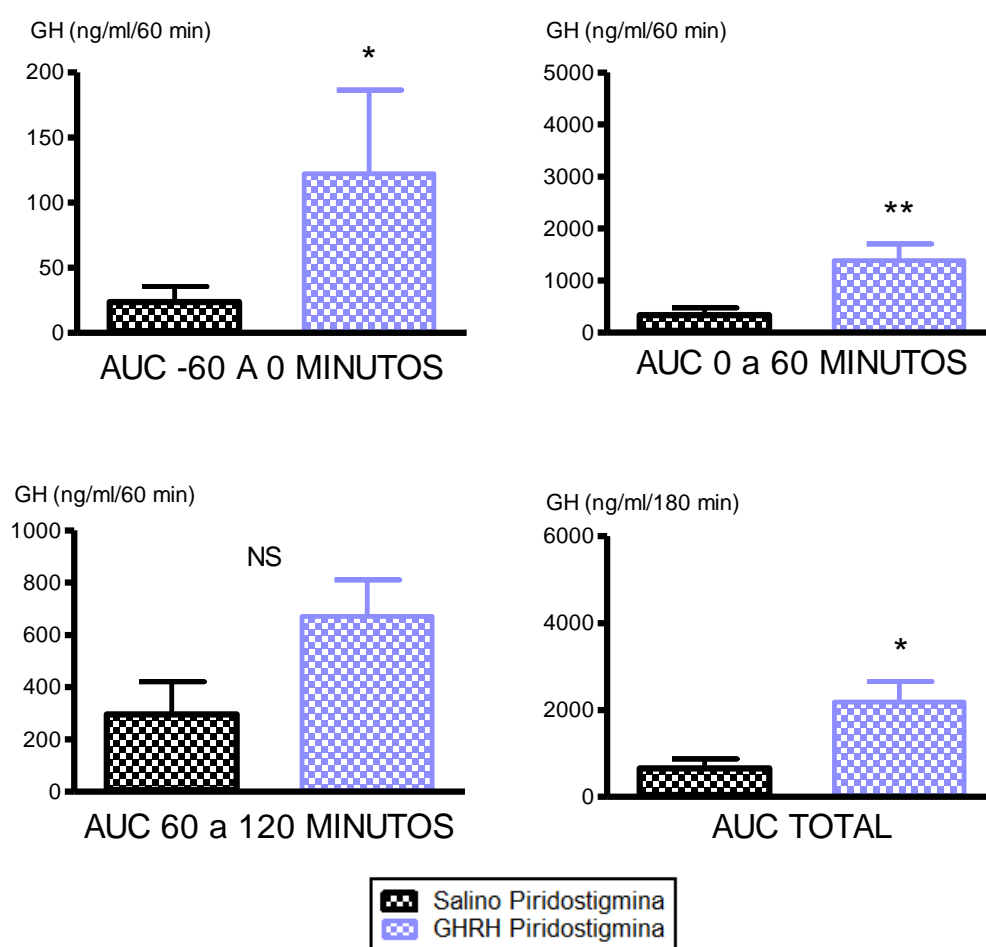


FIGURA 85. Controles. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de GH (\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.001$ ; NS:  $p$  NS).

4.2.2.2.2. GLUCOSA

La administración de GHRH (Figura 86) no vino asociada a cambios en las concentraciones de glucosa.

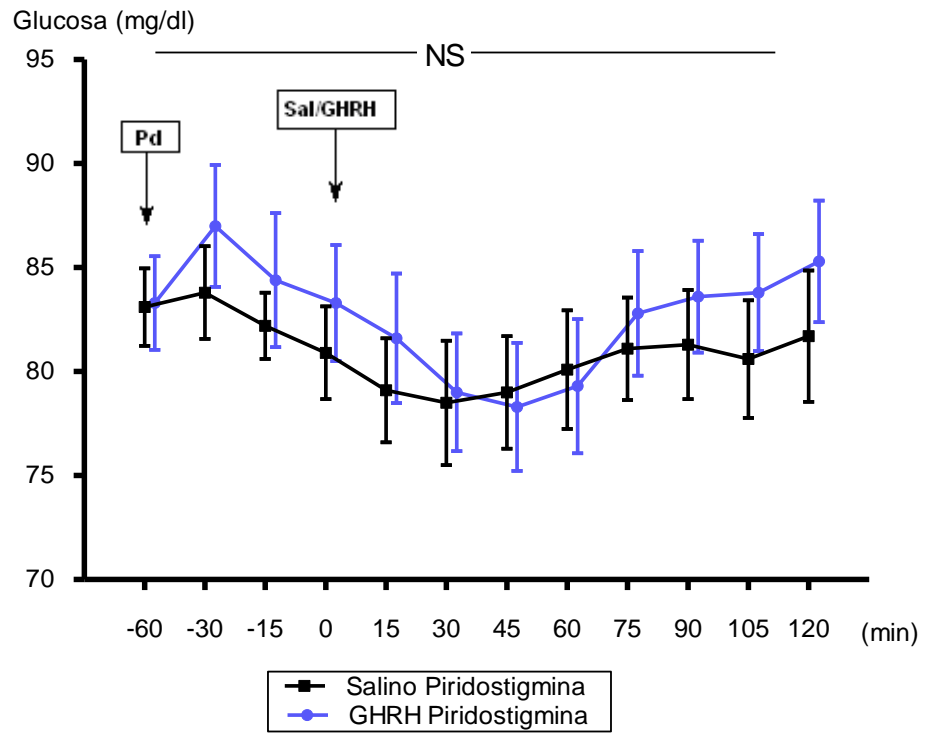


FIGURA 86. Controles. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina Niveles medios de Glucosa (\*:  $p < 0.05$ ).

## Resultados

Las áreas de secreción de glucosa tampoco se modificaron tras la administración de GHRH (Figura 87).

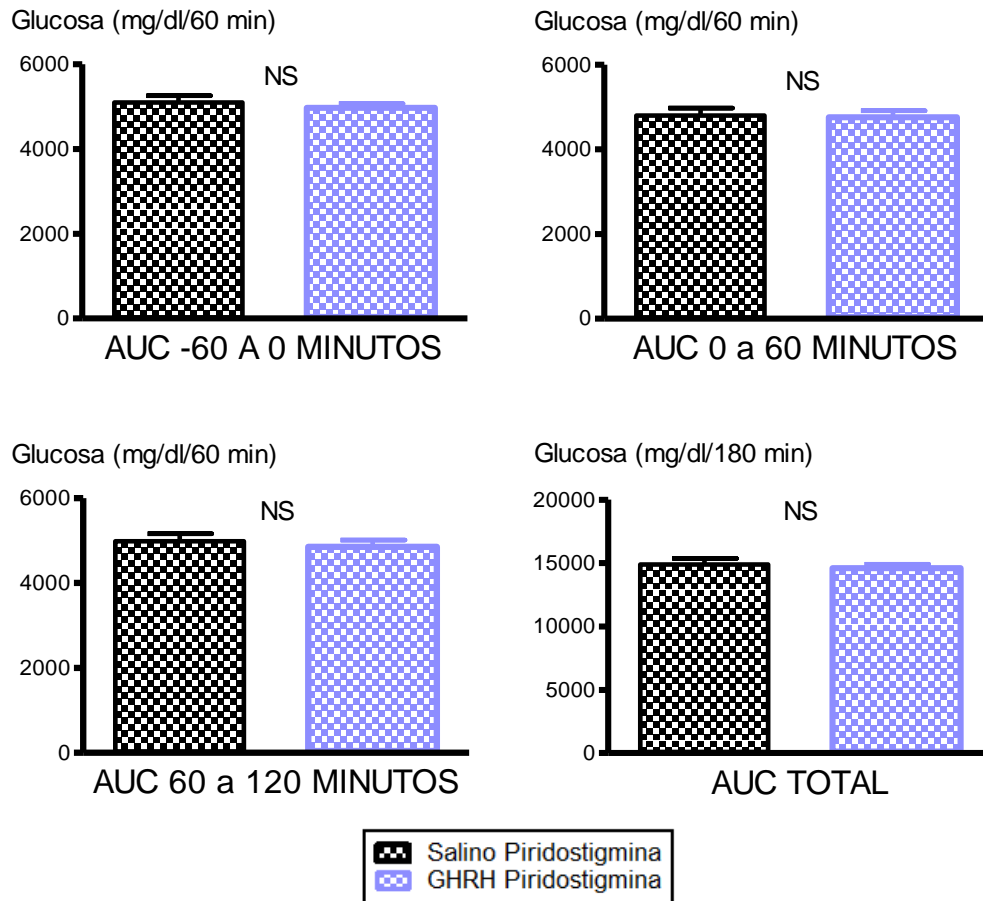


FIGURA 87. Controles. Comparación Test Salino Piridostigmina vs Test GHRH Piridostigmina. Niveles medios de Glucosa (NS: p NS).

### 4.2.2.3. COMPARACIÓN ENTRE DIABÉTICOS Y CONTROLES

#### 4.2.2.3.1. GH

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación en el área de secreción total (Figura 88) cuando se compararon los test SPD y GPD entre diabéticos y controles (DIA:  $574 \pm 172$  vs CON:  $544 \pm 176$  %).

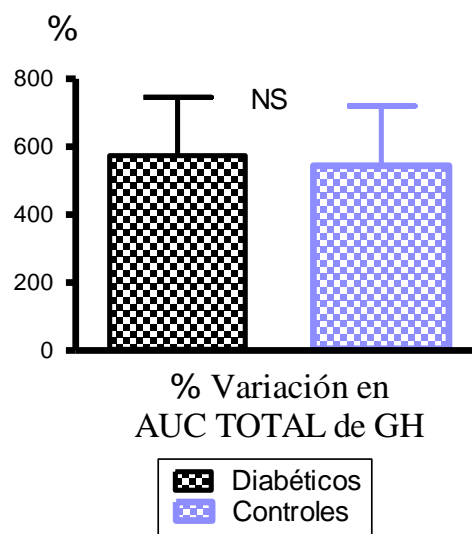


FIGURA 88. Porcentaje de variación en el área de secreción total de GH entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

4.2.2.3.2. GLUCOSA

El porcentaje de variación del área de secreción total (Figura 89) cuando se compararon los test SPD y GPD entre diabéticos y controles no fue estadísticamente diferente (DIA:  $-1.17 \pm 14.17$  vs CON:  $2.09 \pm 2.51\%$ ).

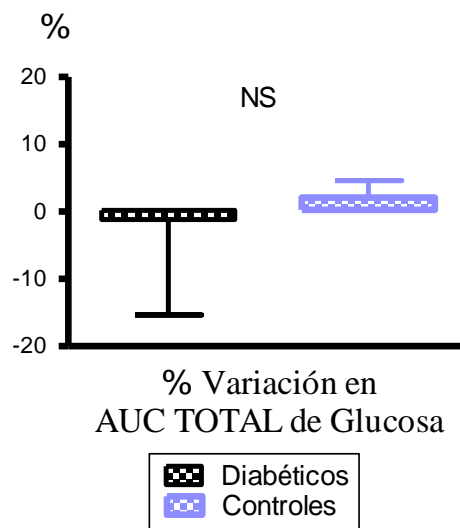


FIGURA 89. Porcentaje de variación en el área de secreción total de Glucosa entre Diabéticos y Controles (NS: p NS).

# DISCUSIÓN





## **1. ESTUDIOS BASALES**

### **1.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

La inhalación del humo del tabaco conduce a un aumento de la concentración de cortisol y ACTH de forma aguda, tanto en fumadores crónicos [Höckfelt, 1961; Seyler y cols, 1986; Kirschbaum y cols, 1992; Mendelson y cols, 2005] como en no fumadores, siendo las respuestas menores en los no fumadores [Gossain y cols, 1986].

A pesar del efecto estimulante de la nicotina sobre el eje HHA, la mayoría de los estudios no han podido demostrar diferencias entre fumadores y no fumadores en los niveles basales de hormonas del HHA en plasma ni en orina [Gossain y cols, 1986; Kirschbaum y cols, 1994; Yeh y Barbieri, 1989]. Sin embargo, el cortisol sérico estaba aumentado en fumadores de más de 20 cigarrillos al día en otro estudio [Del Arbol y cols, 2000], e incluso se han comunicado niveles más bajos en fumadores [Handa y cols, 1994]. Junto a esto, se ha demostrado un aumento del cortisol salivar en fumadores habituales [Al`Absi y cols, 2003; Steptoe y Ussher, 2006].

Las concentraciones de GH también aumentan de forma aguda tras fumar cigarrillos en fumadores y en no fumadores [Seyler y cols, 1986; Gossain y cols, 1986; Kirschbaum y cols, 1994), no existiendo diferencias en los niveles basales de GH entre los dos grupos [Gossain y cols, 1986].

En el presente trabajo, se estudió el impacto del tabaquismo crónico sobre la excreción urinaria de cortisol, que es mejor indicador de la producción diaria de cortisol que los niveles circulantes de la hormona. Las cifras de cortisol libre urinario no fueron diferentes entre fumadores y no fumadores dentro del grupo control, sugiriendo que el tabaquismo crónico no

altera la excreción de cortisol. Ambos grupos fueron comparables, no existiendo diferencias en edad, variables antropométricas, creatinina en orina de 24 horas, creatinina urinaria por kg de peso corporal ni en el aclaramiento de creatinina.

En concordancia con nuestro trabajo, el tabaquismo crónico no modificó los niveles de CLU en mujeres premenopáusicas [Yeh y Barbieri, 1989]. En este estudio, no hubo diferencias entre fumadoras (n=10) y no fumadoras (n=15) en términos de edad, peso y estatura. Las fumadoras llevaban fumando como promedio 10 años y fumaban una media de 28 cigarrillos al día. Se midieron los niveles circulantes de nicotina y cotinina que fueron lógicamente más elevados en el grupo de fumadoras [Yeh y Barbieri, 1989]. En nuestro estudio, por el contrario, no se realizaron mediciones para confirmar el hábito tabáquico y el promedio de consumo de tabaco se situó entre 10-20 cigarrillos diarios.

### **1.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

Las cifras de cortisol libre urinario fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes diabéticos respecto al grupo control, y estas diferencias no pueden ser atribuidas a diferencias en la recolección de la orina. Estos datos sugieren que en la DM-1 mal controlada existe cierto grado de hipercortisolismo, y son concordantes con datos reportados previamente [Roy y cols, 1993 y 1998a; Coiro y cols, 1995; Dacou-Voutetakis y cols, 1998].

En diabéticos, el valor de CLU se correlacionó de forma negativa con la HbA1c y de forma positiva con el aclaramiento de creatinina, pero no se demostró correlación con el valor de fructosamina, microalbuminuria,

tiempo de evolución, unidades de insulina por día ni variables antropométricas.

Llama la atención la correlación negativa del CLU con la HbA1c ya que cabría esperar lo contrario, que a peor grado de control metabólico existiese mayor producción de cortisol y por tanto de CLU. Se ha comunicado una relación positiva entre CLU y la HbA1c promedio de los cinco años previos [Roy y cols, 1993]. En otros trabajos, el CLU también presentaba una correlación positiva con las unidades de insulina por día [Roy y cols, 1993], la duración de la diabetes [Roy y cols, 1998], la albúmina urinarias y la presión arterial [Dacou-Voutetakis y cols, 1998].

## **2. TEST SALINOS**

### **2.1. ACTIVIDAD BASAL DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-ADRENAL Y SOMATOTRÓPICO**

#### **2.1.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

Los datos presentados aquí, durante el test salino basal, muestran niveles significativamente mayores de cortisol en fumadores en los minutos - 15 y + 15 y de glucemia en el minuto - 15, no habiendo diferencias significativas en las áreas de secreción de cortisol ni de glucemia. Existió una correlación positiva entre el cortisol y la glucosa en el minuto -15 (Rho: 0.64; P<0.05). Además, no se demostraron diferencias significativas en los niveles de ACTH ni GH. El aumento de cortisol sérico encontrado es concordante con otros estudios que midieron cortisol sérico en fumadores de más de 20 cigarrillos al día [Del Arbol y cols, 2000] y cortisol salivar en fumadores habituales [Al`Absi y cols, 2003; Steptoe y Ussher, 2006].

## Discusión

Por el contrario, en dos trabajos que compararon los niveles basales de GH, cortisol y AVP en controles, fumadores y no fumadores, con diabéticos, fumadores y no fumadores, no se encontraron diferencias entre los cuatro grupos [Chiodera y cols, 1997; Coiro y cols, 2004].

Sin embargo, cuando se estudiaron esas respuestas hormonales a la inhalación del humo del tabaco de forma aguda y a la hipoglucemia insulínica, en el primer trabajo no se encontraron diferencias entre controles fumadores y no fumadores, mientras que entre los diabéticos, los fumadores produjeron respuestas más intensas [Chiodera y cols, 1997], indicando que el tabaquismo produce respuestas anormales en la población diabética.

En la segunda publicación, en la que se midieron las mismas respuestas hormonales al ejercicio físico, los niveles obtenidos fueron mayores en los diabéticos. En controles, las respuestas de GH y cortisol fueron menores en fumadores, mientras que no hubo diferencias entre fumadores y no fumadores en el grupo de diabéticos [Coiro y cols, 2004]. Estas observaciones podrían indicar que el tabaquismo puede atenuar las respuestas de GH y cortisol ante factores estimulantes como un mecanismo de adaptación, mientras que esta atenuación no tiene lugar en la DM-1, expresando probablemente alteraciones de la neuroregulación de estas hormonas.

### **2.1.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

La hiperfunción del eje HHA puede ocurrir en la DM-1 en presencia de mal control glucémico y de complicaciones crónicas, sobre todo neuropatía. Se han comunicado elevación de las cifras de cortisol circulante [Cameron y cols, 1987; Roy y cols, 1990 y 1993], cortisol libre urinario

## Discusión

[Roy y cols, 1993 y 1998a; Coiro y cols, 1995; Dacou-Voutetakis y cols, 1998] y de ACTH plasmática [Roy y cols, 1990].

El grupo de diabéticos del presente estudio presentó valores puntuales y áreas de secreción de ACTH y cortisol menores que el grupo control, aunque las diferencias no alcanzan significación estadística. Estos datos no apoyan la existencia de hipercortisolismo, y son discrepantes con el aumento de CLU observado. En concordancia con estos hallazgos, la mayoría de los estudios que han medido ACTH en diabéticos han encontrado niveles normales [Roy y cols, 1993; Ghizzoni y cols, 1993; Coiro y cols, 1995], y algunos autores han informado de perfiles normales de cortisol en pacientes DM1 con mal control y de larga evolución [Drejer y cols, 1977; Herschopf y cols, 1982].

Nuestro estudio mostró unos niveles de GH significativamente mayores en diabéticos en dos determinaciones puntuales; también las áreas de secreción fueron mucho mayores en este grupo, aunque no alcanzaron significación estadística, posiblemente debido al pequeño número de pacientes. Estos datos están conformes con la información ampliamente aceptada de que los pacientes con diabetes mal controlada, tanto DM-1 como DM-2, presentan niveles elevados de GH a lo largo de todo el día [Hansen y cols, 1970; Hayford y cols, 1980; Horner y cols, 1981; Asplin y cols, 1989; Ismail y cols, 1993]. Por ejemplo, Ismail y cols, comparando un grupo de 13 pacientes DM-1 con 7 controles, encontró que las cifras medias de GH fueron de  $16.7 \pm 4.8$  mU/l y  $1.8 \pm 0.4$  mU/l respectivamente [Ismail y cols, 1993].

En los dos trabajos de Chiodera y cols. y Coiro y cols. reseñados previamente, no se encontraron diferencias entre diabéticos y controles en los niveles basales de GH y cortisol [Chiodera y cols, 1997; Coiro y cols,

## Discusión

2004]. Por el contrario, los diabéticos presentaron respuestas superiores de GH, cortisol y AVP a la inhalación del humo del tabaco de forma aguda y a la hipoglucemia insulínica [Chiodera y cols, 1997]. Tras el ejercicio físico también fueron mayores las respuestas en diabéticos [Coiro y cols, 2004], indicando ambos estudios que en la DM-1 existe una hiperrespuesta de los sistemas secretorios de cortisol y GH.

Otros autores también han documentado hiperrespuesta de estas hormonas. Por ejemplo, las respuestas de cortisol, pero no de ACTH, a CRH son mayores en pacientes DM-1 en comparación con controles sanos [Roy y cols, 1993; Ghizzoni y cols, 1993; Coiro y cols, 1995].

Respecto a la GH, en diabéticos se ha demostrado una respuesta exagerada a clonidina [Speroni y cols, 1983], arginina [Burday y cols, 1968], dopamina [Lorenzi y cols, 1980], levodopa [Ajlouni y cols, 1975] y en particular a GHRH [Krassowski y cols, 1988; Schaper y cols, 1990; Giustina y cols, 1990].

Como era esperable, los niveles de glucemia fueron significativamente superiores en diabéticos respecto a controles. En ambos grupos no se demostró correlación entre la glucemia y los niveles de ACTH, cortisol, GH y cortisol libre urinario, excepto una correlación positiva con el cortisol sérico en diabéticos. Estos datos van en contra de una influencia de los niveles glucémicos sobre las alteraciones hormonales encontradas en los diabéticos del presente trabajo, esto es, elevación del CLU y GH.

Tanto en diabéticos como en controles hubo una correlación positiva entre la ACTH y el cortisol, indicando un paralelismo entre ambas hormonas del eje HHA. Por el contrario, el CLU no se correlacionó con los niveles de ACTH y cortisol en diabéticos, pero sí en controles.

## Discusión

En cuanto al eje somatotrópico, los niveles de GH no se correlacionaron ni con el ACTH ni el cortisol. Hubo correlación con el CLU en controles pero no en diabéticos. Por consiguiente, no se demuestra paralelismo entre las respuestas del eje somatotrópico y del eje HHA en diabéticos.

En diabéticos, no se evidenció relación entre el grado de control metabólico por un lado (HbA1c y fructosamina) y los niveles de glucemia, ACTH, cortisol ni GH por otro, excepto una correlación positiva entre la fructosamina con la GH en diabéticos. De acuerdo con nuestros hallazgos, se ha comunicado ausencia de correlación entre el cortisol sérico y el control metabólico [Cameron y cols, 1984; Kvasnickova y cols, 2015], aunque otros autores han informado de una relación positiva [Hudson y cols, 1984; Couch y cols, 1992; Mosbah y cols, 2011]. Respecto a la GH, se ha evidenciado una relación positiva con la HbA1c [Giustina y cols, 1993].

Las alteraciones de la secreción y de la acción de la GH que ocurren en los pacientes afectados de DM-1 contribuyen al empeoramiento de su control metabólico [Holly y cols, 1988]. En general, existe acuerdo en que al optimizarse el control metabólico, se normalizan los niveles elevados de GH y disminuidos de IGF-1 [Tamborlane y cols, 1981; Salgado y cols, 1996], aunque esta opinión no es compartida por todos los autores [Hershcop y cols, 1982; Würsburger y cols, 1990].

En nuestro grupo de estudio, el aumento de la GH se acompañó de niveles muy elevados de HbA1c y fructosamina (HbA1c:  $9.22 \pm 0.38$  %; fructosamina:  $392.33 \pm 24.39$  mmol/l), indicando un grado de control metabólico deficiente. Sin embargo, no se demostró correlación entre el grado de control metabólico y los niveles de GH [Horner y cols, 1981; Tamborlane y cols, 1981; Salgado y cols, 1996].



## Discusión

Es de destacar que los niveles de cortisol y glucemia se correlacionaron con la microalbuminuria. Se ha comunicado la relación existente entre las complicaciones de la diabetes con el aumento de la actividad del eje HHA. Tsigos y cols. demostraron que los diabéticos con neuropatía presentan una secreción integrada de ACTH y cortisol aumentada en comparación con diabéticos sin neuropatía y con controles; y que la ACTH y cortisol no se correlacionaron con el control glucémico, retinopatía, ni proteinuria [Tsigos y cols, 1993]. Se ha documentado además que los diabéticos con neuropatía presentan respuestas más elevadas de cortisol, pero no de ACTH, a la estimulación con a CRH [Coiro y cols, 1995].

Existen muchas evidencias de que los niveles elevados de la GH se relacionan con la aparición de las complicaciones crónicas de la diabetes, especialmente retinopatía [Poulsen, 1953; Luft, 1962; Merimee y cols, 1978; Radin y cols, 1984]. Se han utilizado análogos de la somatostatina con el objetivo de suprimir la secreción de GH en diabéticos con retinopatía proliferativa, habiéndose comunicado mejoría de la agudeza visual [Mallet y cols, 1992]. Se ha sugerido que la hipersecreción de GH está relacionada con la hiperfiltración de la DM-1 [Blankestijn y cols, 1993]. En el presente ensayo no se demuestra correlación de la microalbuminuria con la GH.

Para terminar de comentar el test salino basal, tampoco se demostró relación entre las hormonas medidas con el tiempo de evolución de la diabetes ni con la dosis diaria de insulina.

## 2.2. EFECTO DE LA MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA SECRECIÓN BASAL DEL EJE HHA Y SOMATOTRÓPICO

### 2.2.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES

La activación del eje HHA por la nicotina se ejerce mediante la estimulación de los niveles de CRH y/o AVP, que a su vez incrementan la secreción de ACTH [Buckingham y Hodges, 1979; Sladek y Joynt, 1979; Calogero y cols, 1988a; Cam y cols, 1979; Matta y cols, 1987]. De acuerdo a la evidencia disponible, este efecto de la nicotina no es directo sobre el hipotálamo, sino a través de la activación de las vías adrenérgicas del troncoencéfalo [Matta y cols, 1993 y 1995].

Durante el test salino piridostigmina, no se evidenciaron diferencias significativas entre fumadores y no fumadores en los valores puntuales ni en las áreas de secreción de ACTH, cortisol, GH ni glucosa. Aun así, los niveles de ACTH fueron superiores en fumadores en todas las determinaciones y en todas las áreas de secreción, y posiblemente estas diferencias habrían sido significativas en el caso de un grupo de estudio más numeroso. Se hace notar que la comparación de las respuestas de ambos ejes hormonales a la administración de agonistas colinérgicos entre fumadores y no fumadores no había sido reportada previamente.

Cabría esperar mayores respuestas en fumadores puesto que el eje HHA ya está activado por la nicotina. Sin embargo, es un hecho demostrado que los niveles basales de ACTH no están elevados en fumadores crónicos [Fuxe y cols, 1989], lo que podría deberse a un fenómeno de desensibilización de los receptores nicotínicos [Cam y Basset, 1984; Sharp y Beyer, 1986].

## *Discusión*

Dentro de cada grupo, la administración de piridostigmina produjo una reducción del cortisol en el minuto -15 en fumadores, y una reducción de la ACTH en no fumadores en el minuto + 105. Al analizar las áreas de secreción total, se observaron, aunque no significativos, niveles más altos de ACTH y más bajos de cortisol en fumadores, mientras que en no fumadores ocurrió lo contrario, niveles más bajos de ACTH y más altos de cortisol.

Estos resultados son concordantes con los reportados por Llorente y cols. en varones no fumadores: la administración de piridostigmina produjo una reducción de los niveles de ACTH y de sus áreas de secreción tanto por la mañana como por la noche, siendo el porcentaje de reducción mayor por la noche. Respecto al cortisol las áreas de secreción fueron mayores por la mañana y por la noche tras piridostigmina, pero las diferencias no fueron significativas [Llorente y cols, 1996].

En ambos grupos, los niveles de GH aumentaron de forma significativa, indicando que la estimulación colinérgica había efectivamente tenido lugar. Este incremento fue mayor en no fumadores, aunque no significativo.

Estos datos sugieren que la administración de piridostigmina ocasiona una tendencia a respuestas opuestas en cuanto al cortisol (disminución en fumadores y aumento en no fumadores) y a la ACTH (aumento en fumadores y disminución en no fumadores), lo que hablaría a favor de mecanismos de regulación del eje HHA diferenciados por el posible efecto de la nicotina.

### **2.2.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

En el test salino piridostigmina, tanto en diabéticos como en controles los niveles de ACTH y cortisol fueron paralelos. Se observó un descenso de los niveles desde el tiempo - 60 minutos hasta los tiempos + 15-30 minutos. Posteriormente las concentraciones de ambas hormonas permanecieron sin grandes cambios. Los niveles iniciales elevados tanto de ACTH como de cortisol muy probablemente estén en relación con el estrés que supone la prueba y especialmente la venopunción.

Los niveles medios y las áreas de secreción de ACTH y cortisol no fueron significativamente diferentes entre diabéticos y controles. En ambos grupos hubo una correlación positiva entre la ACTH y el cortisol, indicando un paralelismo entre las dos hormonas.

Dentro de cada grupo, al comparar el test salino basal frente al test salino piridostigmina, la administración del colinérgico no modificó de forma significativa los niveles de ACTH ni de cortisol, si bien hubo una tendencia a valores superiores en diabéticos y a valores menores en controles en las áreas de secreción. Los porcentajes de variación en el área de secreción total de ACTH y cortisol fueron mayores en diabéticos que en controles, aunque no alcanzaron significación estadística. Para el cortisol, este porcentaje fue positivo en diabéticos y negativo en controles. Es posible que estas diferencias hubiesen sido significativas con un tamaño muestral mayor.

No se demuestra por tanto que la activación colinérgica aumente los niveles de ACTH y cortisol, ni en diabéticos ni en controles, tampoco se demuestra que las respuestas sean mayores en diabéticos. No obstante, hubo

una tendencia a un aumento en diabéticos y a una reducción en controles, lo que podría indicar una regulación diferenciada del eje HHA en diabéticos.

Respecto a los controles, los datos que se presentan aquí son concordantes con lo publicado por otros autores, es decir que el pretratamiento con piridostigmina no modifica los niveles de ACTH ni de cortisol [Freeman y cols, 1990; Ghigo y cols, 1990]. Por el contrario, Llorente y cols. encontraron que la administración del colinérgico reducía los niveles de ACTH sin alterar los de cortisol [Llorente y cols, 1996]. Incluso, se ha comunicado un efecto estimulador con diferentes colinérgicos como la arecolina [Risch y cols, 1981], y la fisostigmina [Raskind y cols, 1990] y piridostigmina en ancianos [Murialdo y cols, 1993]. Es posible que las diferencias encontradas entre los diferentes estudios se deban a diferencias metodológicas, como por ejemplo el tipo de diseño experimental, el método de análisis estadístico, la población incluida y las dosis de fármacos.

No existe evidencia en la literatura sobre el efecto de la piridostigmina en las hormonas del eje HHA en diabéticos. Sin embargo, la administración del anticolinérgico pirenzepina no fue capaz de reducir los niveles de cortisol en diabéticos [Pietschmann y Schernthaner, 1988; Mimura y cols, 1992], indicando que la manipulación colinérgica no afecta al eje HHA, hallazgo que está en concordancia con nuestros resultados.

Está ampliamente aceptado que la administración de piridostigmina en controles sanos estimula los niveles de GH basal [Massara y cols, 1986b; Ross y cols, 1987; Peñalva y cols, 1989 y 1990; Cordido y cols, 1989; Giustina y cols, 1991; Llorente y cols, 1996] y la secreción media de 24 horas de GH, cuando se administra de forma repetida durante 48 horas. Este aumento de la secreción de GH probablemente se realice a través de la

inhibición de la liberación de somatostatina por el hipotálamo [Wehrenberg y cols, 1992; Goñi y cols, 1997].

La valoración de la respuesta de GH a agonistas y antagonistas colinérgicos, sugiere que en la DM-1 existe un tono colinérgico hipotalámico aumentado, que a su vez reduce el tono somatostatinérgico, lo que permite mantener una actividad excesiva de las células somatotropas [Giustina y cols, 1990 y 1993; Ismail y cols, 1993].

Tras administrar piridostigmina, los niveles de GH mostraron un incremento desde el minuto - 60 hasta el minuto +15 en diabéticos y + 60 en controles; posteriormente sus niveles disminuyeron de forma progresiva hasta el minuto + 120. Nuestros hallazgos confirman respuestas mayores de GH en diabéticos, siendo la diferencia significativa en el área de secreción de - 60 a 0 minutos, que es el momento de máxima actividad de la piridostigmina.

Dentro de cada grupo, la piridostigmina ocasionó un incremento significativo de los niveles de GH puntuales y áreas de secreción tanto en diabéticos como en controles de acuerdo con una activación colinérgica de la secreción de GH, lo que confirma que los participantes habían tomado correctamente la medicación colinérgica. El porcentaje de variación en el área de secreción total fue mayor, aunque no significativo, en controles que en diabéticos. Esto posiblemente refleje un tono colinérgico ya aumentado en situación basal en diabéticos.

Hallazgos similares a los nuestro se han encontrado en otros estudios. El aumento del tono colinérgico hipotalámico en diabéticos es de similar magnitud que el de sujetos normales pretratados con piridostigmina, ya que el pretratamiento con el colinérgico en los diabéticos no fue capaz de elevar

## Discusión

adicionalmente los niveles ya aumentados del tono colinérgico de estos pacientes [Ismail y cols, 1993].

La GH no se correlacionó con los niveles de cortisol en ninguno de los grupos, y con la ACTH se correlacionó solamente en el grupo de diabéticos y de forma negativa. Por consiguiente, no se demuestra paralelismo entre las respuestas del eje HHA y somatotrópico a la estimulación colinérgica.

Tanto en diabéticos como en controles los niveles de glucemia permanecieron estables con muy pequeñas oscilaciones. No es sorprendente que las áreas de secreción de glucemia fueran mayores en diabéticos, si bien se alcanzó significación estadística sólo en el área de -60 a 0 minutos. Curiosamente, los niveles de glucemia dentro de cada grupo fueron menores tras la administración de piridostigmina, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística. El porcentaje de reducción en el área de secreción total fue mayor en diabéticos, si bien tampoco alcanzó significación estadística. Giustina y cols. han reportado que la glucemia no se modifica tras piridostigmina [Giustina y cols, 1993]. Lo esperable sería que el aumento de los niveles de GH se acompañara de un aumento de la glucemia, sin embargo en nuestro estudio la glucemia no se correlacionó con la GH ni en diabéticos ni en controles.

### **3. TESTS GHRH**

#### **3.1. RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A LA ADMINISTRACIÓN DE GHRH**

##### **3.1.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

Tanto en fumadores como en no fumadores, la administración de GHRH produjo un incremento significativo de la secreción de GH. Al comparar los dos grupos, las respuestas de GH fueron mayores en fumadores (valores puntuales, parámetros de respuesta, excepto el incremento porcentual, y áreas de secreción, excepto el área -60-0 minutos). Sin embargo, no se demostraron diferencias significativas entre ambos grupos.

No existe evidencia previa sobre el efecto de la estimulación de GH con GHRH en fumadores para hacer comparaciones, pero sí se han reportado las respuestas a otros tests estimulatorios. A diferencia de nuestro trabajo, Coiro y cols. demostraron que las respuestas de GH y cortisol al ejercicio físico son menores en controles fumadores que en controles no fumadores [Coiro y cols, 2004], sugiriendo que el tabaquismo puede atenuar las respuestas de GH y cortisol ante factores estimulantes como un mecanismo de adaptación al efecto estimulante de la nicotina.

En los fumadores, la administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de glucemia desde el minuto 0 hasta el pico máximo. Por el contrario, en los no fumadores los niveles de glucemia no se modificaron. Al comparar los dos grupos, las respuestas de glucemia fueron mayores en fumadores, siendo significativa la diferencia en los tres últimos valores puntuales.



## Discusión

El aumento de los niveles de glucemia tras GHRH en fumadores podría estar en relación con el efecto hiperglucemiante de la GH [Butler y Rizza, 1989], hormona cuyos niveles también aumentaron durante la prueba. Sin embargo no se encontró correlación entre los niveles de GH y glucemia. Se ha reportado, a su vez, que la hiperglucemia inhibe la secreción de GH como se puso de manifiesto al comparar las respuestas de GH tras administrar GHRH sola y conjuntamente con glucosa IV [Delitala y cols, 1990]. Una posible explicación al aumento de la glucemia en fumadores podría ser el aumento de la insulinoresistencia que ocasiona la nicotina. Es un hecho conocido que el hábito de fumar aumenta el riesgo de diabetes [Rimm y cols, 1993] y que los fumadores son hiperinsulinémicos y relativamente intolerantes a la glucosa cuando se los compara con los no fumadores [Fрати y cols, 1996].

### 3.1.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES

El GHRH sintético (1-29 NH<sub>2</sub>) es equipotente al GHRH (1-40 NH<sub>2</sub>) humano, estimula la liberación de GH de una manera dosis dependiente, siendo las respuestas individuales muy variables. Su administración IV produce un rápido incremento de los niveles plasmáticos de GH, alcanzándose valores máximos a los 30-60 minutos de la inyección y volviendo a sus valores basales a las 2-3 horas de la inyección. Las respuestas de GH a GHRH en hombres sanos fueron similares a las conseguidas con la hipoglucemia insulínica:  $20,2 \pm 1,0$  ng/ml después de la insulina y  $20,9 \pm 3,2$  tras GHRH [Vance y cols, 1984; Gelato y cols, 1984; Grossman y cols, 1984].

Los resultados de nuestro estudio son congruentes con los datos anteriores: en los diabéticos y en los controles, la administración de GHRH produce un incremento significativo de la secreción de GH.

## Discusión

Los diabéticos presentaron respuestas mucho mayores en las determinaciones puntuales, en las áreas de secreción y en todos los parámetros de respuesta de GH, excepto el incremento porcentual, si bien las diferencias no fueron significativas.

En la literatura médica se han comunicado resultados semejantes a los descritos por nosotros en diabéticos. Las respuestas de GH a GHRH en diabéticos se han encontrado exageradas [Krassowski y cols, 1988; Schaper y cols, 1990; Giustina y cols, 1990; Ismail y cols, 1993] o normales [Press y cols, 1984b; Giampietro y cols, 1987] al compararlas con sujetos control. Por ejemplo, Ismail y cols. encontraron en siete sujetos sanos y en 13 pacientes DM-1 unos niveles basales de GH de  $1.8 \pm 0.4$  y  $16 \pm 4.8$  mU/l; un PM de GH a los 15 minutos en ambos grupos de  $28 \pm 5$  y  $70.11$  mU/l y unos niveles medios de GH de  $16.7 \pm 3.8$  y  $38.9 \pm 5.4$  mU/l respectivamente, siendo la diferencia significativa para el PM y los niveles medios de GH [Ismail y cols, 1993].

Tanto en diabéticos como en controles, la administración de GHRH ocasionó un incremento significativo en los niveles de glucosa, al comparar los valores en el minuto 0 y el pico máximo. Se pone aquí de manifiesto el efecto hiperglucemiante de la GH.

Las respuestas de la glucemia fueron superiores en los diabéticos como era esperable. No hubo correlación entre niveles de glucemia y GH, ni tampoco entre la HbA1 y los niveles de GH y glucemia en diabéticos.

## **3.2. EFECTO DE LA MANIPULACIÓN COLINÉRGICA SOBRE LA RESPUESTA SOMATOTRÓPICA A GHRH**

### **3.2.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

Tras la administración de piridostigmina, los niveles de GH aumentaron de forma significativa en ambos grupos. La mayor parte de los valores puntuales, todos los parámetros de respuesta, excepto el incremento porcentual, y todas las áreas de secreción de GH, excepto el área de – 60 a 0 minutos, fueron mayores en fumadores, aunque no se demostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Es posible que si el número de participantes hubiera sido mayor, las diferencias habrían sido significativas; en este caso indicaría un tono colinérgico aumentado en fumadores por efecto de la nicotina.

Dentro de cada grupo, al comparar las respuestas a GHRH entre los tests GPB y GPD, la administración de piridostigmina ocasionó respuestas mayores de GH en fumadores. Por el contrario, en no fumadores, hubo también valores mayores tras administrar el colinérgico, pero sin alcanzar significación estadística.

El incremento de las respuestas de GH fue mayor en fumadores, aunque de forma no significativa. Es decir, el efecto sinérgico de GHRH y piridostigmina fue mayor en los fumadores, lo que podría apuntar a una regulación diferencial entre fumadores y no fumadores debido a la inhalación crónica de nicotina.

El efecto del tabaquismo sobre las respuestas de GH a la administración conjunta de GHRH y piridostigmina no se había estudiado con anterioridad por lo que no podemos hacer comparaciones.

Al igual que en el test GHRH basal, la administración de GHRH produjo un aumento significativo de los niveles de glucemia desde el minuto 0 hasta el pico máximo en los fumadores pero no en no fumadores. De esta manera, se pone de manifiesto nuevamente el efecto hiperglucemiante de la GH y se refuerza el valor del hallazgo previo.

### **3.2.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

La neurotransmisión colinérgica juega un papel importante en la regulación de la secreción de GH, y posiblemente lo hace a través de la inhibición de la SS [Locatelli y cols, 1986]. La administración de piridostigmina en humanos incrementa los niveles de GH basal y estimulada por GHRH [Massara y cols, 1986a y 1986b; Ross y cols, 1987; Peñalva y cols, 1989 y 1990; Cordido y cols, 1989; Giustina y cols, 1991].

En consonancia con esta información, en nuestro estudio, tanto en diabéticos como en controles la administración conjunta de GHRH y piridostigmina se acompañó de un incremento significativo de la secreción de GH.

Al comparar los dos grupos, los diabéticos presentaron niveles significativamente mayores de GH en varias determinaciones puntuales, en el incremento absoluto y en las áreas de respuesta total y de 60 a 120 minutos.

Dentro del grupo de diabéticos, tras la inyección de GHRH, los niveles medios de GH fueron significativamente superiores tras piridostigmina a partir el minuto 75 y en las áreas de secreción y respuesta 60 a 120 minutos. En controles, los niveles medios de GH fueron significativamente superiores tras piridostigmina en todos los puntos estudiados, en todas las áreas de

## Discusión

secreción y todos los parámetros de respuesta, excepto el incremento porcentual.

En los pacientes con DM-1, a diferencia de lo que ocurre en sujetos normales, las respuestas de GH a GHRH tras la administración de piridostigmina son variables. Por un lado, en los diabéticos con respuestas exageradas de GH a GHRH, el incremento en el tono colinérgico no afecta a la secreción de GH. Por otro lado, en los pacientes con respuestas normales a GHRH, la adición del colinérgico producía respuestas aditivas como en sujetos normales [Giustina y cols, 1990b]. En nuestro ensayo no se demostró hiperrespuesta de GH a GHRH en diabéticos, y la adición de piridostigmina efectivamente incrementó la respuesta en concordancia con lo descrito en personas sanas.

Los porcentajes de aumento de los parámetros de respuesta fueron mayores en el grupo de diabéticos, pero sin alcanzar significación estadística en ninguno de ellos. No se demuestra por tanto que en los diabéticos el efecto aditivo sea mayor que en controles.

Tras la administración de piridostigmina, de manera análoga al test GHRH basal, tanto en diabéticos como en controles, la administración de GHRH ocasionó un incremento significativo en los niveles de glucosa, al comparar los valores en el minuto 0 y el pico máximo, poniéndose de manifiesto el efecto hiperglucemiante de la GH. Las respuestas glucémicas fueron superiores en diabéticos, aunque las diferencias fueron significativas solamente en el punto - 60 minutos y en el pico máximo. Dentro de cada grupo, la piridostigmina no modificó ninguna de las mediciones de glucemia ni en diabéticos ni en controles. Las diferencias en las respuestas de GH entre diabéticos y controles no pueden explicarse en base a la cifra de

glucemias mayores en diabéticos ya que no hubo correlación entre los niveles de ambos parámetros.

## **4. COMPARACIONES ENTRE TESTS SALINOS Y TESTS GHRH**

### **4.1. CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

La comparación de las respuestas a los tests salino basal y salino GHRH mostró un aumento de las áreas de secreción total y por intervalos desde el minuto 0 al minuto + 120, tanto en fumadores como en no fumadores. No hubo diferencias en el porcentaje de variación del área de secreción total cuando se compararon ambos grupos. Con estos resultados se confirma el efecto estimulador de la GHRH sobre la secreción de GH.

Tras la administración de piridostigmina, aumentaron las áreas de secreción desde el minuto - 60 en relación con el test basal en fumadores. En no fumadores sólo el área de secreción 0 a 60 minutos fue mayor que en el test basal. No obstante, no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de variación del área de secreción total de GH cuando se compararon fumadores y no fumadores.

Estos hallazgos muestran una diferencia clara entre las respuestas de ambos grupos, haciendo evidente que el efecto aditivo de piridostigmina y GHRH es menor en no fumadores que en fumadores, expresando posiblemente un aumento del tono colinérgico en fumadores. Por otro lado, no encontramos una explicación para el área de secreción de - 60 a 0 minutos sea mayor en el test GHRH piridostigmina.

## **4.2. DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

Al comparar el test salino basal con el test GHRH basal, tanto en diabéticos como en controles, la administración de GHRH produjo un aumento significativo de las respuestas de GH a partir del minuto cero, sin modificar la concentración de glucosa. El porcentaje de variación en el área de secreción total fue mayor en controles, aunque la diferencia no fue significativa.

Tras la toma de piridostigmina y la inyección de GHRH, aumentaron los niveles puntuales de GH a partir del minuto 15 y las áreas de secreción total y 0 a 60 minutos, sin modificarse las concentraciones de glucosa, en diabéticos y controles. No se objetivaron diferencias en el porcentaje de variación del área de secreción total cuando se compararon diabéticos y controles.

# CONCLUSIONES





## **CONTROLES: FUMADORES VERSUS NO FUMADORES**

1. La inhalación crónica del humo del tabaco no altera el patrón de excreción de cortisol libre urinario, ni los niveles circulantes basales de ACTH y GH, mientras que sí aumenta los niveles basales de cortisol sérico.
2. La estimulación colinérgica con piridostigmina reduce los niveles de cortisol en fumadores y de ACTH en no fumadores, mientras que no modifica los niveles de ACTH en fumadores ni los de cortisol en no fumadores. Estos hallazgos en no fumadores confirman observaciones descritas previamente.
3. La administración de GHRH produce un incremento de los niveles de GH en fumadores y en no fumadores, y de glucemia sólo en fumadores.
4. La administración conjunta de GHRH más piridostigmina ocasiona un efecto sinérgico sobre la secreción de GH tanto en fumadores como en no fumadores.
5. No se demuestran diferencias entre fumadores y no fumadores en las respuestas de ACTH, cortisol y GH a la estimulación colinérgica con piridostigmina, ni en las respuestas de GH a GHRH y GHRH más piridostigmina.

## **DIABÉTICOS VERSUS CONTROLES**

1. Las cifras de cortisol libre urinario son superiores en los pacientes diabéticos respecto a los controles sanos, sugiriendo que en la DM-1 mal controlada existe cierto grado de hipercortisolismo. Además, el cortisol libre urinario se correlaciona con el control metabólico de forma negativa.
2. Los niveles basales de ACTH y cortisol no se encuentran aumentados en la DM-1, ni se correlacionan con los niveles de cortisol libre urinario. Estos datos no apoyan la existencia de hipercortisolismo en al DM-1.
3. Los niveles basales de GH se hallan elevados en los pacientes con DM-1 mal controlada confirmándose la hipersomatotropinemia basal.
4. La activación colinérgica no modifica los niveles de ACTH ni de cortisol, tanto en diabéticos como en controles. Además, provoca un incremento de GH basal y tras GHRH mayor en diabéticos, demostrando un tono colinérgico hipotalámico aumentado.
5. No existe paralelismo entre las respuestas del eje HHA y del eje somatotrópico de forma basal, mientras que tras piridostigmina, la GH se correlaciona de forma negativa con el cortisol pero no con la ACTH. Este hecho habla en contra de un mecanismo común alterado en el sistema colinérgico en DM-1.
6. El grado de control metabólico no se relaciona con los niveles de glucemia ni con las respuestas del eje somatotrópico y eje HHA.
7. Los niveles de GH tras GHRH no son superiores en diabéticos, no confirmándose hiperrespuesta en estos pacientes.
8. La administración de GHRH ocasiona un aumento de los niveles de glucemia tanto en controles como en diabéticos expresando posiblemente el efecto hiperglucemiante de la GH.

# APÉNDICE DE TABLAS



# ESTUDIOS BASALES



**TABLA I A**  
**ANALÍTICA BASAL**  
Valores Expresados en MEDIA ± EEM

|  | Rango de normalidad<br>Unidades | Controles<br>fumadores | Controles no<br>fumadores |
|--|---------------------------------|------------------------|---------------------------|
| <b>TSH</b>   | 0.40-4.00 U/ml                  | 2.16 ± 0.55            | 1.45 ± 0.22               |
| <b>Cortisol libre urinario</b>                     | 25-120 mcg/24 horas             | 30.59 ± 4.36           | 33.95 ± 3.76              |
| <b>Creatinina sérica</b>                           | 0.1-1.1 mg/dl                   | 1.00 ± 0.05            | 0.96 ± 0.04               |
| <b>Diuresis de 24 horas</b>                        | ml                              | 1592.00 ± 152.36       | 1078.40 ± 112.55          |
| <b>Aclaramiento de creatinina</b>                  | 70-150 ml/min                   | 101.43 ± 12.50         | 120.98 ± 8.05             |
| <b>Creatinina urinaria</b>                         | mg/24 horas                     | 1477.64 ± 219.87       | 1699.68 ± 177.70          |
| <b>Creatinina urinaria por kg de peso corporal</b> | mg/kg                           | 18.59 ± 2.27           | 22.45 ± 2.13              |

**TABLA I B**  
**ANALÍTICA BASAL**  
Valores Expresados en MEDIA ± EEM

|  | Rango de normalidad<br>Unidades | Diabéticos       | Controles        |
|--|---------------------------------|------------------|------------------|
| <b>TSH</b>   | 0.40-4.00 U/ml                  | 1.17 ± 0.33      | 1.81 ± 0.30      |
| <b>Hb A1c</b>                                      | 4.00-6.00 %                     | 9.22 ± .038      | No valorada      |
| <b>Fructosamina</b>                                | 205-285 mmol/l                  | 392.33 ± 24.39   | No valorada      |
| <b>Cortisol libre urinario</b>                     | 25-120 mcg/24 horas             | 47.21 ± 7.29     | 32.09 ± 2.83     |
| <b>Creatinina sérica</b>                           | 0.1-1.1 mg/dl                   | 0.80 ± 0.06      | 0.98 ± 0.03      |
| <b>Diuresis de 24 horas</b>                        | ml                              | 1815.00 ± 173.66 | 1335.20 ± 123.70 |
| <b>Microalbuminuria urinaria</b>                   | 0-30 mg/24 horas                | 2.04 ± 0.76      | No valorada      |
| <b>Aclaramiento de creatinina</b>                  | 70-150 ml/min                   | 134.85 ± 20.62   | 110.12 ± 8.13    |
| <b>Creatinina urinaria</b>                         | mg/24 horas                     | 1466.25 ± 100.68 | 1576.32 ± 142.17 |
| <b>Creatinina urinaria por kg de peso corporal</b> | mg/kg                           | 20.14 ± 1.74     | 20.31 ± 1.63     |



## *Apéndice de tablas*

# **CONTROLES: FUMADORES Y NO FUMADORES**



**TABLA II**  
**TESTS SALINOS**

Valores de ACTH (pg/ml). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Fumadores    | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |              |
| - 60           | 46.63 ± 9.73 | 24.32 ± 4.38 | 81.56 ± 30.60  | 26.42 ± 4.77 |
| - 30           | 26.64 ± 3.47 | 18.87 ± 5.20 | 33.68 ± 8.04   | 17.70 ± 4.65 |
| - 15           | 25.27 ± 3.98 | 19.64 ± 5.41 | 24.36 ± 5.40   | 15.84 ± 3.20 |
| 0              | 21.00 ± 4.27 | 17.74 ± 4.48 | 21.83 ± 4.29   | 14.47 ± 2.65 |
| + 15           | 20.13 ± 2.95 | 18.81 ± 4.27 | 19.60 ± 3.66   | 17.41 ± 3.15 |
| + 30           | 18.86 ± 4.35 | 21.24 ± 5.69 | 18.55 ± 3.29   | 15.78 ± 2.93 |
| + 45           | 19.75 ± 5.24 | 23.99 ± 7.90 | 19.71 ± 5.43   | 15.71 ± 3.13 |
| + 60           | 23.75 ± 5.41 | 24.16 ± 7.41 | 22.33 ± 4.25   | 16.50 ± 2.64 |
| + 75           | 23.96 ± 6.96 | 21.48 ± 4.25 | 19.95 ± 4.05   | 16.59 ± 3.07 |
| + 90           | 22.95 ± 4.98 | 19.11 ± 4.83 | 20.66 ± 3.31   | 14.51 ± 0.94 |
| + 105          | 22.02 ± 3.19 | 16.87 ± 1.54 | 21.35 ± 4.04   | 12.49 ± 1.65 |
| + 120          | 20.42 ± 3.06 | 22.78 ± 7.18 | 19.95 ± 3.71   | 18.53 ± 1.66 |

**TABLA III**  
**TESTS SALINOS**

Áreas Bajo la Curva de ACTH. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL               |                     | PIRIDOSTIGMINA      |                     |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|  | Fumadores           | No fumadores        | Fumadores           | No fumadores        |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS</b><br><b>(pg/ml/60 minutos)</b> | 1835.40 ±<br>226.30 | 1217.16 ±<br>290.78 | 2510.40 ±<br>730.01 | 1140.66 ±<br>234.71 |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS</b><br><b>(pg/ml/60 minutos)</b>   | 1216.72 ±<br>250.06 | 1274.82 ±<br>354.74 | 1199.24 ±<br>226.23 | 965.80 ±<br>164.25  |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS</b><br><b>(pg/ml/60 minutos)</b> | 1365.36 ±<br>286.54 | 1214.22 ±<br>214.07 | 1246.56 ±<br>208.17 | 916.46 ±<br>80.95   |
| <b>AUC TOTAL</b><br><b>(pg/ml/180 minutos)</b>           | 4417.20 ±<br>627.88 | 3706.20 ±<br>839.05 | 4956.00<br>932.69   | 3022.80 ±<br>438.02 |

**TABLA IV**  
**TESTS SALINOS**

Valores de Cortisol (mcg/dl). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Fumadores    | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |              |
| - 60           | 22.46 ± 2.95 | 16.00 ± 1.33 | 22.86 ± 3.77   | 20.00 ± 3.29 |
| - 30           | 16.58 ± 1.53 | 12.46 ± 1.09 | 16.08 ± 2.53   | 14.32 ± 2.04 |
| - 15           | 15.42 ± 1.38 | 10.29 ± 1.40 | 13.20 ± 1.50   | 10.77 ± 1.93 |
| 0              | 13.62 ± 1.16 | 9.79 ± 1.29  | 12.26 ± 1.76   | 11.62 ± 1.54 |
| + 15           | 12.96 ± 1.14 | 8.89 ± 1.19  | 10.10 ± 1.50   | 10.21 ± 1.29 |
| + 30           | 11.28 ± 1.27 | 8.69 ± 1.05  | 9.87 ± 1.28    | 10.55 ± 1.74 |
| + 45           | 11.08 ± 1.63 | 9.00 ± 1.92  | 9.36 ± 1.44    | 8.46 ± 1.42  |
| + 60           | 11.01 ± 2.12 | 9.48 ± 2.52  | 9.00 ± 1.96    | 8.03 ± 1.37  |
| + 75           | 10.73 ± 2.15 | 9.75 ± 2.62  | 8.57 ± 2.09    | 8.30 ± 1.85  |
| + 90           | 10.40 ± 2.18 | 9.84 ± 2.32  | 8.42 ± 2.10    | 8.41 ± 1.66  |
| + 105          | 9.22 ± 1.87  | 8.99 ± 1.76  | 7.59 ± 1.82    | 8.07 ± 1.39  |
| + 120          | 8.87 ± 1.64  | 9.98 ± 1.25  | 7.13 ± 1.48    | 8.41 ± 1.63  |

**TABLA V**  
**TESTS SALINOS**

Áreas Bajo la Curva de Cortisol. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL               |                     | PIRIDOSTIGMINA      |                     |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|  | Fumadores           | No fumadores        | Fumadores           | No fumadores        |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS</b><br>(mcg/dl/60 minutos) | 1043.46 ±<br>95.60  | 748.14 ±<br>62.84   | 994.68 ±<br>147.00  | 870.90 ±<br>110.75  |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS</b><br>(mcg/dl/60 minutos)   | 714.48 ±<br>79.20   | 543.14 ±<br>90.00   | 599.42 ±<br>83.85   | 585.64 ±<br>87.36   |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS</b><br>(mcg/dl/60 minutos) | 604.38 ±<br>118.89  | 574.82 ±<br>123.39  | 489.76 ±<br>113.02  | 494.94 ±<br>89.02   |
| <b>AUC TOTAL</b><br>(mcg/dl/180 minutos)           | 2362.20 ±<br>200.64 | 1865.80 ±<br>262.50 | 2083.80 ±<br>304.56 | 1951.40 ±<br>255.72 |

**TABLA VI**  
**TESTS SALINOS**  
 Valores de GH (ng/ml). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL       |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|-------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Fumadores   | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>Minutos</b> |             |              |                |              |
| - 60           | 0.19 ± 0.12 | 0.13 ± 0.07  | 0.31 ± 0.18    | 0.11 ± 0.03  |
| - 30           | 0.38 ± 0.29 | 0.14 ± 0.07  | 0.10 ± 0.04    | 0.08 ± 0.04  |
| - 15           | 0.26 ± 0.14 | 0.16 ± 0.06  | 0.40 ± 0.33    | 0.13 ± 0.05  |
| 0              | 0.16 ± 0.11 | 0.17 ± 0.07  | 3.31 ± 2.43    | 0.58 ± 0.44  |
| + 15           | 0.13 ± 0.07 | 0.33 ± 0.13  | 9.51 ± 6.95    | 2.04 ± 1.42  |
| + 30           | 0.14 ± 0.07 | 0.17 ± 0.08  | 8.43 ± 5.74    | 3.36 ± 2.05  |
| + 45           | 0.15 ± 0.08 | 0.16 ± 0.08  | 6.02 ± 3.42    | 6.59 ± 2.95  |
| + 60           | 0.10 ± 0.05 | 0.12 ± 0.08  | 3.68 ± 1.96    | 10.41 ± 6.62 |
| + 75           | 0.09 ± 0.03 | 0.15 ± 0.08  | 2.76 ± 1.29    | 9.63 ± 5.36  |
| + 90           | 0.16 ± 0.03 | 0.27 ± 0.14  | 2.21 ± 1.05    | 8.43 ± 4.33  |
| + 105          | 0.31 ± 0.19 | 0.26 ± 0.13  | 1.63 ± 0.87    | 5.25 ± 2.22  |
| + 120          | 1.16 ± 1.04 | 0.24 ± 0.13  | 1.14 ± 0.66    | 3.78 ± 1.83  |

**TABLA VII**  
**TESTS SALINOS**  
 Áreas Bajo la Curva de GH. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL            |                  | PIRIDOSTIGMINA     |                    |
|--|------------------|------------------|--------------------|--------------------|
|  | Fumadores        | No fumadores     | Fumadores          | No fumadores       |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS<br/>(ng/ml/60 minutos)</b> | 16.40 ±<br>11.08 | 8.81 ± 4.19      | 37.68 ±<br>23.12   | 9.68 ± 4.02        |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS<br/>(ng/ml/60 minutos)</b>   | 8.15 ± 4.49      | 12.06 ± 4.48     | 411.87 ±<br>268.83 | 262.23 ±<br>116.61 |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS<br/>(ng/ml/60 minutos)</b> | 17.81 ±<br>11.58 | 13.04 ± 5.97     | 135.22 ±<br>64.89  | 456.00 ±<br>231.49 |
| <b>AUC TOTAL<br/>(ng/ml/180 minutos)</b>           | 42.35 ±<br>26.98 | 33.90 ±<br>13.32 | 584.75 ±<br>334.49 | 727.94 ±<br>305.47 |

**TABLA VIII**  
**TESTS SALINOS**

Valores de Glucosa (mg/dl). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Fumadores    | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |              |
| - 60           | 81.80 ± 1.77 | 73.80 ± 2.50 | 82.20 ± 0.66   | 84.00 ± 3.83 |
| - 30           | 85.40 ± 2.23 | 79.00 ± 3.89 | 82.80 ± 0.37   | 84.80 ± 4.66 |
| - 15           | 84.20 ± 2.20 | 76.00 ± 1.26 | 82.20 ± 0.86   | 82.20 ± 3.28 |
| 0              | 85.40 ± 2.14 | 77.40 ± 3.19 | 83.40 ± 2.25   | 78.40 ± 3.78 |
| + 15           | 86.20 ± 3.20 | 76.80 ± 2.94 | 81.20 ± 1.96   | 77.00 ± 4.69 |
| + 30           | 85.00 ± 2.28 | 77.60 ± 2.99 | 81.80 ± 2.40   | 75.20 ± 5.38 |
| + 45           | 85.20 ± 2.44 | 79.40 ± 3.08 | 81.00 ± 1.87   | 77.00 ± 5.23 |
| + 60           | 86.40 ± 2.32 | 78.40 ± 3.09 | 82.80 ± 2.63   | 77.40 ± 5.09 |
| + 75           | 86.60 ± 2.36 | 79.00 ± 3.27 | 83.80 ± 0.86   | 78.40 ± 4.78 |
| + 90           | 86.00 ± 2.68 | 80.40 ± 3.12 | 86.00 ± 2.57   | 76.60 ± 3.63 |
| + 105          | 85.40 ± 2.40 | 79.80 ± 2.75 | 86.00 ± 2.12   | 75.20 ± 4.13 |
| + 120          | 88.00 ± 1.38 | 81.20 ± 3.26 | 87.60 ± 2.82   | 75.80 ± 4.42 |

**TABLA IX**  
**TESTS SALINOS**

Áreas Bajo la Curva de Glucosa. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL       |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|--|-------------|--------------|----------------|--------------|
|  | Fumadores   | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS</b><br><b>(mg/dl/60 minutos)</b> | 5052 ± 115  | 4605 ± 156   | 4955 ± 33      | 4989 ± 212   |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS</b><br><b>(mg/dl/60 minutos)</b>   | 5135 ± 146  | 4676 ± 177   | 4907 ± 126     | 4607 ± 292   |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS</b><br><b>(mg/dl/60 minutos)</b> | 5178 ± 128  | 4785 ± 183   | 5115 ± 118     | 4602 ± 249   |
| <b>AUC TOTAL</b><br><b>(mg/dl/180 minutos)</b>           | 15365 ± 382 | 14066 ± 509  | 14976 ± 240    | 14198 ± 570  |

**TABLA X**  
**TESTS GHRH**

Valores de GH (ng/ml). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Fumadores    | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |              |
| - 60           | 0.17 ± 0.1   | 0.09 ± 0.05  | 3.00 ± 2.09    | 0.10 ± 0.07  |
| - 30           | 0.15 ± 0.08  | 0.06 ± 0.03  | 0.55 ± 0.32    | 0.11 ± 0.07  |
| - 15           | 0.12 ± 0.06  | 0.09 ± 0.03  | 0.22 ± 0.11    | 3.25 ± 3.09  |
| 0              | 0.88 ± 0.59  | 0.08 ± 0.04  | 7.31 ± 3.94    | 10.18 ± 9.99 |
| + 15           | 13.75 ± 8.07 | 6.75 ± 1.82  | 27.59 ± 7.00   | 21.24 ± 8.90 |
| + 30           | 12.88 ± 6.08 | 7.52 ± 1.32  | 33.57 ± 9.12   | 22.56 ± 8.42 |
| + 45           | 11.65 ± 4.83 | 8.29 ± 1.30  | 29.56 ± 8.33   | 19.98 ± 7.90 |
| + 60           | 9.87 ± 3.45  | 7.09 ± 1.10  | 26.47 ± 8.84   | 15.84 ± 5.94 |
| + 75           | 6.89 ± 2.32  | 5.76 ± 1.16  | 18.98 ± 6.27   | 10.78 ± 2.45 |
| + 90           | 4.74 ± 1.64  | 3.62 ± 0.74  | 13.04 ± 4.08   | 8.55 ± 1.46  |
| + 105          | 3.18 ± 1.27  | 2.23 ± 0.52  | 7.52 ± 1.56    | 5.34 ± 1.09  |
| + 120          | 1.95 ± 0.72  | 1.38 ± 0.37  | 5.32 ± 1.15    | 2.99 ± 0.56  |

**TABLA XI**  
**TESTS GHRH**

Parámetros de Respuesta de GH. Expresados en MEDIA ± EEM

|   | BASAL             |                     | PIRIDOSTIGMINA    |                    |
|---|-------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
|   | Fumadores         | No fumadores        | Fumadores         | No fumadores       |
| <b>Pico Máximo (ng/ml)</b>                        | 15.23 ± 7.8       | 9.00 ± 1.57         | 34.01 ± 9.27      | 23.32 ± 8.40       |
| <b>Incremento absoluto (ng/ml)</b>                | 14.35 ± 7.95      | 8.92 ± 1.56         | 26.70 ± 7.89      | 13.5 ± 3.23        |
| <b>Incremento porcentual (%)</b>                  | 5564.70 ± 2329.56 | 30550.72 ± 12559.48 | 8233.30 ± 4902.46 | 12826.36 ± 5756.19 |
| <b>AUC de respuesta (ng/ml/120 minutos)</b>       | 951.47 ± 394.35   | 628.40 ± 112.32     | 2328.58 ± 622.93  | 1500.35 ± 439.80   |
| <b>AUC de Respuesta 0-60 (ng/ml/60 minutos)</b>   | 647.82 ± 307.79   | 391.45 ± 69.26      | 1555.65 ± 423.46  | 1070.44 ± 414.69   |
| <b>AUC de Respuesta 60-120 (ng/ml/60 minutos)</b> | 303.74 ± 107.44   | 236.97 ± 46.72      | 773.03 ± 247.79   | 429.94 ± 75.96     |



TABLA XII  
TESTS GHRH

Áreas Bajo la Curva de GH. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL              |                    | PIRIDOSTIGMINA      |                     |
|--|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
|  | Fumadores          | No fumadores       | Fumadores           | No fumadores        |
| AUC – 60 a 0 MINUTOS<br>(ng/ml/60 minutos) | 14.27 ± 4.57       | 4.50 ± 2.06        | 115.58 ±<br>62.34   | 128.94 ±<br>120.96  |
| AUC 0 a 60 MINUTOS<br>(ng/ml/60 minutos)   | 654.88 ±<br>306.60 | 392.12 ±<br>69.38  | 1614.16 ±<br>441.68 | 1151.86 ±<br>491.07 |
| AUC 60 a 120 MINUTOS<br>(ng/ml/60 minutos) | 310.80 ±<br>104.79 | 237.64 ±<br>46.95  | 831.54 ±<br>245.72  | 511.36 ±<br>115.83  |
| AUC TOTAL<br>(ng/ml/180 minutos)           | 979.90 ±<br>391.69 | 634.24 ±<br>113.97 | 2561.20 ±<br>680.06 | 1792.24 ±<br>705.36 |

**TABLA XIII  
TESTS GHRH**

Valores de Glucosa (mg/dl). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Fumadores    | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |              |
| - 60           | 83.20 ± 3.29 | 83.20 ± 2.18 | 85.40 ± 3.56   | 81.20 ± 2.80 |
| - 30           | 85.60 ± 3.17 | 83.20 ± 3.61 | 89.40 ± 3.89   | 84.60 ± 4.55 |
| - 15           | 90.40 ± 7.37 | 82.00 ± 2.88 | 84.80 ± 4.41   | 84.00 ± 5.22 |
| 0              | 82.00 ± 3.78 | 76.80 ± 3.62 | 84.40 ± 3.57   | 82.20 ± 4.64 |
| + 15           | 82.60 ± 3.01 | 78.40 ± 3.03 | 85.60 ± 4.18   | 77.60 ± 4.27 |
| + 30           | 82.40 ± 3.16 | 80.00 ± 2.47 | 83.60 ± 3.31   | 74.40 ± 3.80 |
| + 45           | 80.60 ± 3.50 | 79.80 ± 2.48 | 83.60 ± 3.72   | 73.00 ± 3.85 |
| + 60           | 83.00 ± 3.55 | 79.8 ± 2.54  | 84.20 ± 3.73   | 74.40 ± 4.56 |
| + 75           | 82.40 ± 2.48 | 81.00 ± 2.57 | 88.00 ± 3.18   | 77.60 ± 4.11 |
| + 90           | 84.60 ± 1.50 | 80.60 ± 2.27 | 88.80 ± 3.23   | 78.40 ± 2.93 |
| + 105          | 94.80 ± 9.52 | 80.80 ± 1.93 | 89.60 ± 3.12   | 78.00 ± 3.00 |
| + 120          | 96.40 ± 9.57 | 81.00 ± 2.00 | 91.20 ± 3.57   | 79.40 ± 2.86 |

**TABLA XIV  
TESTS GHRH**

Parámetros de Respuesta de Glucosa. Expresados en MEDIA ± EEM

|   | BASAL            |                  | PIRIDOSTIGMINA   |                  |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------|
|   | Fumadores        | No fumadores     | Fumadores        | No fumadores     |
| <b>Pico Máximo (mg/dl)</b>                        | 96.80 ± 9.50     | 87.60 ± 2.40     | 92.80 ± 3.54     | 86.80 ± 4.45     |
| <b>Incremento absoluto (mg/dl)</b>                | 14.80 ± 7.17     | 10.80 ± 5.42     | -0.8 ± 12.02     | 11.20 ± 7.61     |
| <b>Incremento porcentual (%)</b>                  | 17.51 ± 7.70     | 15.51 ± 8.22     | 3.35 ± 10.57     | 16.77 ± 10.90    |
| <b>AUC de respuesta (mg/dl/120 minutos)</b>       | 8882.40 ± 390.97 | 8361.00 ± 234.64 | 8870.80 ± 495.26 | 8003.60 ± 448.21 |
| <b>AUC de Respuesta 0-60 (mg/dl/60 minutos)</b>   | 4265.60 ± 167.73 | 4133.40 ± 132.78 | 4308.00 ± 259.94 | 3944.80 ± 244.64 |
| <b>AUC de Respuesta 60-120 (mg/dl/60 minutos)</b> | 4616.80 ± 243.63 | 4227.80 ± 114.69 | 4563.00 ± 241.87 | 4059.00 ± 205.94 |

TABLA XV  
TESTS GHRH

Áreas Bajo la Curva de Glucosa. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL       |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|--|-------------|--------------|----------------|--------------|
|  | Fumadores   | No fumadores | Fumadores      | No fumadores |
| AUC – 60 a 0 MINUTOS<br>(mg/dl/60 minutos) | 5145 ± 243  | 4926 ± 119   | 5198 ± 224     | 4998 ± 247   |
| AUC 0 a 60 MINUTOS<br>(mg/dl/60 minutos)   | 4922 ± 195  | 4748 ± 158   | 5057 ± 217     | 4550 ± 238   |
| AUC 60 a 120 MINUTOS<br>(mg/dl/60 minutos) | 5273 ± 269  | 4842 ± 130   | 5312 ± 192     | 4664 ± 200   |
| AUC TOTAL<br>(mg/dl/180 minutos)           | 15339 ± 679 | 14516 ± 338  | 15566 ± 618    | 14211 ± 647  |

# DIABÉTICOS Y CONTROLES



TABLA XVI  
TESTS SALINOS

Valores de ACTH (pg/ml). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |               |
|----------------|--------------|--------------|----------------|---------------|
|                | Diabéticos   | Controles    | Diabéticos     | Controles     |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |               |
| - 60           | 31.99 ± 7.11 | 35.47 ± 6.25 | 27.94 ± 6.13   | 53.99 ± 17.25 |
| - 30           | 20.52 ± 3.55 | 22.76 ± 3.22 | 19.70 ± 3.45   | 25.69 ± 5.13  |
| - 15           | 18.27 ± 3.53 | 22.46 ± 3.30 | 26.61 ± 11.20  | 20.10 ± 3.28  |
| 0              | 17.55 ± 4.08 | 19.37 ± 2.97 | 22.86 ± 8.06   | 18.15 ± 2.68  |
| + 15           | 15.47 ± 4.17 | 19.47 ± 2.46 | 17.33 ± 4.45   | 18.50 ± 2.31  |
| + 30           | 16.79 ± 5.46 | 20.05 ± 3.40 | 18.16 ± 3.99   | 17.17 ± 2.13  |
| + 45           | 16.70 ± 4.03 | 21.87 ± 4.53 | 17.76 ± 3.85   | 17.71 ± 3.03  |
| + 60           | 17.36 ± 4.27 | 23.96 ± 4.33 | 18.29 ± 3.65   | 19.42 ± 2.55  |
| + 75           | 18.94 ± 4.50 | 22.72 ± 3.87 | 18.55 ± 3.63   | 18.27 ± 2.46  |
| + 90           | 18.40 ± 4.00 | 21.03 ± 3.33 | 19.73 ± 5.51   | 17.59 ± 1.92  |
| + 105          | 20.66 ± 5.24 | 19.45 ± 1.88 | 21.04 ± 6.85   | 16.92 ± 2.53  |
| + 120          | 21.30 ± 5.04 | 21.60 ± 3.70 | 20.48 ± 4.21   | 19.24 ± 1.93  |

TABLA XVII  
TESTS SALINOS

Áreas Bajo la Curva de ACTH. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL               |                     | PIRIDOSTIGMINA      |                     |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|  | Diabéticos          | Controles           | Diabéticos          | Controles           |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS<br/>(pg/ml/60 minutos)</b> | 1347.15 ±<br>255.02 | 1526.28 ±<br>201.96 | 1432.65 ±<br>383.19 | 1825.53 ±<br>427.53 |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS<br/>(pg/ml/60 minutos)</b>   | 996.28 ±<br>263.72  | 1245.77 ±<br>204.83 | 1107.37 ±<br>253.44 | 1082.52 ±<br>137.41 |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS<br/>(pg/ml/60 minutos)</b> | 1160.03 ±<br>267.32 | 1289.79 ±<br>170.48 | 1180.48 ±<br>287.19 | 1081.51 ±<br>118.80 |
| <b>AUC TOTAL<br/>(pg/ml/180 minutos)</b>           | 3503.67 ±<br>747.27 | 4061.70 ±<br>508.03 | 3720.33 ±<br>809.13 | 3989.40 ±<br>582.89 |

TABLA XVIII  
TESTS SALINOS

Valores de Cortisol (mcg/dl). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL        |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|--------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Diabéticos   | Controles    | Diabéticos     | Controles    |
| <b>Minutos</b> |              |              |                |              |
| - 60           | 18.40 ± 2.58 | 19.23 ± 1.87 | 15.78 ± 1.86   | 21.43 ± 2.41 |
| - 30           | 14.43 ± 2.23 | 14.52 ± 1.12 | 15.00 ± 3.15   | 15.20 ± 1.56 |
| - 15           | 12.55 ± 1.62 | 12.86 ± 1.26 | 14.38 ± 3.56   | 11.98 ± 1.22 |
| 0              | 11.00 ± 1.63 | 11.70 ± 1.04 | 12.68 ± 3.69   | 11.94 ± 1.11 |
| + 15           | 10.92 ± 1.36 | 10.92 ± 1.03 | 11.26 ± 3.15   | 10.16 ± 0.93 |
| + 30           | 9.21 ± 1.40  | 9.98 ± 0.89  | 8.81 ± 1.60    | 10.21 ± 1.02 |
| + 45           | 9.18 ± 1.21  | 10.04 ± 1.23 | 9.20 ± 1.73    | 8.91 ± 0.96  |
| + 60           | 9.18 ± 1.54  | 10.25 ± 1.57 | 9.56 ± 2.09    | 8.51 ± 1.14  |
| + 75           | 9.05 ± 1.40  | 10.24 ± 1.61 | 9.65 ± 0.97    | 8.43 ± 1.32  |
| + 90           | 9.59 ± 1.39  | 10.12 ± 1.50 | 11.18 ± 1.93   | 8.42 ± 1.26  |
| + 105          | 10.49 ± 1.88 | 9.10 ± 1.21  | 10.17 ± 1.64   | 7.83 ± 1.08  |
| + 120          | 10.18 ± 2.02 | 9.42 ± 0.99  | 9.54 ± 1.20    | 7.77 ± 1.06  |

TABLA XIX  
TESTS SALINOS

Áreas Bajo la Curva de Cortisol. Expresadas en MEDIA ± EEM

|   | BASAL               |                     | PIRIDOSTIGMINA      |                     |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|   | Diabéticos          | Controles           | Diabéticos          | Controles           |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS<br/>(mcg/dl/60 minutos)</b> | 871.25 ±<br>122.39  | 895.80 ±<br>73.01   | 885.15 ±<br>177.64  | 932.79 ±<br>89.18   |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS<br/>(mcg/dl/60 minutos)</b>   | 591.02 ±<br>78.85   | 628.81 ±<br>63.32   | 605.62 ±<br>138.38  | 592.53 ±<br>57.13   |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS<br/>(mcg/dl/60 minutos)</b> | 582.13 ±<br>91.03   | 589.60 ±<br>80.92   | 608.23 ±<br>85.23   | 492.35 ±<br>67.83   |
| <b>AUC TOTAL<br/>(mcg/dl/180 minutos)</b>           | 2044.33 ±<br>256.72 | 2114.00 ±<br>176.36 | 2098.83 ±<br>383.97 | 2017.60 ±<br>188.76 |

**TABLA XX**  
**TESTS SALINOS**  
Valores de GH (ng/ml). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL       |             | PIRIDOSTIGMINA |             |
|----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
|                | Diabéticos  | Controles   | Diabéticos     | Controles   |
| <b>Minutos</b> |             |             |                |             |
| - 60           | 0.11 ± 0.02 | 0.16 ± 0.07 | 0.87 ± 0.76    | 0.21 ± 0.09 |
| - 30           | 0.87 ± 0.70 | 0.26 ± 0.15 | 1.26 ± 0.71    | 0.09 ± 0.03 |
| - 15           | 2.01 ± 1.80 | 0.21 ± 0.08 | 3.38 ± 2.16    | 0.26 ± 0.16 |
| 0              | 2.15 ± 1.89 | 0.17 ± 0.06 | 7.64 ± 4.08    | 1.95 ± 1.25 |
| + 15           | 1.84 ± 1.63 | 0.23 ± 0.08 | 9.64 ± 4.08    | 5.78 ± 3.57 |
| + 30           | 1.40 ± 1.19 | 0.16 ± 0.05 | 9.53 ± 3.46    | 5.90 ± 2.99 |
| + 45           | 0.76 ± 0.51 | 0.15 ± 0.06 | 7.87 ± 3.01    | 6.30 ± 2.13 |
| + 60           | 0.53 ± 0.24 | 0.11 ± 0.05 | 6.89 ± 3.13    | 7.04 ± 3.44 |
| + 75           | 0.54 ± 0.17 | 0.12 ± 0.04 | 6.54 ± 2.94    | 6.20 ± 2.84 |
| + 90           | 0.95 ± 0.55 | 0.21 ± 0.07 | 4.88 ± 2.25    | 5.32 ± 2.34 |
| + 105          | 1.99 ± 1.48 | 0.29 ± 0.11 | 3.52 ± 1.60    | 3.44 ± 1.27 |
| + 120          | 1.83 ± 1.22 | 0.70 ± 0.52 | 2.46 ± 1.06    | 2.46 ± 1.02 |

**TABLA XXI**  
**TESTS SALINOS**  
Áreas Bajo la Curva de GH. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL              |                  | PIRIDOSTIGMINA     |                    |
|--|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|
|  | Diabéticos         | Controles        | Diabéticos         | Controles          |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS<br/>(ng/ml/60 minutos)</b> | 67.40 ±<br>56.93   | 12.60 ± 5.72     | 149.46 ±<br>82.34  | 23.68 ±<br>12.01   |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS<br/>(ng/ml/60 minutos)</b>   | 80.04 ±<br>65.95   | 10.10 ± 3.06     | 514.41 ±<br>190.18 | 337.05 ±<br>140.37 |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS<br/>(ng/ml/60 minutos)</b> | 69.84 ±<br>40.74   | 15.42 ± 6.19     | 294.13 ±<br>131.64 | 295.61 ±<br>125.31 |
| <b>AUC TOTAL<br/>(ng/ml/180 minutos)</b>           | 217.29 ±<br>127.79 | 38.13 ±<br>14.25 | 958.03 ±<br>331.26 | 656.35 ±<br>214.87 |



TABLA XXII  
TESTS SALINOS

Valores de Glucosa (mg/dl). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL          |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Diabéticos     | Controles    | Diabéticos     | Controles    |
| <b>Minutos</b> |                |              |                |              |
| - 60           | 180.17 ± 30.61 | 77.80 ± 1.97 | 151.67 ± 27.29 | 83.10 ± 1.86 |
| - 30           | 175.00 ± 29.67 | 82.20 ± 2.37 | 150.00 ± 31.98 | 83.80 ± 2.23 |
| - 15           | 176.00 ± 30.63 | 80.10 ± 1.82 | 145.17 ± 33.31 | 82.20 ± 1.60 |
| 0              | 172.67 ± 31.10 | 81.40 ± 2.25 | 146.17 ± 35.25 | 80.90 ± 2.23 |
| + 15           | 173.17 ± 32.27 | 81.50 ± 2.58 | 144.67 ± 36.76 | 79.10 ± 2.50 |
| + 30           | 174.17 ± 33.93 | 81.30 ± 2.16 | 145.33 ± 35.76 | 78.50 ± 2.99 |
| + 45           | 173.17 ± 33.73 | 82.30 ± 2.09 | 145.33 ± 35.05 | 79.00 ± 2.70 |
| + 60           | 172.50 ± 34.54 | 82.40 ± 2.26 | 145.33 ± 34.23 | 80.10 ± 2.85 |
| + 75           | 171.00 ± 34.84 | 82.80 ± 2.28 | 147.83 ± 34.12 | 81.10 ± 2.46 |
| + 90           | 172.17 ± 36.35 | 83.20 ± 2.15 | 153.33 ± 34.56 | 81.30 ± 2.62 |
| + 105          | 172.17 ± 36.67 | 82.60 ± 1.96 | 156.50 ± 33.83 | 80.60 ± 2.83 |
| + 120          | 173.33 ± 37.86 | 84.60 ± 2.02 | 159.17 ± 34.68 | 81.70 ± 3.16 |

TABLA XXIII  
TESTS SALINOS

Áreas Bajo la Curva de Glucosa. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL        |             | PIRIDOSTIGMINA |             |
|--|--------------|-------------|----------------|-------------|
|  | Diabéticos   | Controles   | Diabéticos     | Controles   |
| <b>AUC – 60 a 0 MINUTOS<br/>(mg/dl/60 minutos)</b> | 10575 ± 1816 | 4829 ± 118  | 8924 ± 1888    | 4972 ± 101  |
| <b>AUC 0 a 60 MINUTOS<br/>(mg/dl/60 minutos)</b>   | 10396 ± 1990 | 4905 ± 133  | 8717 ± 2133    | 4757 ± 158  |
| <b>AUC 60 a 120 MINUTOS<br/>(mg/dl/60 minutos)</b> | 10324 ± 2159 | 4982 ± 124  | 9149 ± 2053    | 4859 ± 156  |
| <b>AUC TOTAL<br/>(mg/dl/180 minutos)</b>           | 31295 ± 5953 | 14715 ± 370 | 26789 ± 6059   | 14587 ± 319 |

*Apéndice de tablas*

**TABLA XXIV  
TESTS GHRH**

Valores de GH (ng/ml). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL         |              | PIRIDOSTIGMINA |              |
|----------------|---------------|--------------|----------------|--------------|
|                | Diabéticos    | Controles    | Diabéticos     | Controles    |
| <b>Minutos</b> |               |              |                |              |
| - 60           | 2.96 ± 2.81   | 0.13 ± 0.05  | 0.55 ± 0.33    | 1.55 ± 1.10  |
| - 30           | 1.72 ± 1.26   | 0.10 ± 0.04  | 0.55 ± 0.17    | 0.33 ± 0.17  |
| - 15           | 1.22 ± 1.03   | 0.10 ± 0.03  | 2.03 ± 1.24    | 1.73 ± 1.54  |
| 0              | 1.80 ± 1.12   | 0.48 ± 0.31  | 5.04 ± 2.97    | 8.75 ± 5.09  |
| + 15           | 28.91 ± 17.80 | 10.25 ± 4.07 | 56.60 ± 28.76  | 24.41 ± 5.44 |
| + 30           | 29.73 ± 18.18 | 10.20 ± 3.06 | 59.98 ± 25.14  | 28.07 ± 6.13 |
| + 45           | 19.72 ± 10.27 | 9.97 ± 2.43  | 50.28 ± 11.74  | 24.77 ± 5.64 |
| + 60           | 11.89 ± 4.93  | 8.48 ± 1.77  | 38.97 ± 9.20   | 21.16 ± 5.32 |
| + 75           | 8.04 ± 2.85   | 6.32 ± 1.24  | 30.40 ± 7.23   | 14.88 ± 3.46 |
| + 90           | 5.66 ± 1.73   | 4.18 ± 0.87  | 20.47 ± 3.06   | 10.79 ± 2.18 |
| + 105          | 3.78 ± 0.97   | 2.71 ± 0.67  | 13.75 ± 2.12   | 6.43 ± 0.97  |
| + 120          | 2.57 ± 0.68   | 1.67 ± 0.39  | 9.60 ± 1.76    | 4.16 ± 0.72  |

**TABLA XXV  
TESTS GHRH**

Parámetros de Respuesta de GH. Expresados en MEDIA ± EEM

|   | BASAL             |                    | PIRIDOSTIGMINA    |                    |
|---|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
|   | Diabéticos        | Controles          | Diabéticos        | Controles          |
| <b>Pico Máximo (ng/ml)</b>                        | 31.74 ± 17.88     | 12.12 ± 3.89       | 66.67 ± 26.48     | 28.67 ± 6.16       |
| <b>Incremento absoluto (ng/ml)</b>                | 29.94 ± 16.87     | 11.63 ± 3.93       | 61.63 ± 24.10     | 19.92 ± 4.61       |
| <b>Incremento porcentual (%)</b>                  | 6523.94 ± 2281.27 | 18057.71 ± 7321.28 | 8632.49 ± 5509.15 | 10529.83 ± 3645.54 |
| <b>AUC de respuesta (ng/ml/120 minutos)</b>       | 1619.90 ± 784.79  | 789.93 ± 200.65    | 4085.83 ± 1227.86 | 1914.46 ± 385.06   |
| <b>AUC de Respuesta 0-60 (ng/ml/60 minutos)</b>   | 1263.47 ± 729.26  | 519.64 ± 154.74    | 2792.83 ± 1040.28 | 1313.04 ± 290.87   |
| <b>AUC de Respuesta 60-120 (ng/ml/60 minutos)</b> | 356.29 ± 63.77    | 270.35 ± 56.34     | 1293.27 ± 237.48  | 601.48 ± 134.89    |

TABLA XXVI  
TESTS GHRH

Áreas Bajo la Curva de GH. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL               |                    | PIRIDOSTIGMINA       |                     |
|--|---------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
|  | Diabéticos          | Controles          | Diabéticos           | Controles           |
| AUC – 60 a 0 MINUTOS<br>(ng/ml/60 minutos) | 114.86 ±<br>92.90   | 9.38 ± 2.87        | 88.90 ±<br>43.41     | 122.26 ±<br>64.19   |
| AUC 0 a 60 MINUTOS<br>(ng/ml/60 minutos)   | 1277.83 ±<br>737.51 | 523.50 ±<br>154.52 | 2833.17 ±<br>1059.98 | 1383.01 ±<br>320.75 |
| AUC 60 a 120 MINUTOS<br>(ng/ml/60 minutos) | 370.65 ±<br>70.60   | 274.22 ±<br>55.49  | 1333.60 ±<br>246.70  | 671.45 ±<br>138.73  |
| AUC TOTAL<br>(ng/ml/180 minutos)           | 1763.38 ±<br>893.59 | 807.07 ±<br>200.75 | 4255.67 ±<br>1301.75 | 2176.72 ±<br>479.33 |

TABLA XXVII  
TESTS GHRH

Valores de Glucosa (mg/dl). Expresados en MEDIA ± EEM

|                | BASAL          |              | PIRIDOSTIGMINA  |              |
|----------------|----------------|--------------|-----------------|--------------|
|                | Diabéticos     | Controles    | Diabéticos      | Controles    |
| <b>Minutos</b> |                |              |                 |              |
| - 60           | 188.67 ± 51.06 | 83.20 ± 1.86 | 150.00 ± 27.44  | 83.30 ± 2.25 |
| - 30           | 183.83 ± 50.45 | 84.40 ± 2.30 | 142.67 ± 27.30  | 87.00 ± 2.93 |
| - 15           | 179.00 ± 52.18 | 86.20 ± 3.99 | 139.00 ± 28.13  | 84.40 ± 3.23 |
| 0              | 179.00 ± 50.64 | 79.40 ± 2.62 | 135.17 ± 29.37  | 83.30 ± 2.79 |
| + 15           | 175.33 ± 51.95 | 80.50 ± 2.13 | 133.83 ± 29.22± | 81.60 ± 3.12 |
| + 30           | 175.00 ± 51.49 | 81.20 ± 1.93 | 131.67 ± 29.21  | 79.00 ± 2.83 |
| + 45           | 175.50 ± 49.37 | 80.20 ± 2.03 | 131.83 ± 28.39  | 78.30 ± 3.08 |
| + 60           | 169.00 ± 48.46 | 81.40 ± 2.12 | 131.50 ± 27.88  | 79.30 ± 3.22 |
| + 75           | 169.50 ± 46.81 | 81.70 ± 1.70 | 132.33 ± 27.87  | 82.80 ± 3.00 |
| + 90           | 170.50 ± 48.50 | 82.60 ± 1.45 | 134.67 ± 29.24  | 83.60 ± 2.69 |
| + 105          | 175.67 ± 49.13 | 87.80 ± 5.14 | 135.00 ± 28.94  | 83.80 ± 2.81 |
| + 120          | 177.67 ± 50.77 | 88.70 ± 5.28 | 136.67 ± 30.64  | 85.30 ± 2.92 |

TABLA XXVIII  
TESTS GHRH

Parámetros de Respuesta de Glucosa. Expresados en MEDIA ± EEM

|   | BASAL              |                  | PIRIDOSTIGMINA     |                  |
|---|--------------------|------------------|--------------------|------------------|
|   | Diabéticos         | Controles        | Diabéticos         | Controles        |
| <b>Pico Máximo (mg/dl)</b>                        | 198.17 ± 49.10     | 92.20 ± 4.87     | 152.50 ± 27.27     | 89.80 ± 2.86     |
| <b>Incremento absoluto (mg/dl)</b>                | 19.17 ± 6.08       | 12.80 ± 4.29     | -16.00 ± 59.12     | 5.20 ± 7.00      |
| <b>Incremento porcentual (%)</b>                  | 14.13 ± 4.95       | 16.51 ± 5.32     | 15.18 ± 23.43      | 10.06 ± 7.50     |
| <b>AUC de respuesta (mg/dl/120 minutos)</b>       | 17968.67 ± 5130.43 | 8621.70 ± 231.85 | 13305.50 ± 3464.62 | 8437.20 ± 346.47 |
| <b>AUC de Respuesta 0-60 (mg/ml/60 minutos)</b>   | 9065.83 ± 2629.18  | 4199.50 ± 103.22 | 6612.17 ± 1729.20  | 4126.40 ± 178.83 |
| <b>AUC de Respuesta 60-120 (mg/dl/60 minutos)</b> | 8903.17 ± 2510.19  | 4422.30 ± 142.54 | 6693.67 ± 1746.47  | 4311.00 ± 171.70 |

TABLA XXIX  
TESTS GHRH

Áreas Bajo la Curva de Glucosa. Expresadas en MEDIA ± EEM

|  | BASAL           |             | PIRIDOSTIGMINA  |             |
|--|-----------------|-------------|-----------------|-------------|
|  | Diabéticos      | Controles   | Diabéticos      | Controles   |
| AUC – 60 a 0 MINUTOS<br>(mg/dl/60 minutos) | 10994 ±<br>3059 | 5036 ± 133  | 8559 ± 1660     | 5098 ± 161  |
| AUC 0 a 60 MINUTOS<br>(mg/dl/60 minutos)   | 10498 ±<br>3033 | 4835 ± 122  | 7960 ± 1729     | 4803 ± 174  |
| AUC 60 a 120 MINUTOS<br>(mg/dl/60 minutos) | 10335 ±<br>2908 | 5058 ± 158  | 8042 ± 1728     | 4988 ± 170  |
| AUC TOTAL<br>(mg/dl/180 minutos)           | 31827 ±<br>8961 | 14928 ± 383 | 24560 ±<br>5094 | 14888 ± 478 |

# BIBLIOGRAFÍA



## Bibliografía

- Aberg, N.D., Brywe, K.G. & Isgaard, J. 2006, "Aspects of growth hormone and insulin-like growth factor-I related to neuroprotection, regeneration, and functional plasticity in the adult brain", *TheScientificWorldJournal*, vol. 6, pp. 53-80.
- Abou-Samra, A., Catt, K.J. & Aguilera, G. 1986, "Biphasic inhibition of adrenocorticotropin release by corticosterone in cultured anterior pituitary cells", *Endocrinology*, vol. 119, no. 3, pp. 972-977.
- Adamo, M.L., Neuenschwander, S., LeRoith, D. & Roberts Jr, C.T. 1994, "Structure, expression, and regulation of the IGF-I gene" in *Current Directions in Insulin-Like Growth Factor Research* Springer, , pp. 1-11.
- Adams, E.F., Venetikou, M.S., Woods, C.A., Lacoumenta, S. & Burrin, J.M. 1987, "Neuropeptide Y directly inhibits growth hormone secretion by human pituitary somatotrophic tumours", *Acta Endocrinologica*, vol. 115, no. 1, pp. 149-154.
- Aguila, M. & McCann, S. 1985, "The influence of hGRF, CRF, TRH and LHRH on SRIF release from median eminence fragments", *Brain research*, vol. 348, no. 1, pp. 180-182.
- Aguilera, G. 1994, "Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress", *Frontiers in neuroendocrinology*, vol. 15, no. 4, pp. 321-350.
- Aguilera, G. 1993, "Factors controlling steroid biosynthesis in the zona glomerulosa of the adrenal", *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 45, no. 1, pp. 147-151.
- Aguilera, G., Kiss, A., Luo, X. & AKBASAK, B. 1995, "The Renin Angiotensin System and the Stress Response", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 771, no. 1, pp. 173-186.
- Aguilera, G. & Rabadan-Diehl, C. 2000, "Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation", *Regulatory peptides*, vol. 96, no. 1, pp. 23-29.
- Ajlouni, K., Martinson, D.R. & Hagen, T.C. 1975, "Effect of glucose on the growth hormone response to L-dopa in normal and diabetic subjects", *Diabetes*, vol. 24, no. 7, pp. 633-636.
- Al'Absi, M., Wittmers, L.E., Erickson, J., Hatsukami, D. & Crouse, B. 2003, "Attenuated adrenocortical and blood pressure responses to psychological stress in ad libitum and abstinent smokers", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 74, no. 2, pp. 401-410.
- Alba-Roth, J., Müller, O.A., Schopohl, J. & Werder, K.V. 1988, "Arginine Stimulates Growth Hormone Secretion by Suppressing Endogenous Somatostatin Secretion\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 67, no. 6, pp. 1186-1189.
- Al-Damluji, S., Cunnah, D., Grossman, A., Perry, L., Ross, G., Coy, D., Rees, L.H. & Besser, G.M. 1987, "Effect of adrenaline on basal and ovine corticotrophin-releasing factor-



## Bibliografía

- stimulated ACTH secretion in man", *The Journal of endocrinology*, vol. 112, no. 1, pp. 145-150.
- Alexander, L. & Sander, L. 1995, "Involvement of vasopressin and corticotropin-releasing hormone in VIP-and PHI-induced secretion of ACTH and corticosterone", *Neuropeptides*, vol. 28, no. 3, pp. 167-173.
- Altszuler, N., Rathgeb, I., Winkler, B., DeBodo, R. & Steele, R. 1968, "The effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism in the dog\*", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 148, no. 2, pp. 441-458.
- Amiel, S.A., Sherwin, R.S., Simonson, D.C., Lauritano, A.A. & Tamborlane, W.V. 1986, "Impaired insulin action in puberty", *New England Journal of Medicine*, vol. 315, no. 4, pp. 215-219.
- Andersson, K., Siegel, R., Fuxe, K. & Eneroth, P. 1983, "Intravenous injections of nicotine induce very rapid and discrete reductions of hypothalamic catecholamine levels associated with increases of ACTH, vasopressin and prolactin secretion", *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 118, no. 1, pp. 35-40.
- Antoni, F.A. & Dayanithi, G. 1989, "Guanosine 3': 5' cyclic monophosphate and activators of guanylate cyclase inhibit secretagogue-induced corticotropin release by rat anterior pituitary cells", *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 158, no. 3, pp. 824-830.
- Antonijevic, I.A., Murck, H., Bohlhalter, S., Frieboes, R., Holsboer, F. & Steiger, A. 2000, "Neuropeptide Y promotes sleep and inhibits ACTH and cortisol release in young men", *Neuropharmacology*, vol. 39, no. 8, pp. 1474-1481.
- Aquilonius, S. & Hartvig, P. 1986, "Clinical pharmacokinetics of cholinesterase inhibitors", *Clinical pharmacokinetics*, vol. 11, no. 3, pp. 236-249
- Arbiser, J., Morton, C., Bruns, G. & Majzoub, J. 1988, "Human corticotropin releasing hormone gene is located on the long arm of chromosome 8", *Cytogenetic and Genome Research*, vol. 47, no. 3, pp. 113-116.
- Arce, V., Cella, S., Locatelli, V. & Müller, E. 1991, "Studies of growth hormone secretion in calorically restricted dogs: effect of cholinergic agonists and antagonists, glucose and thyrotropin-releasing hormone", *Neuroendocrinology*, vol. 53, no. 5, pp. 467-472.
- Armando, I., Carranza, A., Nishimura, Y., Hoe, K., Barontini, M., Terrón, J.A., Falcón-Neri, A., Ito, T., Juorio, A.V. & Saavedra, J.M. 2001, "Peripheral administration of an angiotensin II AT1 receptor antagonist decreases the hypothalamic-pituitary-adrenal response to isolation stress", *Endocrinology*, vol. 142, no. 9, pp. 3880-3889.
- Armstrong, W.E., Gallagher, M.J. & Sladek, C.D. 1986, "Noradrenergic stimulation of supraoptic neuronal activity and vasopressin release *in vitro*: mediation by an  $\alpha$  1-receptor", *Brain research*, vol. 365, no. 1, pp. 192-197.

## Bibliografía

- Arriza, J.L., Weinberger, C., Cerelli, G., Glaser, T.M., Handelin, B.L., Housman, D.E. & Evans, R.M. 1987, "Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 237, no. 4812, pp. 268-275.
- Arslanian, S., Menon, R., Gierl, A., Heil, B. & Foley, T. 1993, "Insulin Therapy Increases Low Plasma Growth Hormone Binding Protein in Children with New-onset Type 1 Diabetes", *Diabetic Medicine*, vol. 10, no. 9, pp. 833-838.
- Arvat, E., Giordano, R., Grottoli, S. & Ghigo, E. 2002, "Benzodiazepines and anterior pituitary function", *Journal of endocrinological investigation*, vol. 25, no. 8, pp. 735-747.
- Arvat, E., Maccario, M., Di Vito, L., Broglio, F., Benso, A., Gottero, C., Papotti, M., Muccioli, G., Dieguez, C. & Casanueva, F.F. 2001, "Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone 1", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 86, no. 3, pp. 1169-1174.
- Asplin, C.M., FARIA, A.C., CARLSEN, E.C., Vaccaro, V.A., Barr, R.E., Iranmanesh, A., Lee, M.M., Veldhuis, J.D. & Evans, W.S. 1989, "Alterations in the Pulsatile Mode of Growth Hormone Release in Men and Women with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 69, no. 2, pp. 239-245.
- Atiea, J., Creagh, F., Page, M., Owens, D., Scanlon, M. & Peters, J. 1989a, "Early morning hyperglycemia in insulin-dependent diabetes: acute and sustained effects of cholinergic blockade", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 69, no. 2, pp. 390-395.
- Atiea, J.A., Creagh, F., Page, M., Owens, D.R., Scanlon, M.F. & Peters, J.R. 1989b, "Early-morning hyperglycemia in IDDM. Acute effects of cholinergic blockade", *Diabetes care*, vol. 12, no. 7, pp. 443-448.
- Batchelor, B.R., Penner, J., Hirsch, J. & Stern, J.S. 1976, "Effects of hypophysectomy and acute growth hormone treatment upon glucose metabolism in adipose tissues and isolated adipocytes of rats", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, vol. 8, no. 1, pp. 24-33.
- Baigent, S. 2001, "Peripheral corticotropin-releasing hormone and urocortin in the control of the immune response", *Peptides*, vol. 22, no. 5, pp. 809-820.
- Barinaga, M., Yamonoto, G., Rivier, C., Vale, W., Evans, R. & Rosenfeld, M.G. 1983, "Transcriptional regulation of growth hormone gene expression by growth hormone-releasing factor", .
- Bartus, R.T. 2000, "On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis", *Experimental neurology*, vol. 163, no. 2, pp. 495-529.
- Bateman, A., SINGH, A., KRAL, T. & SOLOMON, S. 1989, "The Immune-Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis\*", *Endocrine reviews*, vol. 10, no. 1, pp. 92-112.

## Bibliografía

- Baumann, G., Shaw, M.A. & Amburn, K. 1989, "Regulation of plasma growth hormone-binding proteins in health and disease", *Metabolism*, vol. 38, no. 7, pp. 683-689.
- Baumann, G., Shaw, M.A. & Winter, R.J. 1987, "Absence of the plasma growth hormone-binding protein in laron-type dwarfism\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 65, no. 4, pp. 814-816.
- Baumann, G., Stolar, M.W. & Amburn, K. 1985, "Molecular Forms of Circulating Growth Hormone during Spontaneous Secretory Episodes and in the Basal State\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 60, no. 6, pp. 1216-1220.
- Baxter, R. 1991, "Biochemical characterization of insulin-like growth factor binding proteins", *Acta endocrinologica.Supplementum*, vol. 124, no. 2, pp. 33-40.
- Baxter, R.C. & Turtle, J.R. 1978, "Regulation of hepatic growth hormone receptors by insulin", *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 84, no. 2, pp. 350-357.
- Baxter, R.C., Brown, A.S. & Turtle, J.R. 1980, "Association between serum insulin, serum somatomedin and liver receptors for human growth hormone in streptozotocin diabetes", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, vol. 12, no. 8, pp. 377-381.
- Beato, M., Candau, R., Chávez, S., Möws, C. & Truss, M. 1996, "Interaction of steroid hormone receptors with transcription factors involves chromatin remodelling", *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 56, no. 1, pp. 47-59.
- Benjannet, S., Rondeau, N., Day, R., Chretien, M. & Seidah, N.G. 1991, "PC1 and PC2 are proprotein convertases capable of cleaving proopiomelanocortin at distinct pairs of basic residues", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 88, no. 9, pp. 3564-3568.
- Benowitz, N.L., Jones, R.T. & Lerner, C.B. 1976, "Depression of growth hormone and cortisol response to insulin-induced hypoglycemia after prolonged oral delta-9-tetrahydrocannabinol administration in man", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 42, no. 5, pp. 938-941.
- Benowitz, N.L., Hansson, A. & Jacob, P., 3rd 2002, "Cardiovascular effects of nasal and transdermal nicotine and cigarette smoking", *Hypertension*, vol. 39, no. 6, pp. 1107-1112.
- Berelowitz, M., Szabo, M., Frohman, L.A., Firestone, S., Chu, L. & Hintz, R.L. 1981, "Somatomedin-C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 212, no. 4500, pp. 1279-1281.
- Bergental, D.M., Hertz, R., Lipsett, M.B. & Moy, R.H. 1960, "Chemotherapy of adrenocortical cancer with o, p' DDD", *Annals of Internal Medicine*, vol. 53, no. 4, pp. 672-682.
- Berk, M. & Finkelstein, J. 1981, "Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain", *Neuroscience*, vol. 6, no. 8, pp. 1601-1624.

## Bibliografía

- Bernardini, R., Kamilaris, T.C., Calogero, A.E., Johnson, E.O., Gomez, M.T., Gold, P.W. & Chrousos, G.P. 1990, "Interactions between Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , Hypothalamic Corticotropin-Releasing Hormone, and Adrenocorticotropin Secretion in the Rat\*", *Endocrinology*, vol. 126, no. 6, pp. 2876-2881.
- Besedovsky, H.O. & Rey, A.D. 1996, "Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses", *Endocrine reviews*, vol. 17, no. 1, pp. 64-102.
- Besser, M.G., Orth, D.N., Nicholson, W.E., Byyny, R.L., Abe, K. & Woodham, J.P. 1971, "Dissociation of the disappearance of bioactive and radioimmunoreactive ACTH from plasma in man", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 32, no. 5, pp. 595-603.
- Binoux, M., Roghani, M., Hossenlopp, P., Hardouin, S. & Gournel, M. 1991, "Molecular forms of human IGF binding proteins: physiological implications", *Acta Endocrinologica*, vol. 124 Suppl 2, pp. 41-47.
- Birnbaumer, M. 2000, "Vasopressin receptors", *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 11, no. 10, pp. 406-410.
- Bizzarri, C., Benevento, D., Giannone, G., Bongiovanni, M., Anziano, M., Patera, I.P., Cappa, M. & Cianfarani, S. 2014, "Sexual dimorphism in growth and insulin-like growth factor-I in children with type 1 diabetes mellitus", *Growth Hormone & IGF Research*, vol. 24, no. 6, pp. 256-259.
- Blankestijn, P.J., Derkx, F.H., Birkenhager, J.C., Lamberts, S.W., Mulder, P., Verschoor, L., Schalekamp, M.A. & Weber, R.F. 1993, "Glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetes mellitus is correlated with enhanced growth hormone secretion", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 77, no. 2, pp. 498-502.
- Boivin, D.B., Duffy, J.F., Kronauer, R.E. & Czeisler, C.A. 1996, "Dose-response relationships for resetting of human circadian clock by light", .
- Bornfeldt, K.E., Arnqvist, H.J., Enberg, B., Mathews, L.S. & Norstedt, G. 1989, "Regulation of insulin-like growth factor-I and growth hormone receptor gene expression by diabetes and nutritional state in rat tissues", *The Journal of endocrinology*, vol. 122, no. 3, pp. 651-656.
- Bornstein, S.R., Ehrhart-Bornstein, M., Scherbaum, W.A., Pfeiffer, E.F. & Holst, J.J. 1990, "Effects of splanchnic nerve stimulation on the adrenal cortex may be mediated by chromaffin cells in a paracrine manner", *Endocrinology*, vol. 127, no. 2, pp. 900-906.
- Bougneres, P., Artavia-Loria, E., Ferre, P., Chaussain, J. & Job, J. 1985, "Effects of Hypopituitarism and Growth Hormone Replacement Therapy on the Production and Utilization of Glucose in Childhood\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 61, no. 6, pp. 1152-1157.
- Brazeau, P., Vale, W., Burgus, R., Ling, N., Butcher, M., Rivier, J. & Guillemin, R. 1973, "Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 179, no. 4068, pp. 77-79.

## Bibliografía

- Briaud, B., Koch, B., Luiz-Bucher, B. & Mialhe, C. 1979, "In vitro regulation of ACTH release from neurointermediate lobe of rat hypophysis", *Neuroendocrinology*, vol. 28, no. 6, pp. 377-385.
- Broglio, F., Benso, A., Gottero, C., Prodam, F., Grottoli, S., Tassone, F., Maccario, M., Casanueva, F.F., Dieguez, C. & Deghenghi, R. 2002a, "Effects of glucose, free fatty acids or arginine load on the GH-releasing activity of ghrelin in humans", *Clinical endocrinology*, vol. 57, no. 2, pp. 265-271.
- Broglio, F., Koetsveld, P.v., Benso, A., Gottero, C., Prodam, F., Papotti, M., Muccioli, G., Gauna, C., Hofland, L. & Deghenghi, R. 2002b, "Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 87, no. 10, pp. 4829-4832.
- Broglio, F., Prodam, F., Gottero, C., Destefanis, S., Me, E., Riganti, F., Giordano, R., Picu, A., Balbo, M. & Van der Lely, Aart Jan 2004, "Ghrelin does not mediate the somatotroph and corticotroph responses to the stimulatory effect of glucagon or insulin-induced hypoglycaemia in humans", *Clinical endocrinology*, vol. 60, no. 6, pp. 699-704.
- Brooks, A.J. & Waters, M.J. 2010, "The growth hormone receptor: mechanism of activation and clinical implications", *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 6, no. 9, pp. 515-525.
- Brown, M.R., Fisher, L.A., Spiess, J., Rivier, C., Rivier, J. & Vale, W. 1982, "Corticotropin-Releasing Factor: Actions on the Sympathetic Nervous System and Metabolism\*", *Endocrinology*, vol. 111, no. 3, pp. 928-931.
- Brown, M.S., Kovanen, P.T. & Goldstein, J.L. 1979, "Receptor-mediated uptake of lipoprotein-cholesterol and its utilization for steroid synthesis in the adrenal cortex", *Recent progress in hormone research*, vol. 35, pp. 215-257.
- Brownstein, M.J. 1983, "Biosynthesis of vasopressin and oxytocin", *Annual Review of Physiology*, vol. 45, no. 1, pp. 129-135.
- Brownstein, M.J., Russell, J.T. & Gainer, H. 1980, "Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 207, no. 4429, pp. 373-378.
- Brunetti, L., Preziosi, P., Ragazzoni, E. & Vacca, M. 1993, "Involvement of nitric oxide in basal and interleukin-1 $\beta$ -induced CRH and ACTH release in vitro", *Life Sciences*, vol. 53, no. 13, pp. PL219-PL222.
- Buckingham, J.C. & Hodges, J.R. 1979, "Hypothalamic receptors influencing the secretion of corticotrophin releasing hormone in the rat", *The Journal of physiology*, vol. 290, no. 2, pp. 421-431.
- Buijs, R.M., Wortel, J., Van Heerikhuize, J.J., Feenstra, M.G., Ter Horst, G.J., Romijn, H.J. & Kalsbeek, A. 1999, "Anatomical and functional demonstration of a multisynaptic suprachiasmatic nucleus adrenal (cortex) pathway", *European Journal of Neuroscience*, vol. 11, no. 5, pp. 1535-1544.

## Bibliografía

- Burday, S.Z., Fine, P.H. & Schalch, D.S. 1968, "Growth hormone secretion in response to arginine infusion in normal and diabetic subjects: relationship to blood glucose levels", *J Lab Clin Med*, vol. 71, pp. 897-911.
- Burguera, B., Muruais, C., Penalva, A., Dieguez, C. & Casanueva, F. 1990, "Dual and selective actions of glucocorticoids upon basal and stimulated growth hormone release in man", *Neuroendocrinology*, vol. 51, no. 1, pp. 51-58.
- Butler, P.C. & Rizza, R.A. 1989, "Regulation of carbohydrate metabolism and response to hypoglycemia", *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, vol. 18, no. 1, pp. 1-25.
- Calogero, A., Gallucci, W., Bernardini, R., Saoutis, C., Gold, P. & Chrousos, G. 1988a, "Effect of cholinergic agonists and antagonists on rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion *in vitro*", *Neuroendocrinology*, vol. 47, no. 4, pp. 303-308.
- Calogero, A.E., Gallucci, W.T., Chrousos, G.P. & Gold, P.W. 1988b, "Interaction between GABAergic neurotransmission and rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion *in vitro*", *Brain research*, vol. 463, no. 1, pp. 28-36.
- Calogero, A.E., Kamilaris, T.C., Gomez, M.T., Johnson, E.O., Tartaglia, M.E., Gold, P.W. & Chrousos, G.P. 1989, "The muscarinic cholinergic agonist arecoline stimulates the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis through a centrally-mediated corticotropin-releasing hormone-dependent mechanism", *Endocrinology*, vol. 125, no. 5, pp. 2445-2453.
- Calogero, A.E., Kamilaris, T.C., Bernardini, R., Johnson, E.O., Chrousos, G.P. & Gold, P.W. 1990, "Effects of peripheral benzodiazepine receptor ligands on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in the rat", *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, vol. 253, no. 2, pp. 729-737.
- Calogero, A., Nicolosi, A., Moncada, M., Coniglione, F., Vicari, E., Polosa, P. & D'Agata, R. 1993, "Effects of cholecystokinin octapeptide on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and on vasopressin, prolactin and growth hormone release in humans", *Neuroendocrinology*, vol. 58, no. 1, pp. 71-76.
- Cam, G.R., Bassett, J.R. & Cairncross, K.D. 1979, "The action of nicotine on the pituitary-adrenal cortical axis", *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, vol. 237, no. 1, pp. 49-66.
- Cam, G. & Bassett, J. 1984, "Effect of prolonged exposure to nicotine and stress on the pituitary-adrenocortical response; the possibility of cross-adaptation", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 20, no. 2, pp. 221-226.
- Cameron, O.G., Kronfol, Z., Greden, J.F. & Carroll, B.J. 1984, "Hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity in patients with diabetes mellitus", *Archives of General Psychiatry*, vol. 41, no. 11, pp. 1090-1095.
- Cameron, O., Thomas, B., Tiongco, D., Hariharan, M. & Greden, J. 1987, "Hypercortisolism in Diabetes-Mellitus", *Diabetes care*, vol. 10, no. 5, pp. 662-664.

## Bibliografía

- Cammani, F. & Massara, F. 1972, "Phentolamine inhibition of human growth hormone secretion induced by L-DOPA", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, vol. 4, no. 2, pp. 128.
- Campbell, P.J., Bolli, G.B., Cryer, P.E. & Gerich, J.E. 1985, "Pathogenesis of the dawn phenomenon in patients with insulin-dependent diabetes mellitus: accelerated glucose production and impaired glucose utilization due to nocturnal surges in growth hormone secretion", *New England Journal of Medicine*, vol. 312, no. 23, pp. 1473-1479.
- Cantalamesa, L., Catania, A., Reschini, E. & Peracchi, M. 1978, "Inhibitory effect of calcitonin on growth hormone and insulin secretion in man", *Metabolism*, vol. 27, no. 8, pp. 987-992.
- Carey, L.C., Cloutier, C.T. & Lowery, B.D. 1971, "Growth hormone and adrenal cortical response to shock and trauma in the human", *Annals of Surgery*, vol. 174, no. 3, pp. 451-460.
- Carroll, P.V., Umpleby, M., Ward, G.S., Imuere, S., Alexander, E., Dunger, D., Sonksen, P.H. & Russell-Jones, D.L. 1997, "rhIGF-I administration reduces insulin requirements, decreases growth hormone secretion, and improves the lipid profile in adults with IDDM", *Diabetes*, vol. 46, no. 9, pp. 1453-1458.
- Casanueva, F., Villanueva, L., Cabranes, J., Cabezas-Cerrato, J. & Fernandez-Cruz, A. 1984, "Cholinergic mediation of growth hormone secretion elicited by arginine, clonidine, and physical exercise in man", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 59, no. 3, pp. 526-530.
- Casanueva, F.F., Burguera, B., Muruais, C. & Dieguez, C. 1990, "Acute Administration of Corticoids: A New and Peculiar Stimulus of Growth Hormone Secretion in Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 70, no. 1, pp. 234-237.
- Cataldi, M., Magnan, E., Guillaume, V., Dutour, A., Conte-Devolx, B., Lombardi, G. & Oliver, C. 1994, "Relationship between hypophyseal portal GHRH and somatostatin and peripheral GH levels in the conscious sheep", *Journal of endocrinological investigation*, vol. 17, no. 9, pp. 717-722.
- Cattaneo, L., Bondiolotti, G.P., Muller, E.E. & Cocchi, D. 1993, "Effect of acute and short-term administration of cholinomimetic drugs on corticosterone secretion in the rat", *European journal of pharmacology*, vol. 241, no. 2-3, pp. 245-248.
- Ceccatelli, S., Eriksson, M. & Hökfelt, T. 1989, "Distribution and coexistence of corticotropin-releasing factor-, neurotensin-, enkephalin-, cholecystinin-, galanin- and vasoactive intestinal polypeptide/peptide histidine isoleucine-like peptides in the parvocellular part of the paraventricular nucleus", *Neuroendocrinology*, vol. 49, no. 3, pp. 309-323.
- Challis, J., Matthews, S., Van Meir, C. & Ramirez, M. 1995, "Current topic: the placental corticotrophin-releasing hormone-adrenocorticotrophin axis", *Placenta*, vol. 16, no. 6, pp. 481-502.

## Bibliografía

- Chan, E., Falconer, J., Madsen, G., Rice, K.C., Webster, E.L., Chrousos, G.P. & Smith, R. 1998, "A corticotropin-releasing hormone type I receptor antagonist delays parturition in sheep", *Endocrinology*, vol. 139, no. 7, pp. 3357-3360.
- Chan, O., Inouye, K., Akirav, E., Park, E., Riddell, M., Matthews, S. & Vranic, M. 2005, "Hyperglycemia does not increase basal hypothalamo-pituitary-adrenal activity in diabetes but it does impair the HPA response to insulin-induced hypoglycemia", *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, vol. 289, no. 1, pp. R235-R246.
- Charmandari, E., Tsigos, C. & Chrousos, G. 2005, "Endocrinology of the stress response 1", *Annu.Rev.Physiol.*, vol. 67, pp. 259-284.
- Chiodera, P., Coiro, V., Speroni, G., Capretti, L., Muzzetto, P., Volpi, R. & Butturini, U. 1984, "The Growth Hormone Response to Thyrotropin-Releasing Hormone in Insulin-Dependent Diabetics Involves a Cholinergic Mechanism\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 59, no. 4, pp. 794-797.
- Chiodera, P., Volpi, R., Capretti, L., Speroni, G., NecchiGhiri, S., Caffarri, G., Colla, R. & Coiro, V. 1997, "Abnormal effect of cigarette smoking on pituitary hormone secretions in insulin-dependent diabetes mellitus", *Clinical endocrinology*, vol. 46, no. 3, pp. 351-357.
- Chiodini, I., Adda, G., Scillitani, A., Coletti, F., Morelli, V., Di Lembo, S., Epaminonda, P., Masserini, B., Beck-Peccoz, P., Orsi, E., Ambrosi, B. & Arosio, M. 2007, "Cortisol secretion in patients with type 2 diabetes: relationship with chronic complications", *Diabetes care*, vol. 30, no. 1, pp. 83-88.
- Chowdrey, H., Jessop, D. & Lightman, S. 1990, "Substance P stimulates arginine vasopressin and inhibits adrenocorticotropin release *in vivo* in the rat", *Neuroendocrinology*, vol. 52, no. 1, pp. 90-93.
- Chrousos, G.P. & Gold, P.W. 1992, "The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis", *Jama*, vol. 267, no. 9, pp. 1244-1252.
- Clark, A.J., Metherell, L.A., Cheetham, M.E. & Huebner, A. 2005, "Inherited ACTH insensitivity illuminates the mechanisms of ACTH action", *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 16, no. 10, pp. 451-457.
- Clark, R.G., Mortensen, D., Reifsynder, D., Mohler, M., Etcheverry, T. & Mukku, V. 1993, "Recombinant human insulin-like growth factor binding protein-3 (rhIGFBP-3): effects on the glycemic and growth promoting activities of rhIGF-1 in the rat", *Growth regulation*, vol. 3, no. 1, pp. 50-52.
- Clemmons, D.R. 2012, "Metabolic actions of insulin-like growth factor-I in normal physiology and diabetes", *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, vol. 41, no. 2, pp. 425-443.
- Clifton, V., Telfer, J., Thompson, A., Cameron, I., Teoh, T., Lye, S. & Challis, J. 1998, "Corticotropin-releasing hormone and proopiomelanocortin-derived peptides are pre-



## Bibliografía

- sent in human myometrium", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 83, no. 10, pp. 3716-3721.
- Cochet, M., Chang, A.C. & Cohen, S.N. 1982, "Characterization of the structural gene and putative 5'-regulatory sequences for human proopiomelanocortin", .
- Coiro, V., Passeri, M., Gelmini, G., Davoli, C., Bianconcini, G., Volpi, R., Minelli, R., Delia, P., Fagnoni, F. & Chiodera, P. 1987, "Nicotinic and M1-, M2-muscarinic cholinergic control of ACTH response to insulin-induced hypoglycaemia in man", *Acta Endocrinologica*, vol. 116, no. 4, pp. 531-536.
- Coiro, V., Volpi, R., Capretti, L., Speroni, G., Castelli, A., Mosti, A., Marchesi, C., Gardini, E., Rossi, G. & Chiodera, P. 1989, "Simultaneous inhibition by pirenzepine of the GH responses to GnRH and TRH in insulin-dependent diabetics and in patients with major depression", *Acta Endocrinologica*, vol. 120, no. 2, pp. 143-148.
- Coiro, V., Passeri, M., Gardini, E., Capretti, L., Speroni, G., Davoli, C., Maffei, M., Fagnoni, F., Bianconi, L. & Volpi, R. 1990, "Reduced sensitivity to pirenzepine-induced blockade of growth hormone responses to arginine, exercise, and growth hormone-releasing hormone in type I diabetic subjects", *Metabolism*, vol. 39, no. 7, pp. 668-675.
- Coiro, V., Volpi, R., Capretti, L., Speroni, G., Caffarra, P., Scaglioni, A., Malvezzi, L., Castelli, A., Caffarri, G., Rossi, G. & Chiodera, P. 1995, "Low-Dose Ovine Corticotropin-Releasing Hormone Stimulation Test in Diabetes-Mellitus with Or without Neuropathy", *Metabolism-Clinical and Experimental*, vol. 44, no. 4, pp. 538-542.
- Coiro, V., Jotti, G., Volpi, R., Magotti, M., Galli, P., Finardi, L., Maffei, M., Chiodera, P. & Casti, A. 2004, "Difference between diabetic and nondiabetic smokers in the pituitary response to physical exercise", *Metabolism-Clinical and Experimental*, vol. 53, no. 9, pp. 1140-1144.
- Conaglen, J., Donald, R., Espiner, E., Livesey, J. & Nicholls, M. 1984, "The Effect of Ovine Corticotropin-Releasing Factor on Catecholamine, Vasopressin, and Aldosterone Secretion in Normal Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 58, no. 3, pp. 463-466.
- Cone, R.D. & Mountjoy, K.G. 1993, "Molecular genetics of the ACTH and melanocyte-stimulating hormone receptors", *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 4, no. 7, pp. 242-247.
- Cordido, F., Casanueva, F.F. & Dieguez, C. 1989, "Cholinergic Receptor Activation by Pyridostigmine Restores Growth Hormone (GH) Responsiveness to GH Releasing Hormone Administration in Obese Subjects: Evidence for Hypothalamic Somatostatinergic Participation in the Blunted GH Release of Obesity\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 68, no. 2, pp. 290-293.
- Cordoba-Chacon, J., Gahete, M.D., Castano, J.P., Kineman, R.D. & Luque, R.M. 2011, "Somatostatin and its receptors contribute in a tissue-specific manner to the sex-dependent metabolic (fed/fasting) control of growth hormone axis in mice", *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, vol. 300, no. 1, pp. E46-54.

## Bibliografía

- Coric, V., Feldman, H.H., Oren, D.A., Shekhar, A., Pultz, J., Dockens, R.C., Wu, X., Gentile, K.A., Huang, S. & Emison, E. 2010, "Multicenter, randomized, double-blind, active comparator and placebo-controlled trial of a corticotropin-releasing factor receptor-1 antagonist in generalized anxiety disorder", *Depression and anxiety*, vol. 27, no. 5, pp. 417-425.
- Costa, A., Poma, A., Martignoni, E., Nappi, G., Ur, E. & Grossman, A. 1997, "Stimulation of corticotrophin-releasing hormone release by the obese (ob) gene product, leptin, from hypothalamic explants", *Neuroreport*, vol. 8, no. 5, pp. 1131-1134.
- Costa, A., Trainer, P., Besser, M. & Grossman, A. 1993, "Nitric oxide modulates the release of corticotropin-releasing hormone from the rat hypothalamus *in vitro*", *Brain research*, vol. 605, no. 2, pp. 187-192.
- Cota, D., Steiner, M., Marsicano, G., Cervino, C., Herman, J.P., Grubler, Y., Stalla, J., Pasquali, R., Lutz, B. & Stalla, G.K. 2007, "Requirement of cannabinoid receptor type 1 for the basal modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function", *Endocrinology*, vol. 148, no. 4, pp. 1574-1581.
- Couch, R.M. 1992, "Dissociation of cortisol and adrenal androgen secretion in poorly controlled insulin-dependent diabetes mellitus", *Acta Endocrinologica*, vol. 127, no. 2, pp. 115-117.
- Cozanitis, D. 1974, "Galanthamine hydrobromide versus neostigmine", *Anaesthesia*, vol. 29, no. 2, pp. 163-168.
- Crowne, E., Samra, J., Cheetham, T., Watts, A., Holly, J. & Dunger, D. 1998, "Recombinant human insulin-like growth factor-I abolishes changes in insulin requirements consequent upon growth hormone pulsatility in young adults with type I diabetes mellitus", *Metabolism*, vol. 47, no. 1, pp. 31-38.
- Cullinan, W.E. 2000, "GABAA receptor subunit expression within hypophysiotropic CRH neurons: a dual hybridization histochemical study", *Journal of Comparative Neurology*, vol. 419, no. 3, pp. 344-351.
- Cullinan, W.E. & Wolfe, T.J. 2000, "Chronic stress regulates levels of mRNA transcripts encoding  $\beta$  subunits of the GABA A receptor in the rat stress axis", *Brain research*, vol. 887, no. 1, pp. 118-124.
- Cunnah, D., Jessop, D.S., Besser, G.M. & Rees, L.H. 1987, "Measurement of circulating corticotrophin-releasing factor in man", *The Journal of endocrinology*, vol. 113, no. 1, pp. 123-131.
- Cunningham, E. & Sawchenko, P. 1988, "Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus", *Journal of comparative neurology*, vol. 274, no. 1, pp. 60-76.
- Czeisler, C., Dumont, M., Duffy, J., Steinberg, J., Richardson, G., Brown, E., Sanchez, R., Rios, C. & Ronda, J. 1992, "Association of sleep-wake habits in older people with changes in output of circadian pacemaker", *The lancet*, vol. 340, no. 8825, pp. 933-936.

## Bibliografía

- Dacou-Voutetakis, C., Peppas-Patrikiou, M. & Dracopoulou, M. 1998, "Urinary free cortisol and its nyctohemeral variation in adolescents and young adults with IDDM: relation to endothelin 1 and indices of diabetic angiopathy", *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, vol. 11, no. 3, pp. 437-446.
- Dahlstroem, A. & Fuxe, K. 1965, "Evidence for the Existence of Monoamine Neurons in the Central Nervous System. Ii. Experimentally Induced Changes in the Intraneuronal Amine Levels of Bulbospiinal Neuron Systems", *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*, , pp. SUPPL 247:1-36.
- Dallman, M.F., Akana, S.F., Cascio, C.S., Darlington, D.N., Jacobson, L. & Levin, N. 1987, "Regulation of ACTH secretion: variations on a theme of B", *Recent progress in hormone research*, vol. 43, pp. 113-173.
- Daughaday, W.H. & Rotwein, P. 1989, "Insulin-Like Growth Factors I and II. Peptide, Messenger Ribonucleic Acid and Gene Structures, Serum, and Tissue Concentrations\*", *Endocrine reviews*, vol. 10, no. 1, pp. 68-91.
- Davidson, M.B. 1987, "Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism", *Endocrine reviews*, vol. 8, no. 2, pp. 115-131.
- Davis, K.L., Hollister, L.E., Overall, J., Johnson, A. & Train, K. 1976, "Physostigmine: effects on cognition and affect in normal subjects", *Psychopharmacology*, vol. 51, no. 1, pp. 23-27.
- De Bruin, C., Pereira, A.M., Feelders, R.A., Romijn, J.A., Roelfsema, F., Sprij-Mooij, D.M., van Aken, M.O., van der Lelij, A., de Herder, W.W. & Lamberts, S.W. 2009, "Coexpression of dopamine and somatostatin receptor subtypes in corticotroph adenomas", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 94, no. 4, pp. 1118-1124.
- De Kloet, E.R., Oitzl, M.S. & Joëls, M. 1993, "Functional implications of brain corticosteroid receptor diversity", *Cellular and molecular neurobiology*, vol. 13, no. 4, pp. 433-455.
- De Souza, E.B. 1987, "Corticotropin-releasing factor receptors in the rat central nervous system: characterization and regional distribution", *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 7, no. 1, pp. 88-100.
- Debold, C.R., Decherney, G.S., Jackson, R.V., Sheldon, W.R., Alexander, A.N., Island, D.P., Rivier, J., Vale, W. & Orth, D.N. 1983, "Effect of Synthetic Ovine Corticotropin-Releasing Factor: Prolonged Duration of Action and Biphasic Response of Plasma Adrenocorticotropin and Cortisol\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 57, no. 2, pp. 294-298.
- Debold, C.R., Jackson, R.V., Kamilaris, T.C., Sheldon JR, W.R., Decherney, G.S., Island, D.P. & Orth, D.N. 1989, "Effects of Ovine Corticotropin-Releasing Hormone on Adrenocorticotropin Secretion in the Absence of Glucocorticoid Feedback Inhibition in Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 68, no. 2, pp. 431-437.

## Bibliografía

- Decherney, G.S., Debold, C.R., Jackson, R.V., Sheldon, W.R., Island, D.P. & Orth, D.N. 1985, "Diurnal Variation in the Response of Plasma Adrenocorticotropin and Cortisol to Intravenous Ovine Corticotropin-Releasing Hormone\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 61, no. 2, pp. 273-279.
- Del Arbol, J., Muñoz, J.R., Ojeda, L., Cascales, A.L., Irlles, J.R., Miranda, M., Requena, M.R. & Aguirre, J. 2000, "Plasma concentrations of beta-endorphin in smokers who consume different numbers of cigarettes per day", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 67, no. 1, pp. 25-28.
- Delitala, G., Tomasi, P., Palermo, M., Ross, R., Grossman, A. & Besser, G. 1989, "Opioids Stimulate Growth Hormone (GH) Release in Man Independently of GH-Releasing Hormone\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 69, no. 2, pp. 356-358.
- Delitala, G., Tomasi, P., Palermo, M. & Fresu, P. 1990, "Interaction of glucose and pyridostigmine on the secretion of growth hormone (GH) induced by GH-releasing hormone (GHRH)", *Journal of endocrinological investigation*, vol. 13, no. 8, pp. 653-656.
- Delitala, G., Trainer, P.J., Oliva, O., Fanciulli, G. & Grossman, A.B. 1994, "Opioid peptide and alpha-adrenoceptor pathways in the regulation of the pituitary-adrenal axis in man", *The Journal of endocrinology*, vol. 141, no. 1, pp. 163-168.
- Denley, A., Cosgrove, L.J., Booker, G.W., Wallace, J.C. & Forbes, B.E. 2005, "Molecular interactions of the IGF system", *Cytokine & growth factor reviews*, vol. 16, no. 4, pp. 421-439.
- Désir, D., Van Cauter, E., FANG, V.S., Martino, E., Jadot, C., Spire, J., Noel, P., Refetoff, S., Copinschi, G. & Golstein, J. 1981, "Effects of "Jet Lag" on Hormonal Patterns. I. Procedures, Variations in Total Plasma Proteins, and Disruption of Adrenocorticotropin-Cortisol Periodicity\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 52, no. 4, pp. 628-641.
- Di, S., Malcher-Lopes, R., Halmos, K.C. & Tasker, J.G. 2003, "Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism", *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 23, no. 12, pp. 4850-4857.
- Dickerman, Z., Grant, D., Faiman, C. & Winter, J. 1984, "Intraadrenal Steroid Concentrations in Man: Zonal Differences and Developmental Changes\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 59, no. 6, pp. 1031-1036.
- Dieguez, C., Page, M. & Scanlon, M. 1988, "Growth hormone neuroregulation and its alterations in disease states", *Clinical endocrinology*, vol. 28, no. 1, pp. 109-143.
- Donald, R. 1980, "Review article: ACTH and related peptides", *Clinical endocrinology*, vol. 12, no. 5, pp. 491-524

## Bibliografía

- Donaldson, C.J., Sutton, S.W., Perrin, M.H., Corrigan, A.Z., Lewis, K.A., Rivier, J.E., Vaughan, J.M. & Vale, W.W. 1996, "Cloning and characterization of human urocortin", *Endocrinology*, vol. 137, no. 5, pp. 2167-2170.
- Doniach, I. 1985, "1-Histopathology of the pituitary", *Clinics in endocrinology and metabolism*, vol. 14, no. 4, pp. 765-789.
- Drejer, J., Hendriksen, C., Nielsen, L.M., Binder, C., Hagen, C. & Kehlet, H. 1977, "Diurnal variations in plasma prolactin, growth hormone, cortisol and blood glucose in labile diabetes mellitus", *Clinical endocrinology*, vol. 6, no. 1, pp. 57-64.
- Dufau, M.L., Ulisse, S., Khanum, A., Buczko, E., Kitamura, M., Fabbri, A. & Namiki, M. 1989, "LH action in the leydig cell: Modulation by angiotensin II and corticotropin releasing hormone, and regulation of P450 17 $\alpha$  mRNA", *Journal of steroid biochemistry*, vol. 34, no. 1, pp. 205-217.
- Duick, D.S. & Wahner, H.W. 1979, "Thyroid axis in patients with Cushing's syndrome", *Archives of Internal Medicine*, vol. 139, no. 7, pp. 767-772.
- Dunlap, J.C. 1999, "Molecular bases for circadian clocks", *Cell*, vol. 96, no. 2, pp. 271-290.
- Dunlop, J. 1998, "CCK receptor antagonists", *General Pharmacology: The Vascular System*, vol. 31, no. 4, pp. 519-524.
- Eipper, B.A. & Mains, R.E. 1980, "Structure and Biosynthesis of Pro-Adrenocorticotropin/Endorphin and Related Peptides\*", *Endocrine reviews*, vol. 1, no. 1, pp. 1-27.
- Ellis, M., Schmidli, R., Donald, R., Livesey, J. & Espiner, E. 1990, "Plasma corticotrophin-releasing factor and vasopressin responses to hypoglycaemia in normal man", *Clinical endocrinology*, vol. 32, no. 1, pp. 93-100.
- Epelbaum, J. 1992, "Intrahypothalamic neurohormonal interactions in the control of growth hormone secretion", *Functional Anatomy of the Neuroendocrine Hypothalamus*, , pp. 54-68.
- Estívariz, C.F. & Ziegler, T.R. 1997, "Nutrition and the insulin-like growth factor system", *Endocrine*, vol. 7, no. 1, pp. 65-71.
- Evans, P., Dieguez, C., Foord, S., Peters, J., Hall, R. & Scanlon, M. 1985, "The effects of cholinergic blockade on the growth hormone and prolactin response to insulin hypoglycaemia", *Clinical endocrinology*, vol. 22, no. 6, pp. 733-737.
- Faria, M., Navarra, P., Tsagarakis, S., Besser, G. & Grossman, A. 1991, "Inhibition of CRH-41 release by substance P, but not substance K, from the rat hypothalamus *in vitro*", *Brain research*, vol. 538, no. 1, pp. 76-78.
- Feelders, R.A., de Bruin, C., Pereira, A.M., Romijn, J.A., Netea-Maier, R.T., Hermus, A.R., Zelissen, P.M., van Heerebeek, R., de Jong, F.H. & van der Lely, A. 2010, "Pasireotide alone or with cabergoline and ketoconazole in Cushing's disease", *New England Journal of Medicine*, vol. 362, no. 19, pp. 1846-1848.

## Bibliografía

- Feldman, D. 1986, "Ketoconazole and other imidazole derivatives as inhibitors of steroidogenesis", *Endocrine reviews*, vol. 7, no. 4, pp. 409-420.
- Feldman, S., Conforti, N. & Weidenfeld, J. 1995, "Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli", *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 19, no. 2, pp. 235-240.
- Felsing, N.E., Brasel, J.A. & Cooper, D.M. 1992, "Effect of low and high intensity exercise on circulating growth hormone in men", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 75, no. 1, pp. 157-162.
- Field, A.E., Colditz, G.A., Willett, W.C., Longcope, C. & McKinlay, J.B. 1994, "The relation of smoking, age, relative weight, and dietary intake to serum adrenal steroids, sex hormones, and sex hormone-binding globulin in middle-aged men", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 79, no. 5, pp. 1310-1316.
- Firth, S.M. & Baxter, R.C. 2002, "Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins", *Endocrine reviews*, vol. 23, no. 6, pp. 824-854.
- Fishman, L.M., Liddle, G.W., Island, D.P., Fleischer, N. & Küchel, O. 1967, "Effects of Amino-glutethimide on Adrenal Function in Man 1", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 27, no. 4, pp. 481-490.
- Flier, J.S., Underhill, L.H. & Le Roith, D. 1997, "Insulin-like growth factors", *New England Journal of Medicine*, vol. 336, no. 9, pp. 633-640.
- Fontana, L., Partridge, L. & Longo, V.D. 2010, "Extending healthy life span--from yeast to humans", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 328, no. 5976, pp. 321-326.
- Ford, E.S. & Newman, J. 1991, "Smoking and diabetes mellitus. Findings from 1988 Behavioral Risk Factor Surveillance System", *Diabetes care*, vol. 14, no. 10, pp. 871-874.
- Frankenne, F., Closset, J., Gomez, F., Scippo, M., Smal, J. & Hennen, G. 1988, "The Physiology of Growth Hormones (GHs) in Pregnant Women and Partial Characterization of the Placental GH Variant\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 66, no. 6, pp. 1171-1180.
- Frati, A.C., Iniestra, F. & Ariza, C.R. 1996, "Acute effect of cigarette smoking on glucose tolerance and other cardiovascular risk factors", *Diabetes care*, vol. 19, no. 2, pp. 112-118.
- Freeman, E., Touzel, R., Grossman, A., Besser, M. & Ross, R. 1990, "Pyridostigmine, an Acetylcholinesterase Inhibitor, Stimulates Growth Hormone Release, but has no Effect on Basal Thyrotrophin or Adrenocorticotrophin Levels, or the Thyrotrophin Response to Thyrotrophin-Releasing Hormone", *Journal of neuroendocrinology*, vol. 2, no. 4, pp. 429-432.
- Friend, K., Iranmanesh, A., Login, I.S. & Veldhuis, J.D. 1997, "Pyridostigmine treatment selectively amplifies the mass of GH secreted per burst without altering GH burst frequency, half-life, basal GH secretion or the orderliness of GH release", *European*

## Bibliografía

- journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, vol. 137, no. 4, pp. 377-386.
- Froesch, E., Schmid, C., Schwander, J.t. & Zapf, J. 1985, "Actions of insulin-like growth factors", *Annual Review of Physiology*, vol. 47, no. 1, pp. 443-467.
- Frohman, L.A., Macgillivray, M.H. & Aceto JR, T. 1967, "Acute effects of human growth hormone on insulin secretion and glucose utilization in normal and growth hormone deficient subjects", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 27, no. 4, pp. 561-567.
- Fukata, J., Diamond, D.J. & Martin, J.B. 1985, "Effects of Rat Growth Hormone (rGH)-Releasing Factor and Somatostatin on the Release and Synthesis of rGH in Dispersed Pituitary Cells\*", *Endocrinology*, vol. 117, no. 2, pp. 457-467.
- Fukui, H. 1991, "HISTAMINE RECEPTORS: HI-AND HE-RECEPTORS", *Histaminergic Neurons*, , pp. 61.
- Fukushiivm, D.K., Bradlow, H.L., Hellman, L., Zumoff, B. & Gallagher, T. 1960, "Metabolic transformation of hydrocortisone-4-C14 in normal men", *The Journal of biological chemistry*, vol. 235, no. 8.
- Fuxe, K., Andersson, K., Eneroth, P., Härfstrand, A. & Agnati, L.F. 1989, "Neuroendocrine actions of nicotine and of exposure to cigarette smoke: medical implications", *Psychoneuroendocrinology*, vol. 14, no. 1, pp. 19-41.
- G. Almqvist, LC Groop, PJO Manhem, E 2001, "Hypothalamic-pituitary-adrenal response to different tests in type 1 diabetes mellitus", *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, vol. 61, no. 7, pp. 557-565.
- Gaillard, R., Favrod-Coune, C., Capponi, A. & Muller, A. 1985, "Corticotropin-releasing activity of the renin-angiotensin system peptides in rat and in man", *Neuroendocrinology*, vol. 41, no. 6, pp. 511-517.
- Gallucci, W.T., Baum, A., Laue, L., Rabin, D.S., Chrousos, G.P., Gold, P. & Kling, M.A. 1993, "Sex differences in sensitivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis.", *Health Psychology*, vol. 12, no. 5, pp. 420.
- Gartside, S.E. & Cowen, P.J. 1990, "Mediation of ACTH and prolactin responses to 5-HTP by 5-HT<sub>2</sub> receptors", *European journal of pharmacology*, vol. 179, no. 1-2, pp. 103-109.
- Gelato, M.C., Pescovitz, O.H., Cassorla, F., Loriaux, D.L. & Merriam, G.R. 1984, "Dose-response relationships for the effects of growth hormone-releasing factor-(1-44)-NH<sub>2</sub> in young adult men and women", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 59, no. 2, pp. 197-201.
- Gerich, J. 1986, "Rationale for inhibition of growth hormone secretion in the management of the diabetic patient", *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, vol. 21, no. sup119, pp. 154-157.

## Bibliografía

- Gertz, B.J., Contreras, L.N., McComb, D.J., Kovacs, K., Tyrrell, J.B. & Dallman, M.F. 1987, "Chronic Administration of Corticotropin-Releasing Factor Increases Pituitary Corticotroph Number\*", *Endocrinology*, vol. 120, no. 1, pp. 381-388.
- Ghigo, E., Mazza, E., Corrias, A., Imperiale, E., Goffi, S., Arvat, E., Bellone, J., De Sanctis, C., Müller, E. & Camanni, F. 1989, "Effect of cholinergic enhancement by pyridostigmine on growth hormone secretion in obese adults and children", *Metabolism*, vol. 38, no. 7, pp. 631-633.
- Ghigo, E., Arvat, E., Valetto, M., Mazza, E., D'Antona, G., Rizzi, G. & Camanni, F. 1990, "Further evidence against a stimulatory role of the cholinergic system on the hypothalamic pituitary adrenal axis in man", *Neuro endocrinology letters*, vol. 12, no. 2, pp. 107-111.
- Ghizzoni, L., Vanelli, M., Viridis, R., Alberini, A., Volta, C. & Bernasconi, S. 1993, "Adrenal-Steroid and Adrenocorticotropin Responses to Human Corticotropin-Releasing Hormone Stimulation Test in Adolescents with Type-i Diabetes-Mellitus", *Metabolism-Clinical and Experimental*, vol. 42, no. 9, pp. 1141-1145.
- Giampietro, O., Ferdeghini, M., Miccoli, R., Locatelli, V., Cerri, M., Yanaihara, N., Navalesi, R. & Müller, E. 1987, "Effect of growth hormone-releasing hormone and clonidine on growth hormone release in type 1 diabetic patients", *Hormone and metabolic research*, vol. 19, no. 12, pp. 636-641.
- Gibbs, D.M. 1984, "High Concentrations of Oxytocin in Hypophysial Portal Plasma\*", *Endocrinology*, vol. 114, no. 4, pp. 1216-1218.
- Gibbs, D.M. 1985, "Measurement of hypothalamic corticotropin-releasing factors in hypophyseal portal blood", *Federation proceedings*, vol. 44, no. 1 Pt 2, pp. 203-206.
- Gibbs, D.M. & Vale, W. 1983, "Effect of the serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on corticotropin-releasing factor and vasopressin secretion into hypophysial portal blood", *Brain research*, vol. 280, no. 1, pp. 176-179.
- Giguere, V., Labrie, F., Cote, J., Coy, D.H., Sueiras-Diaz, J. & Schally, A.V. 1982, "Stimulation of cyclic AMP accumulation and corticotropin release by synthetic ovine corticotropin-releasing factor in rat anterior pituitary cells: site of glucocorticoid action", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 79, no. 11, pp. 3466-3469.
- Gilad, G.M., Mahon, B.D., Finkelstein, Y., Koffler, B. & Gilad, V.H. 1985, "Stress-induced activation of the hippocampal cholinergic system and the pituitary-adrenocortical axis", *Brain research*, vol. 347, no. 2, pp. 404-408.
- Gill, G.N. 1976, "ACTH regulation of the adrenal cortex", *Pharmacology & Therapeutics. Part B: General and Systematic Pharmacology*, vol. 2, no. 2, pp. 313-338.
- Gill, G.N. 1972, "Mechanism of ACTH action", *Metabolism*, vol. 21, no. 6, pp. 571-588.



## Bibliografía

- Giuffre, K.A., Udelsman, R., Listwak, S. & Chrousos, G.P. 1988, "Effects of immune neutralization of corticotropin-releasing hormone, adrenocorticotropin, and  $\beta$ -endorphin in the surgically stressed rat", *Endocrinology*, vol. 122, no. 1, pp. 306-310.
- Giustina, A., Girelli, A., Doga, M., Bodini, C., Bossoni, S., Romanelli, G. & Wehrenberg, W.B. 1990a, "Pyridostigmine blocks the inhibitory effect of glucocorticoids on growth hormone-releasing hormone stimulated growth hormone secretion in normal man", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 71, no. 3, pp. 580-584.
- Giustina, A., Bossoni, S., Cimino, A., Pizzocolo, G., Romanelli, G. & Wehrenberg, W.B. 1990b, "Impaired Growth Hormone (GH) Response to Pyridostigmine in Type 1 Diabetic Patients with Exaggerated GH-Releasing Hormone-Stimulated GH Secretion\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 71, no. 6, pp. 1486-1490.
- Giustina, A., Girelli, A., Albert, D., Bossoni, S., Buzi, F., Doga, M., Schettino, M. & Wehrenberg, W.B. 1991, "Effects of pyridostigmine on spontaneous and growth hormone-releasing hormone stimulated growth hormone secretion in children on daily glucocorticoid therapy after liver transplantation", *Clinical endocrinology*, vol. 35, no. 6, pp. 491-498.
- Giustina, A. & Wehrenberg, W.B. 1992, "The role of glucocorticoids in the regulation of growth hormone secretion mechanisms and clinical significance", *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 3, no. 8, pp. 306-311.
- Giustina, A., Bodini, C., Bossoni, S., Valentini, U. & Wehrenberg, W. 1993, "Variability in the Growth-Hormone Response to Growth Hormone-Releasing Hormone Alone Or Combined with Pyridostigmine in Type-1 Diabetic-Patients", *Journal of endocrinological investigation*, vol. 16, no. 8, pp. 585-590.
- Giustina, A. & Wehrenberg, W.B. 1994, "Growth hormone neuroregulation in diabetes mellitus", *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 5, no. 2, pp. 73-78.
- Giustina, A., Misitano, V., Voltz, D., Piering, A. & Wehrenberg, W. 1995, "Adrenergic and cholinergic involvement in basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated growth hormone secretion in glucocorticoid-treated rats", *Endocrine research*, vol. 21, no. 4, pp. 719-732.
- Giustina, A. & Veldhuis, J.D. 1998, "Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human 1", *Endocrine reviews*, vol. 19, no. 6, pp. 717-797.
- Giustina, A., Mazziotti, G. & Canalis, E. 2008, "Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton", *Endocrine reviews*, vol. 29, no. 5, pp. 535-559.
- Goldstein, J.L., Anderson, R.G. & Brown, M.S. 1979, "Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis", *Nature*, vol. 279, no. 5715, pp. 679-685.
- Goñi, M., Monreal, M., Goni, F., Sopena, M., Gil, M., Moncada, E. & Salvador, J. 1997, "Effects of cholinergic blockade on nocturnal thyrotropin and growth hormone (GH)

## Bibliografía

- secretion in type I diabetes mellitus: Further evidence supporting somatostatin's involvement in GH suppression", *Metabolism*, vol. 46, no. 11, pp. 1305-1311.
- Gossain, V.V., Sherma, N.K., Srivastava, L., Michelakis, A.M. & Rovner, D.R. 1986, "Hormonal Effects of Smoking-II: Effects on Plasma Cortisol, Growth Hormone, and Prolactin.", *The American Journal of the Medical Sciences*, vol. 291, no. 5, pp. 325-327.
- Greenwood, F.C., Landon, J. & Stamp, T.C. 1966, "The plasma sugar, free fatty acid, cortisol, and growth hormone response to insulin. I. In control subjects", *The Journal of clinical investigation*, vol. 45, no. 4, pp. 429-436.
- Grossman, A. & Besser, G. 1982, "Opiates control ACTH through a noradrenergic mechanism", *Clinical endocrinology*, vol. 17, no. 3, pp. 287-290.
- Grossman, A. 1983, "10-Brain opiates and neuroendocrine function", *Clinics in endocrinology and metabolism*, vol. 12, no. 3, pp. 725-746.
- Grossman, A., Weerasuriya, K., Al-Damluji, S., Turner, P. & Besser, G. 1987, "Alpha2-adrenoceptor agonists stimulate growth hormone secretion but have no acute effects on plasma cortisol under basal conditions", *Hormone Research in Paediatrics*, vol. 25, no. 2, pp. 65-71.
- Grossman, A., Savage, M., Lytras, N., Preece, M., Sueiras-Diaz, J., Coy, D., Rees, L.H. & Besser, G. 1984, "Responses to analogues of growth hormone-releasing hormone in normal subjects, and in growth-hormone deficient children and young adults", *Clinical endocrinology*, vol. 21, no. 3, pp. 321-330.
- Guillemin, R. & Rosenberg, B. 1955, "Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures", *Endocrinology*, vol. 57, no. 5, pp. 599-607.
- Gwynne, J.T. & Strauss III, J.F. 1982, "The Role of Lipoproteins in Steroidogenesis and Cholesterol Metabolism in Steroidogenic Glands\*", *Endocrine reviews*, vol. 3, no. 3, pp. 299-329.
- Habib, K.E., Gold, P.W. & Chrousos, G.P. 2001, "Neuroendocrinology of stress", *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, vol. 30, no. 3, pp. 695-728.
- Hamilton, M. 1960, "A rating scale for depression", *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, vol. 23, pp. 56-62.
- Hammond, G.L. 1990, "Molecular Properties of Corticosteroid Binding Globulin and the Sex-Steroid Binding Proteins\*", *Endocrine reviews*, vol. 11, no. 1, pp. 65-79.
- Hanaire-Broutin, H., Sallerin-Caute, B., Poncet, M., Tauber, M., Bastide, R., Chale, J., Rosenfeld, R. & Tauber, J. 1996, "Effect of intraperitoneal insulin delivery on growth hormone binding protein, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding protein-3 in IDDM", *Diabetologia*, vol. 39, no. 12, pp. 1498-1504.

## Bibliografía

- Handa, K., Nomoto, J., Oku, K., Takao, M., Inoue, T., Saku, K. & Arakawa, K. 1994, "Relationship of alcohol consumption and smoking to plasma cortisol and blood pressure", *Atherosclerosis*, vol. 109, no. 1, pp. 271-272.
- Hansen, A.P. & Johansen, K. 1970, "Diurnal patterns of blood glucose, serum free fatty acids, insulin, glucagon and growth hormone in normals and juvenile diabetics", *Diabetologia*, vol. 6, no. 1, pp. 27-33.
- Hashimoto, K., Yunoki, S., Takahara, J. & Ofuji, T. 1979, "ACTH release in pituitary cell cultures. Effect of neurogenic peptides and neurotransmitter substances on ACTH release induced by hypothalamic corticotropin releasing factor (CRF).", *Endocrinologia japonica*, vol. 26, no. 1, pp. 103-109.
- Hauger, R.L., Millan, M.A., Catt, K.J. & Aguilera, G. 1987, "Differential Regulation of Brain and Pituitary Corticotropin-Releasing Factor Receptors by Corticosterone\*", *Endocrinology*, vol. 120, no. 4, pp. 1527-1533.
- Hauger, R.L., Risbrough, V., Brauns, O. & Dautzenberg, F.M. 2006, "Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets", *CNS & neurological disorders drug targets*, vol. 5, no. 4, pp. 453-479.
- Häusler, A., Monnet, G. & Peter, O. 1993, "Involvement of GABA B receptors in the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical (HPA) axis in rats", *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 46, no. 6, pp. 767-771.
- Hayford, J.T., Danney, M.M., Hendrix, J.A. & Thompson, R.G. 1980, "Integrated concentration of growth hormone in juvenile-onset diabetes", *Diabetes*, vol. 29, no. 5, pp. 391-398.
- Hedge, G.A. & Smelik, P.G. 1968, "Corticotropin release: inhibition by intrahypothalamic implantation of atropine", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 159, no. 3817, pp. 891-892.
- Hedge, G. & De Wied, D. 1971, "Corticotropin and vasopressin secretion after hypothalamic implantation of atropine", *Endocrinology*, vol. 88, no. 5, pp. 1257-1259.
- Hedman, C.A., Frystyk, J., Lindström, T., Oskarsson, P. & Arnqvist, H.J. 2014, "Intraperitoneal insulin delivery to patients with type 1 diabetes results in higher serum IGF-I bioactivity than continuous subcutaneous insulin infusion", *Clinical endocrinology*, vol. 81, no. 1, pp. 58-62.
- Heiman, M.L., Ahima, R.S., Craft, L.S., Schoner, B., Stephens, T.W. & Flier, J.S. 1997, "Leptin Inhibition of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Response to Stress 1", *Endocrinology*, vol. 138, no. 9, pp. 3859-3863.
- Heisler, S., Larose, L. & Morisset, J. 1983, "Muscarinic cholinergic inhibition of cyclic AMP formation and adrenocorticotropin secretion in mouse pituitary tumor cells", *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 114, no. 1, pp. 289-295.
- Herington, A.C., Ymer, S. & Stevenson, J. 1986, "Identification and characterization of specific binding proteins for growth hormone in normal human sera", *The Journal of clinical investigation*, vol. 77, no. 6, pp. 1817-1823.

## Bibliografía

- Herman, J.P. & Cullinan, W.E. 1997, "Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis", *Trends in neurosciences*, vol. 20, no. 2, pp. 78-84.
- Herman, J.P., Ostrander, M.M., Mueller, N.K. & Figueiredo, H. 2005, "Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis", *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, vol. 29, no. 8, pp. 1201-1213.
- Hernando, F., Schoots, O., Lolait, S.J. & Burbach, J.P.H. 2001, "Immunohistochemical Localization of the Vasopressin V1b Receptor in the Rat Brain and Pituitary Gland: Anatomical Support for Its Involvement in the Central Effects of Vasopressin 1", *Endocrinology*, vol. 142, no. 4, pp. 1659-1668.
- Hershcopf, R., Plotnick, L.P., Kaya, K., Benedict, G.W., Hadji-Georgopoulos, A., Margolis, S. & Kowarski, A.A. 1982, "Short Term Improvement in Glycemic Control Utilizing Continuous Subcutaneous Insulin Infusion: The Effect on 24-Hour Integrated Concentrations of Counterregulatory Hormones and Plasma Lipids in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 54, no. 3, pp. 504-509.
- Hillhouse, E., Burden, J. & Jones, M. 1975, "The effect of various putative neurotransmitters on the release of corticotrophin releasing hormone from the hypothalamus of the rat *in vitro*. I. The effect of acetylcholine and noradrenaline", *Neuroendocrinology*, vol. 17, no. 1, pp. 1-11.
- Hindmarsh, P., Taylor, B., Smith, P., Pringle, P. & Brook, C. 1985, "Comparison between a physiological and a pharmacological stimulus of growth hormone secretion: response to stage IV sleep and insulin-induced hypoglycaemia", *The Lancet*, vol. 326, no. 8463, pp. 1033-1035.
- Ho, K.Y., Veldhuis, J.D., Johnson, M.L., Furlanetto, R., Evans, W.S., Alberti, K.G. & Thorner, M.O. 1988, "Fasting enhances growth hormone secretion and amplifies the complex rhythms of growth hormone secretion in man", *The Journal of clinical investigation*, vol. 81, no. 4, pp. 968-975.
- Hökfelt, B. 1961, "The effect of smoking on the production of adrenocortical hormones", *Acta Med Scand*, vol. 170, no. suppl 369, pp. 123-124.
- Holl, R.W., Hartman, M.L., Veldhuis, J.D., Taylor, W.M. & Thorner, M.O. 1991, "Thirty-Second Sampling of Plasma Growth Hormone in Man: Correlation with Sleep Stages\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 72, no. 4, pp. 854-861.
- Holly, J.M. 1991, "The physiological role of IGFBP-1", *Acta Endocrinologica*, vol. 124 Suppl 2, pp. 55-62.
- Holly, J.M., Amiel, S.A., Sandhu, R.R., Rees, L.H. & Wass, J.A. 1988, "The role of growth hormone in diabetes mellitus", *The Journal of endocrinology*, vol. 118, no. 3, pp. 353-364.

## Bibliografía

- Holmes, M., Catt, K. & Aguilera, G. 1987, "Involvement of vasopressin in the down-regulation of pituitary corticotropin-releasing factor receptors after adrenalectomy", *Endocrinology*, vol. 121, no. 6, pp. 2093-2098.
- Horner, J.M., Kemp, S.F. & Hintz, R.L. 1981, "Growth Hormone and Somatomedin in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 53, no. 6, pp. 1148-1153.
- Horrocks, P., Jones, A., Ratcliffe, W., Holder, G., White, A., Holder, R., Ratcliffe, J. & London, D. 1990, "Patterns of ACTH and Cortisol Pulsatility over Twenty-Four Hours in Normal Males and Females", *Clinical endocrinology*, vol. 32, no. 1, pp. 127-134.
- Horvath, E. & Kovacs, K. 1988, "Fine structural cytology of the adenohypophysis in rat and man", *Journal of electron microscopy technique*, vol. 8, no. 4, pp. 401-432.
- Houssay, B. & Biasotti, A. 1930, "La diabetes pancreatica de los perros hipofisoprivos", *Rev Soc Argent Biol*, vol. 6, pp. 251-296.
- Howard, A.D., Feighner, S.D., Cully, D.F., Arena, J.P., Liberators, P.A., Rosenblum, C.I., Hamelin, M., Hreniuk, D.L., Palyha, O.C., Anderson, J., Paresse, P.S., Diaz, C., Chou, M., Liu, K.K., McKee, K.K., Pong, S.S., Chaung, L.Y., Elbrecht, A., Dashkevich, M., Heavens, R., Rigby, M., Sirinathsinghji, D.J., Dean, D.C., Melillo, D.G., Patchett, A.A., Nargund, R., Griffin, P.R., DeMartino, J.A., Gupta, S.K., Schaeffer, J.M., Smith, R.G. & Van der Ploeg, L.H. 1996, "A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 273, no. 5277, pp. 974-977.
- Huang, Q., Rivest, R. & Richard, D. 1998, "Effects of leptin on corticotropin-releasing factor (CRF) synthesis and CRF neuron activation in the paraventricular hypothalamic nucleus of obese (ob/ob) mice", *Endocrinology*, vol. 139, no. 4, pp. 1524-1532.
- Hudson, J., Hudson, M., Rothschild, A., Vignati, L., Schatzberg, A. & Melby, J. 1984, "Abnormal Results of Dexamethasone Suppression Tests in Nondepressed Patients with Diabetes-Mellitus", *Archives of General Psychiatry*, vol. 41, no. 11, pp. 1086-1089.
- Ibañez-Santos, J., Tsagarakis, S., Rees, L.H., Besser, G.M. & Grossman, A. 1990, "Atrial natriuretic peptides inhibit the release of corticotrophin-releasing factor-41 from the rat hypothalamus *in vitro*", *The Journal of endocrinology*, vol. 126, no. 2, pp. 223-228.
- Illingworth, D.R., Kenny, T.A. & Orwoll, E.S. 1982, "Adrenal Function in Heterozygous and Homozygous Hypobetalipoproteinemia\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 54, no. 1, pp. 27-33.
- Illingworth, D.R., Lees, A.M. & Lees, R.S. 1983, "Adrenal cortical function in homozygous familial hypercholesterolemia", *Metabolism*, vol. 32, no. 11, pp. 1045-1052.
- Inagaki, N., Yamatodani, A., Ando-Yamamoto, M., Tohyama, M., Watanabe, T. & Wada, H. 1988, "Organization of histaminergic fibers in the rat brain", *Journal of Comparative Neurology*, vol. 273, no. 3, pp. 283-300.

## Bibliografía

- Iranmanesh, A. & Veldhuis, J.D. 1992, "Clinical pathophysiology of the somatotropic (GH) axis in adults", *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, vol. 21, no. 4, pp. 783-816.
- Iranmanesh, A., Grisso, B. & Veldhuis, J.D. 1994, "Low basal and persistent pulsatile growth hormone secretion are revealed in normal and hyposomatotropic men studied with a new ultrasensitive chemiluminescence assay", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 78, no. 3, pp. 526-535.
- Ishida, A., Mutoh, T., Ueyama, T., Bando, H., Masubuchi, S., Nakahara, D., Tsujimoto, G. & Okamura, H. 2005, "Light activates the adrenal gland: timing of gene expression and glucocorticoid release", *Cell metabolism*, vol. 2, no. 5, pp. 297-307.
- Ismail, I.S., Scanlon, M.F. & Peters, J.R. 1993, "Cholinergic control of growth hormone (GH) responses to GH-releasing hormone in insulin dependent diabetics: evidence for attenuated hypothalamic somatostatinergic tone and decreased GH autofeedback", *Clinical endocrinology*, vol. 38, no. 2, pp. 149-157.
- Isotton, A.L., Wender, M.C., Casagrande, A., Rollin, G. & Czepielewski, M.A. 2012, "Effects of oral and transdermal estrogen on IGF1, IGFBP3, IGFBP1, serum lipids, and glucose in patients with hypopituitarism during GH treatment: a randomized study", *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, vol. 166, no. 2, pp. 207-213.
- Itoi, K., Mouri, T., Takahashi, K., Murakami, O., Imai, Y., Sasaki, S., Yoshinaga, K. & Sasano, N. 1987, "Suppression by glucocorticoid of the immunoreactivity of corticotropin-releasing factor and vasopressin in the paraventricular nucleus of rat hypothalamus", *Neuroscience letters*, vol. 73, no. 3, pp. 231-236.
- Itoi, K., Suda, T., Tozawa, F., Dobashi, I., Ohmori, N., Sakai, Y., Abe, K. & Demura, H. 1994, "Microinjection of norepinephrine into the paraventricular nucleus of the hypothalamus stimulates corticotropin-releasing factor gene expression in conscious rats", *Endocrinology*, vol. 135, no. 5, pp. 2177-2182.
- Jaffe, C.A., DeMott-Friberg, R. & Barkan, A.L. 1996, "Endogenous growth hormone (GH)-releasing hormone is required for GH responses to pharmacological stimuli", *The Journal of clinical investigation*, vol. 97, no. 4, pp. 934-940.
- Janowsky, D.S., Risch, C., Parker, D., Huey, L. & Judd, L. 1980, "Increased vulnerability to cholinergic stimulation in affective-disorder patients [proceedings]", *Psychopharmacology bulletin*, vol. 16, no. 4, pp. 29-31.
- Jezova, D., Ochedalski, T., Kiss, A. & Aguilera, G. 1998, "Brain angiotensin II modulates sympathoadrenal and hypothalamic pituitary adrenocortical activation during stress", *Journal of neuroendocrinology*, vol. 10, no. 1, pp. 67-72.
- Jin, X., Shearman, L.P., Weaver, D.R., Zylka, M.J., De Vries, G.J. & Reppert, S.M. 1999, "A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock", *Cell*, vol. 96, no. 1, pp. 57-68.

## Bibliografía

- Johansen, K. & Hansen, A.P. 1971, "Diurnal serum growth hormone levels in poorly and well-controlled juvenile diabetics", *Diabetes*, vol. 20, no. 4, pp. 239-245.
- Jones, C. & Edwards, A. 1991, "Muscarinic adrenal responses to acetylcholine in conscious calves.", *The Journal of physiology*, vol. 444, no. 1, pp. 605-614.
- Jones, M., Gillham, B., Beckford, U., Dornhorst, A., Seed, M., Abraham, R. & Wynn, V. 1981, "Effect of treatment with sodium valproate and diazepam on plasma corticotropin in Nelson's syndrome", *The Lancet*, vol. 317, no. 8231, pp. 1179-1181.
- Jørgensen, H., Knigge, U., Kjaer, A. & Warberg, J. 1999, "Adrenocorticotrophic hormone secretion in rats induced by stimulation with serotonergic compounds", *Journal of neuroendocrinology*, vol. 11, pp. 283-290.
- Jorpes, E. & Mutt, V. 1966, "Cholecystokinin and pancreozymin, one single hormone?", *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 66, no. 1-2, pp. 196-202.
- Joslin, E.P., Root, H.F. & White, P. 1925, "The growth, development and prognosis of diabetic children", *Journal of the American Medical Association*, vol. 85, no. 6, pp. 420-422.
- Junnila, R.K., List, E.O., Berryman, D.E., Murrey, J.W. & Kopchick, J.J. 2013, "The GH/IGF-1 axis in ageing and longevity", *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 9, no. 6, pp. 366-376.
- Kalogeras, K.T., Calogero, A.E., Kuribayashi, T., Khan, I., Gallucci, W.T., Kling, M.A., Chrousos, G.P. & Gold, P.W. 1990, "In vitro and in vivo Effects of the Triazolobenzodiazepine Alprazolam on Hypothalamic Pituitary-Adrenal Function: Pharmacological and Clinical Implications\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 70, no. 5, pp. 1462-1471.
- Kamilaris, T.C., Johnson, E.O., Calogero, A.E., Kalogeras, K.T., Bernardini, R., Chrousos, G.P. & Gold, P.W. 1992, "Cholecystokinin-octapeptide stimulates hypothalamic-pituitary-adrenal function in rats: role of corticotropin-releasing hormone", *Endocrinology*, vol. 130, no. 4, pp. 1764-1774.
- Kaye, T.B., Rubin, R.A., Goldfine, A.B., Rajamani, K., Kinsley, B.T., Vischer, U.M. & Simonson, D.C. 1992, "Effect of glycemic control on the overnight dexamethasone suppression test in patients with diabetes mellitus", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 74, no. 3, pp. 640-644.
- Keim, S.R. & Shekhar, A. 1996, "The effects of GABA A receptor blockade in the dorsomedial hypothalamic nucleus on corticotrophin (ACTH) and corticosterone secretion in male rats", *Brain research*, vol. 739, no. 1, pp. 46-51.
- Keller-Wood, M.E. & Dallman, M.F. 1984, "Corticosteroid Inhibition of ACTH Secretion\*", *Endocrine reviews*, vol. 5, no. 1, pp. 1-24.
- Kempuraj, D., Papadopoulou, N.G., Lytinas, M., Huang, M., Kandere-Grzybowska, K., Madhappan, B., Boucher, W., Christodoulou, S., Athanassiou, A. & Theoharides, T.C. 2004, "Corticotropin-releasing hormone and its structurally related urocortin are

## Bibliografía

- synthesized and secreted by human mast cells", *Endocrinology*, vol. 145, no. 1, pp. 43-48.
- Kim, C.K. & Rivier, C. 1998, "Influence of nitric oxide synthase inhibitors on the ACTH and cytokine responses to peripheral immune signals", *Journal of neuroendocrinology*, vol. 10, no. 5, pp. 353-362.
- Kinzig, K.P., D'Alessio, D.A., Herman, J.P., Sakai, R.R., Vahl, T.P., Figueiredo, H.F., Murphy, E.K. & Seeley, R.J. 2003, "CNS glucagon-like peptide-1 receptors mediate endocrine and anxiety responses to interoceptive and psychogenic stressors", *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 23, no. 15, pp. 6163-6170.
- Kirschbaum, C., Wüst, S. & Strasburger, C. 1992, "'Normal' cigarette smoking increases free cortisol in habitual smokers", *Life Sciences*, vol. 50, no. 6, pp. 435-442.
- Kirschbaum, C., Strasburger, C. & Langkrär, J. 1993, "Attenuated cortisol response to psychological stress but not to CRH or ergometry in young habitual smokers", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 44, no. 3, pp. 527-531.
- Kirschbaum, C., Scherer, G. & Strasburger, C. 1994, "Pituitary and adrenal hormone responses to pharmacological, physical, and psychological stimulation in habitual smokers and nonsmokers", *The Clinical investigator*, vol. 72, no. 10, pp. 804-810.
- Kiss, J., Cassell, M. & Palkovits, M. 1984, "Analysis of the ACTH/ $\beta$ -end/ $\alpha$ -MSH-immunoreactive afferent input to the hypothalamic paraventricular nucleus of rat", *Brain research*, vol. 324, no. 1, pp. 91-99.
- Kjaer, A., Knigge, U., Bach, F.W. & Warberg, J. 1992, "Histamine-and stress-induced secretion of ACTH and  $\beta$ -endorphin: involvement of corticotropin-releasing hormone and vasopressin", *Neuroendocrinology*, vol. 56, no. 3, pp. 419-428.
- Kjaer, A. 1993, "Vasopressin as a neuroendocrine regulator of anterior pituitary hormone secretion", *Acta Endocrinologica*, vol. 129, no. 6, pp. 489-496.
- Knigge, U., Kjær, A., Jørgensen, H., Garbarg, M., Ross, C., Rouleau, A. & Warberg, J. 1994, "Role of hypothalamic histaminergic neurons in mediation of ACTH and beta-endorphin responses to LPS endotoxin *in vivo*", *Neuroendocrinology*, vol. 60, no. 3, pp. 243-251.
- Knigge, U., Matzen, S., Bach, F.W., Bang, P. & Warberg, J. 1989, "Involvement of histaminergic neurons in the stress-induced release of pro-opiomelanocortin-derived peptides in rats", *Acta Endocrinologica*, vol. 120, no. 4, pp. 533-539.
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H. & Kangawa, K. 1999, "Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach", *Nature*, vol. 402, no. 6762, pp. 656-660.
- Kok, P., Paulo, R.C., Cosma, M., Mielke, K.L., Miles, J.M., Bowers, C.Y. & Veldhuis, J.D. 2008, "Estrogen supplementation selectively enhances hypothalamo-pituitary sensitivity



## Bibliografía

- to ghrelin in postmenopausal women", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 93, no. 10, pp. 4020-4026.
- Kopelman, P., Grossman, A., Lavender, P., Besser, G., Rees, L. & Coy, D. 1988, "The cortisol response to corticotrophin-releasing factor is blunted in obesity", *Clinical endocrinology*, vol. 28, no. 1, pp. 15-18.
- Korbonits, M., Kaltsas, G., Perry, L.A., Putignano, P., Grossman, A.B., Besser, G.M. & Trainer, P.J. 1999, "The growth hormone secretagogue hexarelin stimulates the hypothalamo-pituitary-adrenal axis via arginine vasopressin", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 84, no. 7, pp. 2489-2495.
- Korbonits, M., Bustin, S.A., Kojima, M., Jordan, S., Adams, E.F., Lowe, D.G., Kangawa, K. & Grossman, A.B. 2001, "The Expression of the Growth Hormone Secretagogue Receptor Ligand Ghrelin in Normal and Abnormal Human Pituitary and Other Neuroendocrine Tumors 1", *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, vol. 86, no. 2, pp. 881-887.
- Kornhauser, J.M., Nelson, D.E., Mayo, K.E. & Takahashi, J.S. 1990, "Photic and circadian regulation of c-fos gene expression in the hamster suprachiasmatic nucleus", *Neuron*, vol. 5, no. 2, pp. 127-134.
- Kornhauser, J.M., Nelson, D.E., Mayo, K.E. & Takahashi, J.S. 1992, "Regulation of jun-B Messenger RNA and AP-1 Activity by Light and a Circadian Clock", *Science*, vol. 255, pp. 1581-1584.
- Krassowski, J., Felber, J.P., Rogala, H., Jeske, W. & Zgliczynski, S. 1988, "Exaggerated growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in type I diabetes mellitus", *Acta Endocrinologica*, vol. 117, no. 2, pp. 225-229.
- Krieger, D.T., Allen, W., Rizzo, F. & Krieger, H.P. 1971, "Characterization of the normal temporal pattern of plasma corticosteroid levels", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 32, no. 2, pp. 266-284.
- Kristiansen, M.T., Clausen, L.R., Nielsen, S., Blaabjerg, O., Ledet, T., Rasmussen, L.M. & Jorgensen, J.O. 2004, "Expression of leptin receptor isoforms and effects of leptin on the proliferation and hormonal secretion in human pituitary adenomas", *Hormone research*, vol. 62, no. 3, pp. 129-136.
- Kupfer, S.R., Underwood, L.E., Baxter, R.C. & Clemmons, D.R. 1993, "Enhancement of the anabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor I by use of both agents simultaneously", *The Journal of clinical investigation*, vol. 91, no. 2, pp. 391-396.
- Kurmasheva, R.T. & Houghton, P.J. 2006, "IGF-I mediated survival pathways in normal and malignant cells", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, vol. 1766, no. 1, pp. 1-22.
- Kvasnickova, H., Hampl, R. & Vondra, K. 2015, "DHEA, DHEAS and Prolactin Correlate With Glucose Control Parameters in Women of Fertile Age With Type-1 Diabetes Mellitus", *Physiological Research*, vol. 64, pp. S255.

## Bibliografía

- Lamberts, S., Zuyderwijk, J., Den Holder, F., Van Koetsveld, P. & Hofland, L. 1989, "Studies on the conditions determining the inhibitory effect of somatostatin on adrenocorticotropin, prolactin and thyrotropin release by cultured rat pituitary cells", *Neuroendocrinology*, vol. 50, no. 1, pp. 44-50.
- Landschulz, K.T., Pathak, R.K., Rigotti, A., Krieger, M. & Hobbs, H.H. 1996, "Regulation of scavenger receptor, class B, type I, a high density lipoprotein receptor, in liver and steroidogenic tissues of the rat", *The Journal of clinical investigation*, vol. 98, no. 4, pp. 984-995.
- Lanes, R., Recker, B., Fort, P. & Lifshitz, F. 1985, "Impaired somatomedin generation test in children with insulin-dependent diabetes mellitus", *Diabetes*, vol. 34, no. 2, pp. 156-160.
- Larsen, P.J., Jessop, D., Patel, H., Lightman, S.L. & Chowdrey, H.S. 1993, "Substance P inhibits the release of anterior pituitary adrenocorticotrophin via a central mechanism involving corticotrophin-releasing factor-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus", *Journal of neuroendocrinology*, vol. 5, no. 1, pp. 99-105.
- Lassarre, C., Girard, F., Durand, J. & Raynaud, J. 1974, "Kinetics of human growth hormone during submaximal exercise", *Journal of applied physiology*, vol. 37, no. 6, pp. 826-830.
- Lederis, K. 1987, "Non-mammalian Corticotropin Release-stimulating Peptides", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 512, no. 1, pp. 129-138.
- Lentle, B. & Thomas, J. 1964, "Adrenal function and the complications of diabetes mellitus", *The Lancet*, vol. 284, no. 7359, pp. 544-549.
- Lenz, H.J., Hester, S.E. & Brown, M.R. 1985, "Corticotropin-releasing factor. Mechanisms to inhibit gastric acid secretion in conscious dogs", *The Journal of clinical investigation*, vol. 75, no. 3, pp. 889-895.
- LeRoith, D., Clemmons, D., Nissley, P. & Rechler, M.M. 1992, "Insulin-like growth factors in health and disease", *Annals of Internal Medicine*, vol. 116, no. 10, pp. 854-862.
- Leslie, R.D., Lo, S., Millward, B.A., Honour, J. & Pyke, D.A. 1991, "Decreased growth velocity before IDDM onset", *Diabetes*, vol. 40, no. 2, pp. 211-216.
- Leung, D.W., Spencer, S.A., Cachianes, G., Hammonds, R.G., Collins, C., Henzel, W., Barnard, R., Waters, M. & Wood, W. 1987, "Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression", *Nature*, vol. 330, pp. 537-543.
- Levin, N., Blum, M. & Roberts, J.L. 1989, "Modulation of Basal and Corticotropin-Releasing Factor-Stimulated Proopiomelanocortin Gene Expression by Vasopressin in Rat Anterior Pituitary\*", *Endocrinology*, vol. 125, no. 6, pp. 2957-2966.
- Lewis, D.A., Sherman, B.M. & Kathol, R.G. 1984, "Analysis of the Specificity of Physostigmine Stimulation of Adrenocorticotropin in Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 58, no. 3, pp. 570-573.

## Bibliografía

- LI, C.H. & Papkoff, H. 1956, "Preparation and properties of growth hormone from human and monkey pituitary glands", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 124, no. 3235, pp. 1293-1294.
- Li, C.H. & Dixon, J.S. 1971, "Human pituitary growth hormone: XXXII. The primary structure of the hormone: Revision", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 146, no. 1, pp. 233-236.
- Liddle, G.W., Island, D., Lance, E.M. & Harris, A.P. 1958, "Alterations of adrenal steroid patterns in man resulting from treatment with a chemical inhibitor of 11 beta-hydroxylation", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 18, no. 8, pp. 906-912.
- Lightman, S.L. & Young III, W.S. 1989, "Lactation inhibits stress-mediated secretion of corticosterone and oxytocin and hypothalamic accumulation of corticotropin-releasing factor and enkephalin messenger ribonucleic acids", *Endocrinology*, vol. 124, no. 5, pp. 2358-2364.
- Lindeman, J.H., Pijl, H., Dielen, F.M., Lentjes, E.G., Leuven, C. & Kooistra, T. 2002, "Ghrelin and the hyposomatotropism of obesity", *Obesity research*, vol. 10, no. 11, pp. 1161-1166.
- Linton, E., Wolfe, C., Behan, D. & Lowry, P. 1988, "A specific carrier substance for human corticotrophin releasing factor in late gestational maternal plasma which could mask the acth-releasing activity", *Clinical endocrinology*, vol. 28, no. 3, pp. 315-324.
- Liposits, Z., Sievers, L. & Paull, W. 1988, "Neuropeptide-Y and ACTH-immunoreactive innervation of corticotropin releasing factor (CRF)-synthesizing neurons in the hypothalamus of the rat", *Histochemistry*, vol. 88, no. 3-6, pp. 227-234.
- Liu, J., Clarke, I.J., Funder, J.W. & Engler, D. 1991, "Evidence That the Central Noradrenergic and Adrenergic Pathways Activate the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in the Sheep\*", *Endocrinology*, vol. 129, no. 1, pp. 200-209.
- Liu, J.P., Clarke, I.J., Funder, J.W. & Engler, D. 1994, "Studies of the secretion of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin into the hypophysial-portal circulation of the conscious sheep. II. The central noradrenergic and neuropeptide Y pathways cause immediate and prolonged hypothalamic-pituitary-adrenal activation. Potential involvement in the pseudo-Cushing's syndrome of endogenous depression and anorexia nervosa", *The Journal of clinical investigation*, vol. 93, no. 4, pp. 1439-1450.
- Llorente, I., Lizcano, F., Alvarez, R., Diez, N., Sopena, M., Gil, M. & Salvador, J. 1996, "Cholinergic modulation of spontaneous hypothalamic-pituitary-adrenal activity and its circadian variation in man", *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 81, no. 8, pp. 2902-2907.
- Locatelli, V., Torsello, A., Redaelli, M., Ghigo, E., Massare, F. & Muller, E.E. 1986, "Cholinergic agonist and antagonist drugs modulate the growth hormone response to growth hormone-releasing hormone in the rat: evidence for mediation by somatostatin", *The Journal of endocrinology*, vol. 111, no. 2, pp. 271-278.

## Bibliografía

- Lorenzi, M., Karam, J.H., McIlroy, M.B. & Forsham, P.H. 1980, "Increased growth hormone response to dopamine infusion in insulin-dependent diabetic subjects: indication of possible blood-brain barrier abnormality", *The Journal of clinical investigation*, vol. 65, no. 1, pp. 146-153.
- Lovenberg, T.W., Liaw, C.W., Grigoriadis, D.E., Clevenger, W., Chalmers, D.T., De Souza, E.B. & Oltersdorf, T. 1995, "Corrections: Cloning and Characterization of a Functionally Distinct Corticotropin-Releasing Factor Receptor Subtype from Rat Brain", *Proceedings of the National Academy of Science*, pp. 5759.
- Luft, R. 1962, "The use of hypophysectomy in juvenile diabetes mellitus with vascular complications", *Diabetes*, vol. 11, pp. 461-462.
- Lundblad, J.R. & Roberts, J.L. 1988, "Regulation of proopiomelanocortin gene expression in pituitary", *Endocrine reviews*, vol. 9, no. 1, pp. 135-158.
- Luque, R.M., Córdoba-Chacón, J., Ibáñez-Costa, A., Gesmundo, I., Grande, C., Gracia-Navarro, F., Tena-Sempere, M., Ghigo, E., Gahete, M.D. & Granata, R. 2014, "Obestatin plays an opposite role in the regulation of pituitary somatotrope and corticotrope function in female primates and male/female mice", *Endocrinology*, vol. 155, no. 4, pp. 1407-1417.
- Maes, M., Underwood, L. & Ketelslegers, J. 1986, "Low Serum Somatomedin-C in Insulin-Dependent Diabetes: Evidence for a Postreceptor Mechanism\*", *Endocrinology*, vol. 118, no. 1, pp. 377-382.
- Magnan, E., Cataldi, M., Guillaume, V., Mazzocchi, L., Dutour, A., Conte-Devolx, B., Giraud, P. & Oliver, C. 1993, "Neostigmine stimulates growth hormone-releasing hormone release into hypophysial portal blood of conscious sheep", *Endocrinology*, vol. 132, no. 3, pp. 1247-1251.
- Maier, R. & Staehelin, M. 1968, "Adrenal responses to corticotrophin in the presence of an inhibitor of protein synthesis", *Acta Endocrinologica*, vol. 58, no. 4, pp. 619-629.
- Makara, G. & Stark, E. 1974, "Effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) and GABA antagonist drugs on ACTH release", *Neuroendocrinology*, vol. 16, no. 3-4, pp. 178-190.
- Makino, S., Gold, P.W. & Schulkin, J. 1994, "Corticosterone effects on corticotropin-releasing hormone mRNA in the central nucleus of the amygdala and the parvocellular region of the paraventricular nucleus of the hypothalamus", *Brain research*, vol. 640, no. 1, pp. 105-112.
- Mallet, B., Vialettes, B., Haroche, S., Escoffier, P., Gastaut, P., Taubert, J.P. & Vague, P. 1992, "Stabilization of severe proliferative diabetic retinopathy by long-term treatment with SMS 201-995", *Diabete & metabolisme*, vol. 18, no. 6, pp. 438-444.
- Marshall, J. 2002, "Control of pituitary hormone secretion—role of pulsatility", *Comprehensive Clinical Endocrinology*, , pp. 19-34.

## Bibliografía

- Martina, V., Tagliabue, M., Maccario, M., Bertagna, A., Ghigo, E., Massara, F. & Camanni, F. 1987, "Pirenzepine blunts the nocturnal growth hormone release in insulin dependent diabetes", *Hormone and metabolic research*, vol. 19, no. 9, pp. 449-450.
- Martina, V., Maccario, M., Tagliabue, M., Corno, M. & Camanni, F. 1989a, "Chronic treatment with pirenzepine decreases growth hormone secretion in insulin-dependent diabetes mellitus", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 68, no. 2, pp. 392-396.
- Martina, V., Maccario, M., Tagliabue, M., Corno, M. & Camanni, F. 1989b, "Chronic treatment with pirenzepine decreases growth hormone secretion in insulin-dependent diabetes mellitus", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 68, no. 2, pp. 392-396.
- Martina, V., Pontiroli, A.E., Tagliabue, M., Calderara, A., Maccario, M., Pacchioni, M., Bertaina, S., Bruno, G., Pozza, G. & Camanni, F. 1994, "Pirenzepine decreases basal and stimulated GH secretion in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, vol. 26, no. 3, pp. 148-151.
- Martina, V., Bruno, G., Tagliabue, M., Maccario, M., Bertaina, S., Zumpano, E., Arvat, E., Ghigo, E. & Camanni, F. 1997, "Repeated administration of growth hormone-releasing hormone with or without previous administration of pyridostigmine in insulin-dependent diabetes mellitus", *Hormone and Metabolic Research*, vol. 29, no. 4, pp. 180-183.
- Marty, M., Erwin, V., Cornell, K. & Zgombick, J. 1985, "Effects of nicotine on  $\beta$ -endorphin,  $\alpha$ MSH, and ACTH secretion by isolated perfused mouse brains and pituitary glands, *in vitro*", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 22, no. 2, pp. 317-325.
- Masala, A., Delitala, G., Alagna, S. & Devilla, L. 1977, "Effect of pimozide on levodopa-induced growth hormone release in man", *Clinical endocrinology*, vol. 7, no. 3, pp. 253-256.
- Massara, F. & Camanni, F. 1972, "Effect of various adrenergic receptor stimulating and blocking agents on human growth hormone secretion", *The Journal of endocrinology*, vol. 54, no. 2, pp. 195-206.
- Massara, F., Ghigo, E., Demisli, K., Tangolo, D., Mazza, E., Locatelli, V., Müller, E., Molinatti, G. & Camanni, F. 1986a, "Cholinergic involvement in the growth hormone releasing hormone-induced growth hormone release: studies in normal and acromegalic subjects", *Neuroendocrinology*, vol. 43, no. 6, pp. 670-675.
- Massara, F., Ghigo, E., Molinatti, P., Mazza, E., Locatelli, V., Muller, E.E. & Camanni, F. 1986b, "Potentiation of cholinergic tone by pyridostigmine bromide re-instates and potentiates the growth hormone responsiveness to intermittent administration of growth hormone-releasing factor in man", *Acta Endocrinologica*, vol. 113, no. 1, pp. 12-16.

## Bibliografía

- Matta, S.G., Beyer, H.S., McAllen, K.M. & Sharp, B.M. 1987, "Nicotine elevates rat plasma ACTH by a central mechanism", *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, vol. 243, no. 1, pp. 217-226.
- Matta, S.G., Foster, C.A. & Sharp, B.M. 1993, "Selective administration of nicotine into catecholaminergic regions of rat brainstem stimulates adrenocorticotropin secretion", *Endocrinology*, vol. 133, no. 6, pp. 2935-2942.
- Matta, S., McCoy, J., Foster, C. & Sharp, B. 1995, "Nicotinic agonists administered into the fourth ventricle stimulate norepinephrine secretion in the hypothalamic paraventricular nucleus: an *in vivo* microdialysis study", *Neuroendocrinology*, vol. 61, no. 4, pp. 383-392.
- Mauras, N., Blizzard, R.M., Link, K., Johnson, M.L., Rogol, A.D. & Veldhuis, J.D. 1987, "Augmentation of Growth Hormone Secretion during Puberty: Evidence for a Pulse Amplitude-Modulated Phenomenon\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 64, no. 3, pp. 596-601.
- Mayo, K.E., Vale, W., Rivier, J., Rosenfeld, M.G. & Evans, R.M. 1983, "Expression-cloning and sequence of a cDNA encoding human growth hormone-releasing factor", .
- Mayo, K.E. 1992, "Molecular cloning and expression of a pituitary-specific receptor for growth hormone-releasing hormone", *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, vol. 6, no. 10, pp. 1734-1744.
- McEwen, B.S. 2000, "The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance", *Brain research*, vol. 886, no. 1, pp. 172-189.
- McKlveen, J.M., Wilson, J.M., Rubin, R.T. & Rhodes, M.E. 2010, "Sexually diergic, dose-dependent hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to nicotine in a dynamic *in vitro* perfusion system", *Journal of pharmacological and toxicological methods*, vol. 61, no. 3, pp. 311-318.
- Meister, B., Hökfelt, T., Geffard, M. & Oertel, W. 1988, "Glutamic acid decarboxylase- and  $\gamma$ -aminobutyric acid-like immunoreactivities in corticotropin-releasing factor-containing parvocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus", *Neuroendocrinology*, vol. 48, no. 5, pp. 516-526.
- Melmed, S. & Kleinberg, D.L. 2008, "Anterior Pituitary" in *Williams Textbook of Endocrinology*, eds. H.M. Kronenberg, S. Melmed, K.S. Polonsky & P.R. Larsen, 11th edn, Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Mendelson, J.H., Sholar, M.B., Goletiani, N., Siegel, A.J. & Mello, N.K. 2005, "Effects of low- and high-nicotine cigarette smoking on mood states and the HPA axis in men", *Neuropsychopharmacology*, vol. 30, no. 9, pp. 1751-1763.
- Mendelson, J.H., Goletiani, N., Sholar, M.B., Siegel, A.J. & Mello, N.K. 2008, "Effects of smoking successive low- and high-nicotine cigarettes on hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones and mood in men", *Neuropsychopharmacology*, vol. 33, no. 4, pp. 749-760.

## Bibliografía

- Mendelson, W.B., Lantigua, R.A., Wyatt, R.J., Gillin, J.C. & Jacobs, L.S. 1981, "Piperidine Enhances Sleep-Related and Insulin-Induced Growth Hormone Secretion: Further Evidence for a Cholinergic Secretory Mechanism\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 52, no. 3, pp. 409-414.
- Menon, R.K., Arslanian, S., May, B., Cutfield, W.S. & Sperling, M.A. 1992, "Diminished growth hormone-binding protein in children with insulin-dependent diabetes mellitus", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 74, no. 4, pp. 934-938.
- Mercado, M., Molitch, M.E. & Baumann, G. 1992, "Low plasma growth hormone binding protein in IDDM", *Diabetes*, vol. 41, no. 5, pp. 605-609.
- Merimee, T.J. 1978, "A follow-up study of vascular disease in growth-hormone-deficient dwarfs with diabetes", *New England Journal of Medicine*, vol. 298, no. 22, pp. 1217-1222.
- Mezey, E., Reisine, T.D., Skirboll, L., Beinfeld, M. & Kiss, J.Z. 1986, "Role of cholecystokinin in corticotropin release: coexistence with vasopressin and corticotropin-releasing factor in cells of the rat hypothalamic paraventricular nucleus", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 83, no. 10, pp. 3510-3512.
- Michels, K., Meeker, R.B. & Hayward, J. 1991, "Muscarinic cholinergic control of vasopressin secretion from the acute hypothalamoneurohypophysial explant", *Neuroendocrinology*, vol. 54, no. 3, pp. 219-226.
- Miki, N., Ono, M. & Shizume, K. 1984, "Evidence that opiate and  $\alpha$ -adrenergic mechanisms stimulate rat growth hormone-release via growth releasing factor (GRF)", *Endocrinology*, vol. 114, no. 5, pp. 1950-1952.
- Millan, M.A., Samra, A.A., Wynn, P.C., Catt, K.J. & Aguilera, G. 1987, "Receptors and actions of corticotropin-releasing hormone in the primate pituitary gland", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 64, no. 5, pp. 1036-1041.
- Miller, W.L. 1988, "Molecular Biology of Steroid Hormone Synthesis\*", *Endocrine reviews*, vol. 9, no. 3, pp. 295-318.
- Milsom, S.R., Donald, R., Espiner, E., Nicholls, M. & Livesey, J. 1986, "The effect of peripheral catecholamine concentrations on the pituitary-adrenal response to corticotropin releasing factor in man", *Clinical endocrinology*, vol. 25, no. 3, pp. 241-246.
- Mimura, A., Kageyama, S., Itoh, K., Miura, J., Kurata, H., Yokoyama, J. & Ikeda, Y. 1992, "Role of growth hormone in the pathogenesis of dawn phenomenon in IDDM", *Nihon Naibunpi Gakkai zasshi*, vol. 68, no. 6, pp. 600-606.
- Moldow, R.L. & Fischman, A.J. 1984, "Circadian rhythm of corticotropin releasing factor-like immunoreactivity in rat hypothalamus", *Peptides*, vol. 5, no. 6, pp. 1213-1215.
- Molitch, M.E. 1992, "Clinical manifestations of acromegaly", *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, vol. 21, no. 3, pp. 597-614.

## Bibliografía

- Momany, F., Bowers, C., Reynolds, G., Chang, D., Hong, A. & Newlander, K. 1981, "Design, Synthesis, and Biological Activity of Peptides which Release Growth Hormone *in vitro*", *Endocrinology*, vol. 108, no. 1, pp. 31-39.
- Moore-Ede, M.C., Czeisler, C.A. & Richardson, G.S. 1983, "Circadian timekeeping in health and disease: I. Basic properties of circadian pacemakers.", *The New England journal of medicine*, .
- Moretti, C., Fabbri, A., Gnassi, L., Cappa, M., Calzolari, A., Fraioli, F., Grossman, A. & Besser, G. 1983, "Naloxone inhibits Exercise-Induced Release of PRL and GH in Athletes", *Clinical endocrinology*, vol. 18, no. 2, pp. 135-138.
- Mosbah, A.A., Abd-Ellatif, N.A. & Sorour, E.I. 2011, "Influence of serum cortisol levels on glycemic control in children with type 1 diabetes", *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, vol. 41, no. 3, pp. 777-784.
- Muglia, L.J., Jacobson, L., Weninger, S.C., Luedke, C.E., Bae, D.S., Jeong, K.H. & Majzoub, J.A. 1997, "Impaired diurnal adrenal rhythmicity restored by constant infusion of corticotropin-releasing hormone in corticotropin-releasing hormone-deficient mice", *The Journal of clinical investigation*, vol. 99, no. 12, pp. 2923-2929.
- Munck, A., Guyre, P.M. & Holbrook, N.J. 1984, "Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions\*", *Endocrine reviews*, vol. 5, no. 1, pp. 25-44.
- Munemura, M., Eskay, R., Kebejian, J. & Long, R. 1980, "Release of  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone from dispersed cells of the intermediate lobe of the rat pituitary gland: involvement of catecholamines and adenosine 3', 5'-monophosphate", *Endocrinology*, vol. 106, no. 6, pp. 1795-1803.
- Murakami, K. & Ganong, W. 1987, "Site at which angiotensin II acts to stimulate ACTH secretion *in vivo*", *Neuroendocrinology*, vol. 46, no. 3, pp. 231-235.
- Murialdo, G., Fonzi, S., Torre, F., Costelli, P., Solinas, G., Tosca, P., Di Paolo, E., Porro, S., Zerbi, F. & Polleri, A. 1993, "Effects of pyridostigmine, corticotropin-releasing hormone and growth hormone-releasing hormone on the pituitary-adrenal axis and on growth hormone secretion in dementia", *Neuropsychobiology*, vol. 28, no. 4, pp. 177-183.
- Murphy, L.J. 2003, "The role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in glucose homeostasis", *Experimental diabetes research*, vol. 4, no. 4, pp. 213-224.
- Naumenko, E. 1967, "Role of adrenergic and cholinergic structures in the control of the pituitary-adrenal system", *Endocrinology*, vol. 80, no. 1, pp. 69-76.
- Navascues, I., Gil, J., Pascau, C., Senen, D. & Serrano-Rios, M. 1988, "Severe hypoglycemia as a short-term side-effect of the somatostatin analog SMS 201-995 in insulin-dependent diabetes mellitus", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, vol. 20, no. 12, pp. 749-750.



## Bibliografía

- Newhouse, P.A., Sunderland, T., Narang, P., Mellow, A.M., Fertig, J.B., Lawlor, B.A. & Murphy, D.L. 1990, "Neuroendocrine, physiologic, and behavioral responses following intravenous nicotine in nonsmoking healthy volunteers and in patients with Alzheimer's disease", *Psychoneuroendocrinology*, vol. 15, no. 5, pp. 471-484.
- Niall, H.D., Hogan, M.L., Sauer, R., Rosenblum, I.Y. & Greenwood, F.C. 1971, "Sequences of pituitary and placental lactogenic and growth hormones: evolution from a primordial peptide by gene reduplication", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 68, no. 4, pp. 866-870.
- Nicholson, W.E., Decherney, G.S., Jackson, R.V., Debold, C.R., Uderman, H., Alexander, A.N., Rivier, J., Vale, W. & Orth, D.N. 1983, "Plasma Distribution, Disappearance Half-Time, Metabolic Clearance Rate, and Degradation of Synthetic Ovine Corticotropin-Releasing Factor in Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 57, no. 6, pp. 1263-1269.
- Nicholson, W.E., DeCherney, G.S., Jackson, R.V. & Orth, D.N. 1987, "Pituitary and hypothalamic hormones in normal and neoplastic adrenal medullae: biologically active corticotropin-releasing hormone and corticotropin", *Regulatory peptides*, vol. 18, no. 3, pp. 173-188.
- Nicholson, W.E. & Orth, D.N. 1996, "Preprothyrotropin-releasing hormone-(178-199) does not inhibit corticotropin release", *Endocrinology*, vol. 137, no. 5, pp. 2171-2174.
- Oda, Y. & Nakanishi, I. 2000, "The distribution of cholinergic neurons in the human central nervous system", *Histology and histopathology*, vol. 15, no. 3, pp. 825-834.
- Okuda, H., Shioda, S., Nakai, Y., Nakayama, H., Okamoto, M. & Nakashima, T. 1993, "The presence of corticotropin-releasing factor-like immunoreactive synaptic vesicles in axon terminals with nicotinic acetylcholine receptor-like immunoreactivity in the median eminence of the rat", *Neuroscience letters*, vol. 161, no. 2, pp. 183-186.
- Olefsky, J.M. 1975, "Effect of dexamethasone on insulin binding, glucose transport, and glucose oxidation of isolated rat adipocytes", *The Journal of clinical investigation*, vol. 56, no. 6, pp. 1499-1508.
- Olschowka, J., O'donohue, T., Mueller, G. & Jacobowitz, D. 1982, "Hypothalamic and extrahypothalamic distribution of CRF-like immunoreactive neurons in the rat brain", *Neuroendocrinology*, vol. 35, no. 4, pp. 305-308.
- Oppermann, D., Huber, I., Nink, M. & Schulz, V. 1987, "Human Corticotropin-Releasing Hormone in Man: Dose-Response of Minute Ventilation and End-Tidal Partial Pressures of Carbon Dioxide and Oxygen\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 64, no. 2, pp. 292-296.
- Orth, D., Besser, G., King, P. & Nicholson, W. 1979, "Free-running circadian plasma cortisol rhythm in a blind human subject", *Clinical endocrinology*, vol. 10, no. 6, pp. 603-617.

## Bibliografía

- Orth, D.N., Jackson, R.V., DeCherney, G.S., DeBold, C.R., Alexander, A.N., Island, D.P., Rivier, J., Rivier, C., Spiess, J. & Vale, W. 1983, "Effect of synthetic ovine corticotropin-releasing factor. Dose response of plasma adrenocorticotropin and cortisol", *The Journal of clinical investigation*, vol. 71, no. 3, pp. 587-595.
- Orth, D.N. & Mount, C.D. 1987, "Specific high-affinity binding protein for human corticotropin-releasing hormone in normal human plasma", *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 143, no. 2, pp. 411-417.
- ORTH, D.N. 1992, "Corticotropin-Releasing Hormone in Humans\*", *Endocrine reviews*, vol. 13, no. 2, pp. 164-191.
- Owerbach, D., Rutter, W.J., Martial, J.A., Baxter, J.D. & Shows, T.B. 1980, "Genes for growth hormone, chorionic somatomammotropin, and growth hormones-like gene on chromosome 17 in humans", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 209, no. 4453, pp. 289-292.
- Ozata, M., Dieguez, C. & Casanueva, F.F. 2003, "The inhibition of growth hormone secretion presented in obesity is not mediated by the high leptin levels: a study in human leptin deficiency patients", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 88, no. 1, pp. 312-316.
- Page, S., Ang, V., Jackson, R., White, A., Nussey, S. & Jenkins, J. 1990, "The effect of oxytocin infusion on adenohipophyseal function in man", *Clinical endocrinology*, vol. 32, no. 3, pp. 307-314.
- Pagotto, U., Marsicano, G., Fezza, F., Theodoropoulou, M., Grubler, Y., Stalla, J., Arzberger, T., Milone, A., Losa, M. & Di Marzo, V. 2001, "Normal Human Pituitary Gland and Pituitary Adenomas Express Cannabinoid Receptor Type 1 and Synthesize Endogenous Cannabinoids: First Evidence for a Direct Role of Cannabinoids on Hormone Modulation at the Human Pituitary Level 1", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 86, no. 6, pp. 2687-2696.
- Pal, B., Matthews, D., Edge, J., Mullis, P., Hindmarsh, P. & Dunger, D. 1993, "The frequency and amplitude of growth hormone secretory episodes as determined by deconvolution analysis are increased in adolescents with insulin dependent diabetes mellitus and are unaffected by short-term euglycaemia", *Clinical endocrinology*, vol. 38, no. 1, pp. 93-100.
- Panula, P. & Airaksinen, M.S. 1991, "The histaminergic neuronal systems revealed with antisera against histamine", *Histaminergic Neurons*, , pp. 127.
- Parker, M.L., Hammond, J.M. & Daughaday, W.H. 1967, "The arginine provocative test: an aid in the diagnosis of hyposomatotropism", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 27, no. 8, pp. 1129-1136.
- Parkes, D.G., Weisinger, R.S. & May, C.N. 2001, "Cardiovascular actions of CRH and urocortin: an update", *Peptides*, vol. 22, no. 5, pp. 821-827.

## Bibliografía

- Parrott, R.F. & Forsling, M.L. 1992, "CCK-A receptors mediate the effect of cholecystokinin on vasopressin but not on cortisol in pigs", *The American Journal of Physiology*, vol. 262, no. 6 Pt 2, pp. R1154-7.
- Patel, Y.C., Greenwood, M., Panetta, R., Hukovic, N., Grigorakis, S., Robertson, L. & Srikant, C.B. 1996, "Molecular biology of somatostatin receptor subtypes", *Metabolism*, vol. 45, pp. 31-38.
- Pavlov, E.P., Harman, S.M., Chrousos, G.P., Loriaux, D.L. & Blackman, M.R. 1986, "Responses of Plasma Adrenocorticotropin, Cortisol, and Dehydroepiandrosterone to Ovine Corticotropin-Releasing Hormone in Healthy Aging Men\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 62, no. 4, pp. 767-772.
- Pecori Giraldi, F. & Cavagnini, F. 1998, "Corticotropin-releasing hormone is produced by rat corticotropes and modulates ACTH secretion in a paracrine/autocrine fashion", *The Journal of clinical investigation*, vol. 101, no. 11, pp. 2478-2484.
- Peineau, S., Guimiot, F., Csaba, Z., Jacquier, S., Fafouri, A., Schwendimann, L., de Roux, N., Schulz, S., Gressens, P. & Auvin, S. 2013, "Somatostatin receptors type 2 and 5 expression and localization during human pituitary development", *Endocrinology*, vol. 155, no. 1, pp. 33-39.
- Penhoat, A., Lebrethon, M., Bégeot, M. & Saez, J.M. 1995, "Regulation of ACTH receptor mRNA and binding sites by ACTH and angiotensin II in cultured human and bovine adrenal fasciculata cells.", *Endocrine research*, vol. 21, no. 1-2, pp. 157-168.
- Peñalva, A., Burguera, B., Casabiell, X., Tresguerres, J., Dieguez, C. & Casanueva, F. 1989, "Activation of cholinergic neurotransmission by pyridostigmine reverses the inhibitory effect of hyperglycemia on growth hormone (GH) releasing hormone-induced GH secretion in man: does acute hyperglycemia act through hypothalamic release of somatostatin?", *Neuroendocrinology*, vol. 49, no. 5, pp. 551-554.
- Peñalva, A., Muruais, C., Casanueva, F. & Dieguez, C. 1990, "Effect of Enhancement of Endogenous Cholinergic Tone with Pyridostigmine on the Dose-Response Relationships of Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone-Induced GH Secretion in Normal Subjects\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 70, no. 2, pp. 324-327.
- Peroutka, S. & Howell, T. 1994, "The molecular evolution of G protein-coupled receptors: focus on 5-hydroxytryptamine receptors", *Neuropharmacology*, vol. 33, no. 3, pp. 319-324.
- Perras, B., Schultes, B., Schwaiger, R., Metz, C., Wesseler, W., Born, J. & Fehm, H.L. 2002, "Growth hormone-releasing hormone facilitates hypoglycemia-induced release of cortisol", *Regulatory peptides*, vol. 110, no. 1, pp. 85-91.
- Peterfreund, R. & Vale, W. 1984, "Somatostatin analogs inhibit somatostatin secretion from cultured hypothalamus cells", *Neuroendocrinology*, vol. 39, no. 5, pp. 397-402.
- Peterfreund, R.A. & Vale, W.W. 1983, "Muscarinic Cholinergic Stimulation of Somatostatin Secretion from Long Term Dispersed Cell Cultures of Fetal Rat Hypothalamus:

## Bibliografía

- Inhibition by  $\gamma$ -Aminobutyric Acid and Serotonin\*", *Endocrinology*, vol. 112, no. 2, pp. 526-534.
- Peters, J., Evans, P., Page, M., Hall, R., Gibbs, J., Dieguez, C. & Scanlon, M. 1986, "Cholinergic muscarinic receptor blockade with pirenzepine abolishes slow wave sleep-related growth hormone release in normal adult males", *Clinical endocrinology*, vol. 25, no. 2, pp. 213-217.
- Petraglia, F., Sutton, S., Vale, W. & Plotsky, P. 1987, "Corticotropin-Releasing Factor Decreases Plasma Luteinizing Hormone Levels in Female Rats by Inhibiting Gonadotropin-Releasing Hormone Release into Hypophysial-Portal Circulation\*", *Endocrinology*, vol. 120, no. 3, pp. 1083-1088.
- Petralito, A., Lunetta, M., Liuzzo, A., Mangiafico, R.A. & Fiore, C.E. 1979, "Effects of salmon calcitonin on insulin-induced growth hormone release in man", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, vol. 11, no. 11, pp. 641-643.
- Pietschmann, P. & Schernthaner, G. 1988, "The effect of pirenzepine on growth hormone and blood glucose levels in type I diabetes mellitus. A controlled study in patients on basal bolus insulin treatment", *Acta Endocrinologica*, vol. 117, no. 3, pp. 315-319.
- Plotsky, P.M. & Vale, W. 1984, "Hemorrhage-Induced Secretion of Corticotropin-Releasing Factor-Like Immunoreactivity into the Rat Hypophysial Portal Circulation and Its Inhibition by Glucocorticoids\*", *Endocrinology*, vol. 114, no. 1, pp. 164-169.
- Plotsky, P.M., Bruhn, T.O. & Vale, W. 1985, "Hypophysiotropic Regulation of Adrenocorticotropin Secretion in Response to Insulin-Induced Hypoglycemia\*", *Endocrinology*, vol. 117, no. 1, pp. 323-329.
- Plotsky, P. 1987, "Facilitation of Immunoreactive Corticotropin-Releasing Factor Secretion into the Hypophysial-Portal Circulation after Activation of Catecholaminergic Pathways or Central Norepinephrine Injection\*", *Endocrinology*, vol. 121, no. 3, pp. 924-930.
- Plotsky, P., Sutton, S., Bruhn, T. & Ferguson, A. 1988, "Analysis of the Role of Angiotensin II in Mediation of Adrenocorticotropin Secretion\*", *Endocrinology*, vol. 122, no. 2, pp. 538-545.
- Plump, A.S., Erickson, S.K., Weng, W., Partin, J.S., Breslow, J.L. & Williams, D.L. 1996, "Apolipoprotein A-I is required for cholesteryl ester accumulation in steroidogenic cells and for normal adrenal steroid production", *The Journal of clinical investigation*, vol. 97, no. 11, pp. 2660-2671.
- Pomerleau, O.F. 1992, "Nicotine and the central nervous system: biobehavioral effects of cigarette smoking", *The American Journal of Medicine*, vol. 93, no. 1, pp. S2-S7.
- Popovic, V., Damjanovic, S., Micic, D., Djurovic, M., Dieguez, C. & Casanueva, F.F. 1995, "Blocked growth hormone-releasing peptide (GHRP-6)-induced GH secretion and absence of the synergic action of GHRP-6 plus GH-releasing hormone in patients with hypothalamopituitary disconnection: evidence that GHRP-6 main action is ex-

## Bibliografía

- erted at the hypothalamic level", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 80, no. 3, pp. 942-947.
- Potter, E., Behan, D., Fischer, W., Linton, E., Lowry, P. & Vale, W. 1991, "Cloning and characterization of the cDNAs for human and rat corticotropin releasing factor-binding proteins", .
- Poulsen, J.E. 1953, "Recovery from retinopathy in a case of diabetes with Simmonds' disease", *Diabetes*, vol. 2, no. 1, pp. 7-12.
- Press, M., Tamborlane, W.V. & Sherwin, R.S. 1984a, "Importance of raised growth hormone levels in mediating the metabolic derangements of diabetes", *New England Journal of Medicine*, vol. 310, no. 13, pp. 810-815.
- Press, M., Tamborlane, W.V., Thorner, M.O., Vale, W., Rivier, J., Gertner, J.M. & Sherwin, R.S. 1984b, "Pituitary response to growth hormone-releasing factor in diabetes. Failure of glucose-mediated suppression", *Diabetes*, vol. 33, no. 8, pp. 804-806.
- Qi, X., Reed, J., Englander, E.W., Chandrashekar, V., Bartke, A. & Greeley, G.H., Jr 2003, "Evidence that growth hormone exerts a feedback effect on stomach ghrelin production and secretion", *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, vol. 228, no. 9, pp. 1028-1032.
- Quinn, S.J. & Williams, G.H. 1988, "Regulation of aldosterone secretion", *Annual Review of Physiology*, vol. 50, no. 1, pp. 409-426.
- Rabin, D., Gold, P.W., Margioris, A.N. & Chrousos, G.P. 1988, "Stress and reproduction: physiologic and pathophysiologic interactions between the stress and reproductive axes" in *Mechanisms of physical and emotional stress* Springer, , pp. 377-387.
- Radin, D., Bloomgarden, Z.T., Feman, S.S. & Davis, T.Q. 1984, "Development of diabetic complications despite the absence of growth hormone in a patient with post-pancreatectomy diabetes", *New England Journal of Medicine*, vol. 310, no. 13, pp. 837-839.
- Radulovic, M. & Spiess, J. 2001, "Immunomodulatory role of the corticotropin-releasing factor", *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, vol. 49, no. 1, pp. 33-38.
- Ramos-Brieva, J. & Cordero-Villafafila, A. 1988, "A new validation of the Hamilton Rating Scale for Depression", *Journal of psychiatric research*, vol. 22, no. 1, pp. 21-28.
- Raskind, M.A., Peskind, E.R., Veith, R.C., Wilkinson, C.W., Federighi, D. & DORSA, D.M. 1990, "Differential Effects of Aging on Neuroendocrine Responses to Physostigmine in Normal Men\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 70, no. 5, pp. 1420-1425.
- Rebuffé-Scrive, M., Krotkiewski, M., Elfverson, J. & Björntorp, P. 1988, "Muscle and Adipose Tissue Morphology and Metabolism in Cushing's Syndrome\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 67, no. 6, pp. 1122-1128.

## Bibliografía

- Reddy, D.S. & Kulkarni, S. 1996, "Role of GABA-A and mitochondrial diazepam binding inhibitor receptors in the anti-stress activity of neurosteroids in mice", *Psychopharmacology*, vol. 128, no. 3, pp. 280-292.
- Redei, E., Hilderbrand, H. & Aird, F. 1995, "Corticotropin release inhibiting factor is encoded within prepro-TRH", *Endocrinology*, vol. 136, no. 4, pp. 1813-1816.
- Reisine, T. & Jensen, R. 1986, "Cholecystokinin-8 stimulates adrenocorticotropin release from anterior pituitary cells", *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, vol. 236, no. 3, pp. 621-626.
- Reisine, T. & Bell, G.I. 1995, "Molecular Biology of Somatostatin Receptors\*", *Endocrine reviews*, vol. 16, no. 4, pp. 427-442.
- Remer, T., Maser-Gluth, C., Boye, K.R., Hartmann, M.F., Heinze, E. & Wudy, S.A. 2006, "Exaggerated adrenarache and altered cortisol metabolism in Type 1 diabetic children", *Steroids*, vol. 71, no. 7, pp. 591-598.
- Rettori, V., Wenger, T., Snyder, G., Dalterio, S. & McCann, S. 1988, "Hypothalamic action of delta-9-tetrahydrocannabinol to inhibit the release of prolactin and growth hormone in the rat", *Neuroendocrinology*, vol. 47, no. 6, pp. 498-503.
- Rettori, V., Aguila, M.C., Gimeno, M.F., Franchi, A.M. & McCann, S.M. 1990, "In vitro effect of delta 9-tetrahydrocannabinol to stimulate somatostatin release and block that of luteinizing hormone-releasing hormone by suppression of the release of prostaglandin E2", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 87, no. 24, pp. 10063-10066.
- Rhodes, M.E., O'Toole, S.M., Czambel, R.K. & Rubin, R.T. 2001, "Male-female differences in rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to nicotine stimulation", *Brain research bulletin*, vol. 54, no. 6, pp. 681-688.
- Rhodes, M.E., Kennell, J.S., Belz, E.E., Czambel, R.K. & Rubin, R.T. 2004, "Rat estrous cycle influences the sexual diergism of HPA axis stimulation by nicotine", *Brain research bulletin*, vol. 64, no. 3, pp. 205-213.
- Richardson, S.B., Hollander, C.S., D'eleto, R., Greenleaf, P.W. & Thaw, C. 1980, "Acetylcholine Inhibits the Release of Somatostatin from Rat Hypothalamus *in vitro*", *Endocrinology*, vol. 107, no. 1, pp. 122-129.
- Rigamonti, A.E., Marazzi, N., Cella, S.G., Cattaneo, L. & Muller, E.E. 1998, "Growth hormone responses to growth hormone-releasing hormone and hexarelin in fed and fasted dogs: effect of somatostatin infusion or pretreatment with pirenzepine", *The Journal of endocrinology*, vol. 156, no. 2, pp. 341-348.
- Rimm, E.B., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Willett, W.C., Rosner, B., Hennekens, C.H. & Speizer, F.E. 1993, "Cigarette smoking and the risk of diabetes in women", *American Journal of Public Health*, vol. 83, no. 2, pp. 211-214.

## Bibliografía

- Rinaman, L. 1999, "Interoceptive stress activates glucagon-like peptide-1 neurons that project to the hypothalamus", *The American Journal of Physiology*, vol. 277, no. 2 Pt 2, pp. R582-90.
- Rios, S.M., Navascues, I., Saban, J., Ordonez, A., Sevilla, F. & POZO, D.E. 1986, "Somatostatin Analog SMS 201-995 and Insulin Needs in Insulin-Dependent Diabetic Patients Studied by Means of an Artificial Pancreas\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 63, no. 5, pp. 1071-1074.
- Risch, S.C., Cohen, R.M., Janowsky, D.S., Kalin, N.H. & Murphy, D.L. 1980, "Mood and behavioral effects of physostigmine on humans are accompanied by elevations in plasma beta-endorphin and cortisol", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 209, no. 4464, pp. 1545-1546.
- Risch, S., Kalin, N., Cohen, R., Weker, J., Insel, T., Cohen, M. & Murphy, D. 1981, "Muscarinic cholinergic influences on ACTH and  $\beta$ -endorphin release mechanisms in human subjects", *Peptides*, vol. 2, pp. 95-97.
- Risch, S.C., Kalin, N.H., Janowsky, D.S., Cohen, R.M., Pickar, D. & Murphy, D.L. 1983, "Co-release of ACTH and beta-endorphin immunoreactivity in human subjects in response to central cholinergic stimulation", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 222, no. 4619, pp. 77.
- Risch, S.C., Janowsky, D.S., Mott, M.A., Gillin, J.C., Kalir, H.H., Huey, L.Y., Ziegler, M., Kennedy, B. & Turken, A. 1986, "Central and peripheral cholinesterase inhibition: effects on anterior pituitary and sympathomimetic function", *Psychoneuroendocrinology*, vol. 11, no. 2, pp. 221-230.
- Rivier, C., Brownstein, M., Spiess, J., Rivier, J. & Vale, W. 1982a, "In vivo Corticotropin-Releasing Factor-Induced Secretion of Adrenocorticotropin,  $\beta$ -Endorphin, and Corticosterone\*", *Endocrinology*, vol. 110, no. 1, pp. 272-278.
- Rivier, C., Rivier, J. & Vale, W. 1982b, "Inhibition of adrenocorticotrophic hormone secretion in the rat by immunoneutralization of corticotropin-releasing factor", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 218, no. 4570, pp. 377-379.
- Rivier, C. & Vale, W. 1983a, "Effect of angiotensin II on ACTH release *in vivo*: role of corticotropin-releasing factor", *Regulatory peptides*, vol. 7, no. 3, pp. 253-258.
- Rivier, C. & Vale, W. 1983b, "Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin", .
- Rivier, C. & Shen, G.H. 1994, "In the rat, endogenous nitric oxide modulates the response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukin-1 beta, vasopressin, and oxytocin", *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 14, no. 4, pp. 1985-1993.
- Rivier, C. 1998, "Role of nitric oxide and carbon monoxide in modulating the ACTH response to immune and nonimmune signals", *Neuroimmunomodulation*, vol. 5, no. 3-4, pp. 203-213.

## Bibliografía

- Robinson, B.G., Emanuel, R.L., Frim, D.M. & Majzoub, J.A. 1988, "Glucocorticoid stimulates expression of corticotropin-releasing hormone gene in human placenta", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 85, no. 14, pp. 5244-5248.
- Roelfsema, F. & FRÖLICH, M. 1985, "Glucose tolerance and plasma immunoreactive insulin levels in acromegalics before and after selective transsphenoidal surgery", *Clinical endocrinology*, vol. 22, no. 4, pp. 531-537.
- Roelfsema, F., Biermasz, N.R., Veldman, R.G., Veldhuis, J.D., Frölich, M., Stokvis-Brantsma, W.H. & Wit, J. 2001, "Growth hormone (GH) secretion in patients with an inactivating defect of the GH-releasing hormone (GHRH) receptor is pulsatile: evidence for a role for non-GHRH inputs into the generation of GH pulses", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 86, no. 6, pp. 2459-2464.
- Roland, B. & Sawchenko, P. 1993, "Local origins of some GABAergic projections to the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat", *Journal of Comparative Neurology*, vol. 332, no. 1, pp. 123-143.
- Rosenfeld, R.G., Wilson, D.M., Dollar, L.A., Bennett, A. & Hintz, R.L. 1982, "Both Human Pituitary Growth Hormone and Recombinant DNA-Derived Human Growth Hormone Cause Insulin Resistance at a Postreceptor Site\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 54, no. 5, pp. 1033-1038.
- Ross, R., Tsagarakis, S., Grossman, A., Nahafoong, L., Touzel, R., Rees, L. & Besser, G. 1987, "GH feedback occurs through modulation of hypothalamic somatostatin under cholinergic control: studies with pyridostigmine and GHRH", *Clinical endocrinology*, vol. 27, no. 6, pp. 727-733.
- Roth, J., Glick, S.M., Yalow, R.S. & Berson, S.A. 1963, "Secretion of human growth hormone: physiologic and experimental modification", *Metabolism: clinical and experimental*, vol. 12, pp. 577-579.
- Roy, M., Collier, B. & Roy, A. 1990, "Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation among diabetic outpatients", *Psychiatry research*, vol. 31, no. 1, pp. 31-37.
- Roy, M., Roy, A., Gallucci, W., Collier, B., Young, K., Kamilaris, T. & Chrousos, G. 1993, "The Ovine Corticotropin-Releasing Hormone Stimulation Test in Type-i Diabetic-Patients and Controls - Suggestion of Mild Chronic Hypercortisolism", *Metabolism-Clinical and Experimental*, vol. 42, no. 6, pp. 696-700.
- Roy, M.S., Roy, A. & Brown, S. 1998a, "Increased urinary-free cortisol outputs in diabetic patients", *Journal of diabetes and its complications*, vol. 12, no. 1, pp. 24-27.
- Roy, M., Roy, A. & Brown, S. 1998b, "Increased urinary-free cortisol outputs in diabetic patients", *Journal of diabetes and its complications*, vol. 12, no. 1, pp. 24-27.
- Rudman, D., Feller, A.G., Nagraj, H.S., Gergans, G.A., Lalitha, P.Y., Goldberg, A.F., Schlenker, R.A., Cohn, L., Rudman, I.W. & Mattson, D.E. 1990, "Effects of human growth hormone in men over 60 years old", *New England Journal of Medicine*, vol. 323, no. 1, pp. 1-6.



## Bibliografía

- Rudolf, M.C., Sherwin, R.S., Markowitz, R., Bates, S.E., Genel, M., Hochstadt, J. & Tamborlane, W.V. 1982, "Effect of intensive insulin treatment on linear growth in the young diabetic patient", *The Journal of pediatrics*, vol. 101, no. 3, pp. 333-339.
- Russell, G.M., Henley, D.E., Leendertz, J., Douthwaite, J.A., Wood, S.A., Stevens, A., Woltersdorf, W.W., Peeters, B.W., Ruigt, G.S., White, A., Veldhuis, J.D. & Lightman, S.L. 2010, "Rapid glucocorticoid receptor-mediated inhibition of hypothalamic-pituitary-adrenal ultradian activity in healthy males", *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 30, no. 17, pp. 6106-6115.
- Saffran, M. & Schally, A. 1955, "The release of corticotrophin by anterior pituitary tissue *in vitro*", *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, vol. 33, no. 3, pp. 408-415.
- Saleri, R., Giustina, A., Tamanini, C., Valle, D., Burattin, A., Wehrenberg, W.B. & Baratta, M. 2004, "Leptin stimulates growth hormone secretion via a direct pituitary effect combined with a decreased somatostatin tone in a median eminence-pituitary perfusion study", *Neuroendocrinology*, vol. 79, no. 4, pp. 221-228.
- Salgado, L.R., Semer, M., Nery, M., Knoepfelmacher, M., Lerario, A., Pova, G., Jana, S., Villares, S., Wajchenberg, B. & Liberman, B. 1996, "Effect of glycemic control on growth hormone and IGFBP-1 secretion in patients with type I diabetes mellitus", *Journal of endocrinological investigation*, vol. 19, no. 7, pp. 433-440.
- Sander, L.D. & Porter, J.R. 1982, "Influence of cholecystokinin on hypothalamic-stalk median-eminence-extract stimulation of ACTH output from isolated pituitary cells", *Life Sciences*, vol. 31, no. 11, pp. 1103-1110.
- Saphier, D., Welch, J.E., Farrar, G.E., Nguyen, N.Q., Aguado, F., Thaller, T.R. & Knight, D.S. 1994, "Interactions between serotonin, thyrotropin-releasing hormone, and substance P in the CNS regulation of adrenocortical secretion", *Psychoneuroendocrinology*, vol. 19, no. 8, pp. 779-797.
- Sasaki, A., Shinkawa, O., Margioris, A.N., Liotta, A.S., Sato, S., Murakami, O., Go, M., Shimizu, Y., Hanew, K. & Yoshinaga, K. 1987, "Immunoreactive Corticotropin-Releasing Hormone in Human Plasma During Pregnancy, Labor, and Delivery\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 64, no. 2, pp. 224-229.
- Sawchenko, P., Swanson, L. & Joseph, S. 1982, "The distribution and cells of origin of ACTH (1-39)-stained varicosities in the paraventricular and supraoptic nuclei", *Brain research*, vol. 232, no. 2, pp. 363-374.
- Sawchenko, P. & Swanson, L. 1983, "The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat", *Journal of Comparative Neurology*, vol. 218, no. 2, pp. 121-144.
- Sawchenko, P., Swanson, L., Steinbusch, H. & Verhofstad, A. 1983, "The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat", *Brain research*, vol. 277, no. 2, pp. 355-360.

## Bibliografía

- Sawchenko, P.E., Swanson, L.W. & Vale, W.W. 1984, "Corticotropin-releasing factor: co-expression within distinct subsets of oxytocin-, vasopressin-, and neurotensin-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the male rat", *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 4, no. 4, pp. 1118-1129.
- Sawchenko, P.E. & Swanson, L.W. 1985, "Localization, colocalization, and plasticity of corticotropin-releasing factor immunoreactivity in rat brain", *Federation proceedings*, vol. 44, no. 1 Pt 2, pp. 221-227.
- Sawchenko, P., Arias, C. & Bittencourt, J. 1990, "Inhibin  $\beta$ , somatostatin, and enkephalin immunoreactivities coexist in caudal medullary neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus", *Journal of Comparative Neurology*, vol. 291, no. 2, pp. 269-280.
- Sawchenko, P., Imaki, T., Potter, E., Kovacs, K., Imaki, J. & Vale, W. 1993, "The functional neuroanatomy of corticotropin-releasing factor", *Ciba Foundation Symposium 172-Corticotropin-Releasing Factor* Wiley Online Library, , pp. 5.
- Sawchenko, P., Li, H. & Ericsson, A. 2000, "Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms", *Progress in brain research*, vol. 122, pp. 61-80.
- Sawicki, P.T., Didjurgeit, U., Muhlhauser, I., Bender, R., Heinemann, L. & Berger, M. 1994, "Smoking is associated with progression of diabetic nephropathy", *Diabetes care*, vol. 17, no. 2, pp. 126-131.
- Schaper, N., Verhoeff, A., Sluiter, W., Roelse, H., Reitsma, W. & Doorenbos, H. 1990, "The growth-hormone response to growth hormone-releasing hormone and its relationship to serum insulin-like growth factor-I in type-I diabetes-mellitus", *Acta Endocrinologica*, vol. 122, pp. 13-18.
- Schmidt, A., Maier, C., Schaller, G., Nowotny, P., Bayerle-Eder, M., Buranyi, B., Luger, A. & Wolzt, M. 2004, "Acute exercise has no effect on ghrelin plasma concentrations", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, vol. 36, no. 3, pp. 174-177.
- Schürmeyer, T., Avgerinos, P., Gold, P., Gallucci, W., Tomai, T., Cutler Jr, G., Loriaux, D. & Chrousos, G. 1984, "Human corticotropin-releasing factor in man: pharmacokinetic properties and dose-response of plasma adrenocorticotropin and cortisol secretion", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 59, no. 6, pp. 1103-1108.
- Schwartz, J., Arrang, J., Garbarg, M. & Pollard, H. 1991a, "The third histamine receptor" in *Histaminergic neurons: morphology and function* CRC Boca Raton, FL, , pp. 85-104.
- Schwartz, J., Arrang, J., GARBARG, M., Pollard, H. & Ruat, M. 1991b, "Histaminergic transmission in the mammalian brain", *Physiological Reviews*, vol. 71, no. 1, pp. 1-51.

## Bibliografía

- Schwartz, M.W., Seeley, R.J., Campfield, L.A., Burn, P. & Baskin, D.G. 1996, "Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus", *The Journal of clinical investigation*, vol. 98, no. 5, pp. 1101-1106.
- Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte, D., Seeley, R.J. & Baskin, D.G. 2000, "Central nervous system control of food intake", *Nature*, vol. 404, no. 6778, pp. 661-671.
- Schwyzler, R. 1977, "ACTH: a short introductory review\*", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 297, no. 1, pp. 3-26.
- Seyler, L.E., Pomerleau, O.F., Fertig, J.B., Hunt, D. & Parker, K. 1986, "Pituitary hormone response to cigarette smoking", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 24, no. 1, pp. 159-162.
- Sharma, A.N., Wigham, J. & Veldhuis, J.D. 2014, "Corticotropin axis drive of overnight cortisol secretion is suppressed in adolescents and young adults with type 1 diabetes mellitus", *Pediatric diabetes*, vol. 15, no. 6, pp. 444-452.
- Sharp, B.M. & Beyer, H.S. 1986, "Rapid desensitization of the acute stimulatory effects of nicotine on rat plasma adrenocorticotropin and prolactin", *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, vol. 238, no. 2, pp. 486-491.
- Sheldon JR, W.R., Debold, C.R., Evans, W.S., Decherney, G.S., Jackson, R.V., Island, D.P., Thorner, M.O. & Orth, D.N. 1985, "Rapid Sequential Intravenous Administration of Four Hypothalamic Releasing Hormones as a Combined Anterior Pituitary Function Test in Normal Subjects\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 60, no. 4, pp. 623-630.
- Shen, L.P., Pictet, R.L. & Rutter, W.J. 1982, "Human somatostatin I: sequence of the cDNA", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 79, no. 15, pp. 4575-4579.
- Sheppard, M., Kronheim, S. & Pimstone, B. 1978, "Stimulation by growth hormone of somatostatin release from the rat hypothalamus *in vitro*", *Clinical endocrinology*, vol. 9, no. 6, pp. 583-586.
- Shibahara, S., Morimoto, Y., Furutani, Y., Notake, M., Takahashi, H., Shimizu, S., Horikawa, S. & Numa, S. 1983, "Isolation and sequence analysis of the human corticotropin-releasing factor precursor gene", *The EMBO journal*, vol. 2, no. 5, pp. 775-779.
- Shiiba, T., Nakazato, M., Mizuta, M., Date, Y., Mondal, M.S., Tanaka, M., Nozoe, S., Hosoda, H., Kangawa, K. & Matsukura, S. 2002, "Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 87, no. 1, pp. 240-244.
- Siler, T., Yen, S., Vale, W. & Guillemin, R. 1974, "Inhibition by somatostatin on the release of TSH induced in man by thyrotropin-releasing factor", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 38, no. 5, pp. 742-745.

## Bibliografía

- Silverman, M.N., Pearce, B.D., Biron, C.A. & Miller, A.H. 2005, "Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection", *Viral immunology*, vol. 18, no. 1, pp. 41-78.
- Simpson, E.R. & Waterman, M.R. 1988, "Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH", *Annual Review of Physiology*, vol. 50, no. 1, pp. 427-440.
- Simunkova, K., Hampl, R., Hill, M., Kriz, L., Hrda, P., Janickova-Zdarska, D., Zamrazil, V., Vrbikova, J. & Vondra, K. 2010, "Adrenocortical function in young adults with diabetes mellitus type 1", *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 122, no. 1-3, pp. 35-41.
- Sirianni, R., Mayhew, B.A., Carr, B.R., Parker Jr, C.R. & Rainey, W.E. 2005, "Corticotropin-releasing hormone (CRH) and urocortin act through type 1 CRH receptors to stimulate dehydroepiandrosterone sulfate production in human fetal adrenal cells", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 90, no. 9, pp. 5393-5400.
- Sirinathsinghji, D.J., Rees, L.H., Rivier, J. & Vale, W. 1983, "Corticotropin-releasing factor is a potent inhibitor of sexual receptivity in the female rat", .
- Sitaram, N., Nurnberger, J.I., Jr, Gershon, E.S. & Gillin, J.C. 1980, "Faster cholinergic REM sleep induction in euthymic patients with primary affective illness", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 208, no. 4440, pp. 200-202.
- Sladek, C. & Joynt, R. 1979, "Characterization of Cholinergic Control of Vasopressin Release by the Organ-Cultured Rat Hypothalamo-Neurohypophyseal System\*", *Endocrinology*, vol. 104, no. 3, pp. 659-663.
- Slag, M.F., Ahmed, M., Gannon, M.C. & Nuttall, F.Q. 1981, "Meal stimulation of cortisol secretion: a protein induced effect", *Metabolism*, vol. 30, no. 11, pp. 1104-1108.
- Smith, R., Mesiano, S., Chan, E., Brown, S. & Jaffe, R.B. 1998, "Corticotropin-Releasing Hormone Directly and Preferentially Stimulates Dehydroepiandrosterone Sulfate Secretion by Human Fetal Adrenal Cortical Cells 1", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 83, no. 8, pp. 2916-2920.
- Soliman, A.T., Hassan, A., Aref, M.K., Hintz, R.L., Rosenfeld, R.G. & Rogol, A.D. 1986, "Serum insulin-like growth factors I and II concentrations and growth hormone and insulin responses to arginine infusion in children with protein-energy malnutrition before and after nutritional rehabilitation", *Pediatr Res*, vol. 20, no. 11, pp. 1122-1130.
- Speroni, G., Ceda, G.P., Capretti, L. & Valenti, G. 1983, "Clonidine and GH secretion in insulin dependent diabetes (IDD)", *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, vol. 15, no. 1, pp. 46-47.
- Spiess, J., Rivier, J., Rivier, C. & Vale, W. 1981, "Primary structure of corticotropin-releasing factor from ovine hypothalamus", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 78, no. 10, pp. 6517-6521.

## Bibliografía

- Spinedi, E. & Negro-Vilar, A. 1983, "Serotonin and Adrenocorticotropin (ACTH) Release: Direct Effects at the Anterior Pituitary Level and Potentiation of Arginine Vasopressin-Induced ACTH Release\*", *Endocrinology*, vol. 112, no. 4, pp. 1217-1223.
- Stafford, P., Kopelman, P., DAVIDSON, K., McLOUGHLIN, L., White, A., Rees, L., Besser, G., Coy, D. & Grossman, A. 1989, "The Pituitary-Adrenal Response to CRF-41 is Unaltered by Intravenous Somatostatin in Normal Subjects", *Clinical endocrinology*, vol. 30, no. 6, pp. 661-666.
- Stalmans, W. & Laloux, M. 1979, "Glucocorticoids and hepatic glycogen metabolism", *Monographs on endocrinology*, vol. 12, pp. 517-533.
- Stenzel, P., Kesterson, R., Yeung, W., Cone, R.D., Rittenberg, M.B. & Stenzel-Poore, M.P. 1995a, "Identification of a novel murine receptor for corticotropin-releasing hormone expressed in the heart", *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, vol. 9, no. 5, pp. 637-645.
- Stenzel, P., Kesterson, R., Yeung, W., Cone, R.D., Rittenberg, M.B. & Stenzel-Poore, M.P. 1995b, "Identification of a novel murine receptor for corticotropin-releasing hormone expressed in the heart", *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, vol. 9, no. 5, pp. 637-645.
- Stephens, A. & Ussher, M. 2006, "Smoking, cortisol and nicotine", *International Journal of Psychophysiology*, vol. 59, no. 3, pp. 228-235.
- Sternberg, E.M., Chrousos, G.P., Wilder, R.L. & Gold, P.W. 1992, "The stress response and the regulation of inflammatory disease", *Annals of Internal Medicine*, vol. 117, no. 10, pp. 854-866.
- Strickland, A.L., Underwood, L.E., Voina, S.J., French, F.S. & Van Wyk, J.J. 1972, "Growth retardation in Cushing's syndrome", *American Journal of Diseases of Children (1960)*, vol. 123, no. 3, pp. 207-213.
- Suda, T., Tomori, N., Yajima, F., Ushiyama, T., Sumitomo, T., Nakagami, Y., Demura, H. & Shizume, K. 1987, "A Short Negative Feedback Mechanism Regulating Corticotropin-Releasing Hormone Release\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 64, no. 5, pp. 909-913.
- Suda, T., Tozawa, F., Iwai, I., Sato, Y., Sumitomo, T., Nakano, Y., Yamada, M. & Demura, H. 1993, "Neuropeptide Y increases the corticotropin-releasing factor messenger ribonucleic acid level in the rat hypothalamus", *Molecular Brain Research*, vol. 18, no. 4, pp. 311-315.
- Sukkar, M., Hunter, W. & Passmore, R. 1967, "Changes in plasma levels of insulin and growth-hormone levels after a protein meal", *The Lancet*, vol. 290, no. 7524, pp. 1020-1022.
- Sumitomo, T., Suda, T., Nakano, Y., Tozawa, F., Yamada, M. & Demura, H. 1991, "Angiotensin II Increases the Corticotropin-Releasing Factor Messenger Ribonucleic Acid Level in the Rat Hypothalamus\*", *Endocrinology*, vol. 128, no. 5, pp. 2248-2252.

## Bibliografía

- Surya, S., Symons, K., Rothman, E. & Barkan, A.L. 2006, "Complex rhythmicity of growth hormone secretion in humans", *Pituitary*, vol. 9, no. 2, pp. 121-125.
- Sutton, J. & Lazarus, L. 1976, "Growth hormone in exercise: comparison of physiological and pharmacological stimuli", *Journal of applied physiology*, vol. 41, no. 4, pp. 523-527.
- Sutton, R.E., Koob, G.F., Le Moal, M., Rivier, J. & Vale, W. 1982, "Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats", .
- Swanson, L.W., Sawchenko, P.E., Rivier, J. & Vale, W.W. 1983, "Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: an immunohistochemical study", *Neuroendocrinology*, vol. 36, no. 3, pp. 165-186.
- Swanson, L., Sawchenko, P., Lind, R. & RHO, J. 1987, "The CRH motoneuron: differential peptide regulation in neurons with possible synaptic, paracrine, and endocrine outputs", *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 512, no. 1, pp. 12-23.
- Szafarczyk, A., Alonso, G., Ixart, G., Malaval, F. & Assenmacher, I. 1985, "Diurnal-stimulated and stress-induced ACTH release in rats is mediated by ventral noradrenergic bundle", *The American Journal of Physiology*, vol. 249, no. 2 Pt 1, pp. E219-26.
- Szafarczyk, A., Malaval, F., Laurent, A., Gibaud, R. & Assenmacher, I. 1987, "Further evidence for a central stimulatory action of catecholamines on adrenocorticotropin release in the rat", *Endocrinology*, vol. 121, no. 3, pp. 883-892.
- Takahashi, H., Hakamata, Y., Watanabe, Y., Kikuno, R., Miyata, T. & Numa, S. 1983, "Complete nucleotide sequence of the human corticotropin-beta-lipotropin precursor gene", *Nucleic acids research*, vol. 11, no. 19, pp. 6847-6858.
- Tamborlane, W.V., Hintz, R.L., Bergman, M., Genel, M., Felig, P. & Sherwin, R.S. 1981, "Insulin-infusion-pump treatment of diabetes: influence of improved metabolic control on plasma somatomedin levels", *New England Journal of Medicine*, vol. 305, no. 6, pp. 303-307.
- Tanaka, A. 1971, "Structure-activity relationships of synthetic adrenocorticotropic octadecapeptides with special reference to biological half-life", *Endocrinologia japonica*, vol. 18, no. 2, pp. 155-168.
- Tanna, A., Madula, R., Sandhu, H., Powrie, J., Thomas, S., Brackenridge, A., Breen, L. & Carroll, P. 2010, "Oral and transdermal oestrogen treatments have differing effects on GH sensitivity in hypopituitary women receiving GH replacement", .
- Tannenbaum, G.S. & Martin, J.B. 1976, "Evidence for an endogenous ultradian rhythm governing growth hormone secretion in the rat", *Endocrinology*, vol. 98, no. 3, pp. 562-570.
- Tannenbaum, G.S., Painson, J., Lengyel, A.M.J. & Brazeau, P. 1989, "Paradoxical Enhancement of Pituitary Growth Hormone (GH) Responsiveness to GH-Releasing

## Bibliografía

- Factor in the Face of High Somatostatin Tone\*", *Endocrinology*, vol. 124, no. 3, pp. 1380-1388.
- Tannenbaum, G.S., Epelbaum, J. & Bowers, C.Y. 2003, "Interrelationship between the novel peptide ghrelin and somatostatin/growth hormone-releasing hormone in regulation of pulsatile growth hormone secretion", *Endocrinology*, vol. 144, no. 3, pp. 967-974.
- Tatar, P. & Vigaš, M. 1984, "Role of alpha1-and alpha2-adrenergic receptors in the growth hormone and prolactin response to insulin-induced hypoglycemia in man", *Neuroendocrinology*, vol. 39, no. 3, pp. 275-280.
- Tattersall, R. & Pyke, D. 1973, "Growth in diabetic children: studies in identical twins", *The Lancet*, vol. 302, no. 7838, pp. 1105-1109.
- Taylor, A., Dunger, D., Preece, M., Holly, J.P., Smith, C., Wass, J., Patel, S. & Tate, V. 1990, "The Growth Hormone Independent Insulin-Like Growth Factor-I Binding Protein BP-28 is Associated with Serum Insulin-Like Growth Factor-I Inhibitory Bioactivity in Adolescent Insulin-Dependent Diabetics", *Clinical endocrinology*, vol. 32, no. 2, pp. 229-239.
- Taylor, B., Smith, P. & Brook, C. 1985, "Inhibition of physiological growth hormone secretion by atropine", *Clinical endocrinology*, vol. 22, no. 4, pp. 497-501.
- Taylor, T., DLUHY, R.G. & Williams, G.H. 1983, " $\beta$ -Endorphin suppresses adrenocorticotropin and cortisol levels in normal human subjects", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 57, no. 3, pp. 592-596.
- Thorner, M.O., Perryman, R.L., Cronin, M.J., Rogol, A.D., Draznin, M., Johanson, A., Vale, W., Horvath, E. & Kovacs, K. 1982, "Somatotroph hyperplasia. Successful treatment of acromegaly by removal of a pancreatic islet tumor secreting a growth hormone-releasing factor", *The Journal of clinical investigation*, vol. 70, no. 5, pp. 965-977.
- Tirabassi, G., Boscaro, M. & Arnaldi, G. 2014, "Harmful effects of functional hypercortisolism: a working hypothesis", *Endocrine*, vol. 46, no. 3, pp. 370-386.
- Tizabi, Y. & Calogero, A.E. 1992, "Effect of various neurotransmitters and neuropeptides on the release of corticotropin-releasing hormone from the rat cortex *in vitro*", *Synapse*, vol. 10, no. 4, pp. 341-348.
- Torpy, D., Grice, J., Hockings, G., Crosbie, G., Walters, M. & Jackson, R. 1995, "Effect of sodium valproate on naloxone-stimulated acth and cortisol release in humans", *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, vol. 22, no. 6-7, pp. 441-443.
- Torpy, D., Grice, J., Hockings, G., Walters, M., Crosbie, G. & Jackson, R. 1997, "Diurnal effects of fluoxetine and naloxone on the human hypothalamic-pituitary-adrenal axis", *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, vol. 24, no. 6, pp. 421-423.

## Bibliografía

- Trainer, P.J., Faria, M., Newell-Price, J., Browne, P., Kopelman, P., Coy, D.H., Besser, G.M. & Grossman, A.B. 1995, "A comparison of the effects of human and ovine corticotropin-releasing hormone on the pituitary-adrenal axis", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 80, no. 2, pp. 412-417.
- Trzeciak, W.H., Simpson, E.R., Scallen, T.J., Vahouny, G.V. & Waterman, M.R. 1987, "Studies on the synthesis of sterol carrier protein-2 in rat adrenocortical cells in monolayer culture. Regulation by ACTH and dibutyryl cyclic 3',5'-AMP", *The Journal of biological chemistry*, vol. 262, no. 8, pp. 3713-3717.
- Tsagarakis, S., Holly, J., Rees, L., Besser, G. & Grossman, A. 1988, "Acetylcholine and Norepinephrine Stimulate the Release of Corticotropin-Releasing Factor-41 from the Rat Hypothalamus *in vitro*", *Endocrinology*, vol. 123, no. 4, pp. 1962-1969.
- Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P.A., Devanarayan, V., Ravussin, E. & Heiman, M.L. 2001, "Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity", *Diabetes*, vol. 50, no. 4, pp. 707-709.
- Tsigos, C., Young, R. & White, A. 1993, "Diabetic Neuropathy is Associated with Increased Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis", *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 76, no. 3, pp. 554-558.
- Ungar, F. & Halberg, F. 1962, "Circadian rhythm in the *in vitro* response of mouse adrenal to adrenocorticotrophic hormone", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 137, no. 3535, pp. 1058-1060.
- Ur, E., Faria, M., Tsagarakis, S., Anderson, J.V., Besser, G.M. & Grossman, A. 1991, "Atrial natriuretic peptide in physiological doses does not inhibit the ACTH or cortisol response to corticotrophin-releasing hormone-41 in normal human subjects", *The Journal of endocrinology*, vol. 131, no. 1, pp. 163-167.
- Ur, E., Capstick, C., McLoughlin, L., Checkley, S., Besser, G. & Grossman, A. 1995, "Continuous administration of human corticotropin-releasing hormone in the absence of glucocorticoid feedback in man", *Neuroendocrinology*, vol. 61, no. 2, pp. 191-197.
- Uruska, A., Araszkiwicz, A., Uruski, P. & Zozulinska-Ziolkiewicz, D. 2014, "Higher risk of microvascular complications in smokers with type 1 diabetes despite intensive insulin therapy", *Microvascular research*, vol. 92, pp. 79-84.
- Vale, W., Rivier, C., Brazeau, P. & Guillemin, R. 1974, "Effects of somatostatin on the secretion of thyrotropin and prolactin", *Endocrinology*, vol. 95, no. 4, pp. 968-977.
- Vale, W., Spiess, J., Rivier, C. & Rivier, J. 1981, "Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin", *Science*, vol. 213, pp. 1394-1397.
- Vale W, Rivier C, Brown MR, et al. 1983, "Chemical and biological characterization of corticotropin releasing factor", *Science*, vol. 39, pp. 245-270.



## Bibliografía

- Vamvakopoulos, N. & Sioutopoulou, T. 1994, "Human corticotropin-releasing hormone receptor gene (CRHR) is located on the long arm of chromosome 17 (17q12—qter)", *Chromosome Research*, vol. 2, no. 6, pp. 471-473.
- Van Cauter, E., Kerkhofs, M., Caufriez, A., Van Onderbergen, A., Thorner, M.O. & Copinschi, G. 1992, "A quantitative estimation of growth hormone secretion in normal man: reproducibility and relation to sleep and time of day", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 74, no. 6, pp. 1441-1450.
- Van den Berg, G., Veldhuis, J.D., Frolich, M. & Roelfsema, F. 1996, "An amplitude-specific divergence in the pulsatile mode of growth hormone (GH) secretion underlies the gender difference in mean GH concentrations in men and premenopausal women", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 81, no. 7, pp. 2460-2467.
- Van Dijk, G., Donahey, J.C., Thiele, T.E., Scheurink, A.J., Steffens, A.B., Wilkinson, C.W., Tenenbaum, R., Campfield, L.A., Burn, P., Seeley, R.J. & Woods, S.C. 1997, "Central leptin stimulates corticosterone secretion at the onset of the dark phase", *Diabetes*, vol. 46, no. 11, pp. 1911-1914.
- Van Oers, J.W., Tilders, F.J. & Berkenbosch, F. 1989, "Characterization and biological activity of a rat monoclonal antibody to rat/human corticotropin-releasing factor", *Endocrinology*, vol. 124, no. 3, pp. 1239-1246.
- Vance, M.L., Borges, J.L., Kaiser, D.L., Evans, W.S., Furlanetto, R., Thominet, J.L., Frohman, L.A., Rogol, A.D., Macleod, R.M. & Bloom, S. 1984, "Human Pancreatic Tumor Growth Hormone-Releasing Factor: Dose-Response Relationships in Normal Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 58, no. 5, pp. 838-844.
- Vance, M.L., Kaiser, D.L., Martha JR, P.M., Furlanetto, R., Rivier, J., Vale, W. & Thorner, M.O. 1989, "Lack of *in vivo* Somatotroph Desensitization or Depletion After 14 Days of Continuous Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone Administration in Normal Men and a GH-Deficient Boy\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 68, no. 1, pp. 22-28.
- Vanderhaeghen, J., Signeau, J. & Gepts, W. 1975, "New peptide in the vertebrate CNS reacting with antigastrin antibodies", .
- Vanderhaeghen, J.J., Lotstra, F., De Mey, J. & Gilles, C. 1980, "Immunohistochemical localization of cholecystokinin- and gastrin-like peptides in the brain and hypophysis of the rat", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 77, no. 2, pp. 1190-1194.
- Vanderhaeghen, J., Lotstra, F., Vandesande, F. & Dierickx, K. 1981, "Coexistence of cholecystokinin and oxytocin-neurophysin in some magnocellular hypothalamo-hypophyseal neurons", *Cell and tissue research*, vol. 221, no. 1, pp. 227-231.
- Vanhelder, W., Goode, R. & Radomski, M. 1984, "Effect of anaerobic and aerobic exercise of equal duration and work expenditure on plasma growth hormone levels", *European journal of applied physiology and occupational physiology*, vol. 52, no. 3, pp. 255-257.

## Bibliografía

- Veldhuis, J.D., Iranmanesh, A., Johnson, M.L. & Lizarralde, G. 1990, "Amplitude, but not Frequency, Modulation of Adrenocorticotropin Secretory Bursts Gives Rise to the Nyctohemeral Rhythm of the Corticotropic Axis in Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 71, no. 2, pp. 452-463.
- Veldhuis, J.D., Iranmanesh, A., Ho, K.K., Waters, M.J., Johnson, M.L. & Lizarralde, G. 1991, "Dual Defects in Pulsatile Growth Hormone Secretion and Clearance Subserve the Hyposomatotropism of Obesity in Man\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 72, no. 1, pp. 51-59.
- Veldhuis, J.D., Roemmich, J.N., Richmond, E.J. & Bowers, C.Y. 2006, "Somatotropic and gonadotropic axes linkages in infancy, childhood, and the puberty-adult transition", *Endocrine reviews*, vol. 27, no. 2, pp. 101-140.
- Vgontzas, A.N., Bixler, E.O., Lin, H., Prolo, P., Mastorakos, G., Vela-Bueno, A., Kales, A. & Chrousos, G.P. 2001a, "Chronic insomnia is associated with nyctohemeral activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: clinical implications", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 86, no. 8, pp. 3787-3794.
- Vgontzas, A.N., Bixler, E.O., Wittman, A.M., Zachman, K., Lin, H., Vela-Bueno, A., Kales, A. & Chrousos, G.P. 2001b, "Middle-aged men show higher sensitivity of sleep to the arousing effects of corticotropin-releasing hormone than young men: clinical implications", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 86, no. 4, pp. 1489-1495.
- Vigaš, M., Malatinský, J., Németh, S. & Jurčovičová, J. 1977, "Alpha-adrenergic control of growth hormone release during surgical stress in man", *Metabolism*, vol. 26, no. 4, pp. 399-402.
- Vijayakumar, A., Novosyadlyy, R., Wu, Y., Yakar, S. & LeRoith, D. 2010, "Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism", *Growth Hormone & IGF Research*, vol. 20, no. 1, pp. 1-7.
- Walker, S., Strachan, M., Lightly, E., Williams, B. & Bird, I. 1990, "Acetylcholine stimulates cortisol secretion through the M3 muscarinic receptor linked to a polyphosphoinositide-specific phospholipase C in bovine adrenal fasciculata/reticularis cells", *Molecular and cellular endocrinology*, vol. 72, no. 3, pp. 227-238.
- Walsh, J. 1994, "Gastrin Walsh J. Dockray G. eds.. Gut Peptides: 75-121", .
- Watabe, T., Tanaka, K., Kumagae, M., Itoh, S., Hasegawa, M., Horiuchi, T., Miyabe, S., Ohno, H. & Shimizu, N. 1987, "Diurnal rhythm of plasma immunoreactive corticotropin-releasing factor in normal subjects", *Life Sciences*, vol. 40, no. 17, pp. 1651-1655.
- Watanabe, T. & Orth, D.N. 1987, "Detailed Kinetic Analysis of Adrenocorticotropin Secretion by Dispersed Rat Anterior Pituitary Cells in a Microperfusion System: Effects of Ovine Corticotropin-Releasing Factor and Arginine Vasopressin\*", *Endocrinology*, vol. 121, no. 3, pp. 1133-1145.

## Bibliografía

- Wehrenberg, W.B., Wiviott, S.D., Voltz, D.M. & Giustina, A. 1992, "Pyridostigmine-mediated growth hormone release: evidence for somatostatin involvement", *Endocrinology*, vol. 130, no. 3, pp. 1445-1450.
- Weidenfeld, J., Bodoff, M., Saphier, D. & Brenner, T. 1989, "Further studies on the stimulatory action of nicotine on adrenocortical function in the rat", *Neuroendocrinology*, vol. 50, no. 2, pp. 132-138.
- Weinberger, C., Hollenberg, S.M., Rosenfeld, M.G. & Evans, R.M. 1985, "Domain structure of human glucocorticoid receptor and its relationship to the v-erb-A oncogene product", .
- Weiner, R.I. & Ganong, W.F. 1978, "Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion", *Physiological Reviews*, vol. 58, no. 4, pp. 905-976.
- Werner, H., Weinstein, D. & Bentov, I. 2008, "Similarities and differences between insulin and IGF-I: structures, receptors, and signalling pathways", *Archives of Physiology and Biochemistry*, vol. 114, no. 1, pp. 17-22.
- White, A., Smith, H., Hoadley, M., Dobson, S. & Ratcliffe, J. 1987, "CLINICAL EVALUATION OF A TWO-SITE IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR ADRENOCORTICOTROPIC IN UNEXTRACTED HUMAN PLASMA USING MONOCLONAL ANTIBODIES", *Clinical endocrinology*, vol. 26, no. 1, pp. 41-52.
- Williams, R.M., Yuen, K., White, D., Mallard, B., Dalton, R.N., Acerini, C.L. & Dunger, D.B. 2006, "Short-term suppression of elevated growth hormone concentrations following insulin-like growth factor 1 administration in young adults with type 1 diabetes does not alter glomerular filtration or albumin excretion rates", *Clinical endocrinology*, vol. 65, no. 4, pp. 439-445.
- Windle, R., Shanks, N., Lightman, S.L. & Ingram, C.D. 1997, "Central oxytocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats 1", *Endocrinology*, vol. 138, no. 7, pp. 2829-2834.
- Woods, R.J., Grossman, A., Saphier, P., Kennedy, K., Ur, E., Behan, D., Potter, E., Vale, W. & Lowry, P.J. 1994, "Association of human corticotropin-releasing hormone to its binding protein in blood may trigger clearance of the complex", *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, vol. 78, no. 1, pp. 73-76.
- Würzburger, M., Prelevic, G., Sönksen, P., Peric, L., Till, S. & Morris, R. 1990, "The effects of improved blood glucose on growth hormone and cortisol secretion in insulin-dependent diabetes mellitus", *Clinical endocrinology*, vol. 32, no. 6, pp. 787-797.
- Wynn, P.C., Harwood, J.P., Catt, K.J. & Aguilera, G. 1985, "Regulation of corticotropin-releasing factor (CRF) receptors in the rat pituitary gland: effects of adrenalectomy on CRF receptors and corticotroph responses", *Endocrinology*, vol. 116, no. 4, pp. 1653-1659.
- Xu, J., Hennebold, J.D. & Stouffer, R.L. 2006, "Dynamic expression and regulation of the corticotropin-releasing hormone/urocortin-receptor-binding protein system in the

## Bibliografía

- primate ovary during the menstrual cycle", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 91, no. 4, pp. 1544-1553.
- Yamamoto, D., Ikeshita, N., Daito, R., Herningtyas, E.H., Toda, K., Takahashi, K., Iida, K., Takahashi, Y., Kaji, H. & Chihara, K. 2007, "Neither intravenous nor intracerebroventricular administration of obestatin affects the secretion of GH, PRL, TSH and ACTH in rats", *Regulatory peptides*, vol. 138, no. 2, pp. 141-144.
- Yamase, K., Takahashi, S., Nomura, K., Haruta, K. & Kawashima, S. 1991, "Circadian changes in arginine vasopressin level in the suprachiasmatic nuclei in the rat", *Neuroscience letters*, vol. 130, no. 2, pp. 255-258.
- Yasin, S., Costa, A., Trainer, P., Windle, R., Forsling, M.L. & Grossman, A. 1993, "Nitric oxide modulates the release of vasopressin from rat hypothalamic explants", *Endocrinology*, vol. 133, no. 3, pp. 1466-1469.
- Yeh, J. & Barbieri, R.L. 1989, "Twenty-four-hour urinary-free cortisol in premenopausal cigarette smokers and nonsmokers", *Fertility and sterility*, vol. 52, no. 6, pp. 1067-1069.
- Yildiz, B.O., Suchard, M.A., Wong, M.L., McCann, S.M. & Licinio, J. 2004, "Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 28, pp. 10434-10439.
- Zadik, Z., Chalew, A., McCarter Jr, R.J., Meistas, M. & Kowarski, A.A. 1985, "The Influence of Age on the 24-Hour Integrated Concentration of Growth Hormone in Normal Individuals\*", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 60, no. 3, pp. 513-516.
- Zaher, C., Halbert, R., Dubois, R., George, D. & Nonikov, D. 2004, "Smoking-related diseases: the importance of COPD", *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, vol. 8, no. 12, pp. 1423-1428.
- Zapf, J. 1998, "Growth promotion by insulin-like growth factor I in hypophysectomized and diabetic rats", *Molecular and cellular endocrinology*, vol. 140, no. 1, pp. 143-149.
- Zhang, J.V., Ren, P.G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C.W., Rauch, R., Klein, C. & Hsueh, A.J. 2005, "Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 310, no. 5750, pp. 996-999.
- Zhou, J. & Cidlowski, J.A. 2005, "The human glucocorticoid receptor: one gene, multiple proteins and diverse responses", *Steroids*, vol. 70, no. 5, pp. 407-417.
- Zoumakis, E. & Chrousos, G.P. 2010, "Corticotropin-releasing hormone receptor antagonists: an update", *Endocrine development*, vol. 17, pp. 36-43.