

12



UNIVERSIDADE  
DA CORUÑA

Estudio de la respuesta de la  
hormona del crecimiento a diversos  
estímulos adrenérgicos en una  
población de edad media-alta.

José Carlos Millán Calenti



UNIVERSIDADE  
DA CORUÑA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS  
DE LA SALUD I**

13

**Estudio de la respuesta de la  
hormona del crecimiento a diversos  
estímulos adrenérgicos en una población  
de edad media-alta**

**José Carlos Millán Calenti  
La Coruña, 1996**



DEPARTAMENTO  
DE  
CIENCIAS  
DE LA SALUD I

La Coruña, Septiembre de 1996

**D. Jorge Teijeiro Vidal, Doctor en Medicina y Cirugía y Catedrático de Universidad de Radiología y Medicina Física de la Universidad de La Coruña,**

**CERTIFICO:**

Que la presente tesis doctoral titulada "*Estudio de la respuesta de la hormona del crecimiento a diversos estímulos adrenérgicos en una población de edad media-alta*", que para optar al grado de doctor en Medicina y Cirugía, presenta el graduado en Medicina y Cirugía, D. José C. Millán Calenti, ha sido realizada bajo mi dirección , y que estando concluida, reúne los requisitos para la obtención del Grado de Doctor, por lo que autorizo su presentación a fin de que pueda ser juzgada, en la Universidad de La Coruña, por el tribunal seleccionado al efecto.



Fdo. Dr. Jorge Teijeiro Vidal

**A mis padres que siempre confiaron en mí,  
y a mi esposa e hijo,  
por permitirme robarles tiempo para  
dedicarme a la investigación.**

# **Agradecimientos**

## Agradecimientos

---

Desde estas páginas, deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido con su asesoramiento en la realización de esta tesis.

Al Prof. Dr. *Jorge Teijeiro Vidal*, Catedrático de Radiología y Medicina Física de la Universidad de La Coruña por su incondicional apoyo en la Dirección del presente trabajo de investigación..

Al Prof. Dr. *Jesús Devesa Mujica*, Catedrático de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela, por su inestimable colaboración y asesoramiento en cuantas dudas me han surgido sobre la hormona de crecimiento.

Al Prof. Dr. *Victor M. Arce Vázquez*, Profesor Titular de Fisiología de la Facultad de Medicina de Santiago de Compostela, por su apoyo desinteresado en la discusión de la Tesis.

A las Aulas de la Tercera Edad, especialmente a su director *Padre Gómez*, a su coordinadora *María Montaña*, y a todos aquellos alumnos que han intervenido en la realización de este trabajo, sin cuya colaboración hubiera sido imposible el concluirlo.

Al Prof. Dr. *José M. Mayán Santos*, por su apoyo constante y la facilitación de medios informáticos para la elaboración de este trabajo.

A *Carlos Fernández Sánchez*, por su inestimable colaboración en el tratamiento informático de los datos reflejados en esta tesis.

Y a toda aquellas personas que de una manera u otra han hecho posible el llegar a la conclusión de esta investigación.

Gracias, a todos.

# Índice

<b>1.-Introducción</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Hormona del crecimiento</b>	<b>6</b>
1.1.1. Características	5
1.1.2. Acciones biológicas	7
1.1.3. Efectos sobre el crecimiento óseo	9
1.1.4. Somatomedinas	10
1.1.5. Control de la secreción	12
1.1.6. Anomalías en su secreción	15
1.1.7. Métodos para su determinación en sangre	16
<b>1.2. Farmacología del Sistema Nervioso Autónomo</b>	<b>19</b>
1.2.1. Introducción	20
1.2.2. Transmisión colinérgica	22
1.2.3. Transmisión adrenérgica	24
1.2.4. Agonistas simpáticos	27
1.2.5. Antagonistas simpáticos	29
1.2.6. Otros fármacos con acción sobre los receptores adrenérgicos o los ganglios vegetativos	31
<b>1.3. Regulación autónoma de la secreción de la hormona del crecimiento</b>	<b>33</b>
<b>2. Justificación y Objetivos</b>	<b>36</b>

---

---

<b>3. Material y Métodos</b>	<b>42</b>
<b>3.1. Planteamiento metodológico</b>	<b>43</b>
3.1.1. Registro de datos	43
3.1.2. 1ª Fase experimental	46
3.1.3. 2ª Fase experimental	48
<b>3.2. Criterios de inclusión de los pacientes</b>	<b>49</b>
<b>3.3. Sujetos de la muestra</b>	<b>50</b>
<b>3.4. Obtención de las muestras de sangre</b>	<b>50</b>
<b>3.5. Estudio estadístico de los datos obtenidos</b>	<b>51</b>
<b>4. Resultados y Discusión</b>	<b>54</b>
<b>4.1. Resultados</b>	<b>55</b>
4.1.1. Estadística descriptiva de las variables de la 1ª fase	55
4.1.2. Estadística analítica de los resultados de la 1ª fase	67
4.1.3. Estadística descriptiva de las variables de la 2ª fase	69
4.1.4. Estadística analítica de los resultados de la 2ª fase	82
4.1.5. Resultados conjuntos de ambas fases experimentales	85
<b>4.2. Discusión</b>	<b>88</b>
<b>5. Conclusiones</b>	<b>97</b>
<b>6. Bibliografía</b>	<b>99</b>

<b>7. Glosario</b>	<b>109</b>
<b>8. Anexos</b>	<b>117</b>
<b>Anexo I. Lista de Figuras</b>	<b>118</b>
<b>Anexo II. Lista de Tablas</b>	<b>120</b>

# **1. Introducción**

## 1.1.HORMONA DEL CRECIMIENTO.-

### 1.1.1.Características.-

Li y Evans<sup>1</sup>, en 1921, descubren la presencia de actividad estimulante del crecimiento en extractos del lóbulo anterior de hipófisis bovinas, no aislándose el compuesto responsable de dicha actividad hasta el año 1944<sup>1,2</sup>, continuando los progresos en la investigación sobre la hormona del crecimiento (GH) hasta nuestros días, en donde todavía existen muchas lagunas sobre algunos fenómenos, referidos principalmente a su mecanismo de síntesis y liberación.

La primera hormona del crecimiento terapéuticamente útil se aísla en 1958, a partir de hipófisis de cadáveres humanos, los cuales contienen en su glándula hipofisaria de 5 a 10 mg de hormona del crecimiento, comprobándose posteriormente que un determinado grupo de los individuos que la habían recibido desarrollaron el actualmente de moda síndrome de **Creutzfeld-Jakob**, posiblemente por su contaminación

por virus de reacción lenta, por lo que se dejó de utilizar.

De una manera artificial, en 1979, se consigue obtener la GH, utilizando técnicas de ingeniería genética y denominándose al compuesto obtenido como **met-GH**, péptido de 192 aminoácidos, de los cuales los 191 primeros son idénticos a los de la hormona del crecimiento humana (hGH), y que lleva un grupo *metionil*; no siendo hasta 1985 en que se consigue la réplica exacta de la hGH a partir de la *scherichia colli*, compuesta ya por 191 aminoácidos, y es en 1988 el año en que se obtiene a partir de células de mamíferos.

La **hormona del crecimiento** (GH), denominada también *hormona somatotrópica* (SH) o *somatotropina*, es un polipéptido sintetizado por las **células somatotropas** de la anterohipófisis, de ahí su nombre, localizadas preferentemente en las zonas laterales anterohipofisarias, donde representan entre el 30 y el 40% de la población celular, dichas células, debido a que se tiñen de manera intensa con colorantes ácidos se denominan también **eosinófilas**.

La hormona del crecimiento, esta

formada por 191 aminoácidos dispuestos en una sola cadena en la que existen dos puentes disulfuro que unen las cistinas de las posiciones 53 con la situada en la posición 165 y la situada en la posición 182 con la que se localiza en la posición 189, residiendo su gen precursor en el cromosoma 17.

Con un peso molecular de 22.650 daltons, esta variante es la más abundante en el organismo humano, conociéndose como forma 22K, en relación a su peso molecular, habiéndose identificado en los últimos años algunas variantes cuya significación fisiológica todavía permanece desconocida como son la forma 20K, que representa aproximadamente el 20% de la hormona del crecimiento formada en la hipófisis y en la que su peso molecular es menor por no contener los aminoácidos situados en las posiciones 32 a 46 (**fig. 1**). Existen otras formas de GH, las N-aciladas, las desaminadas o las oligoméricas cuya significación fisiológica y clínica es desconocida.

Su tasa de secreción diaria es de aproximadamente 1 a 2 mg, circulando en el plasma ligada a dos proteínas transportadoras, conociéndose a

estos complejos como formas “*big GH* y *big-big GH*”.

Una vez secretada, su vida media es muy pequeña, aproximadamente de 25 minutos, siendo sus valores en plasma tan bajos, que salvo que sea estimulada, permanecen casi siempre indetectables, a menos que se recojan a primera hora de la mañana, según el ritmo ultradiano de su secreción.

Los receptores para la GH de la especie humana no responden a la GH de otras especies, ya que sus receptores son especie-específicos.

### 1.1.2. Acciones biológicas.-

La GH, a diferencia de las otras hormonas secretadas por la adenohipófisis que ejercen sus funciones ante los órganos diana, ejerce sus acciones en todos o casi todos los tejidos de la economía; así, estimula el crecimiento en todos los tejidos del organismo capaces de crecer, favorece el aumento del tamaño celular, estimula la mitosis favoreciendo la proliferación e induce la diferenciación específica de ciertos tipos celulares, como las células de crecimiento óseo y las células musculares, siendo sus principales efec-

tos en el organismo, los siguientes:

b) **Sobre el metabolismo proteico.**

c) **Sobre el metabolismo lipídico.**

d) **Sobre el metabolismo hidrocarbonado.**

a) **En cuanto al metabolismo proteico**, la hormona del crecimiento estimula el transporte de aminoácidos, a través de las membranas celulares, hacia el interior de las células,

favoreciendo la síntesis de proteínas a partir de la activación de los ribosomas y por la estimulación de la transcripción de ADN, que a su vez favorece la formación de ARN precursor de proteínas. A la vez disminuye la degradación de las proteínas celulares, sobre todo a nivel del hígado y del músculo, aunque este efecto se observa a nivel general, esto es, en hueso, cartílago, corazón, pulmón, etc., por la

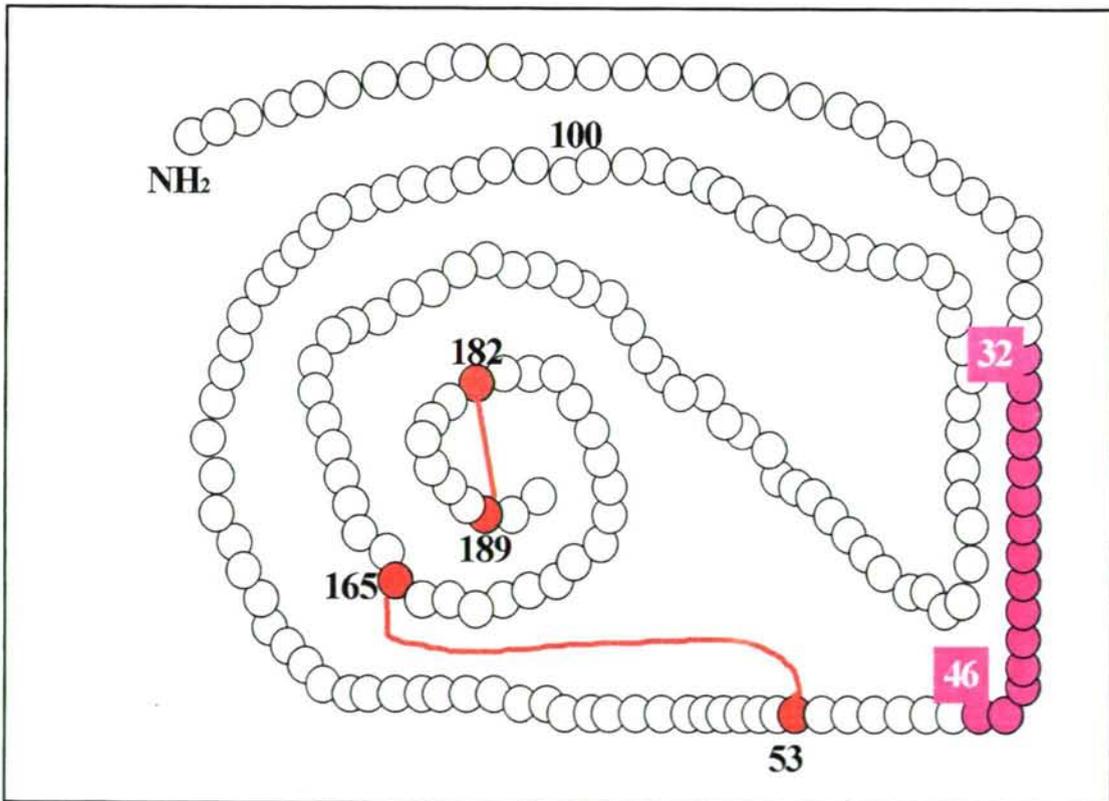


Figura 1. Representación esquemática de la hormona del crecimiento (formas 22 y 20K).

movilización de los ácidos grasos libres desde el tejido adiposo para la obtención de energía.

Esta formación de nuevas proteínas es el fenómeno clave para el crecimiento, tanto somático como visceral, el primero generado a expensas del crecimiento óseo, dependiente del sistema *GH-Somatomedinas*, aunque otras hormonas también intervienen en este proceso como son las tiroideas y los esteroides sexuales.

**b) Sus acciones de tipo lipolítico** pueden ser comprobadas al administrarla a animales hipofisectomizados o a niños con carencia de ella, produciendo entonces una disminución de la glucemia y de los ácidos grasos libres en plasma, por incremento de la *somatomedina C*.

Su administración crónica a animales hipofisectomizados, genera un aumento de las concentraciones basales de glucosa en plasma, por su efecto antiinsulínico inducido a través del antagonismo periférico de la GH sobre la insulina y puesto de manifiesto por un hiperinsulinismo compensatorio inicial, tras el cual el progresivo agotamiento de las células beta pancreáticas conduciría a la alteración crónica.

La GH también interviene en el

metabolismo lipídico a partir de incrementar los niveles de triglicéridos en sangre, disminuyendo los del colesterol para su utilización en la formación de compuestos proteicos, siendo otras acciones referidas a ella, la intervención en la capacidad de respuesta inmunitaria.

**c) Con respecto al efecto de la hormona del crecimiento sobre el metabolismo hidrocarbonado**, se han observado como efectos fundamentales la disminución en la utilización de la glucosa como fuente de energía, el aumento de los depósitos celulares de glucógeno, la disminución en la captación de glucosa por las células y por último el aumento de la secreción de insulina, con disminución de la sensibilidad a la misma.

### 1.1.3. Efectos sobre el crecimiento óseo.-

Durante la etapa del desarrollo del individuo, el crecimiento del hueso se verifica en dos direcciones; a lo largo, más propio de los huesos largos a partir del cartílago epifisario, hasta que se sueldan las epífisis por el efecto del incremento de los niveles circulantes de *esteroides sexuales*, hecho que aparece tras la pubertad, bloqueándose la

proliferación del cartílago; y a lo ancho, referido al espesor del hueso y generado a partir de los osteoblastos del perióstio, y que puede prolongarse a lo largo de toda la vida.

El cartílago de crecimiento es una zona de gran multiplicación de condrocitos, sintetizadores de proteoglicanos, responsables a su vez de la estructuración de la trama ósea.

Una de las principales acciones de la hormona del crecimiento es incrementar el **anabolismo proteico**, generando un crecimiento de todos los tejidos orgánicos, pero sus efectos más evidentes tienen lugar a nivel del **crecimiento del hueso**, ya que a este nivel la GH aumenta el depósito de proteínas en los *condrocitos* y *células osteogénicas*, aumentando la velocidad de multiplicación de estas células y convirtiendo a los condrocitos en células osteogénicas, generadoras de hueso nuevo.

Se sabe que in vivo, la GH incrementa la incorporación de  $SO_4$  a los proteoglicanos, así como la incorporación de timidina en el

DNA condrocítico y la conversión de prolina en hidroxiprolina en el colágeno, efectos que no se observan in vitro, por lo que se pensó en la existencia de algún factor que en el organismo mediara esta acción, identificándose posteriormente a las **somatomedinas**, sintetizadas en el tejido hepático.

#### 1.1.4. Somatomedinas.-

**Salmon y Daughaday**, en 1957, estudiando las acciones de la GH, observaron que éstas no se producían in vitro, por lo que pensaron en la existencia de algún tipo de mediador; postulando entonces la existencia de un factor plasmático, diferente de la GH, y cuya función básica sería estimular la incorporación de sulfatos a los proteoglicanos del cartílago, por lo que fue denominado *factor de sulfatación* y más tarde al intervenir en otras acciones, como el crecimiento somático, pasaron a denominarse **somatomedinas**.

Hoy se sabe que las somatomedinas, son péptidos similares a la insulina en su estructura, de ahí que se propusiera el nombre de "*Insulin like Growth Factor*" (**IGF I y II**) para denominarlas, aislándose posterior-

mente otras dos, siendo la más importante por sus acciones e intensidad generada la **IGF-I** o **somatomedina C**.

Estructuralmente, el IGF-I o somatomedina C es un péptido compuesto por 70 aminoácidos, con un peso molecular de 7.469 daltons, mientras que el **IGF-II** o **somatomedina A**, esta compuesta por 67 aminoácidos.

Sintetizadas en diferentes lugares del organismo, el hígado parece ser su principal órgano productor, circulando en el plasma el 1% en forma libre y el 99% ligada a proteínas transportadoras, la **SMBP** o *somatomedin binding protein*, de 150 K, dependiente de la GH y transportadora del 80% de la somatomedina plasmática y la SMBP de 35 K, independiente de la hormona y que transporta un 19% del total de somatomedinas plasmáticas y que parece que acompaña la liberación de IGF de células y órganos. Habiéndose comprobado que esta unión a proteínas transportadoras tiene la importante función de incrementar su vida media, ya que pasa de los 10-20 minutos de vida media de la somatomedina libre a las 18 horas de vida media de

la ligada a la SMBP (150 K).

A nivel celular se distinguen dos tipos de receptores para las somatomedinas (receptores IGF), el **tipo I**, con gran afinidad para IGF-I, media para IGF-II y poca para la insulina y el **tipo II**, con mayor afinidad para IGF-II, y ninguna para la insulina.

La GH estimula la producción de IGF-I por los diferentes tejidos, de acuerdo con un circuito feed-back, así la elevación de IGF-I determina la inhibición de la liberación de GH, por estímulo de secreción de la **somatostatina** hipotalámica. También la síntesis de IGF-I depende del estado nutricional del organismo, ya que en estados de desnutrición, aunque sea normal la secreción de GH, los niveles plasmáticos de IGF-I disminuyen por falta de aminoácidos necesarios para llevar a cabo su síntesis, principalmente hepática.

Entre las funciones de la IGF-I debemos distinguir las semejantes a las producidas por la insulina o *insulinógenas*, siendo en este sentido un factor disminuidor de la glucemia y las debidas a sus efectos *a largo plazo*, en los que incluimos el actuar como un potente factor de diferenciación

celular, estimulando la síntesis de DNA y la proliferación de diversas células como los fibroblastos, los condrocitos, las células musculares lisas, las células de Sertoli y las células de la granulosa ovárica. Además su administración incrementa la velocidad de crecimiento, el espesor de la epífisis tibial y la incorporación de timidina y sulfato al cartílago.

#### 1.1.5. Control de la secreción .-

Hasta hace poco se pensaba que la hormona del crecimiento se secretaba principalmente durante el periodo de crecimiento longitudinal, sabiéndose actualmente que su secreción se lleva a cabo durante toda la vida, aunque tras la adolescencia se produce un descenso en su secreción en un 25% aproximadamente entre el nivel que alcanza en la adolescencia y el nivel medio en las personas ancianas, variando su secreción a lo largo del día en relación a un ritmo ultradiano (**fig. 2**) de secreción espontánea, con episodios de liberación brusca, de 4 a 8 veces por 24 horas, siendo el máximo el que se produce durante las primeras horas del sueño de ondas lentas, produciéndose también liberación de la hor-

mona en relación a diferentes factores externos como son el ejercicio, estados de hiperexcitación, la ingesta rica en proteínas y carbohidratos, el ayuno y los traumatismos entre otros.

La concentración normal de hormona del crecimiento varía de acuerdo a la edad, en relación a la fase del crecimiento en que se encuentra el individuo, siendo máxima durante la pubertad, donde alcanza unos valores medios de aproximadamente 6 ng/ml, disminuyendo en la edad adulta, donde se sitúa alrededor de 1,5 a 3 nanogramos por mililitro, y bajando sus niveles por encima de los 40 años a unas cifras de alrededor de 1,6 ng/ml, cifras que se mantienen constantes hasta la edad avanzada, no estableciéndose diferencias por razón de sexo.

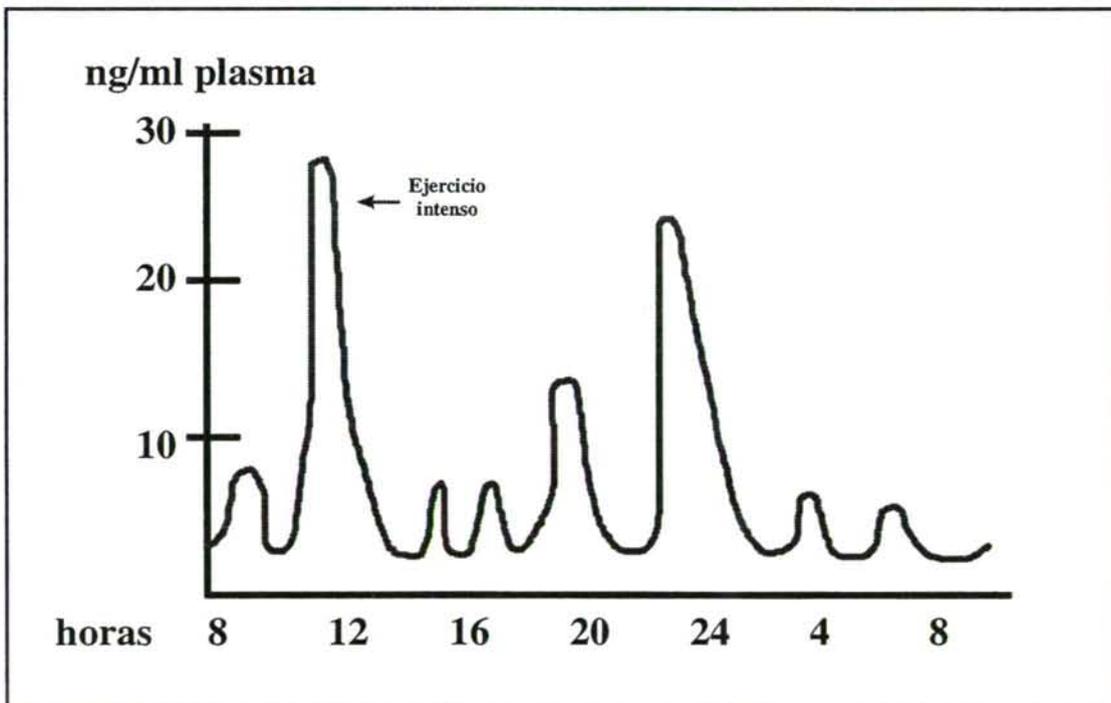
Los principales factores implicados en la secreción de la hormona del crecimiento humana (**fig. 3**) son la *hormona liberadora de la hormona de crecimiento* (**GHRH**) o *somatocrina* y la *hormona inhibidora de la hormona del crecimiento* (**GHIH o GRIH**) o *somatostatina* (**SS**), de origen hipotalámico, son liberadas de forma pulsátil, presentando una acción dominantes la SS

sobre la GHRH .

En la regulación de la secreción de la hormona del crecimiento, están implicados varios sistemas, por un lado el colinérgico y el alfa<sub>2</sub>-adrenérgico que actúan por **inhibición de la liberación de la somatostatina** y el dopaminérgico y el serotoninérgico que lo hacen por la **activación de la noradrenalina**, generando los cuatro, un incremento de la liberación de la hormona, además, existen otros mecanismos reguladores de retroalimentación por

la propia hormona del crecimiento y por parte de las somatomedinas, que ejerzan un efecto inhibitorio.

La GHRH se sintetiza principalmente en el **hipotálamo mediobasal**, concretamente en los núcleos arcuato y ventromedial, de donde pasa a la eminencia media hipotalámica, llegando a la hipófisis a través del plexo vascular primario del eje hipotálamo-hipofisario, donde estimula la liberación de GH, así como la transcripción del gen de dicha hormona y los procesos de



*Figura 2. Ritmo ultradiano de liberación de la hormona de crecimiento a lo largo del día*

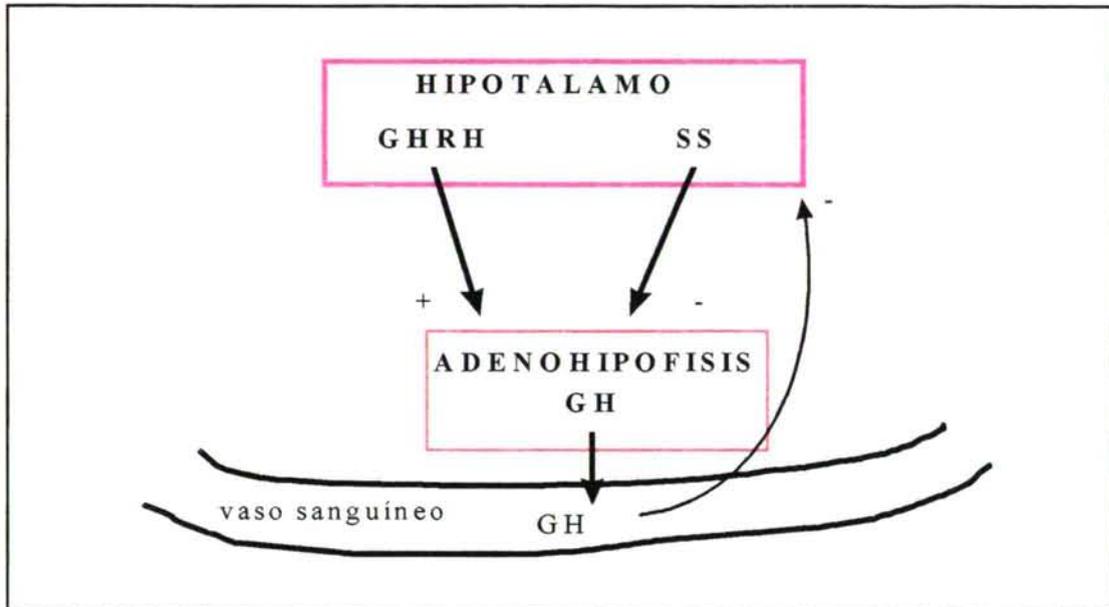


Figura 3. Eje hipotálamo-hipofisario en el control de la secreción de la GH

diferenciación de las somatotropas primarias.

Tras ligarse a un receptor de membrana en las células somatotropas mediante el estímulo del AMPc, se activan las proteincinasas I y II, inductoras de la fosforilación de substratos proteicos que actúan como mediadores intracelulares. Por otra parte el GHRH produce una rápida activación del calcio, mediada por la calmodulina.

Químicamente, la **GHRH o somatotrina**, es un péptido perteneciente a la familia del glucagón-secretina que en el hipotálamo humano se pre-

senta en dos formas moleculares, una de 40 aminoácidos y otra de 44, con similar actividad biológica y sintetizados a partir de dos precursores, **prepro-GHRH**, compuestos por 107 o 108 aminoácidos, residiendo su actividad biológica a nivel de sus 29 primeros aminoácidos, ya sintetizados sintéticamente para su uso clínico.

Su secreción en el ser humano es de carácter pulsátil, con un intervalo de 60 a 120 minutos, tras su administración i.v., aparecen los niveles máximos de GH a los 15-30 minutos, aunque dependientes de los niveles paralelos de somatostatina, cuya se-

creción también es pulsátil

Su principal utilidad, desde el punto de vista fisiológico, es comprobar la existencia de células somatotrofas hipofisarias con capacidad de respuesta por un lado y por otro para estimular la capacidad de liberación hipofisaria de GH. Pudiéndose utilizar según diversas vías de administración, subcutánea, intranasal e intravenosa, generalmente a dosis comprendidas entre 4-16 microgramos/ kilogramo/ día con fines terapéuticos.

La **hormona inhibidora de la hormona del crecimiento (GHIH) o somatostatina (SS)**, fue aislada a finales de los años 60 de extractos hipotalámicos, siendo su acción principal inhibir la liberación de la GH, denominándose también **GH-RIH** ("*Growth Hormone Release Inhibiting Hormone*"), teniendo además acciones de inhibición sobre otra serie de productos orgánicos como la TSH (hormona estimuladora del tiroides), insulina, glucagón, renina, CLH gástrico, alfa-amilasa, etc.

Químicamente se presenta bajo dos formas moleculares, una de 14 aminoácidos (SS-14) y otra de 28

(SS-28), derivadas del mismo precursor, la *preprosomatostatina*, sintetizada en el retículo endoplásmico y que se transforma en *prosomatostatina* en el sistema de Golgi, para posteriormente en los gránulos de secreción escindirse generando sus formas activas.

La somatostatina, tras unirse con los receptores específicos de membrana, inhibe la liberación hipofisaria de GH, no conociéndose el mecanismo exacto, pero postulándose que sea o bien por inhibición de los movimientos de calcio, o bien por incremento de la permeabilidad al ión  $K^+$  o por último a través de la inhibición del sistema adenil-ciclasa vía proteínas  $G_i$ .

También la somatostatina inhibe el efecto trófico de GHRH sobre las somatotropas, no siendo capaz, de bloquear totalmente el aumento de proliferación celular estimulado por este péptido.

#### **1.1.6.- Anomalías en su secreción.-**

El déficit congénito de producción de hormona del crecimiento va a generar un cuadro denominado *enanismo*, caracterizado por una dis-

minución del desarrollo orgánico, denominándose *gigantismo* al cuadro en el que la hormona del crecimiento se encuentra aumentada en plasma, generando un rápido crecimiento de los tejidos orgánicos cuando el tumor acidófilo, principal causa de producción, es antes de la adolescencia, o una afección denominada *acromegalia*, cuando lo es después.

### 1.1.7. Métodos para su determinación en sangre.-

Con la puesta en marcha de la técnica denominada **radioinmunoensayo (RIA)** se ha aumentado la sensibilidad y especificidad para la cuantificación exacta de una gran variedad de compuestos biológicos como las hormonas, las vitaminas y los fármacos presentes en los líquidos y tejidos biológicos en cantidades muy pequeñas, como son los nanogramos por mililitro (ng/ml) o incluso los picogramos por mililitro (pg/ml).

En los años 50, **Yalow y Berson**<sup>3</sup> trabajando con insulina marcada con <sup>131</sup>I, observaron la presencia de anticuerpos (Ac) fijadores de la insulina inyectada, en pacientes afectos de diabetes mellitus, consiguiendo más tarde producir en animales de experimentación anticuer-

pos frente a la insulina, viendo además que la insulina no marcada, desplazaba a la marcada radiactivamente del anticuerpo de la insulina in vitro.

Además, cuando se mantenía fija la concentración del Ac, la fijación del marcador era una función cuantitativa de la cantidad de insulina no marcada presente (**fig. 4**).

Más tarde, **Rosalyn Yalow**<sup>4</sup>, premio nobel de medicina en 1977, desarrolló la técnica como método preferente de utilización en la detección de hormonas, ya que es capaz de detectar pequeñas cantidades de las mismas en plasma.

El RIA se basa en cuatro elementos, cuya descripción esquemática y pasos a seguir podemos observar en la **figura 5**.

1. Un **anticuerpo**, dirigido contra la hormona que se quiere detectar que funcionará a modo de **antígeno** y que se denomina **reactivo de fijación específica**, ya que presentan una gran especificidad y afinidad sobre el producto a valorar, además los anticuerpos son los reactivos de fijación más utilizados, puesto que dado su escaso peso molecular se suelen unir a una proteína transportadora.

Su utilidad para ser aplicados, depende

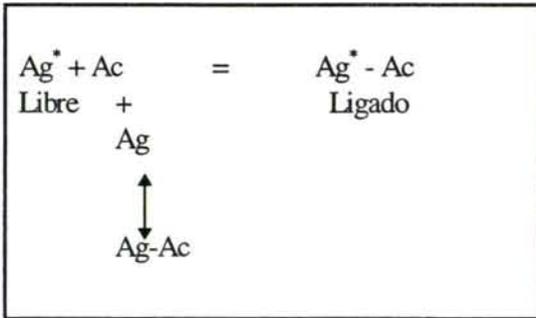


Figura 4. Principio del RIA. Ag\* es el antígeno radioactivo, Ag el antígeno problema o estándar y Ac el anticuerpo.

ción y el tiempo de sangría.

La especificidad de un antisuero puede valorarse haciéndolo reaccionar con varios compuestos, con los que puede esperarse que reaccione de forma cruzada, debido a su similitud estructural. Siendo la sensibilidad de un inmunoensayo dependiente de la afinidad del anticuerpo utilizado, afinidad que representa la energía de reacción Ag-Ac.

de muchos factores como son su pureza, la especie animal donde se producen, el método y vías de inyec-

2. Una **hormona marcada con isótopos radioactivos**, aunque los

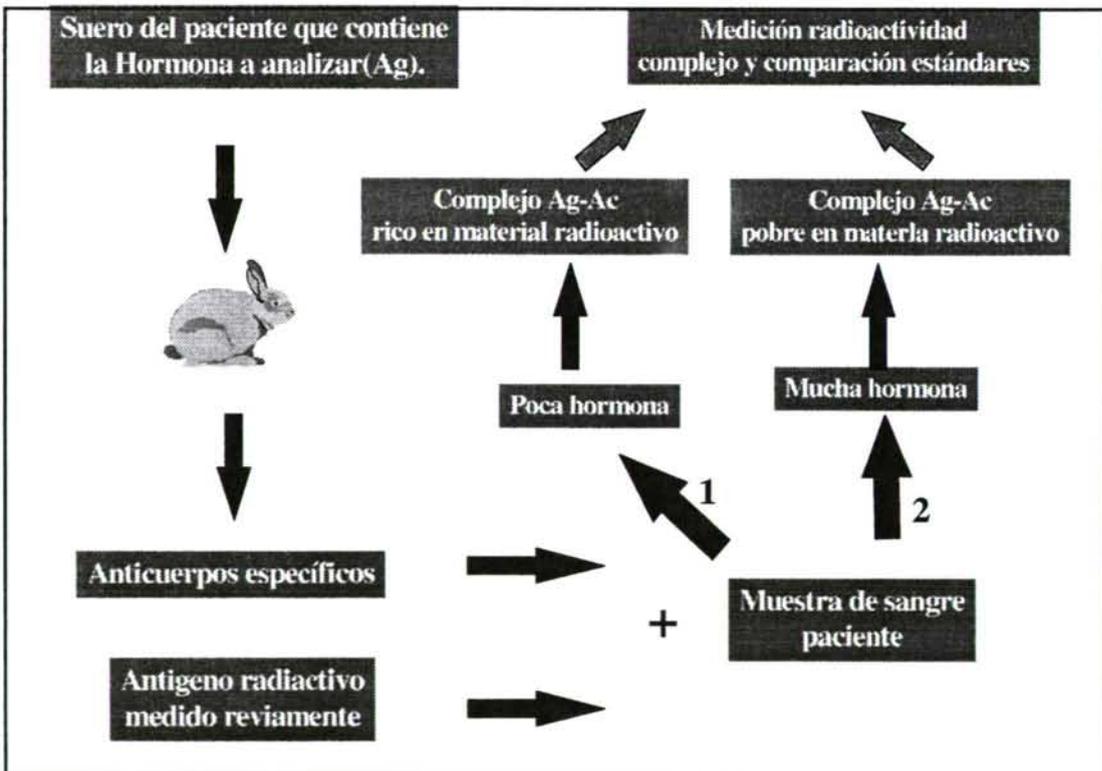


Figura 5. Pasos de que consta el radioinmunoanálisis

marcadores usados en el sistema de ensayo pueden ser de otro tipo como enzimáticos o fluorescentes, pero los marcadores radioactivos son los más sensibles.

Se utilizan dos tipos de isótopos, los emisores de radiaciones beta como el **tritio** ( $^3\text{H}$ ) y los emisores de radiaciones gamma como el **yodo 125** ( $^{125}\text{I}$ ).

Cada elemento tiene un número de electrones extranucleares y de protones intranucleares, denominándose **isótopos** a los átomos con el mismo número de protones, pero con diferente número de neutrones en el núcleo, definiéndose como vida media de la población de átomos radioactivos al intervalo de tiempo en el que se han destruido la mitad del número original de átomos, pudiéndose observar en la **tabla 1**, los diferentes isótopos utilizados, así como su vida media y el tipo de radiación que emite.

Los patrones de referencia y los especímenes deberán de comportarse de la misma forma en el sistema, siendo un problema en ocasiones la estandarización de algunas sustancias, por sus variaciones naturales.

3. Una **hormona estándar** de gran

pureza.

4. Un **método de separación** de la hormona libre de la hormona fijada, que implica la determinación de la proporción relativa de Ag que se halla libre (no ligado) o ligado a un reactivo de fijación específica y saturable (ligado), para lo que es necesario cuantificar la fracción ligada y libre después de la separación de ambos componentes para lo que hay diferentes sistemas como la electroforesis, los métodos de adsorción, los métodos de precipitación y los inmunológicos.

El **antígeno** u hormona de la sangre que se quiere analizar, deberá de ser lo suficientemente pura para provocar la producción de **anticuerpos**

Isótopo	Vida media	Emisión
$^{14}\text{C}$	5,730 años	$\beta$
$^3\text{H}$	12,26 años	$\beta$
$^{125}\text{I}$	60,2 días	$\gamma$
$^{131}\text{I}$	8,1 días	$\gamma, \beta$
$^{75}\text{Se}$	120 días	$\gamma$
$^{57}\text{Co}$	270 días	$\gamma$

*Tabla 1. Características de los radioisótopos más utilizados en RIA*

específicos por el sistema inmunológico del huésped, huésped que generalmente es el cobaya o el conejo.

La **hormona** que se quiere estudiar (**antígeno**), se marca en una pequeña parte, medida previamente, con material radioactivo (**hormona marcada**). A continuación se mezclan muestras del anticuerpo y del antígeno no marcado con una muestra de sangre del paciente. Si la muestra de sangre del paciente presenta poca cantidad de hormona (antígeno), la mayor parte del complejo antígeno-anticuerpo formado tienen en su composición como antígeno al marcado radioactivamente. Si por el contrario, la muestra de sangre del paciente contiene gran cantidad de hormona (antígeno), esta hormona no marcada reaccionará con el anticuerpo y por consiguiente en el complejo antígeno-anticuerpo, se detectará más antígeno (hormona) no marcada que antígeno radioactivo marcado (hormona marcada).

Una vez realizada la reacción antígeno-anticuerpo, se deberá de calcular que cantidad de ella esta provocada por el antígeno del paciente y que cantidad por el antígeno marca-

do, lo cual se hace midiendo la radioactividad del complejo y comparándolo con los valores estándar de referencia (**hormona estándar**).

Mediante el RIA es posible medir cantidades pequeñas de hormonas, que se expresan en ng ( $10^{-9}$  g).

## 1.2. FARMACOLOGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO.

### 1.2.1. Introducción.-

El sistema nervioso autónomo se caracteriza por regular un gran número de funciones orgánicas sin participación de la conciencia, de ahí su nombre, transmitiendo su actividad a partir de sus nervios periféricos. Morfológicamente, las señales autónomas eferentes se transmiten a los diferentes órganos de la economía a partir de sus dos subdivisiones denominadas **sistema nervioso simpático** (SNS), cuyos centros nerviosos se encuentran en el asta intermediolateral de la médula espinal, desde el primer segmento dorsal hasta el segundo o tercer segmento lumbar, de donde parten las raíces eferentes o fibras preganglionares que conexionan con las células de los ganglios simpáticos prevertebrales y paravertebrales, de donde salen las fibras posganglionares a los diferentes órganos y tejidos y **sistema nervioso parasimpático** (SNPS), en el que sus centros nerviosos se agrupan en una parte craneal que comprende los núcleos de los pares craneales III, VII, IX y X y una parte sacra que abarca los segmentos 2, 3 y 4 de la médula

sacra.

Las fibras nerviosas del SNA secretan uno de los dos neurotransmisores sinápticos, *acetilcolina* o *noradrenalina*, denominándose *colinérgicas* a las que liberan **acetilcolina** y *adrenérgicas* a las que liberan **noradrenalina**, también denominada *epinefrina* y cuyas fórmulas estructurales moleculares podemos observar en la **figura 6**.

Todas las neuronas preganglionares, desde el punto de vista neuroquímico, son **colinérgicas**, activando a este nivel receptores nicotínicos, tanto en el SNS como en el SNPS, mientras que las neuronas posganglionares del SNPS son todas **colinérgicas**, actuando entonces sobre receptores muscarínicos, y por el contrario la mayoría de las neuronas pertenecientes al SNS posganglionares son **adrenérgicas**, menos las que van a las glándulas sudoríparas, músculos piloerectores y algunos vasos sanguíneos, que activan también receptores muscarínicos.

La mayor parte de las veces, un mismo órgano efector presenta receptores adrenérgicos y colinérgicos, normalmente de signo contrario, aunque en ocasiones las acciones que

generan son del mismo signo e incluso aditivas.

Las distintas neuronas del sistema nervioso autónomo, sintetizan y almacenan distintas sustancias, denominadas **cotransmisores**, de distinta naturaleza, así unos derivan de una **prohormona** o **gen común**, otros por el contrario son péptidos que derivan de prohormonas diferentes (**somatostatina**), o son mixtos, mientras que, por último algunos son transmisores **no péptidos**, también denominados **clásicos**.

La existencia de los cotransmisores enriquece en gran medida la capacidad de respuesta de las neuronas a los distintos estímulos

que reciben, ya que un mismo estímulo puede desencadenar la liberación de varios cotransmisores, caso de que sean almacenados en un mismo gránulo, mientras que por el contrario, otro estímulo puede desencadenar la respuesta de gránulos que almacenen un solo cotransmisor, con lo que la respuesta neuronal será diferente en cada caso.

Tanto la **acetilcolina**, como la **noradrenalina**, como los cotransmisores, son liberados por un mecanismo de entrada de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) en la célula, produciéndose su liberación de los gránulos donde están almacenados y actuando a continuación: bien sobre la membrana presináptica; bien sobre la membrana postsináptica, generan-

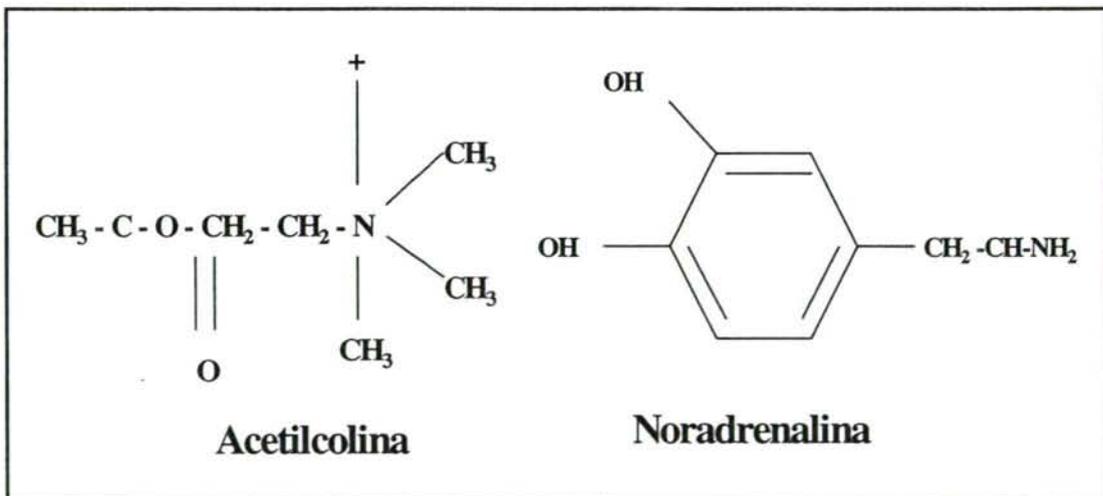


Figura 6. Estructuras moleculares de la acetilcolina y de la noradrenalina

do un amplio abanico de respuestas. Así cuando se libera un neurotransmisor determinado, éste puede actuar sobre un receptor presináptico a su vez modulador de su propia liberación (**autorreceptor**), como se ha demostrado que existen para los receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$  y colinérgicos muscarínicos, o modulador de la liberación de otros neurotransmisores (**heterorreceptor**), que aparecen en terminaciones colinérgicas y adrenérgicas.

Por tanto, y teniendo en cuenta la gran dispersión de receptores adrenérgicos y colinérgicos por todo el organismo, así como las importantes funciones que regulan, se ha tratado de buscar fármacos que reproduzcan sus funciones o por el contrario que las bloqueen, según el efecto perseguido, denominándose **agonistas** o **antagonistas**, respectivamente, pudiendo existir tanto para las vías colinérgicas como para las adrenérgicas:

**1. Agonistas adrenérgicos o fármacos simpaticomiméticos** son los fármacos que reproducen las acciones de la estimulación adrenérgica (noradrenalina) y **antagonistas adrenérgicos** son los que bloquean la acción de la nora-

drenalina.

**2. Agonistas colinérgicos** son aquellas sustancias que reproducen las acciones de la acetilcolina y **antagonistas colinérgicos** los que bloquean la acción de la acetilcolina.

### 1.2.2. Transmisión colinérgica.-

La **acetilcolina**, sustancia moduladora de la actividad preganglionar simpática y parasimpática y posganglionar parasimpática y de algunas terminaciones simpáticas, es sintetizada en el citoplasma neuronal a partir de la *colina* y de la *acetilcoenzima A (Acetil-CoA)*, mediante la acción de la enzima *colinoacetiltransferasa*, para permanecer en la neurona bien en forma de gránulos en las vesículas sinápticas, bien en forma libre por su citoplasma, liberándose en condiciones de reposo, en pequeñas cantidades y de una manera espontánea al espacio sináptico.

Cuando un potencial de acción despolariza la terminación colinérgica, se produce de una manera rápida la apertura de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  en la membrana presináptica, con lo que el  $\text{Ca}^{2+}$  penetra en la célula a favor de

un gradiente electroquímico, que desencadena la liberación de acetilcolina, tanto de su forma libre como de la asociada a las vesículas sinápticas.

Una vez liberada, según la situación de las neuronas, la acetilcolina activará uno de los dos tipos de receptores colinérgicos, los **muscarínicos**, cuyo nombre proviene de que son activados por una sustancia derivada del hongo *amanita muscarina* (**muscarina**) y bloqueados por la **atropina** y los **nicotínicos**, activados por la **nicotina** y bloqueados por la **tubocurarina**.

Como hemos mencionado anteriormente, los receptores colinérgicos, se encuentran situados en distintos tipos de células, así los **muscarínicos** aparecen en las células efectoras estimuladas por las neuronas posganglionares del SNPS, así como en las estimuladas por las neuronas colinérgicas posganglionares del SNS, mientras que los receptores **nicotínicos** se encuentran en las sinapsis entre las neuronas pre y posganglionares de los SNS y SNPS y también en las membranas de las fibras musculares esqueléticas en la unión neuromuscular.

Los **receptores nicotínicos** son canales iónicos receptor-dependientes formados por cinco unidades glicoproteicas independientes, cuya activación provoca la apertura del canal y un aumento de la permeabilidad iónica a los cationes monovalentes y divalentes con un diámetro inferior a los 8 *angstroms* ( $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ), mientras que los mayores penetran con más dificultad ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ), mientras que los receptores muscarínicos están asociados en su funcionamiento a distintas proteínas G, por lo que las acciones producidas por su activación pueden dar lugar a diferentes respuestas.

Los fármacos **agonistas colinérgicos** con acción muscarínica, los podemos clasificar en los siguientes tipos según su mecanismos de acción:

**1. De acción directa**, que incluyen a los ésteres de la colina, a los alcaloides, tanto naturales como sintéticos y a los fármacos de síntesis.

Son ésteres de la colina la **acetilcolina**, la **metacolina**, el **carbacol** y el **betanecol**, alcaloides la **muscarina**, la **pilocarpina**, la **arecolina** y la **aceclidina** y fármaco de síntesis la

**oxotremorina.**

**2. De acción indirecta,** que incluyen a los inhibidores de la acetilcolinesterasa, con acciones muscarínicas y nicotínicas, a los derivados carbámicos, a los alcoholes simples y a los compuestos organofosforados.

Entre el grupo de derivados carbámicos se incluye el derivado más conocido y utilizado, la **piridostigmina**, así como la **prostigmina** y el **ambenonio**.

Los **antagonistas muscarínicos** inhiben los receptores colinérgicos muscarínicos, de ahí su nombre de antimuscarínicos, siendo los mejor conocidos la **atropina** y la **escopolamina**, ambos alcaloides naturales, de los que se derivan otra serie de productos.

### **1.2.3. Transmisión adrenérgica.-**

Con respecto a los neurotransmisores posganglionares simpáticos, estos son conocidos como **catecolaminas**, y entre ellas tenemos a la **adrenalina**, la **noradrenalina** y la **dopamina**, tres productos formados de manera consecutiva en su cadena de síntesis, como podemos observar en

la **figura 7.**

Las tres poseen un grupo aromático común *3,4-dihidroxifenilo* o *catecol* y una cadena lateral *etilamino*, necesitando para su formación la intervención de cuatro enzimas, la *tirosina-hidroxilasa*, que cataliza el primer paso de tirosina a dihidroxifenilalanina; la *l-aminoácido aromático descarboxilasa*, que cataliza la conversión de la L-dopa en dopamina; la *dopamina-β-hidroxilasa*, que convierte la dopamina en noradrenalina, y la *feniletanolamina-N-metiltransferasa*, que cataliza la conversión de noradrenalina en adrenalina.

Una vez formadas, las catecolaminas, a diferencia de la acetilcolina, que era almacenada en el cuerpo neuronal, son almacenadas en los gránulos que se encuentran en las varicosidades de los axones, de donde son liberadas, tras recibir la célula el estímulo adecuado.

Tras su liberación en la terminación simpática, el mismo neurotransmisor actúa sobre los autorreceptores presinápticos ( $\alpha_2$ ), realizando un efecto de *feedback*, que hará que cese su liberación (efecto negativo).

Además, una vez liberados, los neurotransmisores simpáticos, deberán de unirse a los receptores adrenérgicos específicos situados en las células efectoras, que en este caso y refiriéndonos a la hormona del crecimiento, estarán situados en las neuronas hipotálamicas reguladoras de su formación.

Los **receptores adrenérgicos**, se clasifican en dos tipos principales, **alfa** ( $\alpha$ ) y **beta** ( $\beta$ ), siendo los

primeros ( **$\alpha$ -adrenoceptores**) los estimulados por las tres catecolaminas en orden a la potencia, **adrenalina** > **noradrenalina** > **isoprenalina** y los segundos ( **$\beta$ -adrenoceptores**) los que son estimulados según el orden de potencia **isoprenalina** > **adrenalina** > **noradrenalina**.

Posteriormente, y según la acción que determinados agonistas simpáticos producían, inhibiendo la liberación de la noradrenalina a partir

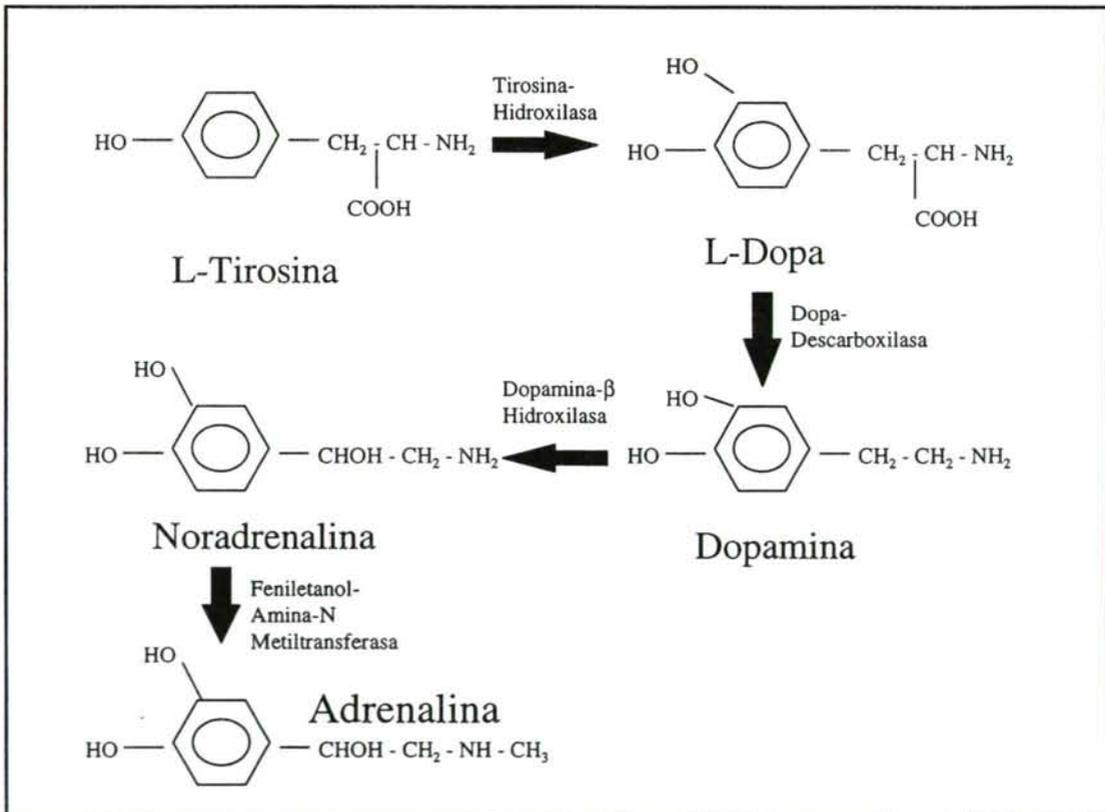


Figura 7. Síntesis de las catecolaminas y enzimas catalizadores

de un efecto feedback negativo, se habló de **receptores alfa<sub>2</sub>** y por otro lado cuando el agonismo simpático generaba contracción de la musculatura lisa, **receptores alfa<sub>1</sub>**. Siendo el más potente agonista de los receptores alfa<sub>2</sub> la **clonidina** y el más potente agonista de los receptores alfa<sub>1</sub> la **adrenalina**.

En cuanto a los **receptores beta-adrenérgicos** se subdividen en **beta<sub>1</sub>**, que predominan en el corazón, presentando una alta afinidad tanto para la adrenalina como para la noradrenalina, **beta<sub>2</sub>** que predominan en el músculo liso y cuya afinidad es de unas 50 veces más alta para la adrenalina que para la noradrenalina, y **beta<sub>3</sub>** que predominan en el tejido adiposo y son 10 veces más sensible a la noradrenalina que a la adrenalina, presentando escasa afinidad para el **propranolol**.

En un mismo órgano efector puede haber distintos tipos de receptores, variando la proporción en que se encuentran, así en el corazón tenemos receptores beta<sub>1</sub> y beta<sub>2</sub> y en el músculo liso alfa<sub>1</sub> y alfa<sub>2</sub>, siendo la respuesta obtenida dependiente del mayor número del tipo de receptor que exista.

Los receptores adenérgicos son de naturaleza proteica (**glicoproteínas**) y constan de siete dominios transmembrana, en donde se encuentra el sitio de fijación al ligando (hormona), además de una porción extracelular glucosilada (NH<sub>2</sub>) y una porción intracelular que presenta aminoácidos con capacidad para ser fosforilados por distintas proteincinasas, además de una región específica que actúa selectivamente sobre una proteína G. De todas formas, un mismo receptor puede provocar la activación de varias proteínas G.

Una vez que el ligando se une al receptor específico de membrana, se pondrá en marcha el sistema de activación de la proteína G, proteína reguladora fijadora de *guanostri-fosfato* (GTP), cuya función es la de convertir la señal externa en activación del sistema efector, bien enzimático, bien de activación de canales iónicos.

Los **receptores beta-adrenérgicos** funcionan mediante el sistema de activación de la *adenilciclase*; esto es, cuando una sustancia agonista de este receptor lo activa, el receptor se disocia de la proteína G<sub>s</sub>, que activa a la adenilciclase y se pone en mar-

cha la formación de *adenosin monofosfato cíclico* (AMPC) a partir del *adenosin trifosfato* (ATP), para a continuación el AMPC activar a una *proteincinasa específica* (AMPC dependiente o *proteincinasa A*) que contiene dos unidades reguladoras y dos unidades catalíticas que una vez que quedan libres transfieren el radical fosfato a un número muy numeroso de proteínas (fosforilación), bien de carácter enzimático que se activan o se inhiben y otras de carácter estructural, cuya fosforilación provoca modificaciones funcionales de actividad y aparición de la respuesta específica, bien excitación, bien inhibición de la respuesta neuronal.

La activación de los receptores **alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**, genera por el contrario una inhibición del sistema de la *adenilciclase*, reduciéndose por tanto la formación de AMPC por activación de la proteína G inhibidora (G<sub>i</sub>).

Por último, el **alfa<sub>1</sub>-adrenoceptor** se encuentra asociado al sistema de la *fosfolipasa C*, que induce la formación de dos moduladores, el *isitoltrifosfato* y el *diacilglicerol*, caracterizándose la respuesta por el

aumento y movilización del Ca<sup>2+</sup> intracelular en determinadas estructuras

Cuando el transmisor se une a la célula receptora se produce un cambio en la conformación de la proteína, que produce la excitación o inhibición de la célula en cuanto a su acción específica, determinando un cambio en la permeabilidad de la membrana celular a uno o más iones o activando o desactivando una enzima unida al otro lado de la proteína receptora en la región que se proyecta hacia el interior de la célula, en el primer caso, se abren o cierran canales iónicos, bien de sodio o de calcio o bien de ambos o de potasio principalmente. En el otro caso la enzima suele estar unida a la proteína receptora, así la unión de la adrenalina a su receptor aumenta la actividad de la *adenilciclase intracelular*, formándose *adenosin monofosfato cíclico* (AMPC), que a su vez puede iniciar muy variadas acciones intracelulares.

#### 1.2.4. Agonistas simpáticos.-

Son los fármacos que estimulan los receptores alfa y beta adrenérgicos,

generando una respuesta similar a la obtenida por estimulación de los nervios posganglionares simpáticos o de la médula suprarrenal.

En general los fármacos no presentan un agonismo selectivo sobre un único receptor, sino que pueden activar varios, aunque su potencia varia según actúe sobre unos u otros

Los fármacos marcadores de este agonismo, son las catecolaminas naturales, **adrenalina** y **noradrenalina** y la sintética **isoprenalina**, derivando de ellos el resto de agonistas, que mantienen la fórmula general de la *feniletilamida* y que podemos clasificar de la siguiente manera:

**1. Catecolaminas**, que incluye la *adrenalina*, la *noradrenalina*, la *dopamina* y la *isoprenalina*.

Con respecto a la **adrenalina** y la **noradrenalina**, la primera es un potente agonista de los receptores tanto alfa como beta adrenérgicos, abundantes tanto en el corazón como en los vasos, sin embargo a nivel del sistema nervioso central, al atravesar mal la barrera hematoencefálica, no genera grandes efectos, mientras que la noradrenalina carece de actividad beta<sub>2</sub>, manteniendo la actividad beta<sub>1</sub>

sobre el corazón, siendo un potente activador alfa, produciendo intensa vasoconstricción en piel, mucosas y área esplácnica. Tampoco atraviesa la barrera hematoencefálica.

**2. De acción preferente alfa<sub>1</sub>**, incluye la *metoxamina*, la *fenilefrina* y el *metaraminol*, producen vasoconstricción intensa y aumento de la presión arterial, además de bradicardia refleja.

**3. De acción preferente alfa<sub>2</sub>**, que incluye a un derivado imidazólico, la **clonidina**, de acción vasoconstrictora local, al ser administrada por vía parenteral, producen hipertensión seguida de hipotensión paradójica, también se encuentran dentro de este grupo otros derivados imidazólicos como la *oximetazolina*, la *guanfacina*, el *guanabanzo* y la *rilmenidina*.

La **clonidina** (**fig. 8**), es uno de los fármacos que se han utilizado en este proyecto de investigación, por ser el agonista alfa<sub>2</sub> más potente de los conocidos. Su vida media es de aproximadamente 8-12 horas, eliminándose por el riñón en forma activa. Es vasoconstrictora de la musculatura lisa por la activación de los alfa-adrenoceptores, presentando

una mayor afinidad por los receptores alfa<sub>2</sub> que por los alfa<sub>1</sub>.

La clonidina, al disminuir la actividad eferente que, a partir del bulbo y a través del asta intermedio lateral de la médula, fluye a lo largo de los nervios simpáticos, disminuye la concentración plasmática de norepinefrina y renina y aumenta por tanto la actividad vagal.

Entre sus efectos secundarios se recogen la sedación y la sequedad de boca, que afectan hasta al 50% de los pacientes tratados con ella. Su empleo en la clínica se dirige al tratamiento de la hipertensión leve o moderada, aumentando su efectivi-

dad cuando se asocia a diuréticos.

Su pauta de administración es de 0,1 mg. dos veces al día, pudiéndose incrementar hasta dosis de 2,4 mg/día.

**4. De acción preferente beta<sub>1</sub>,** caracterizados por estimular la actividad cardíaca, se incluyen en este grupo la *dobutamina*, el *prenalterol* y el *doxaminol*, con cierta acción beta<sub>2</sub> vasodilatadora.

**5. De acción preferente beta<sub>2</sub>,** con acción broncodilatadora, incluye la *orciprenalina*, el *salbutamol*, el *fenoterol*, la *terbutalina*, el *rimiterol* y la *isoetarina*.

**6. De acción mixta y central,** que incluye a la *efedrina*, con acción sobre los receptores alfa y beta, atraviesan la barrera hematoencefálica, generando insomnio. También se encuentran dentro de este grupo las *anfetaminas*, la *metanfetamina*, y la *fenfluramina*.

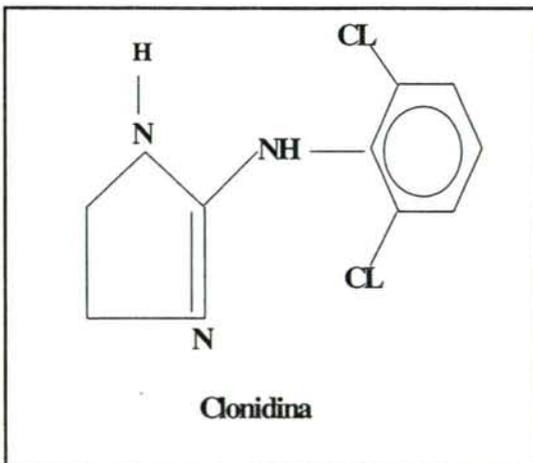


Figura 8. Estructura química de la clonidina

#### 1.2.5. Antagonistas simpáticos.-

En cuanto a los fármacos que bloquean la acción simpática, según sobre el tipo de receptor que actúen los podemos clasificar en:

**1. Antagonistas alfa<sub>1</sub>,** cuyos efectos

más importantes se van a generar sobre el tono vascular arterial y venoso e incluyen:

Con carácter de **bloqueo reversible** a las *quinazolininas* (prazosina) y algunas *imidazolininas* (fentolamina).

Con carácter de **bloqueo irreversible** a las *haloalquilaminas* y algunas *imidazolininas* (cloroetilclonidina).

**2. Antagonistas alfa<sub>2</sub>**, que a nivel del SNC, producen la liberación de noradrenalina y a nivel periférico vasodilatación e hipotensión, incluyen:

Los que generan un **bloqueo reversible** de los receptores alfa<sub>2</sub> como *indolalquilaminas*, dentro de las cuales se encuentra la **yohimbina**, las *imidazolininas* y el *fluparoxan*.

Los que generan **bloqueo irreversible** como la *benextramina*.

La **yohimbina**, fármaco utilizado como clorhidrato de yohimbina en nuestro trabajo experimental, es un bloqueante selectivo de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos, cuya estructura química es C<sub>21</sub>-H<sub>26</sub>-O<sub>3</sub>-N<sub>2</sub>-CLH, y se encuentra en la naturaleza en forma de polvo blanco, con sabor ligeramente amargo, es utilizada en

clínica en ciertas formas de disfunción sexual de los varones, en la neuropatía diabética y en la hipotensión postural.

**3. Bloqueantes alfa y beta adrenérgicos:** del tipo del *labetol*, el *prizidilol* y el *medroxalol*.

**4. Antagonistas beta adrenérgicos**, sustancias que presentan una alta afinidad sobre los beta-adrenorreceptores, inhibiendo la actividad simpática, así como la respuesta a los fármacos beta-agonistas, pueden bloquear tanto los receptores beta<sub>1</sub> como los beta<sub>2</sub>, bien de forma aislada o simultánea, pudiéndose clasificar de acuerdo al receptor que bloquean en aquéllos que bloquean los receptores β<sub>1</sub> y β<sub>2</sub> los que bloquean únicamente los receptores β<sub>1</sub> o β<sub>2</sub> y los que tienen afinidad por los β<sub>1</sub> y los α<sub>1</sub>, según podemos observar en la **tabla 2**.

El **propranolol** (**fig. 9**) fue el primer bloqueante beta utilizado en clínica, antagonista selectivo frente a los receptores β<sub>1</sub> y β<sub>2</sub>, carece de actividad intrínseca simpaticomimética, se absorbe muy bien por vía oral, alcanzando su concentración máxima a las 1-3 horas después de su adminis-

tración

Como bloqueante  $\beta$  específico su empleo en cardiología se ve seriamente comprometido por sus efectos adversos, derivados de su efecto  $\beta_2$  y que incluyen broncoespasmo, vasoconstricción y trastornos del metabolismo de los hidratos de carbono.

**1.2.6. Otros fármacos con acción sobre los receptores adrenérgicos o los ganglios vegetativos.-**

Actuando sobre la síntesis, metabolismo o liberación de la noradrenalina, podremos obtener efectos semejantes al agonismo o antagonis-

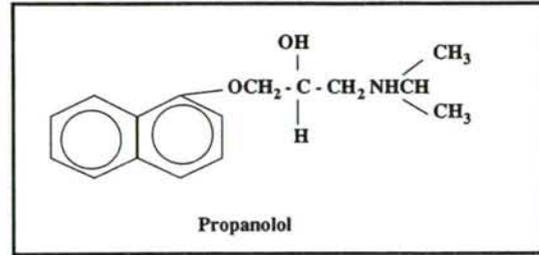


Figura 9. Estructura química del propranolol

mo adrenérgico, así la *reserpina* y sus derivados, *deserpídina*, *tetra-benazina* y *guanetidina* impiden el almacenamiento de la noradrenalina en las terminaciones del SNS, mediante la alteración de la membrana de los gránulos, lo cual les impide captar la dopamina y transformarla en noradrenalina, y la

$\beta_1$ y $\beta_2$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\alpha_1$ y $\beta_1$
Alprenolol	Acebutolol	Butoxamina	Labetalol
Nadolol	Atenolol	$\alpha$ -Metilpropranolol	
Oxprenolol	Bisoprolol	ICI 118551	
Penbutolol	Celiprolol		
Pindolol	Esmolol		
<b>Propranolol</b>	Metoprolol		
Sotalol			
Timolol			

Tabla 2. Antagonistas beta-adrenérgicos según los receptores que bloquean.

*fenoxibenzamina* que bloquea los receptores alfa-adrenérgicos.

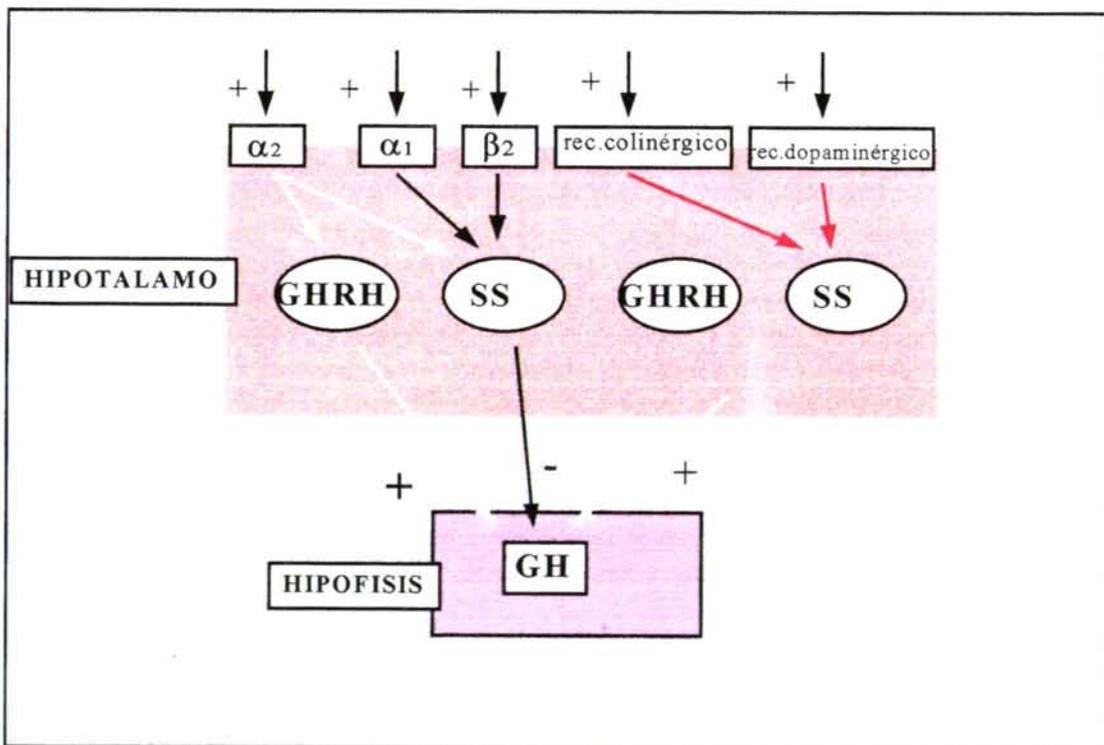
La modulación de la respuesta del sistema nervioso autónomo, también puede modificarse actuando sobre los **ganglios vegetativos**, pero el mecanismo íntimo de su funcionamiento no es bien conocido, aunque sabemos que existen al menos cuatro tipos diferentes de potenciales postsinápticos generados por la activación de las fibras preganglionares, y que unos fármacos son estimulantes como la *nicotina*, mientras que otros son bloqueadores como el *hemicolinio*, pero dada la complejidad de su funcionamiento, todavía la intervención farmacológica en clínica no está bien resuelta.

**1.3.- REGULACION AUTÓNOMA DE LA SECRECIÓN DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO.-**

El control de la secreción de la hormona del crecimiento ejercido por los agonistas y antagonistas simpáticos y parasimpáticos (**fig.10**) a nivel del hipotálamo, deberá de actuar mediante la modulación de la **GHRH**, facilitando o inhibiendo su liberación a través del eje hipotálamo-hipofisario, para que genere la sub-

siguiente reacción hipofisaria, esto es liberación o inhibición del vertido de GH al plasma, o mediante la modulación de la **SS hipotalámica**, facilitando o inhibiendo su paso a la hipófisis, con el consiguiente efecto inhibitor o liberador de la hormona o por último, por el resultado de la suma de los efectos facilitadores e inhibidores de la GHRH y la SS respectivamente.

Consideradas de una manera global, las **vías adrenérgicas** ejercen una



*Figura 10. Modulación autónoma de la secreción de GHRH y SS hipotalámicas y efecto sobre la GH hipofisaria.*

acción estimulante sobre la liberación de GH, como se ha comprobado al inducir un déficit orgánico de agonistas simpaticomiméticos (**noradrenalina**), mediante fármacos o por medio de la cirugía, apareciendo en ambos casos un bloqueo en la liberación de la hormona en todas las especies investigadas<sup>5,6</sup>.

La **noradrenalina**, estimula la liberación de **GH**, aunque no se sabe exactamente si lo hace vía liberación de **GHRH**, o vía inhibición de **SS** o por la suma de ambos efectos<sup>5,6</sup>, creyéndose que el **agonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico** sería estimulante de la secreción de **GHRH** e inhibidor de la liberación de **SS**, mientras que el **agonismo beta<sub>2</sub>-adrenérgico** sería estimulante de la liberación de **SS**; estando condicionada la respuesta final a la suma de los efectos contrarios estimuladores (**GHRH**) e inhibidores (**SS**).

Sin embargo, existen dificultades para conocer el mecanismo exacto de modulación que sobre la secreción de la **hormona del crecimiento** genera la actuación de los distintos fármacos con acción autonómica, ya que para conocerlo se exigiría la utilización de cada uno de los fármacos

con acción sobre los receptores adrenérgicos y colinérgicos y observar a nivel del eje hipotálamo-hipofisario el flujo de **GHRH** y/o **SS** que aparece, y consecuentemente observar el efecto sobre las **células somatotropas** hipofisarias, productoras de GH.

La estimulación de los receptores **alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** se acompaña de un incremento en la liberación de la hormona, tanto en humanos<sup>5-12</sup>, como en animales<sup>13-15</sup>, mientras que la estimulación de los receptores **beta<sub>2</sub>**, ejerce el efecto contrario bloqueándola<sup>5,6</sup>, aunque algunos datos *in vitro* sugieren que la estimulación con **agonistas beta<sub>2</sub>**, puede producir un efecto contrario, esto es, estimulante de la secreción de GH<sup>16,17</sup>. También la estimulación de los receptores **alfa<sub>1</sub>** disminuyen la liberación de hormona del crecimiento tanto *in vitro*<sup>18,19</sup> como *in vivo* en animales<sup>20,21</sup> y en humanos<sup>22-24</sup>.

Pareciendo claro el papel liberador de **somatostatina** desempeñado por el agonismo **beta<sub>2</sub>**<sup>5,6</sup>, y **alfa<sub>1</sub>**<sup>18-24</sup>, y siendo poco claro el papel ejercido por la estimulación de las vías **alfa<sub>2</sub>-adrenérgicas**.

La administración de **agonistas**

**dopaminérgicos** activos a nivel central, como **apomorfina**, **bromocriptina** o **lisuride**, producen liberación de GH en el hombre e incrementan la respuesta a la GHRH exógena.

Por otro lado y con respecto a los moduladores del sistema nervioso parasimpático, la **acetilcolina**, agonista colinérgico, inhibe la secreción de SS hipotalámica, como se ha comprobado mediante la administración de un agonista colinérgico como es la **piridostigmina**, que potencia la secreción basal de GH, además de la respuesta a la administración de GHRH exógeno por parte de la GH, no siendo capaz de contrarrestar la inhibición de la respuesta de GH a GHRH inducida por **yohimbina**<sup>25</sup>.

La administración de **atropina**, bloqueante colinérgico, inhibe totalmente la respuesta de la GH a la mayoría de los estímulos, pero no a la inducida por la hipoglucemia, que a su vez reduce los niveles de SS, acción que parece mediada por el sistema alfa<sub>2</sub>-adrenérgico.

## **2. Justificación y** **Objetivos**

## 2.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.-

La estimulación de los diferentes receptores autónomos, tanto adrenérgicos como colinérgicos, es aceptado<sup>5,6</sup> como un mecanismo en la modulación de la secreción de la **hormona del crecimiento (GH)** por parte de las células somatotropas de la hipófisis, a través de la estimulación o el bloqueo de la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)**<sup>26-35</sup> o de la **somatostatina (SS)**<sup>36-39</sup> hipotalámicas.

Pero ésta, estudiada por diversos investigadores<sup>26-39</sup>, encierra todavía en la actualidad numerosas controversias sobre el verdadero efecto que el **agonismo o antagonismo autónomo**, según el receptor estimulado, genera y más aún si nos referimos al verdadero efecto que sobre la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** y **somatostatina (SS)** produce dicha actuación, cuando nos referimos a individuos de edad media-alta, ya que en la bibliografía internacional, no existe hasta ahora ningún estudio referenciado en seres humanos de dicha edad.

Cuando iniciamos este proyecto, tuvimos en cuenta que una de las principales funciones de la hormona del crecimiento es incrementar el anabolismo proteico, y sobre todo a nivel de la potenciación del **crecimiento del hueso**; de tal forma que hoy sabemos, que en el hueso la hormona del crecimiento favorece el depósito de proteínas, incrementando la matriz orgánica sobre la que se van a depositar las diferentes sales minerales, además de intervenir en la conversión de los **condrocitos** en **células osteogénicas**, formadoras de hueso.

Estas acciones, estimuladas con precursores de su liberación, de una manera adecuada, posiblemente disminuirán la pérdida de masa ósea asociada a la edad, y de esta forma nos encontraríamos con una nueva terapia dirigida contra una de las patologías más prevalentes en la edad adulta, la génesis de la descalcificación conducente hacia la osteoporosis.

Partiendo de este hecho, mediante el presente trabajo de tipo experimental, pretendemos conocer el verdadero efecto de un agonista selectivo de los **receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**

gicos, la **clonidina**, ya que la mayoría de los trabajos publicados hasta el momento<sup>5-15</sup> establecen que incrementa la respuesta hipofisaria a la liberación de GH tanto en individuos humanos jóvenes<sup>5-12</sup> como en animales de edad<sup>13-15</sup>.

Si esto fuera así, y una vez comprobados sus efectos en las personas de edad media-alta, mediante este fármaco, cuyo precio es mucho más asequible que el de la **hormona del crecimiento (GH)** y el de la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)**, actuando debidamente sobre su fórmula química, a fin de minimizar sus efectos secundarios, y a un precio menor que la mayoría de los fármacos actualmente utilizados en la terapia de la osteoporosis, podríamos emplearla como terapia para este tipo de pacientes, así como aplicarla en otros muchos usos, fuera del objeto de este estudio.

Para ello, diseñamos este ensayo experimental, dividiéndolo en **dos fases**: una primera en la que trataríamos de conocer si efectivamente en los adultos de edad media-alta, el efecto de la **clonidina** es similar al obtenido en individuos hu-

manos más jóvenes y cuál era el incremento de los valores de la **hormona del crecimiento** (objetivables mediante su valoración en plasma), que se obtenían, comparándolos con los obtenidos tras la administración de **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** por vía intravenosa, con lo que conoceríamos si la capacidad de respuesta de la hipófisis, de las personas de edad media-alta, es adecuada al estímulo utilizado o si por el contrario está disminuida o abolida y una **segunda fase** en la que según los resultados obtenidos en la primera, trataríamos de conocer el efecto generado por un **antagonista selectivo de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**, la **yohimbina**, que debería de ser contrario al producido por el agonista selectivo de los receptores **alfa<sub>2</sub>**, así como los obtenidos con un beta-bloqueante como el **propranolol.**, que actuaría como fármaco control, siempre teniendo como muestra sujetos de edad media-alta.

También y según los trabajos revisados<sup>40,41</sup>, en todas las especies investigadas, el proceso de envejecimiento se acompaña de una progresiva disminución de la secreción de **hormona del crecimiento (GH)**, tanto

basal como en respuesta a diversos estímulos por la génesis de un **hipertono somatostatinérgico**; incluida la respuesta a la administración exógena de **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)**<sup>42</sup>, pero que según algunos autores puede normalizarse con un tratamiento previo a base de clonidina<sup>42</sup>, dado su potencial efecto supresor de la liberación de somatostatina por parte del hipotálamo.

Así en el hombre joven, al igual que en los conejos y los perros<sup>36,40</sup> se ha demostrado que la **estimulación alfa<sub>2</sub>-adrenérgica**, incrementa la respuesta de la **hormona del crecimiento (GH)** a la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)**<sup>7,25,43</sup>, sinergismo mucho más evidente si la estimulación previa coincide con un hipertono somatostatinérgico fisiológico<sup>43</sup>, o farmacológico, como el que ocurre tras la administración de **atropina**, que es un bloqueador de los receptores colinérgicos muscarínicos<sup>32</sup> y que es capaz, además, de inhibir totalmente la respuesta de la **hormona del crecimiento (GH)** a una serie de estímulos, no bloqueando la **liberación de la hormona del**

**crecimiento (GH)** inducida por hipoglucemia, que per se reduce los niveles de **somatostatina (SS)**.

En resumen, y de acuerdo con los datos obtenidos hasta ahora, podemos decir que:

1) La **estimulación de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** produce una disminución de la producción hipotalámica de SS, tanto en humanos jóvenes<sup>5-11,17,25,31,43-45</sup>, como en otras especies<sup>13,26,27,46-49</sup>, así como un cese en la inhibición tónica de la secreción de la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** llevada a cabo por las neuronas productoras de somatostatina<sup>50,51</sup>, por lo cual la estimulación con agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos debería producir un incremento del vertido de **hormona del crecimiento (GH)** al plasma.

2) El **pretratamiento con agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**, incrementa la respuesta hipofisaria a la estimulación subsiguiente con **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** exógena, vía disminución de la **somatostatina (SS)** hipotalámica<sup>13,52-54</sup>.

3) La **estimulación con antago-**

**nistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** genera una inhibición de la respuesta hipofisaria, manifestada por una disminución de la **hormona del crecimiento (GH)** plasmática, vía incremento de la **somatostatina (SS)** hipotalámica<sup>25,56,57</sup>.

**4) El pretratamiento con antagonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**, disminuye la liberación de **hormona del crecimiento (GH)** por parte de la hipófisis a la estimulación con **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** exógena<sup>25,56,57</sup>.

**5) La estimulación con beta-bloqueantes** genera una inhibición de la respuesta hipofisaria, manifestada por una disminución de la **hormona del crecimiento (GH)** plasmática, vía incremento de la **somatostatina (SS)** hipotalámica<sup>21</sup>.

**6) El pretratamiento con beta-bloqueantes**, disminuye la liberación de GH por parte de la hipófisis a la estimulación con **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** exógena<sup>21</sup>.

Partiendo de estos datos, y de acuerdo con estas bases, ya sentadas por otros investigadores, serán **objetivos**

a lograr mediante el presente trabajo experimental:

**1.-** Comprobar el efecto que de la **estimulación con GHRH exógena** produce sobre los niveles de GH plasmática y de esta manera conocer la capacidad de respuesta de las células somatotróficas a la estimulación positiva por **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)**.

**2.-** Comprobar si la **estimulación alfa<sub>2</sub>-adrenérgica (clonidina)**, generará un incremento de los niveles plasmáticos de GH en los sujetos sometidos al estudio de edad media-alta, al igual que otros estudios referencian para sujetos de la especie humana jóvenes.

**3.-** Comprobar si el **pretratamiento con alfa<sub>2</sub>-agonistas adrenérgicos (clonidina)**, generará un incremento de la respuesta de la GH hipofisaria a la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** exógena, al igual que otros estudios referencian para sujetos de la especie humana jóvenes

**4.-** Comprobar si el efecto producido por la **estimulación con antagonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**

(**yohimbina**) generan un efecto contrario al de los agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (**clonidina**), disminuyendo los niveles plasmáticos de GH.

5.- Comprobar si el efecto producido con el **pretratamiento con antagonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (yohimbina)**, genera el efecto contrario al producido cuando utilizamos agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos, esto es disminución de la respuesta hipofisaria a la GHRH exógena, vía incremento de la liberación de SS hipotalámica.

6.- Comprobar si el efecto producido por la administración de **beta-bloqueantes (propranolol)** es el esperado, consistente en la disminución de la liberación de GH.

7.- Comprobar si el pretratamiento con **beta-bloqueantes (propranolol)**, disminuye la respuesta hipofisaria a la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** exógena administrada con posterioridad.

Por tanto, es nuestro objetivo el **comprobar que los siete puntos señalados en el paciente de edad se cumplen**, y en ese sentido se ha diseñado el presente trabajo de investigación.

### **3. Material y** **Métodos**

### 3.1. PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO.-

Mediante el presente estudio experimental, de tipo descriptivo y prospectivo, se pretende valorar la respuesta de la hormona del crecimiento (GH) mediante la medición de sus niveles plasmáticos mediante RIA, en una muestra de individuos de edad avanzada (ensayo clínico), según varios supuestos:

- b) **En condiciones basales.**
- c) **Tras la estimulación hipofisaria mediante la administración de GHRH exógena.**
- d) **Tras la estimulación hipofisaria con GHRH exógena, una vez hecho pretratamiento con distintos fármacos moduladores de la respuesta del sistema nervioso simpático, como son: la clonidina como *agonista de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos*; la yohimbina como *antagonista de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos*; y el propanolol como *bloqueante de los receptores beta-adrenérgicos* tanto de tipo beta<sub>1</sub> como de tipo beta<sub>2</sub>.**

Para ello, el estudio, una vez hecha la

revisión de los datos obtenidos por otros investigadores hasta el momento de su inicio, comienza a diseñarse en Octubre de 1993, resolviendo hacer el registro de las muestras de los pacientes según dos fases intervencionistas, la primera llevada a cabo durante el primer semestre de 1995 y la segunda durante el primer semestre de 1996.

#### 3.1.1. Registro de datos.-

El protocolo (**fig. 11**) de la primera fase del estudio (1995) elaborado para el registro de los datos referidos a los distintos pacientes constaban de un apartado con sus **datos personales** e incluía el código que se les asignaba, así como su edad, en años, sexo, peso y talla a partir de los cuales se obtenía el **índice de masa corporal (B.M.I.)**. Un apartado referido a sus **antecedentes personales**, en donde nos interesaba saber si el paciente estaba diagnosticado de hipertensión, así como si en el momento del ensayo clínico o en los meses anteriores había ingerido algún tipo de fármaco que pudiera influenciar la respuesta adrenérgica, como podían ser principalmente los beta-bloqueantes y los antagonistas del calcio, registrándose

CODIGO:    Fecha 1<sup>a</sup>:    Fecha 2<sup>o</sup>:    Fecha 3<sup>a</sup>:

---

1.- Edad                     

2.- Sexo                       Varón     Hembra

3.- Peso                                              GRF : 100 microgr.

4.- Talla                                              CLONIDINA : 0,150 mgrs.

5.- B. M. I.                   

---

6.- Toma medicación para la T. A.                       Sí     No

7.- En caso afirmativo indíquese cuál: \_\_\_\_\_ Nombre Comercial

1. Antagonistas del Calcio     2. BetaBloqueantes

3. Diuréticos                                       4. Inhibidores ECA

5. Otros

8.- ¿Desde cuándo los toma?

1. Menos de 3 meses                       2. Entre 3 y 6 meses

3. Entre 6 y 9 meses                       4. Más de 9 meses

9.- Dosis **diaria** que ingiere:                     

**D e t e r m i n a c i o n e s**

Administración :	CLONIDINA		GRF		CLONIDINA : GRF		
Extracciones :	A:0'	B:45'	C: 0'	D:15'	E:0'	F:45'	G:60'
GH							
TENSION SISTOLICA							
TENSION DIASTOLICA							

Figura 11. Protocolo para el registro de datos seguido durante la 1ª fase experimental

además de manera complementaria la ingesta de otros hipotensores, tipo inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina o diuréticos, así como la dosis ingerida.

Todos los sujetos sometidos al estudio, previamente al inicio del mismo, han sido informados de todo el diseño experimental, otorgando y firmando el **consentimiento** para su realización.

En cuanto a la parte intervencionista durante la **primera fase experimental** (1995), a los pacientes se les

registraba la tensión arterial antes y después de administrarles clonidina (fármaco hipotensor), así como la frecuencia cardíaca, haciéndose las determinaciones de la hormona del crecimiento en plasma según las tres pruebas que podemos observar en la **figura 12** y desarrollamos a continuación.

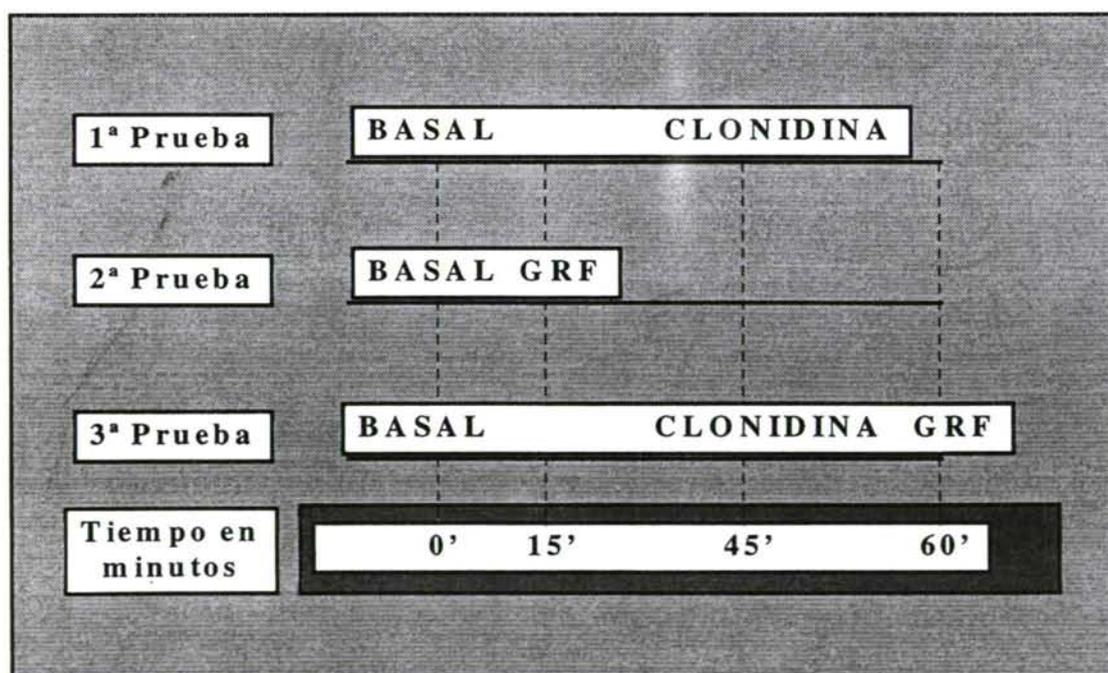


Figura 12. Representación esquemática del procedimiento seguido en la primera fase

### 3.1.2. 1ª Fase experimental.-

#### 1ª prueba de la 1ª fase experimental:

Extracción de sangre para la medición de los niveles plasmáticos de GH en condiciones basales y a continuación administración de 0,150 mg de clorhidrato de clonidina (Catapresán, Boehringer Ingelheim, Barcelona, España) por vía oral con extracción de sangre a los 45' y determinación de los niveles de GH en plasma tras la modulación previa con clonidina.

#### 2ª prueba de la primera fase experimental:

Extracción de sangre para la medición de los niveles plasmáticos de GH en condiciones basales, a continuación inyección de 100 microgramos de GHRH sintética (Geref, Serono S.A., Madrid, España) y extracción de sangre a los 15' para determinar los valores de la GH en plasma, una vez estimulada la hipófisis con GHRH exógena.

#### 3ª prueba de la primera fase experimental:

Extracción de sangre para la determinación de los niveles basales de GH, a continuación administración de 0,150 mgrs. de **clorhidrato de clonidina** vía oral (Catapresán, Boehringer Ingelheim, Barcelona, España) y extracción de sangre a los 45' para la determinación de la GH plasmática tras el pretratamiento con clonidina oral, inyectando a continuación 100 microgramos de **GHRH** sintética (Geref, Serono S.A., Madrid, España) vía i.v. para hacer una tercera extracción en esta prueba a los 15' y determinar de nuevo los niveles de **GH** tras realizar pretratamiento con clonidina seguida de **GHRH** exógena.

En cuanto al **protocolo** desarrollado durante la segunda fase experimental, podemos observarlo en la **figura 13**, en él la primera parte es similar a la del protocolo de la primera fase experimental, difiriendo la segunda parte, en el apartado referente a las determinaciones de la **GH** ya que se incluyen nuevos fármacos en el ensayo, como podemos observar en la **figura 14** y que desarrollamos a continuación.

NOMBRE: \_\_\_\_\_ CODIGO: \_\_\_\_\_

1.- Edad         2.- Sexo: Varón  Hembra

3.- Peso         4.- Talla

5.- B. M. I.

Teléfono: \_\_\_\_\_

6.- Antecedentes personales:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

Toma medicación para la T. A.       Sí       No

7.- En caso afirmativo indíquese cuál: \_\_\_\_\_ Nombre Comercial

1. Antagonistas del Calcio       2. BetaBloqueantes
3. Diuréticos       4. Inhibidores ECA
5. Otros

8.- Dosis diaria que ingiere

**D e t e r m i n a c i o n e s**

Administración	Fecha	Basal	15 min.	45 minutos	60 min.
GRF 100 microgrs.					
Clonidina - GRF (150 mgrs.)					
Yohimbina - GRF (5 - 15 mgrs.)					
Propranolol - GRF (20 mgrs.)					

**Declaración de consentimiento para la realización del trabajo**

Yo \_\_\_\_\_ con D. N. I. nº. \_\_\_\_\_,  
 en pleno uso de mis facultades, he sido informado/a del proyecto de estudio de la hormona del crecimiento, que será realizado bajo la supervisión del Prof. José C. Millán Calenti, en el que acepto participar voluntariamente, por lo que firmo la presente en Santiago, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 1996.

Figura 13.-Protocolo para el registro de datos seguido durante la 2ª fase experimental

3.1.3. 2ª Fase experimental.-

gena.

1ª prueba de la 2ª fase experimental:

Extracción de sangre para determinar los niveles plasmáticos de GH en condiciones basales, a continuación estimulación con 100 microgramos de GHRH (Geref, Serono S.A., Madrid, España) por vía i.v. y extracción de sangre a los 15' para determinar los niveles plasmáticos de GH tras la estimulación con GHRH exó-

2ª prueba de la 2ª fase experimental:

Extracción de sangre para la determinación de los niveles basales de GH, a continuación administración de 0,150 mgrs. de clorhidrato de clonidina vía oral (Catapresán, Boehringer Ingelheim, Barcelona, España) y extracción de sangre a los 45' para la determinación de la GH

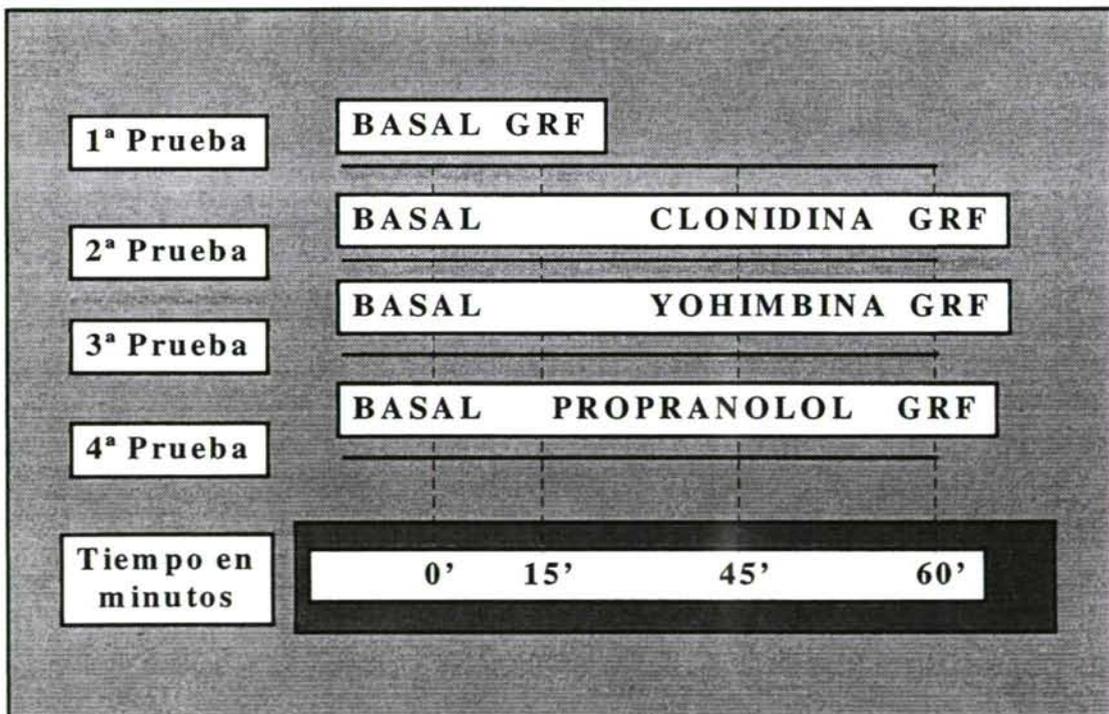


Figura 14. Representación esquemática del procedimiento seguido en la segunda fase experimental.

plasmática tras la modulación de su secreción por la clonidina, inyectando a continuación 100 microgramos de **GHRH** (Geref, Serono S.A., Madrid, España) vía i.v. para hacer una tercera extracción en esta prueba a los 15' y determinar de nuevo los niveles de **GH** tras realizar pretratamiento con clonidina seguida de **GHRH** exógena.

### **3ª prueba de la 2ª fase experimental:**

Extracción de sangre para la determinación de los niveles basales de **GH**, a continuación administración de 15 mgrs. de **clorhidrato yohimbina** vía oral (clorhidrato de yohimbina en polvos encapsulado, 5 mg/ cápsula) y extracción de sangre a los 45' para la determinación de la **GH** plasmática tras la modulación de su secreción con yohimbina, inyectando a continuación 100 microgramos de **GHRH** sintética (Geref, Serono S.A., Madrid, España) vía i.v. para hacer una tercera extracción en esta prueba a los 15' y determinar de nuevo los niveles de **GH** tras realizar pretratamiento con yohimbina seguida de **GHRH** exógena.

### **4ª. Prueba de la 2ª fase experimental:**

Extracción de sangre para la determinación de los niveles basales de **GH**, a continuación administración de 20 mg de **clorhidrato de propanolol** (Sumial, ICI- Farma S.A., Pontevedra, España), y extracción de sangre a los 45' para la determinación de la **GH** plasmática tras la modulación de su secreción por el propanolol, inyectando a continuación 100 microgramos de **GHRH** sintética (Geref, Serono S.A., Madrid, España) vía i.v. para hacer una tercera extracción en esta prueba a los 15' y determinar de nuevo los niveles de **GH** tras realizar pretratamiento con propanolol seguido de **GHRH** exógena.

### **3.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LOS PACIENTES.-**

Los pacientes han sido seleccionados en las Aulas de la Tercera Edad de Santiago de Compostela, siendo criterio de inclusión para el estudio el tener más de 50 años y presentar un estado de salud normal.

A medida que la fase experimental se fue desarrollando, fueron excluidos

aquéllos pacientes que presentaron alguna sintomatología durante la realización del ensayo (sensación de mareo, bajada importante de la tensión arterial, etc.) o bien faltaron a alguna de las pruebas realizadas, por lo que no se contaba con la totalidad de sus datos.

### 3.3. SUJETOS DE LA MUESTRA.-

En la **1ª fase experimental** la muestra estaba compuesta por 21 individuos, de estado de salud bueno, de los cuales el 14,3% (3) fueron varones y el 85,7% (18) mujeres, y una edad comprendida entre los 50 y los 73 años, para una edad media de 61,8 años, mientras que en la **2ª fase experimental** la muestra estaba compuesta por 14 individuos, de los cuales el 21,4% (1) fueron varones y el 78,6% (13) mujeres, con una edad comprendida entre 50 y 70 años y una edad media de 59,1 años.

### 3.4. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.-

Para la extracción de las muestras de sangre y la administración de los fármacos utilizados, los pacientes fueron

citados por grupos de cinco personas en días sucesivos, entre las 9,00 y las 12,00 horas después de que hubiera ayunado la noche anterior.

Para realizar la punción, el paciente permaneció sentado con el codo apoyado sobre un soporte de la silla de extracción, utilizándose preferentemente las venas de la flexura del codo, aunque cuando la vía era de difícil acceso, se puncionó en las venas del dorso de la mano.

Una vez desinfectada la zona con alcohol de 90°, tras dejar 1' como tiempo de secado y desinfección, se procede a colocar el *smarch* (goma ancha) en el antebrazo del paciente; tras inspeccionar la zona y seleccionar la vena, se procede a la punción con aguja de venoclisis (Venofix<sup>R</sup>) 19G/1,1 mm, aspirando suavemente para cerciorarse de estar en la vía adecuada y a continuación extraer 2 c.c. de sangre mediante jeringuilla estéril (Discardit<sup>R</sup>) de 5 c.c.

Mediante la misma vía, en aquéllos casos en que era necesario inyectar algún producto, se procedió a la inyección de la cantidad adecuada, que para las distintas sustancias fueron las que podemos observar en la **tabla**

PRODUCTO	DOSIS ADMINISTRADA	VIA
GHRH	100 microgramos	Intravenosa (i.v.)
Clonidina	0,150 mg	Oral
Yohimbina	15 mg	Oral
Propanolol	20 mg	Oral

Tabla 3. Productos utilizados, dosis y vía de administración.

### 3.

Una vez extraída la muestra de sangre se pasa a un tubo de 5 c.c. con gel separador, para a continuación ser centrifugada a 4.000 r.p.m. durante 10 minutos. Momento en que mediante pipeteo se extrae el suero y se ultracongela a menos 20 °, hasta su utilización.

Las concentraciones de GH en plasma fueron medidas por radioinmunoanálisis, obteniéndose los resultados en nanogramos/mililitro

#### 3.5. ESTUDIO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS.-

Estadísticamente, el objeto del estudio es medir las variaciones de la hormona del crecimiento ante diversos estímulos, siendo por tanto la variable fundamental a medir la **hormona del crecimiento (GH)**.

Por ello, todos los datos que aparezcan en el texto y en las figuras se presentan en concentraciones absolutas (media +/- desviación típica), mostrándose los valores de la **GH** plasmática en ng/ml.

Los datos obtenidos fueron introducidos en la base de datos *access* del paquete informático office, antes de ser utilizados por el paquete estadístico *SPSS*, desde donde se hizo el estudio estadístico de las distintas variables, según al tipo que pertenecían y que podemos observar en la **tabla 4**.

El **estudio descriptivo** para las variables cuantitativas continuas contempla en primer lugar la observación de que siguen una distribución normal (prueba de *Kolmogorov-Smirnov* > 0,7), para a continuación poder determinar los estadísticos descriptivos de las mismas, la

ESTADISTICA DESCRIPTIVA	TIPO VARIABLE
Edad	Continua cuantificable
Sexo	Dicótoma
Peso	Continua cuantificable
Altura	Continua cuantificable
B.M.I.	Continua cuantificable
Padecimiento de HTA	Dicótoma
Fármaco	Nominal
T.A.S. antes clonidina	Continua cuantificable
T.A.D. antes clonidina	Continua cuantificable
T.A.S. después clonidina	Continua cuantificable
T.A.D. después clonidina	Continua cuantificable
GH basal	Continua cuantificable
GH tras estimulación con GRF	Continua cuantificable
GH tras estimulación con clonidina	Continua cuantificable
GH tras estimulación con clonidina y GHRH.	Continua cuantificable
GH tras estimulación con yohimbina y GHRH	Continua cuantificable
GH tras estimulación con propanolol y GHRH	Continua cuantificable

*Tabla 4. Descripción de las variables medidas y tipo al que pertenecen.*

*tendencia central* (media) y *dispersión de los resultados con respecto a la media* (desviación estándar), aplicándose a las variables edad, peso, altura, índice de masa corporal, tensión arterial diastólica y tensión arterial sistólica antes y después del empleo de clonidina en el primer experimento, además de las determinaciones de la hormona del crecimiento, según los moduladores

de su secreción utilizados y las fases experimentales.

Mediante el **estudio analítico** se trata de buscar la posible asociación entre las principales variables (**tabla 5**), así como estimar la intensidad de su asociación, para lo cual, una vez observado el patrón de asociación, se calculará la magnitud de la asociación ( $p$ ), aplicándose test no paramétricos, dado que el número de

ESTUDIO ANALITICO	
GHRH	GH
Clonidina	T.A. sistólica antes. T. A. diastólica antes. T.A. sistólica después. T. A. diastólica después.
Clonidina Yohimbina Propranolol	GH
Clonidina-GHRH. Yohimbina-GHRH. Propranolol-GHRH.	GH

Tabla 5. Asociaciones de variables en las que se aplico el test de Wilcoxon.

casos estudiados es inferior a 50 y las variables a estudiar son continuas, estando actualmente admitido que la información proporcionada por ellos es tan válida como la proporcionada por los test paramétricos.

La significación estadística de los datos ( $p < 0.05$ ) fue establecida por la prueba de **Wilcoxon** o *prueba de los rangos señalados y pares igualados*, que además de utilizar los signos utiliza las cuantías ordinales de las diferencias y que ha sido utilizada por otros autores para obtener la significación en otros ensayos clínicos similares.

## **4. Resultados y** **Discusión**

#### 4.1. RESULTADOS.-

##### 4.1.1. Estadística descriptiva de las variables de la 1ª fase experimental.-

Como exponemos en el capítulo referido a material y método, referido al estudio estadístico de los resultados obtenidos, a todas las variables estudiadas, previo a realizar la estadística descriptiva, se ha comprobado mediante el **test de Kolmogorov-Smirnov**, que adoptaban la distribución de la curva normal, distribución que adoptan todas las variables aquí referenciadas.

##### 1ª Fase experimental.-

##### Edad.-

La edad media de los 21 sujetos que han sido sometido al estudio en esta primera fase experimental fué de 61,8 años.

Los sujetos con menos edad, tenían en el momento del estudio 50 años (14,3%), habiendo 2 con 64, 2 con 66 y 2 con 70 años, mientras que las edades del resto de los sujetos las podemos observar en la **tabla 6**.

Las edades de todos los sujetos estuvieron comprendidas entre 50 y 73 años, rango de 23, siendo la desviación típica de 7.34.

##### Sexo.-

Por sexos, del total de los 21 individuos estudiados en esta primera fase, 3 fueron varones (14,3%) y 18 mujeres (85,7%), siendo varones uno de 50 años, y teniendo 59 y 61 años los otros dos.

EDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
50	3	14,3
51	1	4,8
53	1	4,8
57	1	4,8
59	1	4,8
61	1	4,8
62	1	4,8
63	1	4,8
64	2	9,6
65	1	4,8
66	2	9,6
67	1	4,8
68	1	4,8
69	1	4,8
70	2	9,6
73	1	4,8

*Tabla 6. Distribución de la muestra según la edad.*

La distribución de la muestra por sexos la podemos observar en la **tabla 7**.

**Peso.-**

La distribución del peso de los sujetos estudiados podemos observarla en la **tabla 8**.

El peso medio de los sujetos sometidos al estudio en esta primera fase ha sido de 66,66 kg, oscilando los pesos entre 51 y 90 kg, rango de 39 kg, y que correspondían a dos mujeres de 62 y 50 años respectivamente, pesando 70 kg 4 personas y tres 69.

La desviación típica para los pesos de los sujetos estudiados fue de 8.15.

**Talla.-**

La estatura media de los individuos fue de 160,29 cm, con un rango de 22 y una altura máxima de 172 cm y mínima de 150 cm, para una desviación típica de 5,95.

SEXO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Varón	3	14,3
Mujer	18	85,7

*Tabla 7. Distribución de la muestra según el sexo*

PESO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
51	1	4,8
56	2	9,5
59	1	4,8
61	1	4,8
62	1	4,8
63	1	4,8
65	2	9,5
68	1	4,8
69	3	14,3
70	4	19
71	1	4,8
72	1	4,8
75	1	4,8
90	1	4,8
	21	100

*Tabla 8. Distribución de la muestra según el peso.*

En la **tabla 9**, podemos observar la distribución de los individuos estudiados según su talla, así como las frecuencias y porcentajes que representan.

**Índice de Masa Corporal (B.M.I.).-**

El índice de masa corporal, se obtiene de aplicar la fórmula que divide el peso en kg por la altura del individuo, tomada en metros y elevada al cuadrado; también se denomina a

este índice de **Quetelet**, por ser este autor el primero en utilizarlo.

Se establece como normal para las personas mayores cuando el índice esta comprendido entre 24 y 27, pudiendo haber riesgo de malnutrición cuando es inferior a 24, y de diversas patologías cuando es superior a 27, estado en que a los ancianos se con-

siderarían como obesos.

La importancia de la medición del índice de Quetelet en este estudio, no fue otra que averiguar si alguno de los sujetos investigados presentaba un Quetelet indicativo de un estado de desnutrición que pudiera interferir la síntesis proteica y por tanto de la hormona del crecimiento o de sus precursores orgánicos, las somatomedinas, con lo que su respuesta a la estimulación por **GHRH** exógena podría verse alterada.

En nuestro estudio, el índice de masa corporal medio fue de 25.98, con una desviación típica de 2.74 y un valor máximo de 30.42 y mínimo de 20.98 (**tabla 10**). Estando comprendidos el 28,8% en el grupo de Quetelet 20-24, el 61,6% en el 25-29 y el 9,6% más de 30.

#### Tensión arterial.-

El 28,6% de los individuos estudiados en la primera fase referían presentar al inicio de la investigación incrementos de la tensión arterial, mientras que el resto (71,4%) no refirieron padecerla.

De los que decían padecer aumento de la tensión arterial, uno de ellos tomaba para su control un antago-

TALLA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
150	1	4,8
152	1	4,8
154	2	9,5
155	2	9,5
156	1	4,8
157	1	4,8
158	1	4,8
160	2	9,5
161	1	4,8
162	1	4,8
163	1	4,8
164	1	4,8
166	3	14,3
167	1	4,8
168	1	4,8
172	1	4,8
	21	100

*Tabla 9. Distribución de la muestra según la talla.*

B.M.I.	FRECUENCIA	PORCENTAJE
20,98	1	4,76
21,45	1	4,76
21,62	1	4,76
23,62	1	4,76
24,73	1	4,76
24,88	1	4,76
25,24	1	4,76
25,35	1	4,76
25,39	1	4,76
25,42	1	4,76
25,45	1	4,76
26,02	1	4,76
26,13	1	4,76
26,18	1	4,76
27,20	1	4,76
27,34	1	4,76
28,80	1	4,76
29,13	1	4,76
29,87	1	4,76
30,40	1	4,76
30,42	1	4,76
	21	100

*Tabla 10. Distribución de la muestra según el B.M.I.*

nista del calcio; dos tomaban un inhibidor de la ECA y otro no recordaba en ese momento el fármaco que estaba tomando, no ingiriendo ningún fármaco 17 de los individuos

(81%), como podemos observar en la **tabla 11**.

Los valores medios de la tensión arterial tomada a los individuos en condiciones basales, antes de realizar la primera prueba, fueron de 8,43 para la diastólica (desviación estándar +/- 1,12) y de 13,86 la sistólica (D.E.+/- 1,56), pasando la diastólica a unos valores medios de 8,43 (D.E.+/- 1,33) y la sistólica a 13,18 (D.E.+/-1,74) a los 45 minutos de administrar 0.150 mg de clorhidrato de **clonidina** por vía oral.

Durante la realización de la tercera prueba, también se hicieron las determinaciones de la tensión arterial de los pacientes, antes y a los 45 minutos de haberles administrado 0.150 mg de clorhidrato de **clonidina** por vía oral, siendo entonces los valores medios de la tensión arterial en condiciones basales de 8,79 (D.E.+/- 1,69) para la diastólica y de 14,48 (D.E.+/- 2,34) para la sistólica, pasando a ser de 8,88 (D.E. +/- 1,69) para la diastólica y de 14,19 (D.E.+/- 2,20) para la sistólica.

No observándose por tanto que la **clonidina** influyera a la dosis utiliza-

HIPERTENSION	FRECUENCIA	PORCENTAJE	FARMACO
SI	6	28,6	19%
NO	15	71,4	81%

*Tabla 11. Distribución de la muestra según los individuos refirieran o no padecer de hipertensión e ingieran o no algún fármaco para su control.*

da sobre los valores de la tensión arterial en el periodo de tiempo estudiado, aunque los pacientes, si refirieron a posteriori, en los días siguientes a su administración que habían notado como síntomas secundarios sequedad de boca y somnolencia principalmente.

### **1ª prueba de la 1ª fase experimental.-**

#### **Determinación de la GH en condiciones basales.-**

Los valores plasmáticos de la hormona del crecimiento, obtenidos en condiciones basales durante la primera prueba, podemos observarlos en la **tabla 12**, encontrándose comprendidos entre 0.01 ng/ml y 13.11 ng/ml, con un valor medio de 3.02 ng/ml y una desviación típica de 3.21.

De ellos, el 81% están por debajo de

5 ng/ml, el 95,2% por debajo de 9 ng/ml y únicamente un caso, presenta unos valores basales de 13,11 ng/ml.

#### **Determinación de la GH tras la estimulación con clonidina.-**

Los valores de la **GH** plasmáticos obtenidos a los 45 minutos, tras la estimulación con 0,150 mg de **clorhidrato de clonidina** por vía oral podemos observarlos en la **tabla 13**, siendo la media de 1,18 ng/ml,

0,01	1,20	3,77
0,10	1,68	4
0,43	1,77	4,70
0,45	2,08	5,10
0,50	2,31	6,64
0,57	2,80	8,05
0,60	3,70	13,11

*Tabla 12. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en condiciones basales durante la primera prueba de la 1ª fase.*

con una desviación típica de 0,91 y un rango de 2,78, para unos valores mínimo de 0,03ng/ml y máximo de 2,81 ng/ml.

Estando comprendidos la totalidad (100%) por debajo de 3 ng/ml.

### Resultados por paciente en la primera prueba.-

Los resultados obtenidos durante la **primera prueba de la primera fase**, podemos observarlos en la **figura 15**, en la que aparecen de manera comparativa para cada sujeto sometido al estudio los histogramas correspondientes a la determinación de la concentración de **GH** en condiciones basales y a los 45' de haber sido estimulados con 0.150 mg

0,03	0,54	1,60
0,10	0,64	1,98
0,19	0,70	2,11
0,30	0,90	2,14
0,40	1,20	2,50
0,48	1,34	2,72
0,50	1,57	2,81

Tabla 13. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor), obtenidos en la primera prueba de la 1ª fase, a los 45 minutos de estimular al paciente con 0,150 mg de clorhidrato de clonidina.

de **clorhidrato de clonidina** por vía oral.

Pudiendo observarse que los valores de la **GH** en condiciones basales esta siempre por encima de los valores de la **GH** a los 45 minutos de estimular al individuo con clorhidrato de **clonidina**, excepto en tres casos (códigos 3, 6 y 14) en donde los valores tanto basales como a la preestimulación con **clorhidrato de clonidina** eran muy bajos y en un caso, el código 8, cuyos valores de **GH** en condiciones basales se incrementaron de una manera no significativa al ser estimulado con **clonidina** (1,68 ng/ml a 2,11 ng/ml).

Observamos también, que se producen decrementos importantes de los niveles de **GH** en el registro realizado a los 45 minutos de administrar **clonidina** en los sujetos con los códigos 5, 9, 11 y 12, todas mujeres con edades de 53, 62 y 64 años (dos casos), que no ingerían ningún tipo de fármaco que pudiera alterar los resultados.

### 2ª prueba.-

#### Determinación GH basal.-

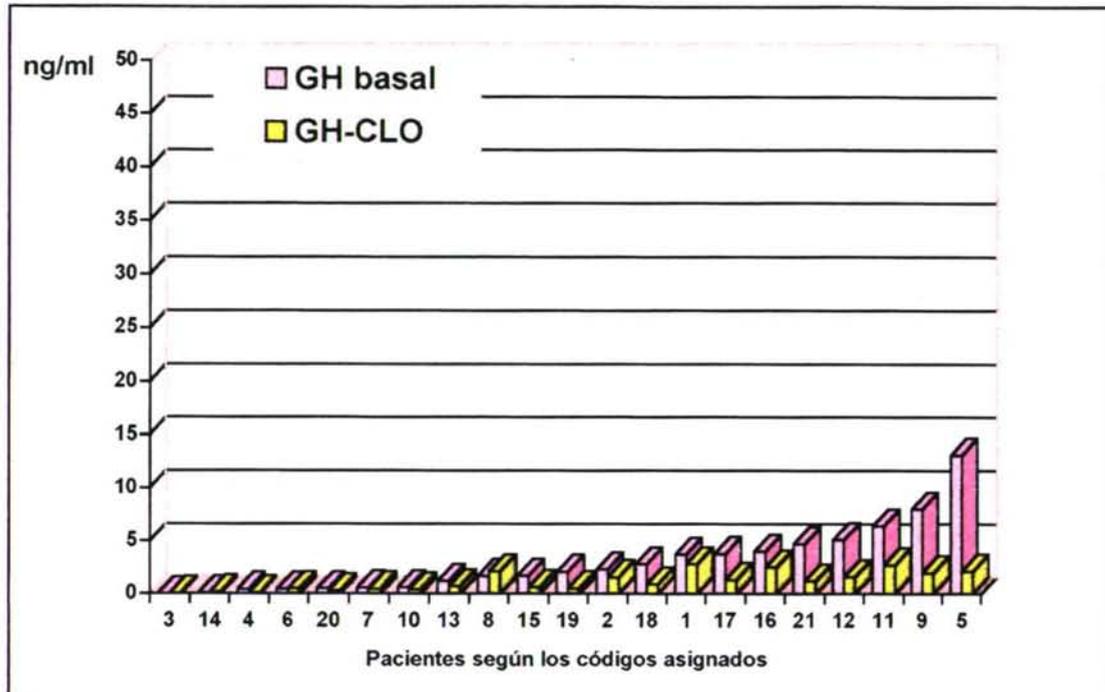


Figura 15. Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la primera prueba en la primera fase experimental.

Los valores de la **hormona del crecimiento** obtenidos en condiciones basales durante la segunda prueba, podemos observarlos en la **tabla 14**, estando comprendidos entre 0,01 ng/ml, que era un varón de 50 años y 9,73 ng/ml, para una mujer de 62 años y un índice de masa corporal por debajo de 25. El valor medio fue de 3,21 y la desviación típica de 3,12.

Encontrándose comprendidos por debajo de 5 ng/ml el 81% de los sujetos estudiados, y por debajo de

10 ng/ml el 100%.

#### Determinación de la GH tras la estimulación con GHRH .-

Los valores de la **GH** obtenidos a los 15 minutos, tras la estimulación intravenosa con 100 mcg de **GHRH** podemos observarlos en la **tabla 15**, siendo la media de 16,64 ng, con una desviación típica de 11,22 y un rango de 47,89, para unos valores mínimo de 2,11, obtenidos en el mismo sujeto en el que aparecían valores basales mínimos ((0,01 ng/ml) y máximo de más de 50 ng en la pa-

ciente codificada con el número 2 que ya presentaba valores basales de 9,09 ng/ml y que tenía 50 años de edad y un índice de masa corporal por debajo de 25.

Tras la estimulación de los pacientes con **GHRH**, los niveles de **GH** plasmáticos se incrementan significativamente, estando en el 72,2% de los sujetos por encima de 10 ng/ml, e incluso alcanzando uno de ellos valores superiores a 50 ng/ml.

**Resultados por paciente en la segunda prueba.-**

La administración del bolo intravenoso de 100 mcg de **GHRH** produjo en gran parte de los pacientes a

los que se les administro sensación de “sofocón” facial transitorio, como ya ha sido referido por otros autores<sup>43</sup>.

Si tenemos en cuenta la respuesta del paciente a la estimulación con 100 mcg de **GHRH** por vía i.v. de acuerdo con los valores basales de **GH** plasmática, obtenemos la **figura 16**, en la que aparecen representados los valores de **GH** en condiciones basales junto al histograma de los valores de **GH** obtenidos a los 15 minutos de administrarles por vía i.v. **GHRH**.

Se observa que la estimulación con **GHRH** exógena produce una elevación importante de los valores de **GH** plasmático en la totalidad de los

0,01	1,50	3,52
0,18	1,58	3,80
0,50	1,79	3,95
0,63	2,50	8,47
0,80	2,54	8,81
0,90	2,81	9,09
1,11	3,30	9,73

Tabla 14. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la segunda prueba de la 1ª fase, en condiciones basales.

2,11	2 X 11,80	21,23
5,29	12,46	21,90
9,07	12,47	26,60
2 X 9,60	13,16	30,35
10,56	14,80	35,95
10,76	18,50	>50
11,49		

Tabla 15. En la que se observan los valores de GH obtenidos en la segunda prueba de la 1ª fase (de menor a mayor y de arriba abajo), a los 15 minutos de estimular al paciente con 100 mcg de GHRH.

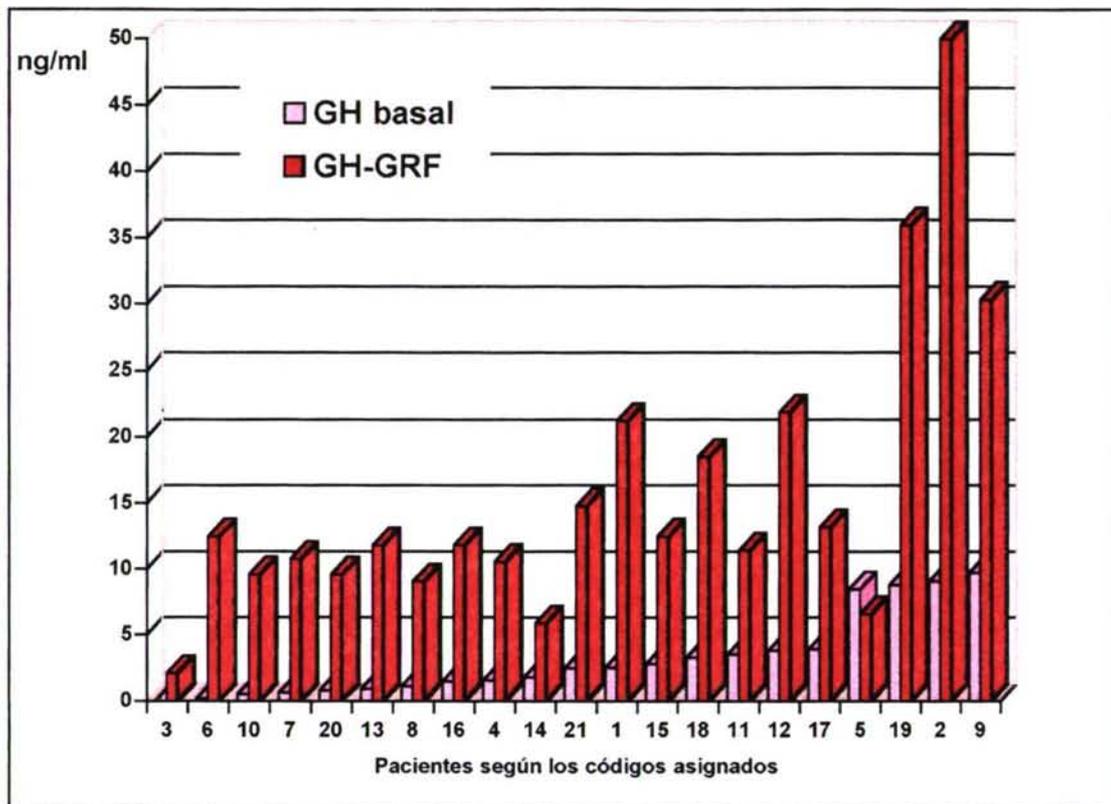


Figura 16. Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la segunda prueba en la primera fase experimental.

sujetos estudiados, incremento que se hace mucho más evidente en los sujetos con los códigos 1 (21,23 ng/ml), mujer de 50 años de edad; 12 (21,90 ng/ml), mujer de 64 años de edad; 19 (35,95 ng/ml), mujer de 70 años de edad; 2 (más de 50 ng/ml), mujer de 50 años de edad y 9 (30,35 ng/ml), que corresponde también a una mujer de 64 años de edad.

Con respecto a la paciente, cuyas cifras tras la estimulación con 100

mcg de **GHRH** se disparan por encima de 50, decir que el aparato de medición establece como umbral máximo de medición esta cifra.

### 3ª prueba de la 1ª fase experimental.-

#### Determinación GH basal.-

Los valores de la **hormona del crecimiento** obtenidos en condiciones basales durante la tercera

prueba, podemos observarlos en la **tabla 16**.

Estos han estado comprendidos entre 0,03 ng/ml y 13,50 ng/ml, con un valor medio de 3,67 ng/ml y una desviación típica de 3,90.

El valor mínimo (0,03 ng/ml) correspondió a un varón de 50 años de edad y el máximo (13,50) a una mujer de 53 años de edad.

Estando comprendidos el 66,7% entre 0,03 y 4,58 ng/ml, el 90,5% por debajo de 8 y únicamente dos casos, uno con 11,13 ng/ml y otro con 13,50 ng/ml superaron los 10 ng/ml.

#### **Determinación GH tras la estimulación con clonidina.-**

0,03	0,80	5,70
0,10	0,90	6,32
0,14	0,96	6,36
0,15	3	7
0,42	3,20	7,78
0,50	3,92	11,13
0,68	4,58	13,50

*Tabla 16. En la que se observan los valores plasmáticos GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 1ª fase, en condiciones basales.*

Los valores de la **GH** plasmáticos, obtenidos a los 45 minutos, tras la estimulación con 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina** por vía oral podemos observarlos en la **tabla 17**, siendo la media de 1,04 ng/ml, con una desviación típica de 1,12 y un rango de 4.48, para unos valores mínimo de 0.02 y máximo de 4.50 ng.

El valor mínimo (0,02 ng/ml), correspondió a un varón de 59 años de edad, mientras que el máximo (4,50 ng/ml) lo alcanzó una mujer de 64 años de edad.

Observándose de nuevo que la estimulación con **clorhidrato de clonidina** no incrementa los valores

0,02	0,43	1,40
0,09	0,50	2,02
2 X 0,10	0,60	2,10
0,13	2 X 0,80	2,34
0,31	0,90	2,55
0,37	1,34	4,50
0,40		

*Tabla 17. En la que se observan los valores de la GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 1ª fase, a los 45 minutos de estimular al paciente con 0,150 mg de clorhidrato de clonidina.*

de la **GH** plasmática, estando los valores de todos los sujetos estudiados (100%) por debajo de 5 ng/ml, y un 66,7% de ellos por debajo de 1 ng/ml.

#### Determinación de la **GH** tras la estimulación con **GHRH**.-

Los valores de la **GH** obtenidos a los 15 minutos, tras la estimulación intravenosa con 100 mcg de **GHRH**, una vez que el paciente había sido estimulado previamente con 0.150 mg de clorhidrato de **clonidina** por vía oral, podemos observarlos en la **tabla 18**, siendo la media de 6.30 ng/ml con una desviación típica de 5.11 y un rango de 16.43 para unos valores mínimo de 0.84 ng/ml, que correspondieron a una mujer de 66 años de edad y máximo de 17.27 ng/ml, alcanzados por una mujer de 57 años de edad.

En este caso, el 81% de los sujetos reaccionaron a la administración de **GHRH** con incrementos de los valores de **GH** en plasma por debajo de 9 ng/ml, y únicamente tres presentaron valores por encima de 10 ng/ml y que fueron 14,3 ng/ml, en una mujer de 67 años, 16 ng/ml en una mujer de 50 años de edad y 17,27 ng/ml, que como habíamos apuntado

anteriormente los alcanzó una mujer de 57 años.

#### Resultados por paciente en la tercera prueba.-

En la **figura 17**, podemos observar el histograma en el que comparamos los valores plasmáticos de la hormona del crecimiento, de acuerdo al código asignado al paciente y para las tres determinaciones realizadas durante la tercera prueba de la primera fase experimental, es decir, en condiciones basales, a los 45 minutos de estimularlos con **clonidina**, y 15 minutos después de estimularlos con **GHRH** tras preestimarlos con **clonidina**.

0,84	2,96	7,41
1,31	3,10	7,80
1,33	3,94	8,02
1,87	6,10	2 X 14,30
2,11	2 X 6,20	16
2,45	6,23	17,27
2,50		

*Tabla 18. En la que se observan los valores de **GH** (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 1ª fase, a los 15 minutos de estimular al paciente con 100 mcg de **GHRH**, en un paciente previamente tratado con 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina**.*

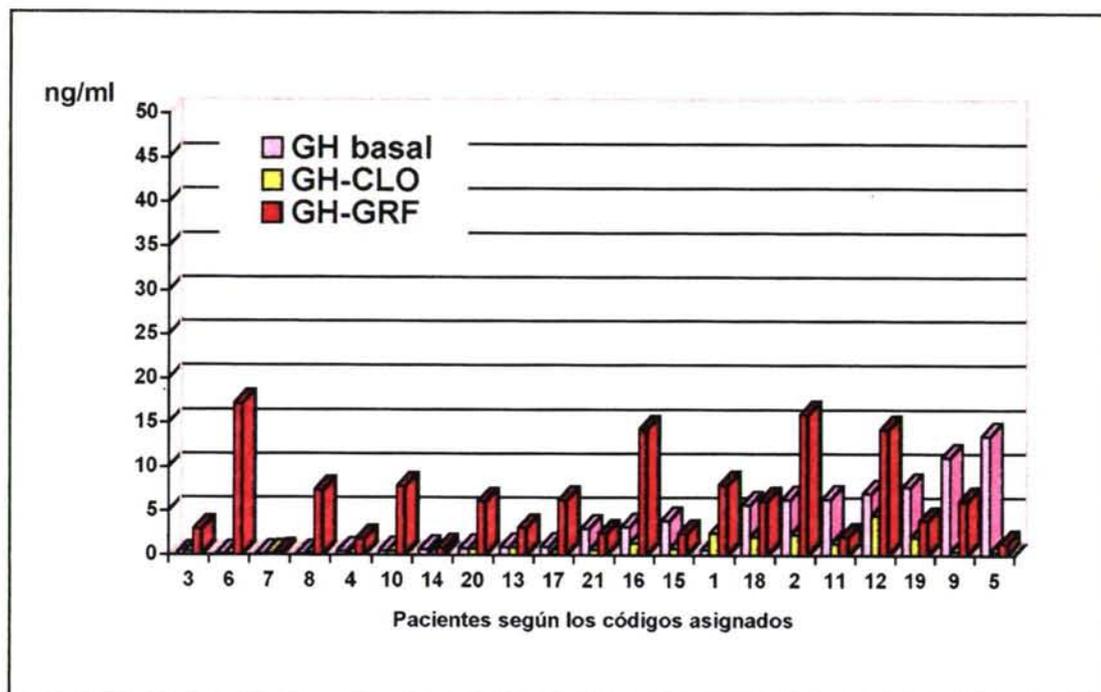


Figura 17. En la que se observan los histogramas de la distribución de frecuencias para los distintos pacientes obtenidos en la tercera prueba de la primera fase experimental.

Observamos gráficamente que la estimulación con clorhidrato de **clonidina**, disminuye la concentración plasmática de **GH** en la mayoría de los pacientes (71,43%), la mantiene igual en el 14,3 % y la aumenta únicamente en tres pacientes, pero de una manera insignificante, de 0,03 ng/ml a 0,40 ng/ml; de 0,10 ng/ml a 0,13 ng/ml y de 0,15 ng/ml a 0,31 ng/ml.

Tras la estimulación con la **GHRH** exógena, se incrementan los valores

de **GH** plasmática en la mayoría de los pacientes por encima de los valores que habíamos obtenido en condiciones basales, pero aparecen valores menores que los basales en varios pacientes (28,57%), objetivándose un caso, el marcado con el código 5, que correspondía a una mujer de 51 años, en la que sus valores de **GH** plasmática que en condiciones basales eran de 13,50 ng/ml, pasaron al administrar **clonidina** a 0,37 ng/ml, y posteriormente tras la administración de

**GHRH** exógena solo se incrementaron hasta 1,31 ng/ml, resultado que aboga la tesis de la inhibición de la liberación de **GH** por parte de la **clonidina**, incluso incrementando el periodo refractario a la modulación con **GHRH** exógena.

#### 4.1.2. Estadística analítica de los resultados de la primera fase experimental.-

La totalidad de los valores de la concentración de **GH** en plasma podemos observarlos en la **tabla 19**.

En la primera prueba y tras estimulación con 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina**, los niveles basales que teníamos de la hormona del crecimiento disminuyen de manera significativa ( $p < 0.01$ ), pasando de una media de 3,03 ng/ml a una media de 1,18 ng/ml.

En la segunda prueba, los niveles de **GH** tras la estimulación con **GHRH** y como era de esperar se incrementaron de manera significativa ( $p < 0.01$ ), pasando de unos valores medios basales de 3,22 ng/ml a unos valores medios de 16,64 ng/ml después de la estimulación

Por último, en la tercera prueba, se

ha tratado de comprobar la respuesta de la hormona del crecimiento a la estimulación con 100 mcg de **GHRH**, tras haber realizado preestimulación con 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina**, observando que la respuesta de los niveles de **GH** plasmática, a los 45 minutos de administrar **clonidina** disminuye de manera significativa ( $p < 0.01$ ) a unos niveles medios de 1,04 ng, menores que los basales previos (3,68 ng/ml). Además tras la estimulación hipofisaria con **GHRH**, habiendo realizado preestimulación hipotálamica con **clorhidrato de clonidina**, no se aprecian resultados significativos, habiendo sido menor la respuesta (6,30 ng/ml) que la obtenida en la segunda prueba sin haber hecho pretratamiento con la estimulación con 100 mcg de **GHRH** (16,64 ng/ml).

En la **figura 15**, podemos observar el histograma comparativo de las medias de las concentraciones plasmáticas de **GH** obtenidas durante las tres pruebas de la primera fase experimental. En ella observamos que los valores obtenidos tras la estimulación con **GHRH** son máximos cuando se administra aisladamente, mientras que no son mayores cuando

administramos previamente **clonidina**.

De manera global y tomando la media (3,31+/- 3,17)) de las tres determinaciones basales, obtenidas en las

1ª prueba		2ª prueba		3ª prueba		
GH basal	GH-clon.	GH-basal	GH-GHRH	GH-basal	GH-clon.	GH-GHRH
0,01	0,03	0,01	2,11	0,03	0,40	2,96
0,10	0,19	1,79	5,29	0,68	0,09	0,84
0,43	0,10	1,58	10,56	0,42	0,10	1,87
0,45	0,50	0,18	12,46	0,10	0,13	17,27
0,50	0,30	0,80	9,60	0,80	0,80	6,10
0,57	0,48	0,63	10,76	0,14	0,02	1,33
0,60	0,40	0,50	9,60	0,50	0,50	7,80
1,20	0,70	0,90	11,80	0,90	0,90	3,10
1,68	2,11	1,11	9,07	0,15	0,31	7,41
1,77	0,64	2,81	12,47	3,92	0,80	2,45
2,08	0,54	8,81	35,95	7,78	2,02	3,94
2,31	1,57	9,09	> 50	6,32	2,34	16
2,80	0,90	3,30	18,50	5,70	2,10	6,20
3,70	2,81	2,54	21,23	4,58	2,55	8,02
3,77	1,34	3,95	13,16	0,96	0,10	6,23
4	2,50	1,50	11,80	3,20	1,40	14,30
4,70	1,20	2,50	14,80	3	0,60	2,50
5,10	1,60	3,80	21,90	7	4,50	14,30
6,64	2,72	3,52	11,49	6,36	1,34	2,11
8,05	1,98	9,73	30,35	11,13	0,43	6,20
13,11	2,14	8,47	26,60	13,50	0,37	1,31
Medias						
3,02	1,18	3,21	16,64	3,67	1,04	6,30

Tabla 19. En la que se observan los valores de GH plasmáticos (de menor a mayor) obtenidos en cada una de las pruebas realizadas durante la primera fase experimental.

tres pruebas realizadas de la GH plasmática, observamos que sus valores disminuyen de manera significativa ( $p < 0.01$ ) cuando los comparamos con la media ( $1,10 \pm 0,84$ ) de las dos determinaciones de la GH plasmática, que hemos obtenido en las pruebas primera y tercera cuando hacemos pretratamiento con **clorhidrato de clonidina**.

#### 4.1.3. Estadística descriptiva de las variables de la 2ª fase experimental.-

##### Edad.-

La edad media de los 16 sujetos que han sido sometidos al estudio en esta segunda fase experimental ha sido de 64 años.

El rango estuvo comprendido entre 50 años, que tenía el sujeto de menos edad y que era una mujer y 74 años que tenía el de más edad, que tam-

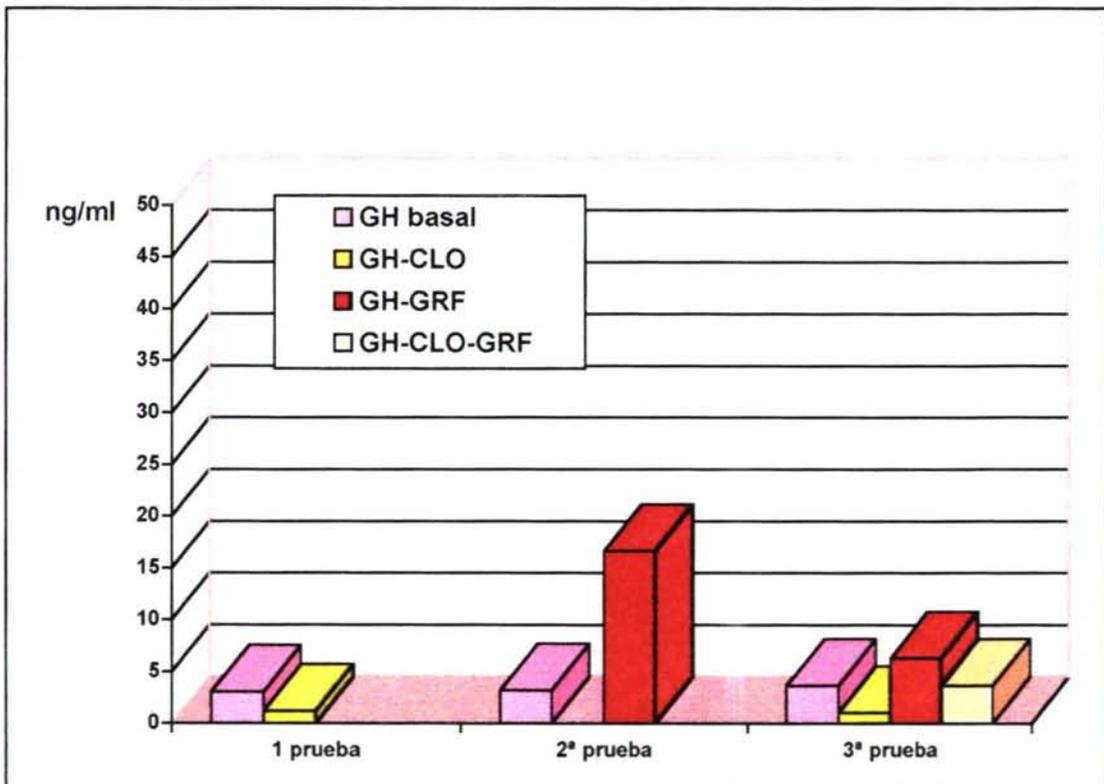


Figura 18. Histograma representativo de las medias de las concentraciones plasmáticas de GH durante la primera fase experimental.

bién era una mujer. Teniendo dos sujetos en el momento del estudio 62 años (12,50%), tres 65 (18,75%) y tres 67 años (18,75%), como podemos observar en la tabla (**tabla 20**).

La desviación típica de la edad de los sujetos estudiados fue de 7.03.

#### Sexo.-

Sobre el total de 16 individuos, 1 fue varón (6,3%) y 15 fueron mujeres (93,8%) como podemos observar en la **tabla 21**.

El único varón sometido al estudio en esta fase experimental, tenía 62

EDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
50	1	6,25
51	1	6,25
54	1	6,25
62	2	12,50
63	1	6,25
65	3	18,75
67	3	18,75
69	1	6,25
71	1	6,25
72	1	6,25
74	1	6,25
	<b>16</b>	<b>100</b>

**Tabla 20.** Distribución de la muestra según la edad de los sujetos estudiados.

años de edad, mientras que de las mujeres, la de menor edad tenía 50 años y la de más 74.

#### Peso.-

El peso medio de los sujetos estudiados fue de 63,94 kg., estando comprendido en un rango de 20 kg., pesando el que más 72 kg. y el que menos 52 kg. (**tabla 22**), para una desviación típica de 5.64.

#### Talla.-

La estatura media de los individuos fue de 159.5 cm, con un rango de 25 y una altura máxima de 170 y mínima de 145 cm, para una desviación típica de 7.21.

En la **tabla 23** podemos observar la distribución de los individuos estudiados según su talla, así como las frecuencias y porcentajes que

SEXO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Varón	1	6,3
Mujer	15	93,8

**Tabla 21.** Distribución de la muestra según el sexo

representan.

### Índice de Masa Corporal.-

El índice de Quetelet medio fue de 25.17, con una desviación típica de 2.12 y unos valores máximo de 28.54 y mínimo de 21.93 (tabla 24).

El 50.5% de los sujetos estudiados tenían un **índice de Quetelet** comprendido entre 20 y 24, mientras que el resto de ellos (49,5%) lo tenían dentro del grupo comprendido entre 25 y 29.

TALLA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
145	1	6,25
150	2	12,50
154	1	6,25
155	1	6,25
156	1	6,25
160	3	18,75
163	1	6,25
165	3	18,75
167	2	12,50
170	1	6,25
	<b>16</b>	<b>100</b>

Tabla 23. Distribución de la muestra según la talla.

PESO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
52	1	6,25
54	1	6,25
60	2	12,50
62	1	6,25
63	1	6,25
64	2	12,50
65	3	18,75
66	1	6,25
69	1	6,25
70	1	6,25
72	2	12,50
	<b>16</b>	<b>100</b>

Tabla 22. Distribución de la muestra según el peso.

### 1ª prueba de la 2ª fase experimental.-

#### Determinación GH basal.-

Los valores de la **hormona del crecimiento** obtenidos en condiciones basales durante la primera prueba, podemos observarlos en la **tabla 25**.

Vemos que se encuentran comprendidos entre 0.17 ng/ml, para una mujer de 65 años y un B.M.I. por encima de 25 (25,78) y 11 ng/ml, para otra mujer, también de 65 años

B.M.I.	FRECUENCIA	PORCENTAJE
21,93	1	6,25
22,15	1	6,25
23,31	1	6,25
23,34	1	6,25
23,44	1	6,25
23,88	1	6,25
24	1	6,25
24,74	1	6,25
25,71	1	6,25
25,78	1	6,25
26,30	1	6,25
26,45	1	6,25
27,06	1	6,25
28	1	6,25
28,12	1	6,25
28,54	1	6,25
	<b>16</b>	<b>100</b>

Tabla 24. Distribución de la muestra según el B.M.I.

y con un B.M.I. por debajo de 25 (22,15).

El valor medio de las determinaciones de la **hormona del crecimiento** en condiciones basales ha sido de 4.15 ng/ml, con una desviación típica de 3.19.

0,17	4,50
0,47	5,10
0,73	5,20
1,70	5,80
1,90	6
2,10	7,30
2,30	9,30
2,90	11

Tabla 25. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la primera prueba de la 2ª fase, en condiciones basales.

#### Determinación de la GH tras la estimulación con GHRH .-

Los valores de la GH obtenidos a los 15 minutos, tras la estimulación intravenosa con 100 mcg de **GHRH** podemos observarlos en la **tabla 26**.

Observamos que se hayan comprendidos entre 0,65 ng/ml, en una mujer de 65 años con un B.M.I. de más de 25 (25,78), y 30 ng/ml, para el varón de 62 años, cuyo B.M.I. fue de más de 25 (26,30).

La media de los valores de **GH** plasmática, medida en condiciones basales, fué de 12.48 ng/ml., con una desviación típica de 7.79 y un rango de 29.35 ng/ml.

### Resultados conjuntos de la primera prueba de la 2ª fase experimental.-

Los resultados obtenidos durante la primera prueba de la segunda fase experimental podemos observarlos en la **figura 19**, en ella aparecen los histogramas de frecuencias para las concentraciones de **GH** plasmática en condiciones basales y de **GH** tras la estimulación con **GHRH** exógena, de manera comparativa, según cada sujeto estudiado marcado por un código.

Observamos en ella, que el 100% de los sujetos sometidos al estudio responden con incrementos de la **GH** plasmática tras la estimulación, su-

0,65	11,10
3,60	12,10
4,10	14,80
5	15,70
8,90	17,80
10	21,80
10,80	22,50
10,90	30

*Tabla 26. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la primera prueba de la 2ª fase, a los 15 minutos de estimular al paciente con 100 mcg de GHRH.*

perando el 68,75% de ellos valores de 10 ng/ml, y alcanzando la altura máximo el paciente con el código número 14, que es precisamente el varón al que aludíamos anteriormente, mientras que la respuesta del paciente marcado con el código 7, apenas presenta representación gráfica de sus niveles, ya que estos fueron muy bajos, tanto en condiciones basales (0,17 ng/ml), como tras la estimulación (0,65 ng/ml).

### 2ª prueba de la 2ª fase experimental.-

#### Determinación GH basal.-

Los valores de la **hormona del crecimiento** obtenidos en condiciones basales durante la segunda prueba, podemos observarlos en la **tabla 27**, donde vemos que se encuentran comprendidos entre 0,15 ng/ml, para una mujer de 65 años, con un B.M.I. superior a 25 (25,78) y 6,90 ng/ml para una mujer de 71 años con un B.M.I. menor de 25 (24).

La media de los valores de **GH** plasmática en condiciones basales fué de 3.12 ng/ml y una desviación típica de 2.46.

### Determinación GH tras la estimulación con clonidina.-

Los valores de la **GH** obtenidos a los 45 minutos, tras la estimulación con 0,150 mg de **clorhidrato de clonidina** por vía oral podemos observarlos en la **tabla 28**, estando comprendidos entre un valor mínimo de 0,17 ng/ml, en una mujer de 65 años con un B.M.I. mayor de 25 (25,78) y máximo de 3,50 ng/ml para una mujer de 62 años, con un B.M.I. menor de 25 (23,44).

La media de las concentraciones plasmáticas de **GH** a los 45 minutos de administrar **clonidina** ha sido de 1.53 ng/ml, con una desviación típica de 1.23 y un rango de 3.33.

### Determinación de la GH tras la estimulación con GHRH.-

Los valores de la **GH** obtenidos a los 15 minutos, tras la estimulación intravenosa con 100 mcg de **GHRH**, una vez que el paciente había sido estimulado previamente con 0.150 mg de clorhidrato de **clonidina** por

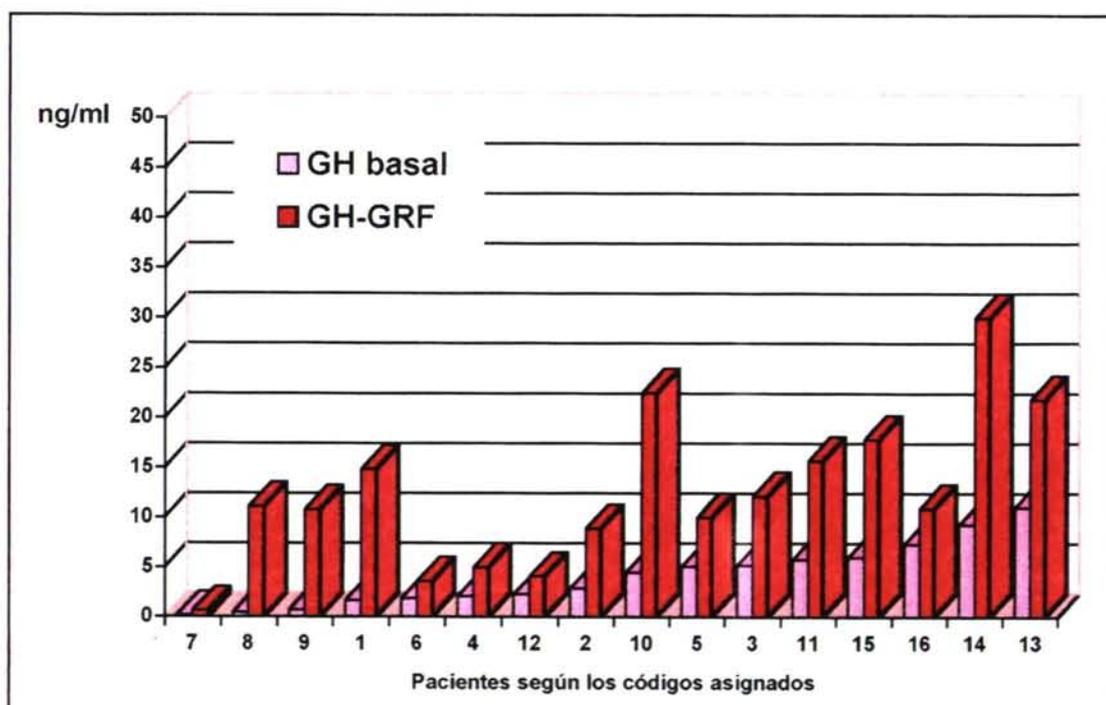


Figura 19. Histograma de frecuencias obtenidos tras la realización de la primera prueba durante la segunda fase experimental.

0,15	3,30
0,16	4,40
0,55	4,50
1,30	6
1,90	6,30
2	6,90

Tabla 27. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la segunda prueba de la 2ª fase, en condiciones basales.

0,17	1,20
0,19	1,70
0,46	2,50
0,71	2,90
0,77	3,30
1	3,50

Tabla 28. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la segunda prueba de la 2ª fase, a los 45 minutos de estimular al paciente con 0,150 mg de clorhidrato de clonidina.

vía oral, podemos observarlos en la **tabla 29**.

La media obtenida ha sido de 6.69 ng/ml, con una desviación típica de 7.47 y un rango de 27.70 para unos valores mínimos de 1 ng/ml para un paciente, de 67 años de edad y del sexo femenino, con un B.M.I. mayor de 25 (27,06) y máximo de 27,70 ng/ml en una mujer de 62 años, con un B.M.I. menor de 25 (23,44).

#### **Resultados obtenidos tras la estimulación con clonidina y GHRH.-**

Los valores medios de la suma de los resultados obtenidos con la estimulación de **clonidina** y **GHRH** podemos observarlos en la **tabla 30**, en ella vemos que la media ha sido de 4.36 ng/ml, la desviación típica de

4.28 y el rango de 14.87, para unos valores mínimo de 0.74 ng/ml en una mujer de 65 años con un B.M.I. mayor de 25 (25,78) y máximo de 15.60 ng/ml en la misma mujer que ya dió los valores máximos en la estimulación con **GHRH** exógena.

#### **Resultados globales de la 2ª prueba de la 2ª fase experimental.-**

En la **figura 20** podemos observar el histograma de frecuencias de los resultados obtenidos con respecto a los valores de **GH** plasmática durante la segunda prueba, es decir: en condiciones basales; a los 45 minutos de estimular al paciente con **clonidina**; a los 15 minutos de estimular al paciente con **GHRH**, una vez que había sido estimulado

con **clonidina**; y por último los resultados obtenidos de la media de los valores de **GH** a los 45 minutos de dar **clonidina** y a los 15 de administrar **GHRH** para cada paciente.

Observamos en ella, que los mayores picos de **GH** en plasma se obtienen tras la estimulación con **GHRH** exógena, sobre todo en el paciente marcado con el código 10, en él, aunque su **GH** plasmática en condiciones basales era muy baja (0,55 ng/ml), su respuesta a la **clonidina** fue positiva (3,50 ng/ml) y sobre todo lo fue cuando le administramos a los 15 minutos **GHRH**, ya que los niveles de **GH** plasmáticos se elevaron hasta 27,70 ng/ml.

Pero en general, los histogramas re-

presentativos de la estimulación con **clonidina** alcanzan un pico menor (75%) que el alcanzado en condiciones basales (25%), superándose únicamente en un caso (código 10) los valores que se habían obtenido con la estimulación de **GHRH** en la primera prueba de esta fase (22,50 ng/ml), tras la preestimulación con **clonidina** (27,70 ng/ml).

### 3ª prueba de la 2ª fase experimental.-

#### Determinación GH basal.-

Los valores de la hormona del crecimiento obtenidos en condiciones basales durante la tercera prueba de la 2ª fase experimental,

1	6,80
1,30	7,90
2,10	10,10
2,20	10,30
2,50	11,50
2,90	27,70

Tabla 29. En la que se observan los valores de **GH** (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la segunda prueba de la 2ª fase, a los 15 minutos de estimular al paciente con 100 mcg de **GHRH**.

0,74	4,25
0,86	4,34
1,20	6,40
1,55	6,50
1,68	7,40
1,85	15,60

Tabla 30. En la que se observan los valores de **GH** (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la segunda prueba de la 2ª fase, una vez sumados los valores obtenidos mediante la estimulación con 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina** y 100 mcg de **GHRH**.

podemos observarlos en la **tabla 31**.

Éstos estuvieron comprendidos entre 0.32 ng/ml para una mujer de 65 años con un B.M.I. mayor de 25 (25,78) 7.10 ng/ml, para una mujer de 69 años, con un B.M.I. mayor de 25 (28,12).

El valor medio fué de 3.56 ng/ml y la desviación típica de 2.05.

#### Determinación GH tras la estimulación con yohimbina.-

Los valores de la **GH** obtenidos a los 45 minutos, tras la estimulación con 15 mg de yohimbina por vía oral podemos observarlos en la **tabla 32**, donde vemos que el valor máximo es de 3 ng/ml, y lo alcanza una mujer de 71 años con un B.M.I. menor de 25 (24) y el mínimo de 0,07 ng/ml que aparece en una mujer de 67 años con un B.M.I. mayor de 25 (27,06).

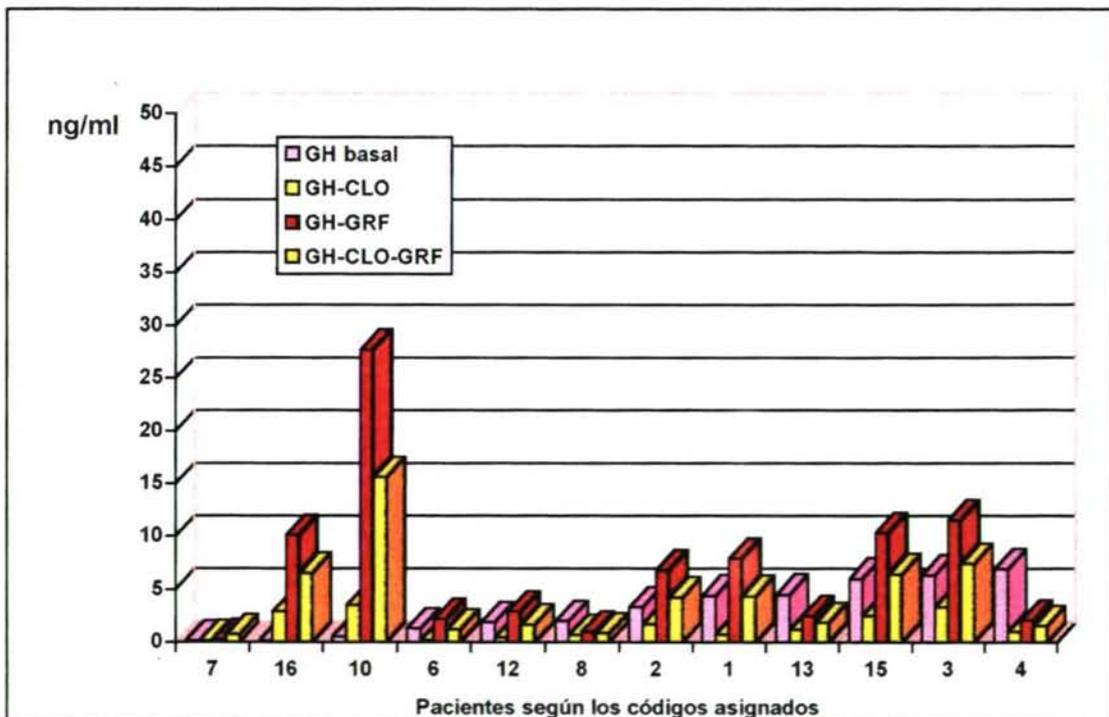


Figura 20. Histograma de los valores de la GH obtenidos durante la realización de la segunda prueba de la segunda fase experimental.

0,32	3,90
0,52	4
0,89	4,10
2,90	5,30
3	5,40
3,10	6,30
3,50	7,10

Tabla 31. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 2ª fase, en condiciones basales.

La media de los valores fué de 1.12 ng/ml, con una desviación típica de 0.91 y un rango de 2.93.

#### Determinación de la GH tras estimulación con GHRH.-

Los valores de la GH obtenidos a los 15 minutos, tras la estimulación intravenosa con 100 mcg de GHRH, una vez que el paciente había sido estimulado previamente con 15 mg de yohimbina por vía oral, podemos observarlos en la tabla 33, en ella aparece un valor mínimo de 0,11 ng/ml, correspondiente a una mujer de 65 años y un B.M.I. superior a 25 (25,78).

La media de los valores de GH plasmáticos obtenida fué de 1.61 ng/ml, con una desviación típica de 1.18 y

un rango de 4.49.

#### Resultados obtenidos tras la estimulación con yohimbina y GHRH.-

Los valores medios de la suma de los resultados obtenidos con la estimulación de yohimbina y GHRH podemos observarlos en la tabla 34, en ella vemos que la media de los resultados obtenidos ha sido de 1.36 ng/ml, la desviación típica de 0.89 y el rango de 3.14, para unos valores mínimo de 0.11 ng/ml, obtenidos en una mujer de 65 años con un B.M.I. superior a 25 (25,78) y máximo de 3.25 ng/ml, obtenidos en una mujer de 71 años, con un B.M.I. de 24..

0,07	1,10
0,11	1,30
0,18	1,60
0,39	2
0,54	2,60
0,75	3
0,87	

Tabla 32. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 2ª fase, a los 45 minutos de estimular al paciente con 15 mg de yohimbina.

### Resultados 3ª prueba.-

Los resultados globales de la tercera prueba de esta fase, podemos observarlos en la **figura 21**, en ella aparecen los valores de la **GH** obtenidos en condiciones basales, a los 45 minutos tras la estimulación con 15 mg de clorhidrato de yohimbina; a los 15 minutos de administrar 100 mcg de **GHRH** en los pacientes previamente tratados con yohimbina; y por último los valores medios resultantes de sumar los obtenidos tras la estimulación con **clonidina** y con **GHRH**.

Al observar la gráfica, se destaca que ninguno de los histogramas supera los niveles correspondientes a 7,5

ng/ml, estando la mayor parte de ellos con niveles inferiores a 5 ng/ml, prueba del efecto inhibitor que sobre la liberación de **GH** ejerce el antagonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico.

### 4ª prueba de la 2ª fase experimental.-

#### Determinación GH basal.-

Los valores de la hormona del crecimiento obtenidos en condiciones basales durante la cuarta prueba, podemos observarlos en la **tabla 35**, estando comprendidos entre 0.08 ng/ml para una mujer de 65 años con un B.M.I. superior a 25

0,11	1,11
0,54	1,14
0,79	1,35
0,87	1,70
0,98	2,20
1,02	2,95
1,09	3,25

Tabla 33. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 2ª fase, a los 15 minutos de estimular al paciente con 100 mcg de GHRH.

0,11	1,50
0,62	1,60
0,68	1,80
0,85	2,20
0,98	3,50
1,30	4,60
1,40	

Tabla 34. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la tercera prueba de la 2ª fase, una vez sumados los valores obtenidos mediante la estimulación con 15 mg de yohimbina y 100 mcg de GHRH.

(25,78) y 5.40 ng/ml, para una mujer de 69 años con un B.M.I. superior a 25 (28,12).

La media de los valores obtenidos ha sido de 3.09 ng/ml y la desviación típica de 1.64.

**Determinación GH tras la estimulación con propranolol.-**

Los valores de la GH obtenidos a los 45 minutos, tras la estimulación con 20 mg de propranolol por vía oral podemos observarlos en la tabla 36,

siendo la media de 1.17 ng/ml, la desviación típica de 1.35 y el rango de 5.2

El valor mínimo obtenido ha sido de 0.20 ng/ml en en una mujer de 67 años con un B.M.I. mayor de 25 (27,06) y máximo de 5.4 ng/ml en una mujer de 69 años con un B.M.I. de 28,12.

**Determinación de la GH tras la estimulación con GHRH.-**

Los valores de la GH obtenidos a los

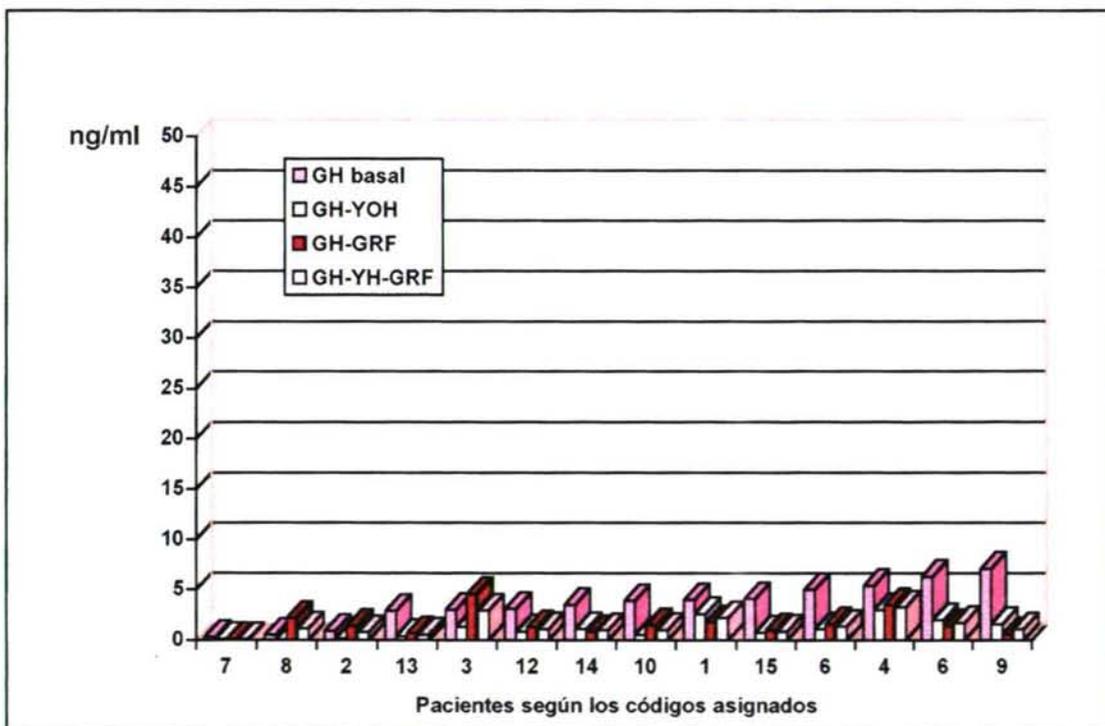


Figura 21. Histograma de frecuencias en el que se observan los valores de GH obtenidos durante la 3ª prueba de la 2ª fase experimental.

15 minutos, tras la estimulación intravenosa con 100 mcg de **GHRH**, una vez que el paciente había sido estimulado previamente con 20 mg de **propranolol** por vía oral, podemos observarlos en la **tabla 37**, siendo la media obtenida de 5.65 ng/ml, con una desviación típica de 3.39 y un rango de 11.6 para unos valores mínimos de 2.3 ng/ml obtenidos en una mujer de 65 años con un B.M.I. de 25,78 y máximos de 13.9 ng/ml obtenidos en el varón de 62 años y cuyo B.M.I. fue de 26,30.

**.Resultados obtenidos tras la estimulación con propranolol y GHRH.-**

Los valores medios de la suma de los resultados obtenidos con la estimulación de **propranolol** y **GHRH**

0,08	3,20
1,10	3,50
1,20	4,10
1,80	3 X 4,50
2,20	4,80
2,40	5,40

*Tabla 35. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la cuarta prueba de la 2ª fase, en condiciones basales.*

podemos observarlos en la **tabla 38**. En ella vemos que la media de los resultados ha sido de 3.25 ng/ml, la desviación típica de 1.81 y el rango de 6.3.

El valor mínimo obtenido fue de 1.25 ng/ml en una mujer de 65 años con un B.M.I. de 25,78 y el máximo de 7.55 ng/ml obtenido en el varón, único sujeto de esta fase experimental perteneciente al sexo masculino.

**Resultados de 4ª prueba de la 2ª fase experimental.-**

Los resultados globales de la cuarta prueba de esta fase, podemos observarlos en la **figura 22**. En ella se incluyen los histogramas referidos a las determinaciones de **GH** plasmática basal; las referidas a la **GH**, a los

0,20	0,92
0,29	1,10
0,42	1,20
0,49	1,30
0,80	2,40
0,85	5,40

*Tabla 36. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la cuarta prueba de la 2ª fase, a los 45 minutos de estimular al paciente con 20 mg de propranolol.*

2,30	5,50
2,50	6,30
2,70	7
3	8,50
3,50	9,50
3,90	13,90
4,90	

Tabla 37. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la cuarta prueba de la 2ª fase, a los 15 minutos de estimular al paciente con 100 mcg de GHRH.

1,25	3,80
1,45	3,93
1,65	3,95
1,80	4,71
2,15	5
2,35	7,55
2,66	

Tabla 38. En la que se observan los valores de GH (de menor a mayor y de arriba abajo), obtenidos en la cuarta prueba de la 2ª fase, una vez sumados los valores obtenidos mediante la estimulación con 20 mg de propranolol y 100 mcg de GHRH.

45 minutos de haber estimulado al paciente con 20 mg de clorhidrato de **propranolol**; las obtenidas a los 15 minutos de administrar **GHRH**, una vez que el paciente había sido preestimulado con clorhidrato de **propranolol**; y por último las referidas al valor medio de la suma de los valores obtenidos de la **GH** plasmática para la estimulación con **clonidina** y con **propranolol**.

Como se observa, los picos máximos se obtienen cuando se estimula al sujeto con **GHRH** exógeno, pero los máximos alcanzados, aunque están por encima de los niveles de **GH** medidos en condiciones basales, no son superiores a los obtenidos cuando únicamente estimulamos al individuo con **GHRH** exógena, además,

se observa que la estimulación con un beta-bloqueante (**propranolol**), disminuye los valores de **GH** en plasma en el 85,71% de los casos, en uno se mantiene constante (código 9) y en otro aumenta, aunque de manera poco significativa, pasando de 0,08 ng/ml a 0,20 ng/ml (código 7)

#### 4.1.4. Estadística analítica de la 2ª fase experimental.-

Los resultados globales obtenidos en la segunda fase experimental, podemos observarlos en la **tabla 39**.

En la primera prueba, tras la estimulación i.v. con 100 mcg de **GHRH**, los niveles de **GH** plasmáticos

registrados a los 15 minutos se incrementaron significativamente ( $p < 0.01$ ) como era de esperar, pasando de unos valores medios de 4,15 ng/ml a unos valores medios de 12,48 ng/ml; en la segunda prueba, los valores de **GH** registrados a los 45 minutos de administrar 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina** disminuyeron significativamente ( $p < 0.05$ ) por debajo de los umbrales basales, pasando de unos valores medios de 3,12 ng/ml a unos valores

medios de 1,53 ng/ml, resultados que difieren de los anteriormente publicados que establecían un incremento de los valores de **GH** tras la preestimulación con **clonidina**, incrementándose estos de manera no significativa, a los 15 minutos de administrar **GHRH** (6,64 ng/ml), aunque por debajo de los niveles obtenidos en la primera prueba cuando administrábamos únicamente **GHRH** (12,48 ng/ml), lo cual también difiere de los resultados publicados anteriormente que establecen un incremento de los valores de **GH** cuando

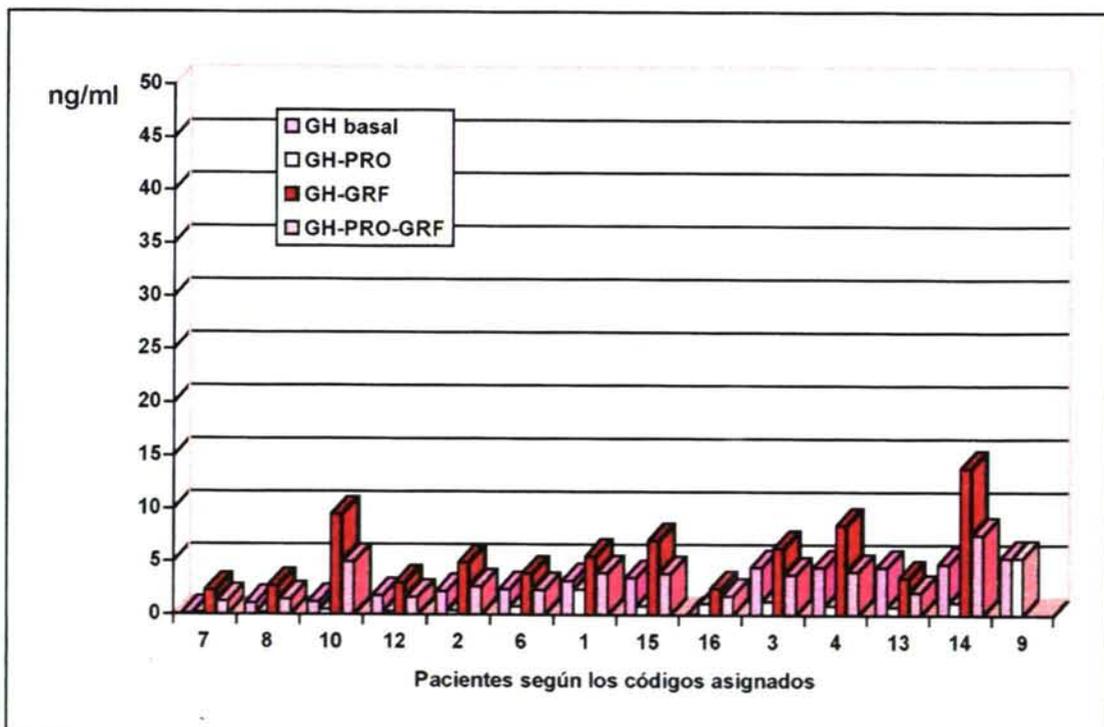


Figura 22. Histograma de representativo de las concentraciones de Gh obtenidas durante la realización de la cuarta prueba de la segunda fase experimental.

1ª prueba		2ª prueba				3ª prueba				4ª prueba			
GH basal	GH-GHRH	GH basal	GH clon.	GH-GHRH	GH-clon-GHRH	GH basal	GH-yoh.	GH-GHRH	GH-yoh-GHRH	GH basal	GH-prop.	GH-GHRH	GH-prop-GHRH
0,17	0,65	0,15	0,17	1,30	0,74	0,32	0,11	0,11	0,11	0,08	0,20	2,30	1,25
0,47	11,10	2	0,71	1	0,86	0,52	0,07	2,20	1,14	1,10	0,20	2,70	1,45
0,73	10,80	-	-	0	-	7,10	1,60	0,62	1,11	5,40	5,40	-	-
1,70	14,80	4,40	0,77	7,90	4,34	4	2,60	1,80	2,20	3,20	2,40	5,50	3,95
1,90	3,60	1,30	0,19	2,20	1,20	6,30	2	1,40	0,79	2,20	0,42	4,90	2,66
2,10	5	6,90	1	2,10	1,55	5,40	3	3,50	3,25	4,50	0,92	8,50	4,71
2,30	4,10	1,90	0,46	2,90	1,68	3,10	0,87	1,30	1,09	1,80	0,29	3	1,65
2,90	8,90	3,30	1,70	6,80	4,25	0,89	0,18	1,40	1,70	2,40	0,80	3,90	2,35
4,50	22,50	0,55	3,50	27,70	15,60	3,90	0,54	1,50	1,02	1,20	0,49	9,50	5
5,10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5,20	12,10	6,30	3,30	11,50	7,40	3	1,30	4,60	2,95	4,50	1,30	6,30	3,80
5,80	15,70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	17,80	6	2,50	10,30	6,40	4,10	0,75	0,98	0,87	3,50	0,85	7	3,93
7,30	10,90	0,16	2,90	10,10	6,50	5,30	1,10	1,60	1,35	4,10	1,10	2,50	1,80
9,30	30	-	-	-	-	3,50	1,10	0,85	0,98	4,80	1,20	13,90	7,55
11	21,80	4,50	1,20	2,50	1,85	2,90	0,39	0,68	0,54	4,50	0,80	3,50	2,15
<b>Medias</b>													
4,15	12,48	3,12	1,53	6,64	4,36	3,59	1,15	1,61	1,36	3,10	1,17	5,65	3,25

Tabla 39. Resultados globales 2ª fase experimental.

se hace preestimulación con **clonidina** al administrar **GHRH** con respecto a los obtenidos al administrar únicamente **GHRH**; en la tercera prueba, los niveles de **GH** plasmáticos obtenidos a los 45 minutos de estimular al individuo con 15 mg de yohimbina son significativamente

( $p < 0.01$ ) más bajos que los basales, debido al bloqueo de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos hipotálamicos, que cursan con un incremento en la liberación de somatostatina hipotálica, causante de esa disminución de los valores de **GH**, hecho en el que coincidimos con la

bibliografía al respecto, así como conque a los 15 minutos de administrar 100 mcg de **GHRH** en un individuo previamente tratado con 15 mg de yohimbina, los valores de **GH** continúan significativamente ( $p < 0.01$ ) por debajo de los valores basales (1,61 ng/ml), en relación al efecto de estimulación de somatostatina por la yohimbina, datos con los que coincidimos con las publicaciones al respecto, estando la media de las sumas de la respuesta de yohimbina y **GHRH** juntas (1,36) significativamente ( $p < 0.05$ ) por debajo de los niveles basales plasmáticos de **GH** (3,59); por último, en la cuarta prueba, los valores medios de **GH** plasmáticos (3,10 ng/ml), disminuyen significativamente ( $p < 0.01$ ) en el registro realizado a los 45 minutos de administrar 20 mg de **propranolol** (1,17 ng/ml), debido al efecto beta-bloqueante de este fármaco, que produce un incremento de la liberación de somatostatina hipotalámica, como ha sido demostrado en las diversas publicaciones revisadas, estando los valores de **GH** plasmática obtenidos al administrar **GHRH**, una vez preestimulado el individuo con **propranolol**, significativamente

( $p < 0.05$ ) por encima (5,65 ng/ml) de los niveles basales de **GH** (3,10 ng/ml), pero por debajo de los niveles alcanzados cuando únicamente utilizamos **GHRH** (12,48 ng/ml), lo cual indica que la potencia liberadora de somatostatina, o lo que es lo mismo su capacidad inhibitoria de liberación de la **GH**, por parte del **propranolol** es inferior a la alcanzada por la yohimbina. Por último la suma de los valores medios alcanzados con la estimulación de **propranolol** y **GHRH** (3,25 ng/ml) no es significativa, siendo similar a las cifras basales de **GH** plasmática.

Las medias de las concentraciones plasmáticas de **GH** obtenidas durante cada una de las pruebas de esta segunda fase experimental, podemos observarlas en la **figura 23**, donde se observa que la mayor respuesta obtenida a la estimulación exógena con **GHRH** es cuando esta se administra aisladamente, siendo en los otros supuestos siempre más baja.

#### 4.1.5. Resultados conjuntos de ambas fases experimentales.-

La estimulación de la liberación de

**GH** por la hipófisis ha respondido a la estimulación por parte de la **GHRH** exógena, aumentando de una manera significativa, tanto en el primer experimento ( $p < 0.01$ ) como en el segundo ( $p < 0.01$ ).

Los resultados de los valores de la **GH** plasmática, obtenidos tras la estimulación con 0,150 mg de clorhidrato de **clonidina** en ambas fases han sido significativamente ( $p < 0.01$ ) más bajos que los obtenidos

en condiciones basales.

La **clonidina** dada previamente, no modificó de manera significativa la respuesta de la **GH** plasmática a la **GHRH** exógena.

El clorhidrato de yohimbina, administrado a los pacientes, disminuyó significativamente la liberación de **GHRH**, tanto cuando fue dada sola ( $p < 0.01$ ) como seguida de **GHRH** exógena ( $p < 0.01$ ), mientras que aunque el clorhidrato de

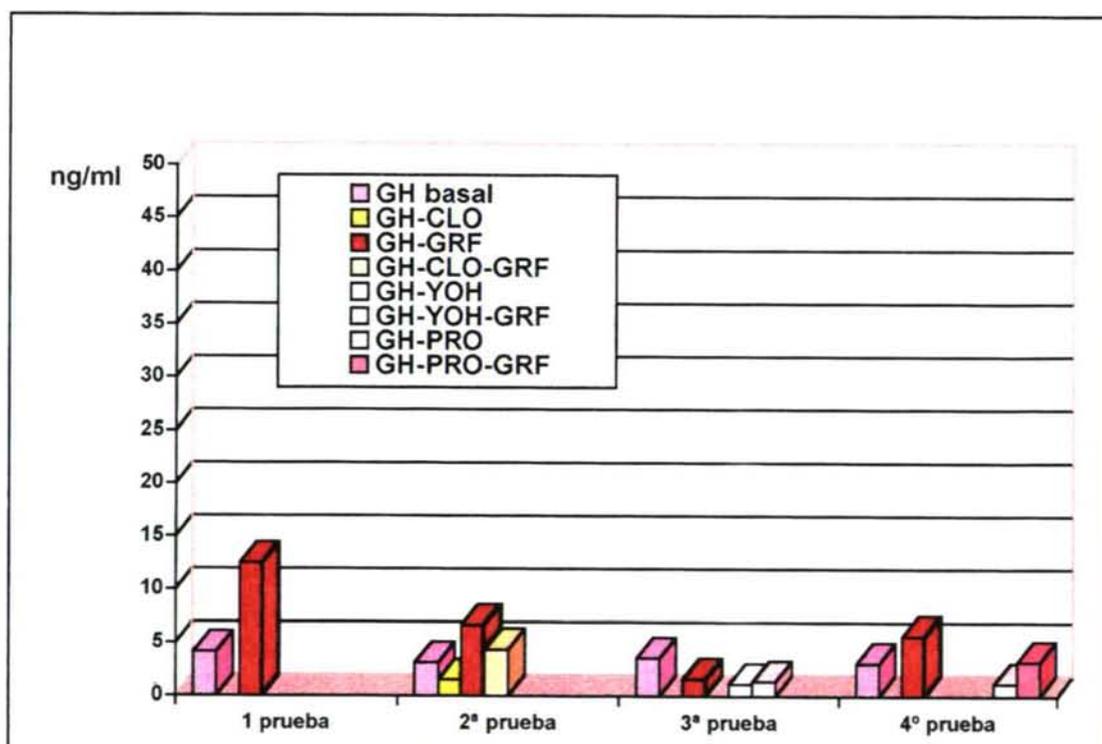


Figura 23. Histograma de las medias de las concentraciones de GH obtenidas durante la segunda fase experimental.

---

**propranolol** disminuyó significativamente ( $p < 0.01$ ) el valor de **GH** plasmática registrado a los 45 minutos de su administración oral, no bloqueó la subsiguiente liberación de **GH** tras realizar estimulación con **GHRH** exógena, ya que los valores de **GH** plasmática medidos después de esta se incrementaron, aunque no de manera significativa.

Siendo, por tanto, mayor la inhibición desarrollada por la yohimbina que la producida por el **propranolol** a la estimulación con **GHRH** exógena.

#### 4.2. DISCUSION.-

La modulación que el **sistema nervioso simpático**, realiza a través de sus receptores adrenérgicos hipotalámicos, sobre la liberación de **hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH)** y **somatostatina (SS)** ha sido y es objeto de controversia<sup>9,10,44,58</sup>, aunque sabemos que la inducción de un déficit de **catecolaminas** bloquea la secreción de la hormona del crecimiento en las especies investigadas<sup>5,6,20,49,59,60,61</sup>, por lo que podemos considerar que en conjunto la modulación es favorecedora de la liberación de la hormona.

La administración exógena de la **hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)** incrementa los niveles de **hormona del crecimiento** en plasma<sup>19,22,35,62-65</sup>, debido a su acción sobre las células somatotrofas hipofisarias productoras de **GH**; pero como han señalado diversos autores<sup>62,63</sup>, dicha respuesta va a depender del denominado **ritmo hipotalámico-somatotrófico** en el momento de la estimulación, es decir, del estado en que se encuentren la **GHRH** y la **SS endógenas**, así como del *pool* de

**GH almacenado** en las células productoras y de los propios **valores plasmáticos de la hormona del crecimiento**, que asimismo ejercerán un efecto *feedback* sobre su propia secreción, de tal manera que incluso puede no haber liberación de **hormona del crecimiento (GH)** si la administración de **GHRH exógena** se hace de una manera continuada<sup>37,40,65-70</sup>, por el vaciamiento de los depósitos de **GH** hipofisarios, con pérdida de su capacidad de respuesta<sup>28,67</sup>; por la desensibilización de los receptores de **la hormona de crecimiento** a su estimulador **GHRH** en el periodo refractario del ritmo hipotálamo-somatotrófico<sup>62,71-73</sup>; o por último, como refieren otros autores<sup>46,47,74-77</sup>, por la inhibición que los propios valores de la **hormona del crecimiento** en plasma, ejercen sobre su propia secreción, al estimular directamente la liberación de **somatostatina** por parte del hipotálamo<sup>78</sup>.

También, la liberación de **hormona del crecimiento (GH)** por parte de las células somatotrofas de la hipófisis tras la estimulación con **GHRH exógena**, y según algunos autores<sup>42</sup>, va a depender de la edad del individuo, dado que el proceso de

envejecimiento se va a acompañar de una progresiva disminución de la secreción de **GH**, tanto basal como en respuesta a diversos estímulos por la génesis de un **hipertono somatostatínérgico**, esto es, un incremento de la liberación de **SS** hipotalámica en detrimento de la **GHRH** endógena..

Sin embargo, en nuestro estudio experimental, los valores medios plasmáticos obtenidos de la **hormona del crecimiento (GH)** en las diferentes determinaciones realizadas, han sido de **3,02 ng/ml** en la primera prueba de la 1ª fase, **3,21 ng/ml** en la 2ª prueba de la 1ª fase, **3,67 ng/ml** en la 3ª prueba de la 1ª fase, **4,15 ng/ml** en la 1ª prueba de la 2ª fase experimental, **3,12 ng/ml** en la 2ª prueba de la 2ª fase, **3,59** en la 3ª prueba de la 2ª fase y **3,10 ng/ml** en la 4ª prueba de la 2ª fase, dando un valor medio para la totalidad de las determinaciones de **3,41 ng/ml**, por encima de los valores establecidos como estándares para las personas de edad media-alta.

Por otra parte, cuando estimulamos a los sujetos sometidos al estudio con 100 mcg de **GHRH exógena** por vía i.v., los valores medios de **hormona**

**del crecimiento (GH)** en plasma obtenidos han sido de **16,64 ng/ml** durante la 2ª prueba de la 1ª fase y de **12,48 ng/ml** durante la 1ª prueba de la 2ª fase, dando unos valores medios totales de **14,56 ng/ml**, con lo que se observa que la respuesta de los pacientes de edad media-alta sometidos al presente estudio es adecuada, no pareciendo influir en ella la edad que tenían, ni el momento en que el **ritmo hipotálamo-somatotrófico** se encontrara en ese momento.

La estimulación hipotalámica con **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (clonidina)**, en dosis de 0.150 mg y vía de administración oral, incrementa los valores medidos en plasma de la **hormona del crecimiento (GH)**<sup>5-15</sup> a través de un aumento de su liberación por parte de las células somatotróficas productoras de la hipófisis, en todas las especies investigadas, tanto en humanos<sup>5-12,43,51,79</sup>, como en animales<sup>13-15,40,46,47,55,56</sup>, por uno de los dos mecanismos posibles: el aumento de la producción de **hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH)**<sup>9,12-15,26,27,31,79</sup> por parte del hipotálamo o la inhibición de la liberación de **somatostatina (SS)**<sup>7,10,25,28,40,44,46,48,55,80</sup> por parte

del hipotálamo, pudiendo en último caso ejercer, el **agonismo alfa<sub>2</sub> adrenérgico**, un efecto doble liberador de **GHRH** e inhibidor de **SS**.

En cuanto al mecanismo según el cual, los **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** actúan mediante el incremento de la liberación de **hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH)**<sup>13,19,26-29,33</sup> por parte del hipotálamo, los primeros estudios fueron realizados en ratas, así lo refieren **Eden et als.**<sup>26</sup> administrando **clonidina** en ratas inmunizadas con anticuerpos anti-**SS**, **Miki et als**<sup>13</sup>, en ratas tratadas con anticuerpos anti-**GHRH** y **Katakami et als.**<sup>27</sup>, en ratas a las que previamente se les había destruido las neuronas hipotalámicas productoras de **GHRH**, tratándose de demostrar posteriormente en humanos<sup>9,11,31-35</sup>, ya que de este modo, se conseguiría, de una manera sencilla y barata, diagnosticar déficits de **GH**, caso de no responder la hipófisis a la estimulación con **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**, o tratar déficits hormonales con origen hipotalámico en individuos con hipófisis sanas. Sin embargo, los resultados obtenidos en la especie

humana, no fueron muy consistentes, ya que cuando la liberación de **GHRH endógena** esta abolida, por alguna de las causas referidas anteriormente, la inhibición de la liberación de **somatostatina (SS)** por sí sola, es incapaz de inducir liberación de **hormona del crecimiento (GH)**<sup>40,56</sup>, y por tanto, el **agonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico (clonidina)** no es capaz de incrementar la secreción de **GH** en ausencia de **GHRH endógeno**<sup>40,56</sup>.

Por otra parte, ha sido referido que el tratamiento continuado con **clonidina** produce u incremento de la síntesis de **hormona del crecimiento (GH)** en la rata, tanto in vivo como in vitro<sup>46,80</sup>, efecto similar al observado tras tratamientos con **GHRH**<sup>46,80</sup>, dato que en un principio hizo pensar en la acción de la **clonidina** estimulando la liberación de **GHRH**<sup>74</sup>.

También **in vitro**, se observó que la perfusión de hipotálamos de rata con **clonidina** o **guanfacina (agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos)** incrementaba la liberación de **GHRH endógena**<sup>26,66</sup>, datos que no pudieron ser comprobados posteriormente<sup>67</sup>, sabiéndose que las respuestas a la estimulación *in vitro* con respecto a las respuestas *in*

*vivo* distan mucho de ser iguales, así por ejemplo, y dentro de la estimulación simpática central, mientras que el **propranolol** *in vivo* disminuye la liberación de hormona del crecimiento (**GH**), es capaz de potenciar la liberación de **GHRH** endógena cuando se administra previamente **clonidina** *in vitro*<sup>26</sup>.

Muchos autores defienden que el **agonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico** potencia la liberación de hormona del crecimiento (**GH**) a través de la **inhibición de la liberación de somatostatina hipotalámica**, tanto en la especie humana<sup>5-11,17,25,31,43-45,56</sup>, como en otras especies investigadas<sup>13,26,27,40</sup> incluidos conejos y perros<sup>46,50</sup>, además, algunos autores refieren que el **agonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico**, utilizando **clonidina** incrementa los niveles plasmáticos de **GH**, cuando la **somatostatina (SS)** está fisiológicamente disminuida<sup>52</sup> e inhibe su liberación, además de tener un efecto secundario estimulador de **GHRH**<sup>55</sup>.

Así, la instilación de **clonidina** en el área próptica medial hipotalámica de la rata, zona muy rica en neuronas productoras de **somatostatina (SS)**, producía un aumento de los niveles

de **hormona del crecimiento (GH)** en sangre periférica, mientras que la instilación en el núcleo ventromedial, rico en neuronas productoras de **hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH)**, no modificaba los niveles plasmáticos de **GH**<sup>55</sup>.

Mientras que la infusión de **somatostatina (SS)** disminuye la transcripción del gen para la **GH** en la rata<sup>74</sup>, aumentando rápidamente la secreción de esta, cuando la **somatostatina** es eliminada<sup>81</sup>.

Por tanto, y según refieren la mayor parte de los autores revisados<sup>7,10,25,28,40,44,46,48,55,80</sup>, la estimulación con **agonistas** de los **receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** va a producir una disminución de la producción hipotalámica de **somatostatina (SS)**, en todas las especies investigadas, así como un cese en la inhibición tónica de la secreción de la **GHRH** llevada a cabo por las neuronas productoras de somatostatina<sup>50,51</sup>, por lo cual la estimulación con **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** debería de producir un incremento del vertido de **GH** al plasma.

Recientemente se ha demostrado que

la estimulación con **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** es capaz de incrementar la expresión del gen para **GHRH**<sup>51,82,83</sup>.

La administración oral del **agonista alfa<sub>2</sub>-adrenérgico clonidina** a dosis de 0.150 mg por vía oral, no produjo en nuestro ensayo clínico un incremento de los niveles plasmáticos de **GH** medidos a los 45-60 minutos de la administración, en ninguna de las dos fases experimentales, obteniéndose unos valores medios para la 1ª prueba de la 1ª fase de **1,18 ng/ml**, de **1,04 ng/ml** en la 3ª prueba de la 1ª fase y de **1,53 ng/ml** en la 2ª prueba de la 2ª fase, lo que establece unos valores medios totales de **1,25 ng/ml**, valores que están por debajo de los valores medios de **GH** obtenidos en condiciones basales para todas las pruebas y que fueron de **3,41 ng/ml**, datos que por tanto son contrarios a las opiniones publicadas hasta el momento<sup>8,10,11</sup> utilizando las mismas dosis y los mismos intervalos de medición, en humanos de edades jóvenes y en otras especies animales.

Los resultados obtenidos por nosotros, comparándolos con los obtenidos por otros autores, establecen una diferencia, que acrecienta la

controversia sobre el mecanismo exacto de modulación, pero que parecen no obedecer al uso de una dosificación o vía de administración diferente del **agonista alfa<sub>2</sub>-adrenérgico** a las utilizadas por ellos.

Podríamos tratar de explicar nuestros resultados a partir de haber administrado el **agonista** en un momento en que el **eje hipotálamo-hipofisario** no tuviera capacidad de respuesta: bien por agotamiento de la **GH** almacenada en la hipófisis, bien por un bloqueo de la inhibición en la liberación de somatostatina por parte del hipotálamo, pero ninguna de estas premisas nos convencen, ya que la respuesta en las otras pruebas a la estimulación única con **GHRH exógeno** siempre fue adecuada, demostrando que la capacidad de reacción de la hipófisis a la **GHRH** era correcta, incrementando significativamente ( $p < 0.05$ ) sus niveles en plasma; además, la **clonidina**, lejos de aumentar los niveles plasmáticos de **GH**, los disminuía, con lo cual también podemos establecer que el tiempo de la determinación de la **GH** era adecuado, ya que si el registro lo hiciéramos tanto antes de tiempo (<45') como después (>45') y si la

**clonidina** incrementara los niveles plasmáticos de **GH**, sus valores deberían de estar por encima de los basales; y por otro lado la **clonidina** en las tres pruebas en que se administró y se midieron los niveles posteriores de **hormona del crecimiento** en plasma, siempre fueron inferiores a los basales en la mayoría de los sujetos, por lo que no nos queda más que establecer que la diferencia se deba a una diferente respuesta de los **receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** a la estimulación por agonistas (**clonidina**), en los sujetos humanos de edad media-alta, que generaría un incremento en la liberación de **somatostatina** o bien una inhibición de la liberación de **GHRH**, o bien disminuirían la liberación de **GH** por la suma de ambos mecanismos.

Por otro lado, esta referido que el **agonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico** potencia la respuesta liberadora de **hormona del crecimiento**, por parte de las células somatotróficas de la hipófisis, en valores superiores a los obtenidos administrando **GHRH exógena** de manera aislada<sup>5,13,22,28,44,52-54,65,84</sup> vía disminución de la **somatostatina** hipotalámica<sup>13,46,52,54,55,80</sup>, como ha sido de-

mostrado en ratas<sup>36</sup> al destruir las neuronas hipotalámicas productoras de **GHRH**, sin afectar a las productoras de **SS** con *glutamato monosódico*<sup>37-39</sup>, observándose que el contenido de **GH** en la hipófisis estaba muy disminuido<sup>27,38,71,85</sup>, no respondiendo a la estimulación con **GHRH exógena** ni con **clonidina** separadamente, pero si cuando se administraba **clonidina** tras cebamiento somatotropo con **GHRH exógeno** y en perros, donde la estimulación previa con **clonidina (alfa<sub>2</sub>-agonista)** aumenta la respuesta de la **hormona del crecimiento** a la **GHRH**<sup>62</sup>, incluso en perros de edad avanzada<sup>41,80</sup>.

También en el hombre, al igual que en otras especies animales<sup>36-40,56</sup> algunos autores han demostrado que la estimulación con **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos**, incrementa la respuesta de **GH** a la **GHRH**<sup>7,25,43</sup>, excepto cuando el pool de la **GH** hipofisario regulado por la **GHRH** esta disminuido<sup>16,71-73</sup>.

Este sinergismo **agonista alfa<sub>2</sub>-GHRH-GH**, es mucho más evidente si la estimulación previa coincide con un **hipertono somatostatinérgico fisiológico**<sup>43</sup>, o farmacológico, como el que ocurre tras la adminis-

tración de **atropina**, que es un bloqueador de los **receptores colinérgicos muscarínicos**<sup>32</sup> y que es capaz, además, de inhibir totalmente la respuesta de la **hormona del crecimiento** a una serie de estímulos, no bloqueando la liberación de **GH** inducida por hipoglucemia, que *per se* reduce los niveles de somatostatina.

Tampoco nosotros hemos observado, y en ello coincidimos con otros autores como **Alba-Roth et al.**<sup>9</sup>, que el efecto liberador de **hormona del crecimiento** generado mediante la administración de 100 mcg de **GHRH exógena**, y midiendo los valores de **GH** plasmáticos a los 15 minutos, en los sujetos previamente tratados con 0.150 mg del **agonista alfa<sub>2</sub>-adrenérgico clorhidrato de clonidina**, potencie la liberación de **GH**, incluso por encima de los valores conseguidos tras la administración de **GHRH** aisladamente, como han referido otros autores; al contrario, los valores medios de las concentraciones de **GH** plasmática obtenidos fueron de **6,30 ng/ml** en la 3ª prueba de la 1ª fase experimental, y **6,64 ng/ml** en la 2ª prueba de la 2ª fase experimental, con una media global de **6,47 ng/ml**, inferior a la

media de las concentraciones obtenidas cuando únicamente estimulábamos al sujeto con **GHRH** exógena y que fue de **14,56 ng/ml**.

Debiéndonos plantear de nuevo, la causa de dicho efecto contrario a la mayoría de los resultados obtenidos por el resto de investigadores, cuando trabajaban con sujetos humanos jóvenes u otras especies animales.

En cuanto a la dosis utilizada de **GHRH**, no cabe la menor duda de que es adecuada, puesto que la respuesta obtenida cuando la empleamos aisladamente incrementa significativamente ( $p < 0.05$ ) los valores plasmáticos de **GH**; la dosis de **clorhidrato de clonidina** utilizada (0.150 mg) es la utilizada en todos los trabajos que hemos revisado, así como su vía de administración, no creyendo que sea insuficiente la dosificación de **clonidina** en relación a la dosis máxima de **GHRH** usada que podía haber sido la causa del efecto contrario, como refiere algún autor<sup>45</sup>, debiéndonos plantear por último el que se hayamos actuado en un momento no adecuado del ritmo hipotálamo-hipofisario, en el que el pool de **GH** hipofisaria estuviera agotado, pero tampoco este fenó-

meno puede ser explicado de esta manera, ya que a los 45' de administrar **clonidina**, los valores de **GH** plasmática estaban disminuidos y por tanto las células somatotróficas podían todavía almacenar suficiente carga para responder a la **GHRH exógena**, pero no ha ocurrido así, por lo que deberemos pensar que en los sujetos de edad media-alta, a diferencia de los sujetos jóvenes o de otras especies animales en los que el pretratamiento con **clonidina** incrementa la respuesta de la **GH** a la estimulación con **GHRH exógena**, el pretratamiento con **clonidina**, no incrementa la respuesta de la **GH** a la **GHRH exógena** por encima de los valores alcanzados cuando se estimula únicamente con **GHRH exógena**.

La estimulación con **antagonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (yohimbina)** genera una inhibición de la respuesta hipofisaria, manifestada por una disminución de la **GH** plasmática, vía incremento de la **somatostatina** hipotalámica<sup>25,56,57</sup>.

**Lanzi et als**<sup>48</sup>, demuestran en el conejo que el bloqueo de los **receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** con **yohimbina**, inhibe la secreción de

**GH**<sup>57</sup>, a través de un incremento de la liberación de SS.

Además el **antagonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico**, como fue observado en la rata por **Plotsky et als**<sup>52</sup>, disminuye la respuesta de la **GH** a la **GHRH exógena**, datos que no comparten **Mazza et als**<sup>57</sup>, ya que en su experimento, la **yohimbina** no afectó la respuesta de la **GH** a la **GHRH** administrada exógenamente y que la respuesta de la **GH** a la **clonidina** era inhibida por la **yohimbina**

Los datos aportados por nosotros según los resultados obtenidos en la realización del presente trabajo experimental indican que el **antagonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico (yohimbina)**, disminuye significativamente ( $p < 0.05$ ) los valores plasmáticos de **GH** medidos a los 45 minutos de su administración oral cuando se administra aisladamente (media 1,53 ng/ml) con respecto a los obtenidos en condiciones basales (media

Por otro lado, el pretratamiento con un **antagonista de los receptores alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (yohimbina)**, administrado 45 minutos antes que un bolo intravenoso de 100 mcg de **GHRH**, y medidos los niveles plasmáticos de **GH** a los 15' (media 1,61

ng/ml), disminuye significativamente ( $p < 0.05$ ) la respuesta de la **GH** a la **GHRH**, bloqueándola, con respecto a los valores obtenidos en condiciones basales (media 3,59 ng/ml).

De los datos aportados anteriormente, se produce un hecho hasta ahora no referenciado por la bibliografía sobre el tema objeto de estudio, la estimulación con **fármacos alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (clonidina)** ha generado en nuestro trabajo experimental el mismo efecto, aunque de menor intensidad, que la estimulación con un fármaco **antagonista alfa<sub>2</sub>-adrenérgico (yohimbina)** bloqueando la liberación de hormona del crecimiento al plasma a través de las células somatotróficas productoras.

Los **beta-bloqueantes** disminuyen la liberación hipofisaria de **GH**, tanto cuando se administran aisladamente, posiblemente vía incremento de la liberación de **somatostatina** por parte del hipotálamo<sup>21</sup>, como cuando se administran como pretratamiento 45' antes de un bolo intravenoso de **GHRH** exógena<sup>5,6,18,20-22</sup>. Datos con los que coincidimos, ya que los

valores medios de **GH** plasmática obtenidos en nuestro trabajo de investigación, tras estimular a los sujetos con **propranolol (beta bloqueante adrenérgico)** fueron de **1,17 ng/ml**, inferiores a los basales que habían sido de **3,10 ng/ml**, además cuando hicimos pretratamiento con **propranolol**, antes de administrar **GHRH** exógena, los valores medios de la **GH** en plasma fueron de **5,65 ng/ml**, en comparación con los **12,48 ng/ml** que habíamos obtenido cuando únicamente estimulamos al individuo con **GHRH** exógena.

## **5. Conclusiones**

## 5.- CONCLUSIONES.-

1.- De acuerdo con los datos obtenidos por nosotros, el envejecimiento no genera una disminución de la capacidad de respuesta hipofisaria a la estimulación mediante **GHRH exógena**.

2.- El **agonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico (clonidina)** en individuos adultos-mayores sanos no incrementa la liberación de **GH** plasmática en nuestro ensayo.

3.- El pretratamiento con **agonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos** no incrementa los valores de **GH** plasmática en respuesta a la estimulación con **GHRH exógena**.

4.- El **antagonismo alfa<sub>2</sub>-adrenérgico (yohimbina)** en individuos adultos-mayores sanos disminuye los niveles de **GH** plasmáticos.

5.- El pretratamiento con **antagonistas alfa<sub>2</sub>-adrenérgicos (yohimbina)** disminuyen de manera intensa los valores de **GH** plasmática, aún cuando estimulemos al sujeto **GHRH exógena**.

6.- Los **beta-bloqueantes (propranolol)** disminuyen los niveles de **GH** plasmática en individuos

adultos-mayores sanos.

7.- Los **beta-bloqueantes (propranolol)** administrados como pretratamiento, antes de **GHRH** no incrementan los valores de **GH** plasmática con respecto a los basales, pero tampoco ejercen un efecto inhibitorio de tanta duración sobre la secreción de **GH** como la **yohimbina**.

## **6. Bibliografía**

**BIBLIOGRAFÍA.-**

1. Li GH, Evans HM. Vitamins and hormones. *Science*. 1947; 5: 197.
2. Li CH, Evans HM. Chemistry of anterior pituitary hormones. *The Hormone*. 1949; 1: 631.
3. Yalow RS, Berson SA. Problems of validations of radioimmunoassay. In Odel W.D. and daughaday W.H. Ed. Competitive protein binding assay. Philadelphia, 1971.
4. Yalow RS. Heterogeneity of peptide hormones: Its relevance in clinical radioimmunoassay. *Adv Clin Chem*. 1978; 25: 20.
5. Devesa J, Lima L, and Tresguerres JAF. Neuroendocrine control of growth hormone secretion in humane. *Trends Endocr. Metab*. 1992; 3:173-181.
6. Müller EE. Neural control of somatotrophic function. *Physiological Rev* 1987; 67: 962-1,053.
7. Lima L, Arce V, Diaz MJ, Tresguerres JAF, and Devesa J. Clonidine pretreatment modifies the growth hormone secretory pattern induced by short term continuous GRF infusion in normal man. *Clin. Endocr. (Oxf)*. 35 (1991) 129-135.
8. Lal S, Tolis G, Martin JB, Brown GM, Guyda H. Effect of clonidine on growth hormone, prolactin, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone in the serum of normal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1975; 41: 703-8.
9. Alba-Roth J, Losa M, Spiess Y, Schopohl J, Muller OA, Von Werder K. Interaction of clonidine and GHRH on GH secretion in vivo and in vitro. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1989; 30: 485-91.
10. Valcavi R, Dieguez C, Page MD, et al. Alpha 2-adrenergic pathways release growth hormone via a non-GRF-dependent mechanism in normal human subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988; 29: 309-16.
11. Iovino M, Monteleone P, Steardo L. Combined alpha-adrenergic stimulation results in biphasic response of growth hormone release in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988; 66: 217-20.
12. Singh SK, Hatwal A, Agrawal JK, Bajpai HS, Singh SK. *Indian Pediatr*. 1989; 10: 1007-9.
13. Miki N, Ono M, Shizume K. Evi-

- dence that opiateergic and alpha-adrenergic mechanisms simulate rat growth hormone release via growth hormone releasing factor (GRF). *Endocrinology* 1984; 114: 1950-52.
14. Morrison WB, Goff BL, Stewart-Brown B, Incefy GS, Arp LH, Roth JA. Orally administered clonidine as a secretagogue of Growth Hormone and as a Thyrotropic agent in dogs of various ages. *Am J Vet Res.* 1990; 1: 65-70.
  15. Almeida-Andrade H, Gagliardi AR, Motta LA, Baldissera SF, Favaretto AL, Antunes-Rodrigues J et als. Effect of clonidine on growth and plasma somatomedin C levels of young rats. *Braz J Med Biol Res.* 1990; 10: 1033-6.
  16. Perkins SN, Evans WS, Thorner MO, Cronin MJ. Beta-adrenergic stimulation of growth hormone release from perfused rat anterior pituitary cell. *Neuroendocrinology* 1983; 37; 473-6.
  17. Perkins SN, Evans WS, Thorner MO, Gibb DM, Cronin MJ. Beta-adrenergic binding and secretory responses of anterior pituitary. *Endocrinology* 1985; 117: 1818-25.
  18. Epelbaum J, Tapia-Arancibia L, Kjordon C. Noradrenaline stimulates somatostatin release from incubated slices of the amygdala and the hypothalamic preoptic area. *Brain Res* 1981; 215: 393-7.
  19. Tsagarakis S, Ge F, Rees LH, Besser GM, Grossman A. Stimulation of alpha adrenoceptors facilitates the release of growth hormone-releasing hormone from rats hypothalamus in vitro. *J Neuroendocrinology* 1989; 1: 129-33.
  20. Krulich L, Mayfield MA, Steele MK, McMillen BA, McCann SM, Koenig JY. Differential effects of pharmacological manipulation of central Alpha-1 and alpha 2-adrenergic receptors on the secretion of thyrotropin and growth hormone in male rats. *Endocrinology* 1982; 110: 796-804.
  21. Cella SG, Morgese M, Mantegazza P, Müller EE. Inhibitory action of the alpha-1-adrenergic receptor on growth hormone secretion in the dog. *Endocrinology* 1984; 114: 2.406-8.
  22. Krieg RJ, Perkins SN, Jhonson JH, Rogers JP, Arimura A, Cronin MJ. Beta-adrenergic stimulation of growth hormone release in vivo, and subsequent inhibition of

- GH-releasing factor-induced GH secretion. *Endocrinology* 1988; 122: 531-7.
23. Ghigo E, Bellone J, Arvat E, Mazza E, Cella SG, Brambilla F et al. Effect of alpha- and beta-adrenergic agonist and antagonist on growth hormone secretion in man. *J Neuroendocrinology* 1990; 2: 473-6.
24. Richardson SB, Twente S. Inhibition of Hypothalamic somatostatin release by B-adrenergic antagonist. *Endocrinology* 1990; 126: 1.043-6.
25. Devesa , Díaz MJ, Tresguerres JAF, Arce V, Lima L. Evidence that alpha2-adrenergic pathways play a major role in growth hormone (GH) neuroregulation: Alpha2-adrenergic agonism counteracts the inhibitory effect of cholinergic muscarinic receptor blockade on the GH response to GH-releasing hormone, with alpha2-adrenergic blockade diminishes the potentiating effect of increased cholinergic tone on such stimulation in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 251-6.
26. Eden S, Eriksson E, Martin J, Modigh K. Evidence for a growth hormone releasing factor mediating alpha-adrenergic agonist and antagonist on growth hormone secretion in rat. *Neuroendocrinology* 1981; 33: 24-7.
27. Katakami H, Kato Y, Matushita N, Imura H. Effects of neonatal treatment with monosodium glutamate on growth hormone release induced by clonidine and prostaglandin E1 in conscious male rats. *Neuroendocrinology* 1984; 38: 1-5.
28. Kabayama Y, Kato Y, Murakami Y, Tanaka H, Imura H. Stimulation by alpha adrenergic mechanism of the secretion of growth hormone releasing factor (GRF) from perfused rat hypothalamus. *Endocrinology* 1988; 123: 1928-33.
29. Magnan E, Cataldi M, Guillaume V, Mazzocchi L, Dutour A, Razafindraibe H et al. Role of Growth Hormone (GH)-releasing hormone and somatostatin in the mediation of clonidine-induced GH release in the sheep. *Endocrinology* 1994; 134: 562-7.
30. Becker K, Stegenga S, Conway S. Role of insulin-like growth factor I in regulating growth hormone release and feedback in the

- male rats. *Neuroendocrinology*. 1995; 5: 573-83.
31. Loche S, Puggioni R, Fanni T, Cella SG, Muller EE, Pintor C. Augmentation of growth hormone secretion in children with constitutional growth delay by short-term clonidine administration: a pulse amplitude-modulated phenomenon. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989; 68: 426-30.
32. Cella SG, Picotti GB, Muller EE. Alpha-2-adrenergic stimulation enhances growth hormone secretion in the dog: a presynaptic mechanism. *Life Sci* 1983; 32: 2785-92.
33. Cella SG, Picotti GB, Morgese M, Mantegazza P, Muller EE. Presynaptic alpha-2-adrenergic stimulation leads to growth hormone release in the dog. *Life Sci* 1984; 31: 447-54.
34. Catania A, Baldini M, Orsatti A, Airaghi L, Gasparini P. Effect of chronic clonidine administration on GH secretion in adult human subjects. *Exp Clin Endocrinol*. 1991; 1: 76-80.
35. Bamberger CM, Monig H, Mill G, Godde E, Schulte HM. Growth hormone secretion in response to the new centrally acting antihypertensive agent monoxidine in normal human subject: comparison to clonidine and GRF. *AADE De J*. 1995; 3: 205-8
36. Arce V, García Barros M, Vara E, Lima L, Tresguerres JA, Devesa J. Clonidine potentiates the growth hormone response to a growth hormone releasing hormone challenge in hypothalamic growth hormone releasing hormone deficient rats. *Neuroendocrinology*. 1995; 5: 552-8.
37. Bloch B, Ling N, Benoit R, Wehrenberg WB, Guillemin R. Specific depletion of immunoreactive growth hormone-releasing factor by monosodium glutamate in rat median eminence. *Nature (Lond)* 1984; 307: 272-3.
38. Millard WJ, Manin JB, Audet J, Sagar SM, Martin JB. Evidence that reduced growth hormone secretion observed in monosodium glutamate-treated rats is the result of a deficiency in growth hormone releasing factor. *Endocrinology* 1982; 110: 540-50.
39. Maiter D, Underwood LE, Manin JB, Koenig J. Neonatal treatment with monosodium glutamate: effects of prolonged growth hormone deficiency on pulsatile GH

- secretion and growth in female rats. *Endocrinology* 1991; 128: 1.100-6.
40. Arce V, Cella SG, Loche S, Ghigo S, Devesa J, Muller EE. Synergistic effect of growth hormone-releasing hormone (GHRH) and clonidine in stimulating GH release in young and old dogs. *Brain Res.* 1990; 537 (1-2): 359-62.
41. Cella SG, Arce V, Pieretti F, Locatelli V, Settembrini B, Muller EE. Combined administration of growth hormone-releasing hormone and clonidine corrects defective growth hormone secretion in old dogs. *Neuroendocrinology* 1993; 57: 432-8.
42. Arce V, Lima L, Devesa J. Growth hormone and aging. *Endocrinology* 1993, 38: 254-60.
43. Devesa J, Arce V, Lois N, Tresguerres JAF, Lima L. Alfa2-adrenergic agonism enhances the growth hormone response to GH-releasing hormone through an inhibition of hypothalamic somatostatin release in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 71: 1581-8.
44. Reiter KO, Morris AH, Biggs DE. Modulation of GHRH-induced growth hormone release by an alpha-adrenergic agonist and hypoglycemia. *J Pediatr Endocrinol.* 1988; 3: 21-5.
45. Grossman A, Savage MO, Lytras N, et al. Responses of analogues of growth hormone-releasing hormone in normal subjects, and in growth hormone-deficient children and young adults. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1984; 21: 321-30.
46. Cella SG, Locatelli V, De Genaro V, Pellini C, Pintor C, Muller EE. In vivo studies with growth hormone releasing factor and clonidine in rats pups: ontogenetic development of their effects on GH release and synthesis. *Endocrinology* 1986; 119: 1164-70.
47. Cozzi MG, Zannini A, Locatelli V, Cella SG, Muller EE. Growth hormone-releasing hormone and clonidine stimulate biosynthesis of growth hormone in neonatal pituitaries. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 138: 1223-30.
48. Lanzi R, Lapointe M, Gurd W, Tannenbaum GS. Evidence for a primary involvement of somatostatin in clonidine-induced growth hormone release in conscious rats. *J Endocrinol* 1994; 147: 259-66.
49. Lima L, Arce V, Tresguerres

- JAF, Devesa J. Clonidine potentiates the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in norepinephrine synthesis-inhibited rats: evidence for an alpha2-adrenergic control of hypothalamic release of somatostatin. *Neuroendocrinology* 1993; 57: 1.155-60.
50. Liposits ZS, Merchenthaler I, Paull WK, Flerko B. Synaptic communications between somatostatinergic axons and growth hormone releasing factor synthesizing neurons in the arcuate nucleus of the rat. *Histochemistry* 1988; 89: 247-52.
51. Tannenbaum GS, McAnhty GF, Zeitler P, Beudet A. Cysteamine induced enhancement of growth hormone-releasing factor immunoreactivity in arcuate neurons: morphological evidence for putative somatostatin/GRF interactions within the hypothalamus. *Endocrinology* 1990; 127: 2.551-60.
52. Plotsky PM, Vale WW. Patterns of growth hormone-releasing factor and somatostatin secretion into the hypophyseal portal circulation of the rat. *Science* 1985; 230: 461-3.
53. Wehrenberg WB, Brazeau P, Luben R, Bohlen P, Guillemin R. Inhibition of the pulsatile secretion of growth hormone by monoclonal antibodies to the hypothalamic growth hormone releasing factor (GRF). *Endocrinology*. 1982; 111: 2147-8.
54. Siler TM, Vandenberg G, Yen SC. Inhibition of growth hormone release in humane by somatostatin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973; 37: 632-4.
55. Ishikawa K, Suzuki M, Kakegawa T. Localization of alpha-2adrenergic agonist sensitive area in the hypothalamus for growth hormone release in the rat. *Endocrinol Jpn.* 1983; 30: 397.
56. Minamitami M, Chihara K, Kagi H, Kodama H, Kita T, Fujita T. Alfa 2-adrenergic control of growth hormone (GH) secretion in conscious male rabbits: involvement of endogenous GH-releasing factor and somatostatin. *Endocrinology* 1989; 125: 2839-45.
57. Mazza E, Chigo E, Bellone J, Arvat E, Revelli E, Cella SG et als. Effects of alpha-and-beta-adrenergic agonists and antagonists on growth hormone secretion in man. *Endocrinol Exp.* 1990; 24

- (1-2): 211-9.
58. Lima L, Arce V, Tresguerres JAF, Devesa J. Studies on alpha-2adrenergic modulation of hypothalamic somatostatin secretion in rats. *Life Sci* 1993; 53: 665-668.
59. McCormick, G, Millard W, Badger T, Bowers CY, Manin JB. Dose response characteristics of various peptides with growth hormone releasing activity in the unanesthetized male rat. *Endocrinology* 1985; 117: 97-105.
60. Malozowski S, Hao EH, Ren SG, Genazzani AD, Kalogeras KT, Merriam GR. Effects of inhibition of norepinephrine synthesis on spontaneous and growth hormone-releasing hormone-induced GH secretion in cynomologus macaque: evidence for increased hypothalamic somatostatin tone. *Neuroendocrinology* 1990; 51: 455-8.
61. Arce V, Lima L, Lois N, Rodriguez A, Diaz MJ, Devesa J. Role of central dopaminergic pathways in the GH control in normal men: Studies with metoclopramide. *Neuroendocrinology* 1991; 53: 143-9.
62. Devesa J, Lima L, Lois N, et al. Reasons for the variability in growth hormone (GH) responses to GHRH challenge: the endogenous hypothalamic-somatotroph rhythm (HSR). *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1989; 30: 367-77.
63. Tresguerres JAF, Lima L, Arce V, Devesa J. Controversies in the GH response to GHRH in man. In: Casanueva FF, Dieguez C, eds. *Recent advances in basic and clinical neuroendocrinology*. Amsterdam: Elsevier; 1989; 251-61.
64. Arce V, García-Barros M, Gondar M, Costoya JA y Devesa J. Regulación adrenérgica de la hormona del crecimiento. *Endocrinology*. 1995; 42: 22-28.
65. Orio F, Padovano N, Cinquanta L, Colao A, Merola B, Longobardi S, et als. Growth rate and growth hormone response to growth hormone-releasing hormone challenge in slowly growing children during chronic administration of clonidine. *J Endocrinol Invest*. 1995; 18 (1): 63-7.
66. Ono M, Miki N, Demura H. Effect of antiserum to rat growth hormone-releasing factor on physiological GH secretion in the female rat. *Endocrinology* 1991; 129: 1791-96.

67. Sato M, Takahara J, Fujioja, Niimi M, Irino S. Physiological role of growth hormone releasing factor and somatostatin in the dynamic of GH secretion in adult male rats. *Endocrinology* 1988; 123: 1928-93.
68. Shibasaki T, Hotta M, Masuda A, et al. Plasma GH responses to GHRH and insulin-induced hypoglycaemia in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985; 60: 1265-7.
69. Vance ML, Kaiser DL, Rivier J, Vale W, Thorner MO. Dual effect of growth hormone (GH)-releasing hormone infusion in normal men: somatotroph desensitization and increase in releasable GH. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 62: 591-4.
70. Arce V, Lima L, Fraga C, et al. Dopaminergic control of hypothalamic somatostatin release. *J Endocrinol Invest.* 1989; 12(Suppl 2): 157.
71. Vance ML, Kaiser DL, Martha Jr PM, et al. 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. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 68: 22-8.
72. Vance ML, Kaiser DL, Evans WS, et al. Pulsatile growth hormone secretion in normal man during a continuous 24-hour infusion of human growth hormone-releasing factor (1-40). *J Clin Endocrinol Metab.* 1985; 75: 1584-90.
73. Bilezikjian LM, Seifert H, Vale W. Desensitization to growth hormone releasing factor (GRF) is associated with down-regulation of GRF-binding sites. *Endocrinology.* 1986; 118: 2045-52.
74. Barinaga M, Bilezikian LM, Vale WW, Evans R, Rosenfeld MG. Transcriptional regulation of growth hormone expression by growth hormone-releasing factor. *Nature (Lond)* 1983; 306: 84-5.
75. Richman RA, Weiss JP, Hochberg Z, Florini JR. Regulation of growth hormone release: evidence against negative feedback in rat pituitary cells. *Endocrinology.* 1981; 108: 2287-92.
76. Berelowitz M, Firestone SL, Frohman LA. Effects of growth hormone excess and deficiency on hypothalamic somatostatin content and release and on tissue somatostatin distribution. *En-*

- ocrinology. 1981; 109: 714-9.
77. Chomczynski P, Downs TR, Frohman LA. Feedback regulation of growth hormone releasing hormone gene expression by growth hormone in rat hypothalamus. *Mol Endocrinol.* 1988; 2: 236-41.
78. Kelijman M, Frohman LA. Alpha-adrenergic modulation of growth hormone (GH) autofeedback on sleep-associated and pharmacologically induced GH secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 69: 1187-94.
79. Gil-Ad I, Tropper E, Laron Z. Oral clonidine as a growth hormone stimulation test. *Lancet.* 1979; 2: 278-80.
80. Fernández-Vázquez G, Cacicedo L, De los Frailes MT, Lorenzo MJ, Tolón R, Sánchez-Franco F. Growth hormone-releasing factor regulation by somatostatin, growth hormone and insulin-like growth factor in fetal rat hypothalamic-brain stem cell co-cultures. *Neuroendocrinology* 1993; 58: 655-65.
81. Sughigara H, Minami S, Okada K, Kamegai J, Hasegawa O, Wakabayashi I. Somatostatin reduces transcription of the growth hormone gene in rats. *Endocrinology* 1993; 132: 1225-29.
82. Katakami H, Downs TR, Frohman LA. Inhibitory effect of hypothalamic medial preoptic area somatostatin on growth hormone releasing factor in the rat. *Endocrinology* 1988; 123: 1.103-09.
83. Murakami Y, Kato Y, Kabayama Y, Inoue T, Koshiyama H, Imura H. Involvement of hypothalamic growth hormone-releasing factor in GH secretion induced by intracerebro-ventricular injection of somatostatin in rats. *Endocrinology.* 1987; 120: 311 -6.
84. De Genaro V, Cella SG, Parenti M, Locatelli V, Cocchi D, Muller EE. Neuroendocrine aging: its impact on somatotrophic function. *Neurochem Int.* 1994; 25(1): 5-10.
85. Losa M, Bock L, Schopohl J, Stalla GK, Muller OA, Von Werder K. Growth hormone releasing factor infusion does not sustain elevated GH-levels in normal subjects. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1984; 62: 462-70.

## **7.Glosario**

## Glosario

**Acetil coenzima A.** Tioéster de la coenzima A y del ácido acético.

**Acetilcolina.** Éster reversible del ácido acético de colina,  $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_3\text{-OH}$  y agonista colinérgico, neurotransmisor a nivel de la unión mioneural de la musculatura estriada en las células efectoras autónomas inervadas por nervios parasimpáticos, en las sinapsis preganglionares de los sistemas nerviosos simpático y parasimpático y en varios puntos del sistema nervioso central.

**Acilo.** Radical derivado de un ácido orgánico por eliminación del grupo hidroxilo.

**Acromegalia.** Enfermedad crónica de adulto causada por la hipersecreción de la hormona del crecimiento y caracterizada por un agrandamiento de ciertas prominencias del esqueleto.

**Adenil-ciclase.** Enzima de la clase liasa que cataliza la reacción  $\text{ATP} = 3',5' - \text{AMPc} + \text{pirofosfato}$ . Esta enzima es activada por la adrenalina, la vasopresina, el glucagón y la corticotropina.

**Adenohipófisis.** Lóbulo anterior de la glándula hipofisaria o pituitaria; El lóbulo posterior se denomina neurohipófisis.

**Adrenalina.** O epinefrina, es una hormona secretada por la médula suprarrenal como reacción a diversos estímulos. También es un potente activador del sistema nervioso parasimpático (receptores adrenérgicos) y un potente vasopresor.

**Adrenérgica.** Que es activado por la adrenalina. Se aplica a las fibras nerviosas que liberan noradrenalina en la sinapsis al pasar un estímulo nervioso.

**Agonistas.** Fármaco que posee afinidad por.

**Alfa-adrenoceptor.** Receptor adrenérgico de tipo alfa, se distinguen receptores  $\alpha_1$  inhibidor presináptico y  $\alpha_2$  constrictor presináptico.

**Aminoácidos.** Compuesto que contiene al grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) y el grupo carboxilo ( $\text{COOH}$ ).

**AMPc.** Adenosin monofosfato cíclico. Enzima de la clase hidralasa que cataliza la reacción  $\text{AMP} + \text{H}_2\text{O} = \text{monofosfato de inosina} + \text{NH}_3$ .

**Beta-adrenoceptor.** Receptor adrenérgico de tipo beta, se distinguen tres tipos de receptores beta, los beta<sub>1</sub>, que predominan en el tejido cardíaco, los beta<sub>2</sub>, que predominan en el músculo liso y los beta<sub>3</sub> que predominan en el tejido adiposo.

**Calmodulina.** Proteína que liga calcio presente en todas las células nucleadas, creyéndose que puede actuar como mediador en la mayoría de los procesos celulares sensibles al calcio.

**Células de Sertoli.** Célula alargada en los túbulos del testículo, a la que se unen las espermátides.

**Células osteogénicas.** Dícese de la célula formadora de hueso.

**Circadiano.** Relativo a un periodo de 24 horas, aplicado a la repetición rítmica de algunos fenómenos en los organismos vivos, que ocurren generalmente a la misma hora de cada día.

**Cistina.** Aminoácido producido por la digestión o la hidrólisis ácida de proteínas.

**Clonidina, clorhidrato de.** Clorhidrato de N-(26-diclorofenil)-4,5 - dihidro- 1 H - imidazol - 2 - amino; antiadrenérgico, se emplea en

el tratamiento de la hipertensión arterial.

**Colagenoblastos.** Célula que procede del fibroblasto y que al madurar produce colágeno.

**Colina.** Vitamina del grupo B, constituyente básico de la lecitina; impide el depósito de grasa en el hígado. El éster de ácido acético de colina (acetilcolina) es esencial en la transmisión sináptica de impulsos nerviosos.

**Colinérgica.** Que es estimulado, activado o transmitido por colina (acetilcolina); nombre aplicado a las fibras nerviosas que liberan acetilcolina en las sinápsis.

**Colino acetiltransferasa.** Enzima del tipo de las transferasas que cataliza la reacción acetil-CoA + colina = CoA + O-acetilcolina.

**Condroblastos.** Célula que proviene del mesénquima y forma cartílago.

**Condrocitos.** Célula de cartílago maduro, incluida en una laguna dentro de la matriz cartilaginosa.

**Creutzfeld-Jakob, enfermedad (síndrome de).** Encefalopatía espongiiforme transmisible, generalmente mortal que cursa con

degeneración piramidal y extrapiramidal acompañada de demencia progresiva.

**Dopamina.** Monoamina formada por descarboxilación de la dopa; es producto intermedio en la síntesis de la noradrenalina y actúa como neurotransmisor en el sistema nervioso central.

**Enanismo hipofisario.** Talla inferior a la normal por causa hipofisaria consistente en un déficit en la producción de hormona del crecimiento.

**Eosinófilas.** Cualquier estructura, célula o elemento histológico que se tiñe fácilmente por la eosina, especialmente un leucocito granuloso.

**Epífisis.** Extremo de un hueso largo, más ancho que la diáfisis, desarrollado a partir de un centro secundario de osificación.

**Epinefrina.** Nombre por el que también se conoce la adrenalina.

**Fibroblastos.** Célula del tejido conectivo, alargada y plana con prolongaciones citoplasmáticas en cada extremo. Se diferencian en condroblastos, colagenoblastos y osteoblastos.

**Fosfolipasa C.** Enzima de la clase

hidrolasa que cataliza la reacción fosfatidilcolina + H<sub>2</sub>O = 1,2-diacilglicerol+ fosfatocolina.

**Fosforilación.** Proceso metabólico en el que se introduce un grupo fosfato a una molécula orgánica.

**GH.** Growth Hormone u hormona de crecimiento, sintetizada a nivel de la adenohipófisis.

**GH-IH.** Hormona hipotalámica inhibidora de la hormona de crecimiento hipofisaria.

**GH-RH.** Hormona hipotalámica liberadora de hormona de crecimiento hipofisaria.

**GH-RIH.** Growth hormone release inhibiting hormone Hormona hipotalámica inhibidora de la hormona de crecimiento hipofisaria.

**Gigantismo hipofisario.** Crecimiento excesivo debido a un aumento en la secreción de la hormona del crecimiento.

**Glucemia.** Niveles de glucosa en plasma.

**Growth Hormone Release Inhibiting Hormone.** GHRIH, hormona inhibidora de la liberación de la hormona del crecimiento.

**Hidroxiprolina.** Ácido gamma-hidroxi-alfa-pirrolidin-carbosílico, aminorioácido producido en la digestión o descomposición hidrolítica de las proteínas, especialmente de colágenas.

**Hipofisectomizados.** Que les han extirpado la glándula hipofisaria o pituitaria.

**Hipófisis.** Glándula pituitaria situada en la base del cráneo, consta de dos lóbulos, el anterior o adenohipófisis y el posterior o neurohipófisis.

**Hipotálamo.** Parte ventral del diencéfalo que forma el suelo y parte de la pared lateral del tercer ventrículo, se divide en cuatro regiones dorsal, constituida por el núcleo del asa lenticular; anterior, constituido por los núcleos preópticos lateral y medial, los núcleos supraópticos y para ventricular y el núcleo hipotalámico anterior; intermedia, constituida por los núcleos arqueado y tuberal, el área hipotalámica lateral y los núcleos ventromedial, dorso-medial y dorsal del hipotálamo y los núcleos periventricular posterior e infundibular; y posterior, constituido por los núcleos lateral y medial del cuerpo mamilar y el núcleo hipotalámico posterior.

**Hormona del crecimiento. GH.** Growth Hormone u hormona de crecimiento, sintetizada a nivel de la adenohipófisis

**Hormona somatotrópica. GH.** Growth Hormone u hormona de crecimiento, sintetizada a nivel de la adenohipófisis

**IGF-I.** Somatomedina C, mediador de las acciones tisulares de la hormona del crecimiento.

**IGF-II.** Somatomedina A, mediador de las acciones tisulares de la hormona del crecimiento.

**Insulin like Growth Factor.** Desarrollo de la abreviatura anglosajona que describe las somatomedinas IGF.

**Isoprenalina.** Isoproterenol, agente adrenérgico sintético, derivado de la noradrenalina, dotado de un potente efecto broncodilatador y estimulante cardíaco.

**Met-GH.** GH sintética compuesta por 192 aminoácidos, obtenida en 1979.

**Metionil.** Radical acilo de la metionina.

**Microgramos.** Unidad de peso, millonésima parte de un gramo ( $10^{-6}$  g) o la milésima parte de un miligramo

( $10^{-3}$ ). Se representa por mg. Abreviada mcg.

**Muscarínicos.** Que produce los efectos de la muscarina o de la acetilcolina a nivel de los receptores colinérgicos muscarínicos que se encuentran en las células efectoras autónomas parasimpáticas y también en el sistema nervioso central.

**Nanogramo.** Unidad de peso que corresponde a una milmillonésima parte del gramo ( $10^{-9}$ ), se abrevia ng. Equivale al milimicrogramo.

**Neurotransmisor.** Cualquiera de las sustancias liberadas por el axón terminal de una neurona presináptica del sistema nervioso central o periférico y que viaja a través de la hendidura sináptica para excitar o inhibir la célula diana.

**Nicotina.** Alcaloide líquido soluble, incoloro y tóxico, que se obtiene del tabaco o se produce sintéticamente.

**Nicotínico.** Relativo al efecto de la nicotina, que estimula y a dosis altas inhibe los impulsos nerviosos en los ganglios autónomos y en la unión neuromuscular.

**Noradrenalina.** Norepinefrina. Compuesto con acciones adrenérgicas.

**Osteoblastos.** Célula originada a partir del fibroblasto y que una vez madura forma hueso.

**Osteocito.** Osteoblasto dentro de la matriz ósea, que ocupa una laguna ósea y que envía a través de los conductillos contactos que interconectan con otros osteocitos.

**Osteoclasto.** Gran célula multinucleada que tiene actividad en la absorción y la remoción de huesos.

**Osteogénicas.** Formadora de hueso.

**Péptido.** Compuesto de dos o más aminoácidos.

**Perióstico.** Tejido conjuntivo que cubre todos los huesos del cuerpo y posee potencialidad para formar hueso.

**Preprosomatostatina.** Precursor endoplasmático de la somatostatina.

**Prolina.** Aminoácido componente principal de la colágena.

**Propanolol.** Bloqueante de los receptores beta-adrenérgicos.

**Prosomatostaina.** Producto formado en el aparato de Golgi de las neuronas hipotalámicas a partir de la preprosomatostatina y que dará lugar a la somatostatina.

**Proteincinasas.** Enzima de la clase transferasa que cataliza la reacción  $ATP + \text{proteína} = ATP + \text{fosfoproteína}$ .

**Proteoglicanos.** Sustancias que se encuentran en la matriz de los tejidos conectivos y en el líquido sinovial, humor vítreo y secreciones mucosas.

**Radioinmunoanálisis.** Técnica para valorar sustancias en sangre, basada en la utilización de productos radioactivos.

**Ribosomas.** Estructura molecular donde se sintetizan las proteínas.

**Sistema nervioso autónomo.** Porción del sistema nervioso relacionado con la actividad del músculo cardíaco, músculo liso y glándulas, compuesto por una porción denominada simpático y otra denominada parasimpático.

**Sistema nervioso parasimpático.** Porción craneosacra del sistema nervioso autónomo.

**Sistema nervioso simpático.** Parte simpática del sistema nervioso autónomo.

**Somatomedin Binding protein.** Proteínas ligadoras de somatomedinas. (SMBP)

**Somatomedinas.** Cualquier péptido secretado por el hígado y otros tejidos, mediador de los efectos de la hormona del crecimiento sobre el cartílago. Siendo responsables de la captación de sulfato y del aumento de la síntesis de colágena y de otras proteínas por el cartílago.

**Somatotropa.** Somatotrofa, cualquiera de las células acidófilas de la adenohipófisis que se tiñen principalmente con naranja G y que al parecer son responsables de la secreción de la hormona del crecimiento.

**Somatotropina.** Hormona del crecimiento.

**Timidina.** Desoxirribósido de timina, nucleósido que puede aislarse del desoxirribonucleótido.

**Tinina.** Protamina del esperma del atún.

**Transcripción.** Proceso por medio del cual la información genética contenida en el DNA produce una secuencia complementaria de bases en una cadena de RNA.

**Ultradiano.** Perteneciente a la repetición cíclica de ciertos fenómenos en organismos vivos, que ocurren en ciclos de mayor frecuencia que los circadianos, es decir, más frecuente-

mente que una vez al día.

**Yohimbina.** Alcaloide de *Corynanthe johimbe* y de *Rauwolfia serpentina*, con propiedades de bloqueo adrenérgico.

## **8. Anexos**

**Anexo I****LISTA DE FIGURAS**

1. *Representación esquemática de la hormona del crecimiento (pag. 8)*
2. *Ritmo ultradiano de liberación de la hormona del crecimiento a lo largo del día (pag. 13).*
3. *Eje hipotalámico-hipofisario en el control de la secreción de GH (pag. 14).*
4. *Principio del R.I.A. (pag. 17).*
5. *Pasos de que consta el radioinmunoanálisis (pag. 17).*
6. *Estructuras moleculares de la acetilcolina y de la noradrenalina (pag. 21).*
7. *Síntesis de las catecolaminas y enzimas catalizadores que intervienen en ella (pag. 25).*
8. *Estructura química de la clonidina (pag. 29).*
9. *estructura química del propanolol (pag. 31).*
10. *Modulación autónoma de la secreción de la GHRH y SS hipotalámicas y efecto sobre la GH hipofisaria (pag. 33).*
11. *Protocolo para el registro de datos seguido durante la 1ª fase experimental (pag. 44).*
12. *Representación esquemática del procedimiento seguido en la 1ª fase (pag. 45).*
13. *Protocolo para el registro de datos seguido durante la 2ª fase experimental (pag.47).*
14. *Representación esquemática del procedimiento seguido en la 2ª fase experimental (pag. 48).*
15. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 1ª prueba en la 1ª fase experimental (pag. 61).*
16. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 2ª prueba en la 1ª fase experimental (pag. 63).*
17. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 3ª prueba en la 1ª fase experimental (pag. 66).*
18. *Histograma representativo de las medias de las concentraciones*

- 
- plasmáticas de GH durante la 1ª fase experimental (pag. 69).*
19. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 1ª prueba en la 2ª fase experimental (pag. 74).*
20. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 2ª prueba en la 2ª fase experimental (pag. 77).*
21. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 3ª prueba en la 2ª fase experimental (pag. 80).*
22. *Distribución de la muestra según los resultados obtenidos durante la realización de la 4ª prueba en la 2ª fase experimental (pag. 83).*
23. *Histograma representativo de las medias de las concentraciones de GH obtenidas durante la 2ª fase experimental (pag. 86).*

**Anexo II**  
**LISTA DE TABLAS**

1. *Características de los radioisótopos más utilizados en RIA (pag. 18).*
2. *Antagonistas beta-adrenérgicos según el tipo de receptor que bloquea (pag. 31).*
3. *Productos utilizados, dosis y vías de administración (pag. 51).*
4. *Descripción de variables y tipo (pag. 52).*
5. *Asociaciones de variables a las que se les aplicó el test de Wilcoxon (pag. 53).*
6. *Distribución de la muestra según la edad (1ª fase experimental (pag.55).*
7. *Distribución de la muestra según el sexo (pag. 56).*
8. *Distribución de la muestra según el peso (pag. 56).*
9. *Distribución de la muestra según la talla (pag. 57).*
10. *Distribución de la muestra según el B.M.I. (pag. 58).*
11. *Distribución de la muestra según refieran o no padecer HTA e ingerir algún fármaco para su control (pag. 59).*
12. *Valores de GH en condiciones basales (1ª prueba) (pag. 59).*
13. *Valores de GH tras la estimulación con clonidina (1ª prueba) (pag.60).*
14. *Valores de GH en condiciones basales (2ª prueba) (pag. 62).*
15. *Valores de GH tras la estimulación con GHRH (2ª prueba) (pag. 62).*
16. *Valores de GH en condiciones basales (3ª prueba) (pag. 64).*
17. *Valores de GH tras la estimulación con clonidina (3ª prueba) (pag.64).*
18. *Valores de GH tras la estimulación con GHRH habiendo hecho pre-tratamiento con clonidina (3ª prueba) (pag. 65).*
19. *Valores de GH plasmáticos obtenidos en todas las pruebas de la primera fase experimental (pag. 68).*
20. *Distribución de la muestra según la edad (2ª fase experimental) (pag. 70).*
21. *Distribución de la muestra según el sexo (pag. 70).*
22. *Distribución de la muestra según el peso (pag. 71).*
23. *Distribución de la muestra según la talla (pag. 71).*

24. *Distribución de la muestra según el B.M.I. (pag. 72).*
25. *Valores de GH en condiciones basales (1ª prueba) (pag. 72).*
26. *Valores de GH tras estimulación con GHRH (1ª prueba) (pag. 73).*
27. *Valores de GH en condiciones basales (2ª prueba) (pag. 75).*
28. *Valores de GH tras estimulación con clonidina (2ª prueba) (pag. 75).*
29. *Valores de GH tras estimulación con GHRH (2ª prueba) (pag. 76).*
30. *Valores de GH medios resultado de la suma de los obtenidos mediante la estimulación con clonidina y GHRH (pag. 76).*
31. *Valores de GH en condiciones basales (3ª prueba) (pag. 78).*
32. *Valores de GH tras estimulación con yohimbina (3ª prueba) (pag. 78).*
33. *Valores de GH tras estimulación con GHRH (3ª prueba) (pag. 79).*
34. *Valores de GH medios resultado de la suma de los obtenidos mediante la estimulación con yohimbina y GHRH (pag. 79).*
35. *Valores de GH en condiciones basales (4ª prueba) (pag. 81).*
36. *Valores de GH tras estimulación con propranolol (4ª prueba) (pag. 81).*
37. *Valores de GH tras estimulación con GHRH (4ª prueba) (pag. 82).*
38. *Valores de GH medios resultado de la suma de los obtenidos mediante la estimulación con propranolol y GHRH (pag. 82).*
39. *Resultados globales 2ª fase experimental (pag. 84).*

368