

Acción de la fentolamina, difenhidramina y ciproheptadina sobre la secreción de hormona de crecimiento inducida por arginina

A. Peñalva, J. Cabezas-Cerrato, L. Villanueva, J. Sánchez-Lores, A. Gómez-Pan, M. Borque y F. Casanueva *

Cátedra I de Patología General
y Departamento Central de Isótopos
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
Madrid - 3. España

(Recibido el 19 de mayo de 1980)

A. PEÑALVA, J. CABEZAS-CERRATO, L. VILLANUEVA, J. SANCHEZ-LORES, A. GOMEZ-PAN, M. BORQUE and F. CASANUEVA. *Effect of Phentolamine, Diphenhydramine and Cyproheptadine on Arginine Induced Growth Hormone Secretion*. Rev. esp. Fisiol., 37, 83-90. 1981.

Arginine stimulation test was performed on 36 healthy volunteers from both sexes, in order to determine whether alpha-adrenergic, histaminergic or serotonergic mechanisms was involved in growth hormone (GH) secretion.

Arginine alone (30 gr/30 min) induced a clearcut GH response significantly different versus basal values in two different control groups. This response was accompanied by a slight, statistically non-significant, decrease in glucose and FFA levels. The concomitant administration of the alpha-adrenergic blocker phentolamine (0.5 mg/min $\times$ 90 min) did not alter the GH secretory pattern elicited by arginine.

The addition of the H-1 histaminergic blocker diphenhydramine (50 mg i.v. as bolus 15 min before and 50 mg infused with arginine) completely suppressed the arginine induced GH secretion. Diphenhydramine, was also able to reduce GH basal values. Almost identical results were obtained with cyproheptadine, a serotonergic, histaminergic and cholinergic blocker agent (2 mg q.i.d.; *per os* $\times$ 2 days and 4 mg *per os* 120 min before arginine). This drug suppressed arginine induced GH secretion without altering basal GH values.

Blood glucose or FFA levels were not altered by any pharmacological manipulation vs. the control arginine group.

It is concluded that either histaminergic H-1 or both histaminergic and serotonergic blockade inhibit GH secretion elicited by arginine. On the other hand an alpha-adrenergic pathway in the arginine action is ruled out.

* Becario del Ministerio de Universidades e Investigación español. Dirección actual: Istituto di Farmacologia, Università di Milano, Via Vanvitelli 32, I-20129 Milano. Italy.

La secreción de hormona de crecimiento (GH) es modulada por diversos factores fisiológicos, tales como rápidas variaciones de glucemia, ingesta de aminoácidos, ejercicio físico, etc. (10, 18). Estos

factores actúan a través de centros hipotalámicos, y si su mecanismo exacto de acción se desconoce, existe una notable evidencia de que actúan a través de la liberación o modulación de neurotransmisores cerebrales clásicos, como noradrenalina, acetilcolina, serotonina, dopamina, etcétera (19).

Un estímulo de la secreción de GH ampliamente empleado en clínica por su eficacia y seguridad es la infusión de arginina (22), habiéndose postulado que este aminoácido liberaría GH mediante la activación de una vía neuronal alfa-adrenérgica (4, 16). Considerando que determinados datos experimentales no parecen confirmar esta hipótesis (7, 25), se ha re-estudiado en este trabajo el mecanismo íntimo de acción de la liberación de GH por arginina, mediante el empleo de fentolamina, difenhidramina y ciproheptadina, fármacos que son considerados específicos bloqueantes de las sinapsis alfa-adrenérgica, H-1 histaminérgica y serotoninérgica, respectivamente.

Material y métodos

Han participado en el estudio 36 voluntarios, 28 mujeres (M) y 8 hombres (H), clínicamente sanos, estudiantes de medicina y biología con edades comprendidas entre 20 y 27 años, encontrándose todos ellos dentro del 10 % de su peso ideal. Ninguno tomaba fármacos desde al menos dos meses antes del test.

En los tres días previos a la prueba se controló especialmente que los probandos evitaran desviaciones de la dieta o régimen de vida habituales, ingiriendo su último alimento 12 horas antes del test, que habitualmente comenzaba entre las 8 y 9 horas. Después de llegar al laboratorio y descansar en una camilla donde se realizaría el estudio, se colocó en una vena del antebrazo un catéter conectado a un suero salino lento, destinado a mantener permeable la vía, y a través del cual se

realizaron las extracciones de sangre y se administraron los fármacos de acuerdo con la metódica, y sin molestias para los individuos.

Treinta minutos tras la inserción del catéter se realizó la primera extracción basal (—30 minutos), siendo obtenida la segunda basal (0 minutos) coincidiendo con el inicio de la infusión de arginina. Las siguientes extracciones se realizaron a 30, 45, 60 y 90 minutos.

Todos los voluntarios recibieron como estímulo estándar de la secreción de hormona de crecimiento una infusión intravenosa de arginina (Hermes) a razón de 30 g, administrados en 30 minutos mediante una bomba de infusión constante; el volumen total de vehículo para la arginina fue de 100 ml. Los voluntarios fueron distribuidos en los siguientes grupos experimentales:

I) *Arginina control 1*. Siete voluntarios (4 M y 3 H) recibieron una infusión estándar de arginina.

II) *Arginina-fentolamina*. En otros 7 probandos (4 M y 3 H) en adición a la arginina se realizó una infusión de fentolamina (Ciba) a razón de 0,5 mg/minuto desde el minuto —30 al 60. El volumen total en que se vehiculó la fentolamina fue de 10 ml y el orden de realización de estos dos primeros grupos fue aleatorio.

III) *Arginina-haloperidol*. En 4 sujetos (2 M y 2 H) se administró 4 mg (i.m.) de haloperidol (Instituto Farmacológico Latino) 30 minutos antes del inicio de la infusión de arginina.

El resto de los tests experimentales fue realizado exclusivamente en mujeres, siendo aleatoria la asignación a cada grupo.

IV) *Arginina control 2*. Cinco probandos recibieron la dosis estándar de arginina.

V) *Arginina-difenhidramina*. Seis voluntarias recibieron difenhidramina (Parke-Davis), 50 mg (i.v.), en pulso 15 minutos antes de la infusión de arginina y

50 mg en infusión durante 30 minutos concomitantemente con ésta.

VI) *Arginina-ciproheptadina*. Siete sujetos siguieron un tratamiento semicrónico por vía oral con ciproheptadina (Merck) a razón de 2 mg/6 h durante dos días y 4 mg el tercer día, 120 minutos antes de la infusión de arginina.

Las muestras de sangre (8 ml, aproximadamente) se recogieron sobre hielo, centrifugándose a continuación en la primera hora; se tomaron alícuotas para la determinación de ácidos grasos libres (FFA) y glucosa, congelándose el plasma remanente a -20°C hasta el momento de la dosificación de GH.

La glucosa plasmática se determinó por el método de glucosa-oxidasa con *Kits* comerciales de la Boehringer Mannheim, y los FFA con el método de DOLE y MEYNERTZ (11). Los valores de GH se determinaron mediante radioinmunoanálisis específico con *Kits* Sorin.

Dentro de cada grupo experimental, la variación de los diversos parámetros respecto a sus respectivas basales, se calculó mediante el test de la *t* de Student para datos apareados, el mismo test para datos no-apareados se empleó en el estudio comparativo tiempo a tiempo entre el grupo I y II. Los grupos IV al VI fueron comparados entre sí mediante el test multiparamétrico de DUNNETT (12). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas aquellas de $p < 0,05$.

Resultados

La administración de arginina en el grupo control-1 (fig. 1) indujo una clara elevación de las cifras basales de GH ($1,6 \pm 0,6$ a $12,6 \pm 2,8$ ng/ml), con pico máximo a los 45 minutos; esta elevación fue estadísticamente significativa respecto a los valores basales. La adición de fentolamina no modificó el patrón de respuesta secretora de GH que pasó de $1,7 \pm 1,0$ ng/ml como cifra basal a

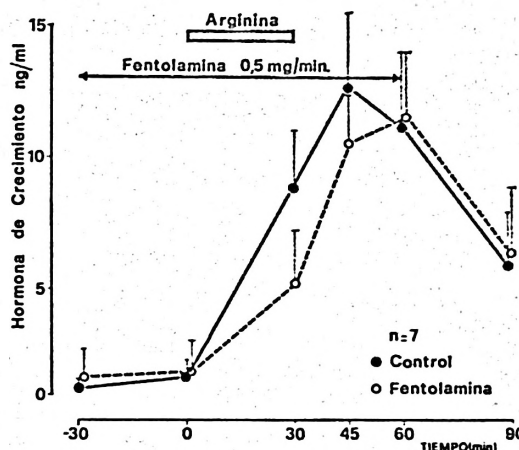


Fig. 1. Secreción de GH provocada por la administración de arginina 30 g/30 min en el grupo control y por arginina más fentolamina (0,5 mg/min $\times$ 90 min).

Medias $\pm$ error estándar de la media.

$10,5 \pm 2,0$ y $11,5 \pm 2,4$ ng/ml en los minutos 45 y 60, respectivamente.

No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en la comparación de los valores de GH, así como en las cifras de glucosa (tabla I). Los FFA experimentaron en ambos grupos un ligero descenso concomitante a la infusión de arginina, no significativo respecto a los valores basales (datos no presentados). Un varón de los 3 del grupo control y 2 de los 3 del grupo fentolamina no respondieron al estímulo de la arginina (valores de GH inferiores a 7 ng/ml).

La acción del haloperidol se estudió exclusivamente en dos mujeres debido a que la administración de este fármaco en una sesión de estudios posterior ocasionó en los dos individuos varones efectos secundarios. Las dos mujeres estudiadas presentaron una secreción de GH tras arginina dentro de los límites del grupo control (fig. 2).

En el grupo control-2 (fig. 3) se observó un patrón similar de comportamiento

Tabla 1. Valores de glucemia (mg/dl) en los diversos grupos estudiados.

Tratamiento Arginina +	Tiempo (min)					
	-30	0	30	45	60	90
S. Salino I	86,3 ± 8	88,6 ± 6	90,1 ± 6	87,4 ± 9	82,5 ± 6	87,8 ± 5
Fentolamina	78,0 ± 6	80,7 ± 4	88,7 ± 4	81,6 ± 8	73,1 ± 5	82,5 ± 9
S. Salino II	79,8 ± 8	82,0 ± 4	84,8 ± 6	66,8 ± 8	63,2 ± 9	63,4 ± 6
Difenhidramina	81,8 ± 6	86,0 ± 8	95,1 ± 7	85,6 ± 6	78,5 ± 6	76,1 ± 8
Ciproheptadina	77,0 ± 8	76,0 ± 6	80,1 ± 8	66,8 ± 6	64,0 ± 7	66,1 ± 9

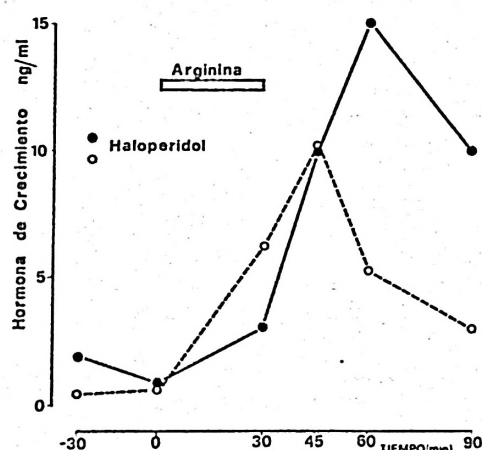


Fig. 2. Secreción de GH estimulada por arginina en dos voluntarias pretratadas con haloperidol (4 mg i.m.).

en la curva de secreción de GH que pasó de $3,6 \pm 1,0$ ng/ml a $15,3 \pm 2,5$ ng/ml en el minuto 60 con posterior descenso. Todos los componentes de este grupo (mujeres) respondieron positivamente respecto a la liberación de GH. La administración del bloqueante H-1 histaminérgico, difenhidramina (fig. 3) eliminó por completo la secreción de GH inducida por arginina, provocando incluso un descenso significativo ($p < 0,05$) de las cifras basales, de $4,6 \pm 1,1$ ng/ml a $1,1 \pm 0,1$ ng/ml en el minuto 45.

El pretratamiento con ciproheptadina

(fig. 3) de forma semicrónica, determinó unas cifras basales ligeramente más bajas que en el grupo control (no significativo), produciéndose asimismo una total supresión de la secreción de GH inducida por arginina.

La comparación de los valores de GH en los tres grupos evidenció una diferencia estadísticamente significativa por la administración tanto de difenhidramina ($p < 0,05$) a los 30 minutos y ($p < 0,01$)

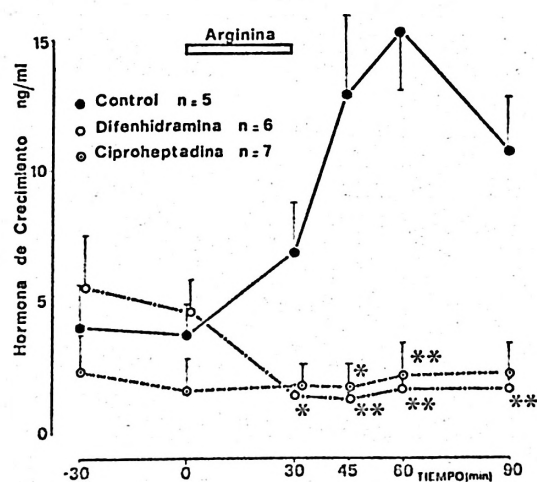


Fig. 3. Secreción de GH Inducida por arginina (grupo control) y de arginina en combinación con difenhidramina o ciproheptadina.

Medias $\pm$ error estándar de la media,
* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$.

a 45, 60 y 90 minutos, como de ciproheptadina ($p < 0,05$ y $p < 0,01$) a los 45 y 60 minutos.

No se evidenciaron variaciones estadísticamente significativas en las cifras de glucosa (tabla 1) o FFA (datos no presentados), en los tres grupos.

La administración de arginina no ocasionó ningún efecto secundario. Un voluntario tratado con fentolamina presentó náuseas de moderada intensidad pasajeras y sin vómito; todos los voluntarios de este grupo experimentaron ligeros descensos de la tensión arterial y en algunos casos congestión nasal. En estos probandos de forma rutinaria, tras la finalización del test se realizó una incorporación gradual con masaje en las extremidades inferiores, con lo cual se evitaron problemas de hipotensión postural. El haloperidol no ocasionó molestias en las dos mujeres estudiadas, pero sí en los varones, por lo que se suspendió el estudio con este fármaco; no se registraron molestias con la difenhidramina y la ciproheptadina ocasionó somnolencia en todos los voluntarios.

Discusión

Después de diversas discrepancias (1), estudios rigurosamente controlados concuerdan en que la administración de arginina es un test de la secreción de GH, clínicamente inocuo (23) y altamente reproducible, debiéndose controlar que el volumen en que es administrada la arginina no sobrepase los 250 ml en adultos (8). En efecto, en el trabajo presentado, la secreción de GH inducida por 30 g de este aminoácido presenta una alta reproducibilidad tanto en los dos grupos empleados como control como en el grupo tratado con fentolamina.

La existencia en la primera parte del trabajo de individuos no responsivos es una característica común a todos los tests de reserva hipofisaria de hormona de crecimiento (18), siendo una peculiaridad de

la estimulación con arginina el que el 30-50 % de los varones adultos no respondan, por lo cual la segunda parte del trabajo se realizó exclusivamente en mujeres.

La fentolamina es un fármaco bloqueante específico del receptor alfa-adrenérgico de corta vida media, por lo cual se administró en infusión continua. Con una dosificación similar a la aquí empleada, la fentolamina inhibe la secreción de GH inducida por L-dopa (17), hipoglucemia insulínica (3) y ejercicio físico (14); la falta de acción observada sugiere que la arginina no estimula la secreción de GH previa activación de vías neuronales alfa-adrenérgicas.

Esta observación resulta sorprendente si se considera que las revisiones sobre el tema (10, 18) coinciden en atribuir a la arginina un mecanismo alfa-adrenérgico de acción, basándose en dos comunicaciones con resultados aparentemente contradictorios con los aquí presentados (4, 16). Para BUCKLER *et al.* (4), la fentolamina no alteró la secreción de GH tras arginina en el grupo estudiado, si bien en tres mujeres se produjo una reducción del pico secretorio. Llama la atención que tanto en las tres mujeres de este grupo (4) como en la población estudiada por IMURA *et al.* (16), el pico medio de secreción inducido por arginina sea cercano a 30 ng/ml y la fentolamina lo reduzca a aproximadamente 15 ng/ml. Si se considera que este «pico reducido» es igual que los valores máximos de secreción presentados tanto en este trabajo como en otras comunicaciones sobre el tema (24-26), se podría postular la existencia de un componente de stress abolible por el α -bloqueante (19).

Por otra parte, diversos datos indirectos sugieren una no mediación α -adrenérgica en el mecanismo de acción de la arginina, sobre todo comparándola con la hipoglucemia insulínica, estímulo secretor de GH comúnmente aceptado como noradrenérgico. A diferencia de éste, la secre-

ción mediada por el aminoácido no es suprimible por el tratamiento con reserpina (7), glucosa (25), corticosteroides (20), fenfluramina (5) o potenciado por propranolol (28).

La activación dopaminérgica en el mecanismo de acción de la arginina ha sido postulada en base a la observación de que el pretratamiento con pimozide reduce la secreción de GH inducida por este estímulo en una población de pacientes diabéticos (26). Si bien los dos casos presentados en este trabajo responden normalmente ante el estímulo a pesar de haber sido tratados con haloperidol, lo reducido del número de datos no permite especulaciones al respecto. No presenta una fácil explicación los efectos secundarios ocasionados por el haloperidol en dosis habitualmente empleadas por otros autores (9), así como su limitación a los varones.

La difenhidramina, bloqueante de los receptores histaminérgicos H-1, en las condiciones aquí empleadas suprime tanto la secreción de GH por arginina, como los niveles basales de esta hormona. Con una dosificación similar bloquea la secreción de hormona somatotropa inducida por la administración de un derivado sintético de la met-enkefalina (FK 33824, Sandoz) en un grupo de voluntarios sanos (F. CASANUEVA *et al.*, en preparación), lo que sugeriría que la histamina ejerce una importante función en la modulación de la secreción de GH.

Resultados similares han sido reportados mediante el uso de un bloqueante de los receptores H-1 carente de actividad anticolinérgica, la clemastina (24), y a favor de una actividad exclusivamente H-1 obraría el que la administración de cimetidina bloqueante de los receptores H-2 no altera la secreción de GH evocada por arginina (6).

Al igual que ante la hipoglucemia insulínica o la L-dopa (2, 21), la secreción de GH por arginina es reducida mediante un pretratamiento semicrónico con cipro-

heptadina. Empleada en un principio como antiserotoninérgico, en los últimos tiempos se ha comunicado que posee también actividad antihistamínica y anticolinérgica (15), entre otras acciones. Su acción supresora sobre la estimulación arginínica es compatible con un mecanismo histaminérgico, pero no permite conclusiones definitivas sobre una mediación serotoninérgica de la secreción de GH.

Concluyendo, la secreción de GH mediada por arginina presenta una notable reproductibilidad y seguridad de empleo, sugiriéndose la posibilidad de que este aminoácido ejerza su acción activando el receptor H-1 histaminérgico. Los datos presentados excluyen una vía α -adrenérgica de acción para este aminoácido.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. P. Zanardi su ayuda en la realización del manuscrito.

Resumen

Para estudiar la participación de mecanismos α -adrenérgicos, histaminérgicos o serotoninérgicos en la secreción de hormona de crecimiento (GH) inducida por arginina se han realizado pruebas de estimulación con este aminoácido en 36 voluntarios sanos de ambos sexos.

La administración de arginina (30 g/30 min i.v.) induce una clara secreción de GH significativa respecto a los valores basales, en dos grupos diferentes empleados como control. Esta respuesta se acompañó de un ligero descenso no significativo de los valores de glucosa y ácidos grasos libres. La administración concomitante del bloqueante α -adrenérgico fentolamina (0,5 mg/min $\times$ 90 min) no alteró la secreción de GH tras arginina.

Por el contrario, la adición del bloqueante H-1 histaminérgico difenhidramina (50 mg i.v. en pulso 15 min antes y 50 mg conjuntamente con la infusión de arginina) suprimió por completo la secreción de GH e incluso se objetivó una reducción estadísticamente significativa de los valores basales. Resultados similares se obtuvieron con ciproheptadina (2 mg *per os*/6

horas $\times$ 2 días y 4 mg dos horas antes del test), fármaco que bloqueó la elevación de GH sin alterar las cifras basales. En ambos casos no hubo alteraciones significativas de los valores de glucosa o ácidos grasos libres, respecto al grupo control.

Como conclusión el bloqueo de los receptores H-1 histaminérgicos o de éstos más un bloqueo serotoninérgico, inhibe la secreción de GH inducida por arginina; por otra parte, se descarta una activación α -adrenérgica como mecanismo de acción de este aminoácido.

Bibliografía

- BEST, J. B., CATT, K. J. y BURGER, H. G.: *Lancet*, ii, 124-128, 1968.
- BIVENS, C. H., LEOVITZ, H. E. y FELDMAN, J. M.: *New England J. Med.*, 289, 236-239, 1973.
- BLACKARD, W. G. y HEIDINGSFELDER, S. A.: *J. Clin. Invest.*, 47, 1407-1414, 1968.
- BUCKLER, J. H. M., BOLD, A. M., TABERNER, M. y LONDON, D. R.: *Br. Med. J.*, iii, 153-154, 1969.
- CABEZAS-CERRATO, J., CASANUEVA, F., VILLANUEVA, L., GÓMEZ, M., CAMARERO, E. y FERNÁNDEZ-CRUZ, A.: En «Central mechanisms of anorectic drugs». (Garattini, S. y Samanin, R., eds.) Raven Press, Nueva York, 1978, pp. 320-327.
- CASANUEVA, F., VILLANUEVA, L., PEÑALVA, A., HERRANZ, D. NIETO, L., VILA, T. y CABEZAS-CERRATO, J.: *Endocrinología*, 25, 130-133, 1978.
- CAVAGNINI, F. y PERACHI, M.: *J. Endocrinol.*, 51, 651-653, 1971.
- CHAMBERS, J. W. y BROWN, G. M.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42, 169-172, 1976.
- CLARENBACH, P., PRUNKL, R., RIEGLER, M. y CRAMER, H.: *Neuroscience*, 3, 345-348, 1978.
- DEL POZO, E. y LANCRANJAN, I.: En «Frontiers in neuroendocrinology». Vol. 5 (Ganong, W. F. y Martini, L., eds.). Raven Press, Nueva York, 1978, pp. 207-247.
- DOLE, V. P. y MEINERTZ, H.: *J. Biol. chem.*, 235, 2595-2599, 1960.
- DUNNETT, C. W.: *Biometrics*, 20, 482-490, 1964.
- GALA, R. R., PETERS, J. A., PIEPER, D. R. y CAMPBELL, D.: *Life Sci.*, 22, 25-27, 1978.
- HANSEN, A. P.: *J. Clin. Endocrin.*, 33, 807-812, 1971.
- HINTZE, K. L., GROW, A. B. y FISCHER, L. J.: *Biochem. Pharmacol.*, 26, 2021-2027, 1977.
- IMURA, I., KATO, Y., IKEDA, M., MORIMOTO, M. y YAWATO, M.: *J. Clin. Invest.*, 50, 1069-1079, 1971.
- KANSAL, P. C., BUSE, J., TALBERT, O. R. y BUSE, M. G.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34, 99-105 1972.
- MÜLLER, E. E.: En «Hormonal proteins and peptides», Vol. VII. (Li, C. H., ed.) Academic Press, Nueva York, 1978, pp. 123-204.
- MÜLLER, E. E., NISTICO, G. y SCAPAGNINI, U.: En «Neurotransmitters and anterior pituitary function». Academic Press, Nueva York, 1978.
- NAKAGAWA, K., HORIUCHI, Y. y MASHIMO, K.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29, 35-39, 1969.
- NAKAI, Y. y IMURA, H.: *Endocrinol. Japon.*, 22, 357-359, 1975.
- PARKER, M. L., HAMMOND, J. M. y DAUGHADAY, W. H.: *J. Clin. Endocrinol.*, 27, 1129-1131, 1967.
- PENNY, R., BLIZZARD, R. M. y DAVIS, W. T.: *Metabolism*, 19, 165-167, 1970.
- PONTIROLI, A. E., VIBERTI, G., VICARI, A. y POZZA, G.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43, 582-586, 1976.
- RABINOWITZ, D., MERIMEE, T. J., BURGESS, J. A. y RIGGS, L.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 26, 1170-1174, 1966.
- SCHWINN, G., SCHWARCK, H., MCINTOSH, C., MILSTREY, H. R., WILLMS, B. y KOBBERLING, J.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43, 1183-1185, 1976.
- STONE, C. L., WENGER, C. H., LUDDEN, C. T., STAWORSKI, J. M. y ROSS, C. A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 131, 73-75, 1961.
- STRAUCH, G., MODIGLIANI, F. y BRICAIRE, H.: *J. Clin. Endocrinol.*, 29, 606-609, 1969.

