

## Falta de efecto de la fentolamina, fenfluramina y ciproheptadina sobre la secreción de hormona de crecimiento inducida por glucagón

L. Villanueva, A. Peñalva, F. Casanueva \*, J. Muñoz, J. Cabezas-Cerrato y A. Fernández-Cruz

Cátedra I Patología General  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense  
Madrid (España)

(Recibido el 17 de diciembre de 1979)

L. VILLANUEVA, A. PEÑALVA, F. CASANUEVA, J. MUÑOZ, J. CABEZAS-CERRATO and A. FERNANDEZ-CRUZ. *Lack of Action of Phentolamine, Fenfluramine and Cyproheptadine on the Growth Hormone Secretion Induced by Glucagon*. *Rev. esp. Fisiol.*, 36, 299-306. 1980.

The role of  $\alpha$ -adrenergic and serotonergic systems in the glucagon induced growth hormone (GH) release, has been investigated in 25 normal volunteers of both sexes divided into four groups.

Group I received only glucagon (Gn) 1 mg s.c.; Group II received after Gn an phentolamine infusion over 150 min at the rate of 0.5 mg/min; Group III 30 min after Gn received fenfluramine 20 mg as a bolus injection, followed by another 20 mg infused over 90 min period; and Group IV after two days of treatment with cyproheptadine (2 mg p.o., q i d) received the last dose of 4 mg, 120 min before Gn administration.

Gn elicited a clear-cut GH release in the four groups irrespective of treatment. GH peaked at 150 min and this elevation was significantly different from the basal values. No significant differences were present among the groups regarding GH, glucose or free fatty acid levels.

These results suggest that the  $\alpha$ -adrenergic and serotonergic systems are not involved in the Gn induced GH release.

Es ampliamente admitido que el hipotálamo controla la secreción hipofisaria de Hormona de Crecimiento (GH), a través

de un sistema dual basado en la hormona inhibidora, somatostatina, y el hipotético factor estimulador GH-RH aún no identificado. A su vez, este sistema hipotálamico vendría regulado por una compleja red de neurotransmisores que representan el eslabón de conexión entre diversas áreas del sistema nervioso central y las neuronas hipofisiotropas hipotálamicas (21). Es

---

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

a través de estos neurotransmisores (NT) que se transmiten gran parte, si no la totalidad, de los estímulos secretores de GH, siendo de gran interés conceptual el estudio de estos mecanismos íntimos de control.

El glucagón (GN) es uno de los estímulos más eficaces e inoocuos de la secreción de hormona de crecimiento, tanto en el recién nacido (17), como en el niño (28), o adulto (18), existiendo fuertes discrepancias sobre su forma de acción, habiéndose sugerido que actuaría a través de la hipoglucemia relativa tras la hiperglucemia inicial (18) y mediante la activación de vías neuronales  $\alpha$ -adrenérgicas o serotoninérgicas (9, 19).

En el trabajo que se presenta, se ha estudiado la existencia de una mediación  $\alpha$ -adrenérgica en la secreción de GH tras glucagón empleando el bloqueante específico fentolamina; de igual forma, se estudió el efecto de una estimulación o bloqueo serotoninérgico, mediante el uso de fenfluramina y ciproheptadina respectivamente.

### Material y métodos

Han participado en el estudio 25 voluntarios, 10 mujeres y 15 hombres clínicamente sanos, estudiantes de medicina o biología, con edades comprendidas entre 18 y 25 años, encontrándose todos ellos dentro del  $\pm 10\%$  de su peso ideal. Ninguno tomaba fármacos desde al menos dos meses antes del test.

En los tres días previos al estudio, los voluntarios evitaron desviaciones de la dieta y régimen de vida habituales, ingiriendo su último alimento 12 horas antes de la prueba que, habitualmente, comenzaba entre las 8,00 y 9,00 horas. Tras su llegada al laboratorio y descanso de una hora en el lecho donde permanecerían durante todo el estudio, se insertó en una vena del antebrazo un catéter conectado a un frasco con suero salino de lenta circulación para mantener permeable la vía; a

través de este catéter se realizaron las extracciones de sangre sin molestias para los individuos y se administraron los fármacos de acuerdo con la metódica. Treinta minutos tras la inserción del catéter, se realizó la extracción basal (0 minutos) administrándose a continuación el glucagón; las siguientes extracciones se realizaron cada media hora durante tres horas.

Los 25 voluntarios fueron aleatoriamente asignados a uno de los siguientes grupos experimentales:

*Glucagón-control*, 6 reciben en el minuto cero, 1 mg subcutáneo de glucagón (Novo).

*Glucagón-fentolamina*, tras una idéntica administración de glucagón sc., 6 recibieron una infusión de fentolamina (Ciba) a razón de 0,5 mg/min desde el minuto 0 al 150, mediante una bomba de perfusión continua.

*Glucagón-fenfluramina*, a 7 se administró, tras la inyección de glucagón, fenfluramina (Servier), 20 mg iv. en pulso en el minuto 30, y 20 mg adicionales infundidos desde el minuto 60 al 150. La concentración de fenfluramina fue de 20 mg en 5 ml de vehículo.

*Glucagón-ciproheptadina*, 6 siguieron un tratamiento semicrónico con ciproheptadina (Merck) de 2 mg *per os* cada 6 horas durante 2 días, y 4 mg el tercer día, 120 minutos antes del glucagón.

Las muestras de sangre (8 ml aproximadamente) se recogieron en tubos heparinizados sobre hielo, centrifugándose a continuación a 4° C dentro de la primera hora. Tras la toma de alícuotas para determinación de ácidos grasos no esterificados plasmáticos (FFA) y glucosa, el plasma remanente se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la dosificación de GH.

La glucosa plasmática se determinó por el método de glucosa oxidasa (27), los FFA de acuerdo con el método de DOLF y MEYNERT (10) y GH mediante radioinmunoanálisis específico con *Kits* Cea-Ire-Sorin.

Dentro de cada uno de los cuatro gru-

pos experimentales, para estudiar las variaciones de los parámetros respecto a la basal se aplicó el test de la t de Student para datos apareados. La acción de los tres fármacos empleados se estudió comparándolos con el grupo control, mediante el test multiparamétrico de DUNNETT (11). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas aquellas con  $p < 0.05$ .

**Resultados**

La administración de glucagón en el grupo control (fig. 1) indujo un brusco incremento de glucosa con acmé a los 30 min y posterior retorno a la basal sin alteraciones paralelas en los valores de FFA. 120-150 min tras el estímulo se produjo una elevación de los valores de GH con pico máximo a 150 min ( $25 \pm 4$  ng/ml), siendo significativa la elevación respecto a las cifras basales a los 150 y 180 minutos.

La figura 2 muestra el patrón de respuesta ante la administración combinada de glucagón con el  $\alpha$ -bloqueante selectivo fentolamina; tanto la glucosa como los

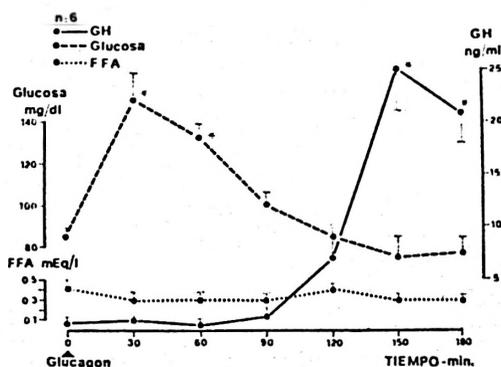


Fig. 1. Variaciones en sangre de glucosa, hormona de crecimiento (GH) y ácidos grasos no esterificados (FFA) por la administración de glucagón (1 mg s.c.). Los asteriscos en esta y subsiguientes figuras indican variaciones estadísticamente significativas respecto a la basal.

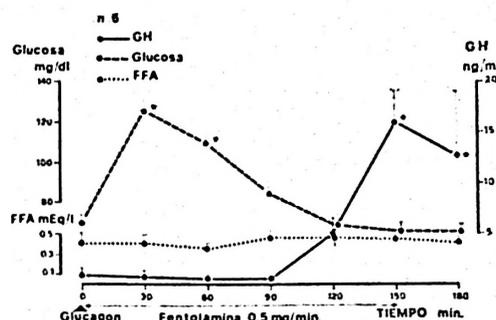


Fig. 2. Variaciones en sangre de glucosa, hormona de crecimiento (GH) y ácidos grasos no esterificados (FFA) por la administración de glucagón (1 mg s.c.) seguida de infusión de fentolamina (0,5 mg/min).

FFA plasmáticos responden de una forma similar al grupo control. La hormona de crecimiento alcanzó valores menores en la media de su pico máximo de acción a los 150 min ( $15,9 \pm 2,7$  ng/ml), con una configuración de la curva y significación respecto a las basales, igual al control. Todos los sujetos de este grupo respondieron positivamente al estímulo del glucagón, no obstante uno lo hizo en el límite de los valores considerados como

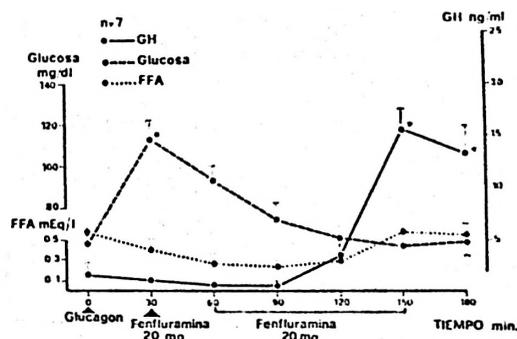


Fig. 3. Variaciones en sangre de glucosa, hormona de crecimiento (GH) y ácidos grasos no esterificados (FFA) por la administración de glucagón (1 mg s.c.), fentfluramina (20 mg iv) seguida de una infusión adicional de fentfluramina (20 mg/5 ml).

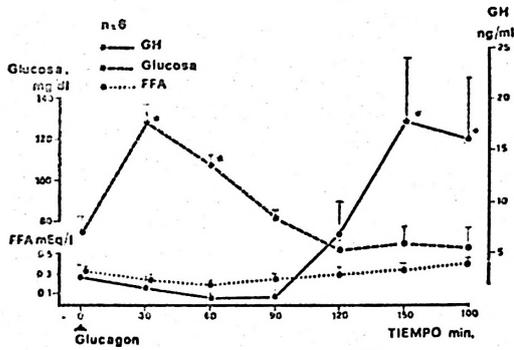


Fig. 4. Variaciones en sangre de glucosa, hormona de crecimiento (GH) y ácidos grasos no esterificados (FFA) por la administración de glucagón con un tratamiento semi- crónico de ciproheptadina.

respuesta positiva de GH (8 ng/ml a 150 minutos).

Tampoco la fenfluramina alteró significativamente la secreción de GH (fig. 3), siendo el máximo de secreción a 150 min de  $17,5 \pm 4,3$  ng/ml. La glucosa alcanzó niveles menores que el grupo control a 30 min ( $113 \pm 9$  y  $148 \pm 7$  mg/dl, respectivamente); se apreció un descenso no sig-

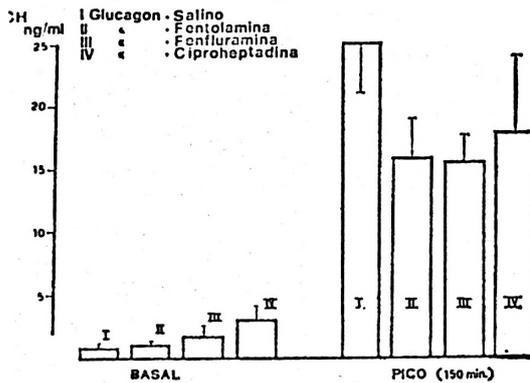


Fig. 5. Valores basales y picos máximos de estimulación en los cuatro grupos experimentales.

Media:  $\pm$  ESM. Las diferencias respecto al grupo control no son estadísticamente significativas.

nificativo de las cifras de FFA en este grupo. Un voluntario no presentó respuesta positiva de GH ante el estímulo.

El pretratamiento con ciproheptadina (fig. 4), no modificó los valores basales de GH, ni la elevación subsiguiente provocada por el glucagón (pico  $17,8 \pm 6$  ng/ml a 150 min). En este grupo dos voluntarios no presentaron respuesta secretoria de GH ante el glucagón. El comportamiento de los parámetros glucosa y FFA fue similar al del grupo control.

En la figura 5 se comparan las medias de las cifras basales y picos máximos de secreción de GH en los cuatro grupos experimentales. No se observaron diferencias significativas en los niveles de glucosa o FFA.

Un voluntario del grupo control y dos del grupo fentolamina experimentaron náuseas transitorias sin vómito; en este último grupo se realizó sistemáticamente al finalizar la prueba una incorporación gradual con masaje de las extremidades inferiores, con lo que se evitaron problemas de hipotensión postural. Todos presentaron congestión nasal y descenso moderado de la tensión arterial. No se registraron efectos secundarios tras la administración de fenfluramina y, en el grupo tratado con ciproheptadina, todos los voluntarios experimentaron somnolencia de moderada intensidad.

## Discusión

Tal como ha sido descrito (6, 23), la secreción de hormona de crecimiento inducida por la administración de glucagón presenta una elevada reproductibilidad. Con ninguno de los tres métodos farmacológicos con los cuales se intentó alterar la sinapsis implicada en esta secreción hormonal, se ha logrado alterar el patrón de respuesta; ante estos resultados, las objeciones inmediatas surgen respecto a la especificidad del fármaco empleado y la suficiencia de la dosis. La fentolamina es

un bloqueante  $\alpha$ -adrenérgico altamente selectivo y a las dosis empleadas en este estudio inhibe la secreción de GH inducida por la administración de L-dopa (15), hipoglucemia insulínica (3), ejercicio físico (24) y vasopresina (13); su falta de eficacia ante el glucagón lleva a suponer que el estímulo ejercido por esta hormona sobre la GH no se ejerce a través de una vía neuronal  $\alpha$ -adrenérgica. Esta hipótesis es contradictoria con la elaborada por MITCHEL *et al.* (19) a raíz de observar el potenciamiento por propranolol de la secreción de GH inducida por glucagón. Este potenciamiento por el bloqueo beta puede, no obstante, ser interpretado si se considera que el glucagón libera catecolaminas adrenales y si bien éstas no son capaces *per se* de estimular la secreción de GH, sí lo son cuando se las combina con propranolol (8).

Respecto a la ciproheptadina empleada en un intento de obtener un bloqueo serotoninérgico, se ha mostrado eficaz a la dosis empleada en este estudio para inhibir la secreción de GH evocada por la hipoglucemia insulínica (2), o por la infusión de arginina (F. CASANUEVA *et al.*, resultados no publicados), asimismo bloquea la acción estimuladora sobre esta hormona de la L-dopa (22), y el grupo de DELITALA *et al.* han informado que es capaz de inhibir la secreción inducida por glucagón (9). La discrepancia con estos resultados no presenta una fácil explicación. Tal vez la repetición de tests en un mismo individuo con pocos días de intervalo pueda justificar, dada la menor respuesta hipofisaria que en estas situaciones se produce, una respuesta disminuida de GH, interpretada como bloqueo (9).

Otro aspecto a destacar en relación con el empleo de la ciproheptadina surge respecto a la especificidad de este fármaco, usado y comercializado como antiserotoninérgico. En los últimos tiempos se han acumulado datos que lo caracterizan como un fármaco excesivamente inespecífico; junto a sus acciones bloqueantes del re-

ceptor serotoninérgico, posee actividad antihistamínica y anticolinérgica (25), antidopaminérgica (12) y de inhibición de la síntesis proteica y hormonal (14), por citar sólo los aspectos más relevantes. Por esto, si bien un bloqueo obtenido con su empleo no permite deducciones selectivas, la falta de acción observada en este trabajo parece sugerir que el glucagón actúa en la liberación de GH por vías extrañas a los neurotransmisores clásicos.

El concepto comúnmente admitido de que la serotonina es un neurotransmisor estimulante de la secreción de GH ha sido puesto en duda por diversos datos experimentales y MÜLLER ha postulado que este efecto sería en realidad de tipo inhibitorio (20). Para estudiar esta hipótesis se ha empleado en adición al estímulo del glucagón la fenfluramina, fármaco serotoninérgico incapaz *per se* de activar el receptor post-sináptico y cuyo mecanismo de acción se ejerce a través de la liberación de serotonina del terminal presináptico neuronal (7). Con una metódica similar a la reportada en este trabajo la fenfluramina inhibe la secreción de GH provocada por el ejercicio físico, la administración de L-dopa, la hipoglucemia insulínica e, incluso, la hipersecreción crónica de la acromegalia (5, 26). De los datos presentados parece deducirse que tanto el bloqueo como la estimulación serotoninérgica son incapaces de alterar la acción del glucagón.

MASALA *et al.* (16) indican que el bloqueo del receptor dopaminérgico con pimozide no altera de igual modo la secreción de GH tras la administración de glucagón, si se considera que estos tres neurotransmisores previamente discutidos parecen participar en la liberación de GH cuando el estimulante es la hipoglucemia insulínica y que se ha demostrado la incapacidad de una infusión concomitante de glucosa para antagonizar el efecto del glucagón (24), la hipótesis de MITCHEL *et al.* (19), que sugieren una acción directa del mismo y no a través de la hipogluce-

mia relativa post-hiperglucemia, queda reforzada.

El hecho de que en todos los grupos tratados farmacológicamente se encuentre una reducción en las cifras de estimulación de GH, si bien no significativa, sugiere que, junto al efecto estimulante directo principal, existe un segundo de menor importancia que puede ser atribuido a la hipoglucemia.

Como conclusión, en los datos aquí expuestos el glucagón aparece como un estímulo secretor de GH de elevada reproductibilidad, no existiendo evidencia de que, como ocurre para otros estímulos, se encuentren implicadas vías adrenérgicas o serotoninérgicas en su mecanismo de acción, dato sugerente de una acción directa estimuladora y no mediada por la hipoglucemia relativa como generalmente se admite. Si esta acción se ejerce a nivel directamente hipofisario (1, 4) o en los últimos pasos que regulan la secreción de somatostatina o GH-RH, no es posible establecerlo en la actualidad. Cabe asimismo la posibilidad de que el glucagón estimule la secreción de GH a través de neurotransmisores no estudiados en este trabajo.

#### Agradecimientos

Agradecemos a la doctora P. Zanardi su ayuda en la realización del manuscrito y a Laboratorios Servier la donación de fenfluramina en ampollas.

#### Resumen

Se ha estudiado la participación de los neurotransmisores  $\alpha$ -adrenérgicos y serotoninérgicos en la liberación de hormona de crecimiento (GH) inducida por glucagón (Gn), en 25 voluntarios sanos de ambos sexos divididos en cuatro grupos.

El grupo I recibió sólo Gn, 1 mg sc.; el grupo II, tras el Gn recibió una infusión de fentolamina durante 150 min a razón de 0,5 mg/min; el grupo III, 30 min después del Gn, fenfluramina 20 mg iv. y otros 20 mg infun-

dados en un periodo de 90 min, y el grupo IV, tras un pretratamiento con ciproheptadina durante dos días (2 mg p.o/6 horas) recibió la última dosis de 4 mg dos horas antes del Gn.

La administración de Gn provocó una clara liberación de GH en los cuatro grupos, independientemente del tratamiento, con picos máximos secretorios a 150 min, siendo esta elevación estadísticamente significativa respecto a los valores basales. La comparación de los cuatro grupos entre sí no mostró diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los valores de GH, glucosa o ácidos grasos libres.

Estos resultados sugieren la falta de participación  $\alpha$ -adrenérgica o serotoninérgica en la secreción de GH inducida por Gn.

#### Bibliografía

- ANDLER, W., BIRO, G., BERNASCONI, S. y GIOVANELLI, G.: *Acta Endocrinol.*, 80, 70-80, 1975.
- BIVENS, C. H., LEBOVITZ, H. E. y FELDMAN, J. M.: *N. England J. Med.*, 289, 236-239, 1973.
- BLACKARD, W. G. y HEIDINGSFELDER, S. A.: *J. Clin. Invest.*, 47, 1407-1414, 1968.
- BLOOM, S., MILLAR, J. G. B., NABARRO, J. D. N., PIYASENA, R. y SPATHIS, G. S.: *J. Endocrinol.*, 53, A. 43, 1972.
- CABEZAS-CERRATO, J., CASANUEVA, F., VILLANUEVA, L. GÓMEZ, M. y CAMARERO, E.: *Arch. Pharm. Toxicol.*, 4, 227-236, 1978.
- CABEZAS-CERRATO, J., MARCO, A. L., VILLANUEVA, L., CASANUEVA, F., VILA, T. y FERNÁNDEZ-CRUZ, A.: *Rev. clin. Esp.*, 138, 7-12, 1975.
- COSTA, E., GROPPETTI, A. y REVUELTA, A.: *Br. J. Pharmacol.*, 41, 57-59, 1971.
- 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.
- DELITALA, G., DEVILLA, L., BIONDA, S. y FRANCA, V.: *Metabolism.*, 26, 931-936, 1977.
- 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.
- HEIDINGSFELDER, S. A. y BLACKARD, W. G.: *Metabolism.*, 17, 1019-1024, 1968.

14. HINTZE, K. L., GROW, A. B. y FISCHER, L. J.: *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 2021-2027, 1977.
15. KANSAL, P. C., BUSE, J., TALBERT, O. R. y BUSE, M. G.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **34**, 99-105, 1972.
16. MASALA, A., DELITALA, G., DEVILLA, L., ALAGNA, S., ROVASIO, P. P. y LOTI, G.: *Atti. XVII Cong. Soc. it. Endocrinol.*, Torino, 1970, Abstr. 62.
17. MILNER, R. D. G. y WRIGHT, A. D.: *Clin. Science*, **32**, 249-251, 1967.
18. MITCHELL, M. L., BYRNE, M. J. y SILVER, J.: *Lancet*, **i**, 289-290, 1969.
19. MITCHELL, M. L., SUVUNRUNGSI, P. y SAWIN, C. T.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **32**, 470-475, 1971.
20. MÜLLER, E. E.: En «Hormonal proteins and peptides», Vol. VII (Li, C. H., ed.). Academic Press, Nueva York, 1979, pp. 123-204.
21. MÜLLER, E. E., NISTICO, G. y SCAPAGNINI, U.: En «Neurotransmitters and anterior pituitary function». Academic Press, Nueva York, 1977.
22. NAKAY, Y. y IMURA, H.: *Endocrinol. Japon.*, **22**, 357-359, 1975.
23. PODOLSKY, S. y SIVAPRASAD, R.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **35**, 580-583, 1972.
24. SAWIN, C. T., SILVERT, C. K. y MITCHELL, M. L.: *Metabolism.*, **24**, 1009-1014, 1975.
25. STONE, C. L., WENGER, H. C., LUDDEN, C. T., STAWORSKI, J. M. y ROSS, C. A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **131**, 73-75, 1961.
26. SULAIMAN, W. R. y JOHNSON, R. R.: *Brit. Med. J.*, **2**, 329-332, 1973.
27. WASKO, M. E. y RICE, E. W.: *Clin. Chem.*, **7**, 542-545, 1961.
28. WEBER, B., HELGE, H. y QUABBE, H.-J.: *Acta endocrinol.*, **65**, 323-325, 1970.

