



UNIVERSIDAD DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

**“VALORACIÓN DE LA RESPUESTA PINEAL EN
NIÑOS CON BAJA TALLA TRAS UN TEST DE
ESTÍMULO MEDIANTE LA HIPOGLUCEMIA-
INSULÍNICA”**

Enrique Caro Cruz

Granada, marzo de 2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Enrique Caro Cruz
D.L.: GR. 2901-2008
ISBN: 978-84-691-8330-4

Certificaciones

D. Antonio Muñoz Hoyos, Profesor Titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Certifica: que **D. Enrique Caro Cruz**, Licenciado en Medicina y Cirujía, ha realizado su Trabajo de Investigación Prospectivo para la confección de la Memoria de TESIS DOCTORAL, bajo mi dirección sobre el Tema: “**VALORACIÓN DE LA RESPUESTA PINEAL EN NIÑOS CON BAJA TALLA TRAS UN TEST DE ESTÍMULO MEDIANTE LA HIPOGLUCEMIA-INSULÍNICA**”, la que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido leída y revisada la presente y estando conforme para su presentación para ser juzgada

Prof. A. Muñoz Hoyos

En Granada, abril de 2008

D.Carlos J. Ruiz Cosano, Profesor Titular de Pediatría, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Certifica: que **D. Enrique Caro Cruz**, Licenciado en Medicina y Cirujía, ha realizado su Trabajo de Investigación Prospectivo para la confección de la Memoria de TESIS DOCTORAL, bajo mi dirección sobre el Tema: “**VALORACIÓN DE LA RESPUESTA PINEAL EN NIÑOS CON BAJA TALLA TRAS UN TEST DE ESTÍMULO MEDIANTE LA HIPOGLUCEMIA-INSULÍNICA**”, la que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido leída y revisada la presente y estando conforme para su presentación para ser juzgada

Prof. Carlos J. Ruiz Cosano

En Granada, abril de 2008

D. Juan Manuel Fernández García, Profesor Asociado de Ciencias de la Salud, de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Certifica: que **D. Enrique Caro Cruz**, Licenciado en Medicina y Cirujía, ha realizado su Trabajo de Investigación Prospectivo para la confección de la Memoria de TESIS DOCTORAL, bajo mi dirección sobre el Tema: “**VALORACIÓN DE LA RESPUESTA PINEAL EN NIÑOS CON BAJA TALLA TRAS UN TEST DE ESTÍMULO MEDIANTE LA HIPOGLUCEMIA-INSULÍNICA**”, la que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido leída y revisada la presente y estando conforme para su presentación para ser juzgada

Prof. Juan M. Fernández García

En Granada, abril de 2008

Dedicatorias

A mi mujer, sin cuya paciencia y comprensión no hubiera sido posible disponer de ningún tiempo extra.

A mis hijos, ya hombres, con capacidad suficiente para compartir las ilusiones de su padre.

Al Dr. D. Juan Manuel Fernández García por su ejemplo y su estímulo, que me inició en la andadura de la Endocrinología Pediátrica.

Al Dr. D. Antonio Muñoz Hoyos por sus consejos y su ánimo constante para que no me rindiera la edad.

A la memoria del Dr. D. José Montilla Bono, magnífico amigo y mejor compañero, que me acompañó en mis primeros pasos como Pediatra.

Indice

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Introducción..... | 1 |
| 1.1 | <i>Evolución.....</i> | <i>1</i> |
| 1.2 | <i>Historia.....</i> | <i>2</i> |
| 1.3 | <i>Embriología.....</i> | <i>5</i> |
| 1.4 | <i>Anatomía y relaciones anatómicas.....</i> | <i>6</i> |
| 1.4.1 | <i>Inervación.....</i> | <i>6</i> |
| 1.5 | <i>Control neural de la síntesis de melatonina.....</i> | <i>7</i> |
| 1.6 | <i>Regulación de la síntesis de melatonina.....</i> | <i>7</i> |
| 1.6.1 | <i>Receptores de melatonina.....</i> | <i>9</i> |
| 1.6.2 | <i>Maduración del sistema general del ritmo de melatonina.....</i> | <i>10</i> |
| 1.7 | <i>Concentraciones de melatonina durante los primeros años de vida.....</i> | <i>12</i> |
| 1.8 | <i>Acciones y aspectos de interés clínico de la melatonina.....</i> | <i>14</i> |
| 1.8.1 | <i>Glándula pineal y eje tiroideo.....</i> | <i>14</i> |
| 1.8.2 | <i>Glándula pineal y eje hipofiso-adrenal. Participación de la glándula pineal en el crecimiento y desarrollo.....</i> | <i>15</i> |
| 1.9 | <i>Implicación de la glándula pineal en el desarrollo humano.....</i> | <i>16</i> |

| | |
|---|----|
| 1.9.1 Pubertad y glándula pineal..... | 16 |
| 1.10 Bases para la creación de un test de función pineal..... | 17 |
| 1.10.1 Factores que modifican la producción de melatonina..... | 17 |
| 1.10.1.1 Regulación lumínica..... | 17 |
| 1.10.1.2 Estación del año..... | 18 |
| 1.10.1.3 Edad..... | 18 |
| 1.10.2 Regulación hormonal..... | 18 |
| 1.10.2.1 Influencia de las hormonas gonadales sobre la función pineal..... | 18 |
| 1.10.2.2 Influencia de las hormonas liberadoras en situación de estrés por la pineal..... | 19 |
| 1.10.2.3 Drogas que disminuyen la producción de melatonina..... | 21 |
| 1.10.2.4 Glándula pineal y crecimiento humano: interrelación..... | 21 |
| 1.11 Glándula pineal y crecimiento..... | 22 |
| 1.11.1 Melatonina y crecimiento lineal..... | 23 |
| 1.12 Neuroregulación de la hormona de crecimiento..... | 24 |
| 1.12.1 Patrón de secreción de la hormona de crecimiento..... | 26 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1.12.2 | Patrón de secreción de la hormona de crecimiento. Influencia del sexo..... | 28 |
| 1.12.3 | Edad y patrón secretor de hormona de crecimiento..... | 29 |
| 1.12.4 | Sueño y patrón de secreción de hormona de crecimiento..... | 30 |
| 1.12.5 | Hormonas hipotalámicas y secreción de hormona de crecimiento..... | 30 |
| 1.12.6 | Hormona liberadora de hormona de crecimiento..... | 30 |
| 1.12.7 | Somatostatina..... | 32 |
| 1.12.8 | Péptidos liberadores de hormona de crecimiento..... | 33 |
| 1.12.9 | Otras moléculas cerebrales en la neuroregulación de hormona de crecimiento..... | 33 |
| 2 | Objetivos..... | 40 |
| 2.1 | <i>Justificación y objetivos.....</i> | <i>41</i> |
| 3 | Material y Métodos..... | 44 |
| 3.1 | <i>Método clínico.....</i> | <i>45</i> |
| 3.1.1 | Diagnóstico del paciente con baja talla patológica..... | 45 |
| 3.1.2 | Indicaciones para el estudio de la secreción de GH en la baja talla..... | 46 |
| 3.2 | <i>Método Analítico.....</i> | <i>47</i> |
| 3.2.1 | Test funcionales para estimular la producción de hormona de crecimiento..... | 47 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3.2.2 | Tests fisiológicos de estimulación de hormona de crecimiento..... | 48 |
| 3.2.3 | Tests farmacológicos..... | 48 |
| 3.3 | <i>Métodos de laboratorio</i> | 49 |
| 3.3.1 | Radioinmunoensayo para la hormona de crecimiento..... | 49 |
| 3.3.2 | Radioinmunoensayo para melatonina..... | 51 |
| 3.4 | <i>Método estadístico</i> | 55 |
| 4 | Resultados | 60 |
| 4.1 | <i>Estadística descriptiva</i> | 60 |
| 4.2 | <i>Estadística Básica</i> | 60 |
| 4.3 | <i>Inferencia estadística</i> | 84 |
| 4.3.1 | Inferencia estadística: análisis comparativo según diagnósticos..... | 112 |
| 5 | Discusión | 137 |
| 5.1 | <i>Caracterización de los receptores Hipofisarios</i> | 137 |
| 5.1.1 | Consideraciones metodológicas..... | 13 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 5.1.2 | Definición funcional de receptor..... | 139 |
| 5.1.3 | Naturaleza química de los receptores..... | 139 |
| 5.1.4 | Localización subcelular..... | 140 |
| 5.1.5 | Receptores de superficie y estructura de membranas plasmáticas..... | 141 |
| 5.1.6 | Regulación del receptor..... | 142 |
| 5.1.7 | Sistema de acoplamiento receptorial y activación celular..... | 147 |
| 5.2 | <i>Receptores en cerebro y pineal.....</i> | <i>151</i> |
| 5.2.1 | Variaciones de los ciclos de 24 horas de los receptores adrenérgicos en la glándula pineal de los mamíferos..... | 151 |
| 5.2.2 | Receptores de la melatonina en cerebro, retina e hipófisis..... | 152 |
| 5.2.3 | Melatonina: metabolitos y SNC..... | 157 |
| 5.2.4 | Mecanismo de acción: receptores y/o metabolitos..... | 159 |
| 5.2.5 | Melatonina: lugares y mecanismo de acción..... | 165 |
| 5.3 | <i>Melatonina y hormona de crecimiento. Vías de interconexión y su traducción en la fisiología neuroendocrina del sistema hipotálamo-hipofisario.....</i> | <i>167</i> |
| 6 | Conclusiones..... | 173 |
| 7 | Bibliografía..... | 175 |

Abreviaturas

Términos científicos de: Anatomía/ Histología/ Citología:

- SCG: ganglio cervical superior.
- SCGx: extirpación bilateral del SCG.
- Px: pinealectomía pinealectomizado.
- LCR: líquido cefalorraquídeo.
- SNC: sistema nervioso central.
- SCN: núcleo supraquiasmático.
- MBH: hipotálamo mediobasal.
- BHE: barrera hematoencefálica.
- APUD: "Amine Precursor Uptake and Decarboxilation".

Bioquímica/ Biología molecular:

- 3H: sustancia tritiada.
- TRP: triptófano.
- L- TRP: triptófano, forma levógira.

Indoles pineales:

- HW: 5-hidroxi-triptófano.
- HT: 5-hidroxi-triptamina (serotonina).
- aHT: N-acetil-5-hidroxi-triptamina.
- HAld: 5-hidroxi-acetaldehído.
- HA: ácido-5-hidroxi-indol-acético.
- HL: 5-hidroxi-triptofol.
- MT: 5-metoxi-triptamina.
- aMT: N-acetil-5-metoxi-triptamina (melatonina).
- MA: ácido 5-metoxi-indol-acético.
- ML: 5-metoxi-triptofol.
- MW: metoxi-triptófano.
- aML: N-acetil-5-metoxi-triptofol.
- aMK: N-acetil-5-metoxi-kinurenamina.
- aFoMK: N-acetil-N2-formil-5-metoxi-kinurenamina.

Metabolitos del triptófano vía Kinurenina:

- L-Kyn: L-Kinurenina, Kinurenina.
- OH-Kyn: 3-hidroxi-kinurenina.
- OHA: 3-hidroxi-antranílico.

- AP: ácido picolínico.
- AN: ácido nicotínico.
- AQ: ácido quinolínico.
- AX: ácido xanturénico.
- AA: ácido antranílico.
- AK: ácido kinurénico.
- NAM: nicotinamida.

Probables Neurotransmisores:

- NE: noradrenalina.
- E: adrenalina o epinefrina.
- DA: dopamina.
- Ach: acetil colina.
- GABA: ácido gamma-amino-butírico.

Hormonas, hormonas liberadoras y neuropéptidos:

- CRH: hormona liberadora de corticotropina.
- ACTH: hormona estimulante de la corteza suprarrenal.
- COR: cortisol.
- GHRH: hormona liberadora de somatotropina.
- GH: hormona de crecimiento.
- SS: somatostatina.
- PRL: prolactina.
- GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas.
- FSH: hormona foliculo estimulante.
- LH: hormona luteinizante.
- TRH: hormona liberadora de tirotropina.
- TSH: hormona estimulante del tiroides.
- T4: tiroxina.
- T3: tri-iodo-tironina.
- TCT: tirocalcitonina.
- PTH: parathormona.
- MSH: hormona estimulante de los melanocitos.
- PG: prostaglandinas.
- AVP: arginina-vasopresina.
- VIP: péptido intestinal vasoactivo.

- DSIP: "delta-sleep-inducing-peptide".
- POMC: proopiomelanocortina.
- B-end: B-endorfinas.

Enzimas pineales y otras. Coenzimas:

- TPO: triptófano-pirrolasa (triptófano-oxigenasa).
- TH: triptófano hidroxilasa.
- AAD: amino-aromático-descarboxilasa.
- HW - Descarboxilasa: 5-O H - triptófano-descarboxilasa.
- SNAT o NAT: serotonín-N-acetil-transferasa.
- HIOMT: hidroxí-indol-O-metil-transferasa.
- IDO: indoleamina-2,3-dioxigenasa.
- MAO: mono-amino-oxidasa (tipos A o B).
- AID: aldehído-reductasa.
- AD: alcohol-deshidrogenasa.
- DBO: dopamina-a-oxidasa.
- TrH: tirosina-hidroxilasa.
- COMT: catecol-O-metil-transferasa.
- AcCoA: acetil-coenzima-A.

Otros términos y anotaciones científicas:

- RN: recién nacido.
- Lm.: intramuscular.
- Lv.: intravenoso.
- Lp.: intraperitoneal.
- Lc.v.: intracerebroventricular.
- g.: gramos.
- Kg.: kilogramos.
- mI: mililitro.
- cm: centímetros.
- mm: milímetros.
- pg/ mI: picogramos por mI.
- ng/ mI: nanogramos por mI.
- µg/ml: microgramos por mI.
- min.: minuto.
- Fig.: figura.

- R_i: pico de referencia.
- M: molar.
- N: normal.
- D.E.: desviación estándar.
- X +/- DS: media más menos desviación estándar.
- n: número de casos.
- p: nivel de significación.
- N.S.: no significativo.
- g.l.: grados de libertad.
- a: coeficiente de regresión.
- b: término independiente.
- r: coeficiente de correlación.
- R: coeficiente de determinación.
- t: t de Student.
- F: F de Snedecor. .
- exp.: experimental.
- R.L.: regresión lineal.
- HPLC-ED: cromatógrafo líquido de alta resolución, detección electroquímica.
- RIA: radio-inmuno-ensayo.
- GC-MS: cromatógrafo de gases-masa.
- Ca: calcio.
- P: fósforo.
- Mg: magnesio.
- FAO: fosfatasa alcalina ósea.
- FAH: fosfatasa alcalina hepática.

Grupos de estudio:

- BTF: baja talla familiar.
- RCC: retraso constitucional del crecimiento y desarrollo.
- DGH: déficit de GH.

1.- Introducción

1. Introducción.

La glándula pineal forma parte de la región diencefálica, está alojada en el centro geométrico del encéfalo y tiene el tamaño y la forma de un piñón, lo que originó su nombre inicial «konarium», (piñón en griego) (1). Al surgir como una evaginación del techo del tercer ventrículo recibe el nombre de epífisis (excrecencia superior), en contraposición con la hipófisis (excrecencia inferior).

La *epiphysis cerebri* o glándula pineal, se enmarca entre los órganos diencefálicos cuya función esencial es la fotorrecepción. Los fotorreceptores son órganos encargados de coleccionar y procesar la radiación lumínica del entorno ambiental. Después de traducirla a impulsos nerviosos, la envían hacia los centros neurales integradores que regulan las actividades cíclicas de los individuos. Merced a su valor adaptativo, los centros somáticos de esta índole persisten en todas las especies biológicas. La singularidad orgánica de esta estructura nerviosa reside en cuatro hechos fundamentales:

1. Su evolución a partir de un fotorreceptor ancestral.
2. Su antigüedad y persistencia filogenética.
3. Su capacidad para traducir los ritmos del fotoperiodo ambiente a manera de pulsos hormonales.
4. La multiplicidad de situaciones fisiológicas en las que participa.

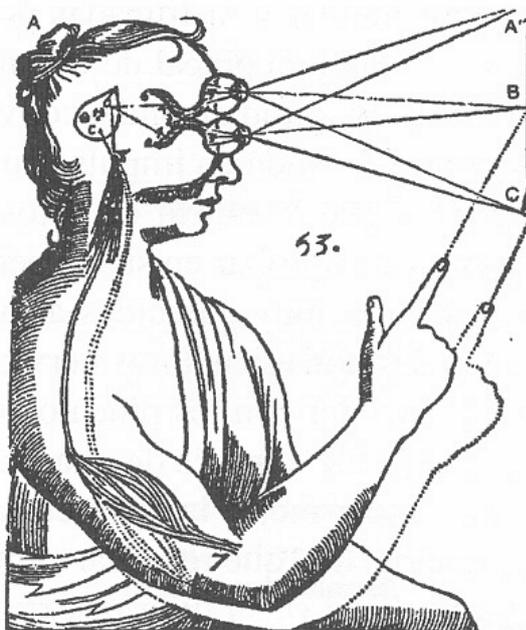


Figura 1.-

1.1 Evolución.

Se estima que desde hace 400 millones de años está presente en la escala de los vertebrados. En sus comienzos funcionó como un ojo (tercer ojo) (1). Su nicho era un orificio excavado en el hueso parietal derecho. No estaba sola, su compañero fotorreceptor persiste bajo la piel que cubre el dorso del cráneo, el órgano parapineal, o tercer ojo, de los anfibios y reptiles contemporáneos. La epífisis en cambio, se introdujo profundamente en el cráneo hasta adosarse al techo del tercer ventrículo cerebral.

Juntas, epífisis y parapineal conforman el complejo pineal. Aves y mamíferos poseen sólo el componente epifisiario, en el resto de los vertebrados retiene su carácter de fotorreceptor, captando la radiación lumínica a través de células fotosensibles, y mediante un haz de fibras nerviosas, conduce la información hacia el sistema nervioso central.

1.2 Historia.

En las culturas orientales permanece una visión esotérica. La pineal formaría parte de los centros psíquicos superiores. En ella se localiza el séptimo chancra, o tercer ojo, que proporciona la clarividencia, es decir poseer la conciencia de los acontecimientos pasados, predecir el futuro y conocer la esencia de las cosas.

Para Heterófilo era una válvula que regulaba el paso del pneuma del tercero al cuarto ventrículos. Galeno, demuestra que la glándula pineal está localizada fuera del citado sistema ventricular, y hace una meticolosa descripción de sus características y relaciones vasculares, atribuyéndole una función de "paso" entre cerebro y vasos cerebrales. Vesalio (1514-1564), contribuyó igualmente a su conocimiento al señalar su situación anatómica en su conocida obra "De Humanis Corporis Fabrica". Descartes la describe como asiento del alma, recibiendo la información a través de los ojos para influir en el resto del organismo (2) (Fig. 1). Heubner describe en el año 1898 la aparición de pubertad precoz en un niño con un tumor pineal. A pesar de este hallazgo, hasta mediados del siglo XX se la considera relacionada con enfermedades mentales al encontrarla calcificada en personas fallecidas con esta patología, comprobándose después, que esta proceso degenerativo podía encontrarse en personas mentalmente sanas (3). En 1917, McCord y Allen demuestran que la administración extractos pineales aclaraba la piel de la rana (4).

Finalmente, Lerner y col. describen la estructura de su secreción principal, la N-acetil-5-metoxi-triptamina, a la que llaman melatonina porque es capaz de aclarar las células que producen el pigmento melanina y ser un derivado de la serotonina.

Posteriormente, cuando se observa que estímulos procedentes del medio exterior desencadenan procesos secretores, nace el concepto de "neuroendocrinología". Este hecho ofrece nuevas perspectivas al estudio de la glándula pineal. La sustancia "mensajera" entre el medio externo y el interno debía tener características tanto neurales como endocrinas, estar en disposición de responder a los productos "neurohumorales" que son depositados localmente por medio de las terminaciones nerviosas, y tener un mecanismo nervioso capaz de sintetizar una hormona y trasladarla hasta el torrente sanguíneo. Inicialmente, las estructuras anatómicas que integraron este nuevo "sistema neuroendocrino" fueron el

hipotálamo-lóbulo posterior hipofisario, hipotálamo-lóbulo anterior hipofisario y la médula suprarrenal, y posteriormente, tras las aportaciones de Wurtman y Axelrod (5), el denominado "cuarto transmisor neuroendocrino": la glándula pineal.

Además de ser un órgano endocrino de origen neural, la glándula pineal posee una población celular única y homogénea, "el pinealocito", elemento neuroendocrino que funciona íntimamente relacionado con los cambios de luminosidad ambiental. En su actividad circadiana está controlada por el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, modulado a su vez por las fibras nerviosas que le llegan procedentes de la retina. Como resultado funcional la glándula pineal produce compuestos peptidérgicos y cuatro metoxiindoles, entre ellos la melatonina, considerada una "hormona maestra" capaz de regular (modular) la producción de otras, logrando así un adecuado engranaje del concierto hormonal. Los pinealocitos pueden mantenerse con facilidad en medios de cultivo, lo que posibilita en gran medida su estudio funcional.

En definitiva, estas concepciones fisiológicas, han permitido que el conocimiento de los aspectos tanto anatómicos como funcionales de la glándula pineal, se haya incrementado de forma exponencial en el transcurso de los últimos años, todo lo cual hace pensar que esta estructura glandular por sus especiales características y por sus relaciones con el medio externo e interno, puede ser la clave de múltiples mecanismos de regulación endocrino-metabólica.

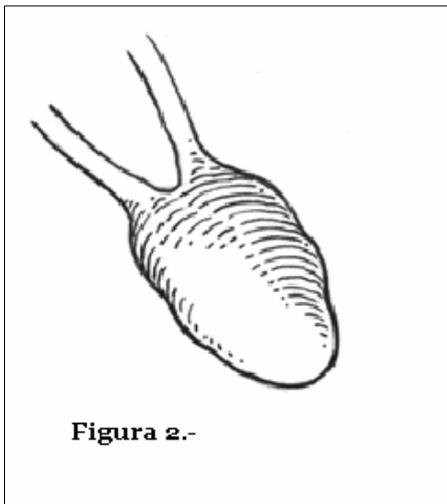
A finales de los 70 Reiter (6), propuso a la melatonina como la hormona mediadora de los cambios del eje gonadal del hámster en relación con el fotoperiodo prevalente, que permiten al animal reproducirse al llegar el periodo estival cuando la abundancia de alimentos eleva las posibilidades de supervivencia de la cría. Posteriormente, y ya de una forma continuada, han ido describiéndose nuevos aspectos funcionales de la melatonina: su relación con los mecanismos que regulan las situaciones de vigilia-sueño, su participación como hormona del período postictal refractario en los trastornos convulsivos, su acción como hormona tranquilizadora (antagónica en cierta medida del cortisol y en consecuencia "anti-estrés"), su reciente descripción como potenciadora del sistema inmune y por tanto relacionada con el cáncer, su ya clásica participación en los ritmos biológicos admitiéndose en la actualidad su papel fundamental en la regulación del sueño y su empleo terapéutico en el desajuste horario que se presenta en los viajes transatlánticos ("jet lag"). La más reciente entre las acciones atribuidas a la melatonina es el reconocimiento, nuevamente por Reiter, de su capacidad antioxidante, acción que en la literatura ha sido corroborada por más de 800 trabajos internacionales.

En la actualidad la investigación pineal se considera como un terreno interdisciplinar, en el que tienen mucho que aportar biólogos, fisiólogos, endocrinólogos, cronobiólogos, y clínicos. Hoy no se duda del importante papel que la pineal y su neurohormona juegan en el concierto neuroendocrino, porque estamos ante una sustancia simple que ha conservado su estructura molecular a lo largo de miles de millones de años. Debió aparecer como antioxidante en seres unicelulares, para neutralizar la toxicidad del oxígeno, adquiriendo posteriormente funciones hormonales conforme aumentaba la complejidad del organismo vivo. A lo largo de la evolución ha mantenido su perfil circadiano con máxima secreción nocturna, coincidente con el periodo de descanso de la mayoría de las especies, debiendo participar en consecuencia en los procesos de restauración.

1.3 Embriología.

La glándula pineal humana aparece como una evaginación del diencéfalo dorsal hacia el día 36 de gestación (estadio de 6-8mm). Procede del ectodermo del tercer ventrículo y de la pía de la tela coroidea. Esta última forma la cápsula y los septos a través de los cuales penetran en la glándula los vasos sanguíneos y las fibras nerviosas.

Durante el período embrionario sus células se disponen formando cordones que se



agrupan en dos lóbulos, que finalmente se unen hacia el día 150 de gestación, haciéndose imperceptible después del nacimiento el tracto conjuntivo que los separaba. Al inicio del tercer mes de gestación las fibras nerviosas comisurales ya han penetrado en el órgano, mientras que las fibras nerviosas simpáticas llegan al polo caudal pineal entre los 60 y 82 días, y presentan varicosidades terminales sobre el día 150 de gestación, momento en el que contienen vesículas claras de núcleo denso o granulares, con serotonina (HT). Este hecho, junto a la presencia de bandas sinápticas entre pinealocitos,

indica que la pineal fetal ya es activa. (7).

La estructura lobular desaparece tras el nacimiento y la glándula pineal adopta una disposición "en mosaico" hacia el noveno mes de vida postnatal. Cuando el niño alcanza el año de vida, la morfología pineal es prácticamente idéntica a la del adulto (8), con desaparición de la estructura en mosaico; encontrando en el parénquima folículos de células ependimarias de origen subcomisural. La importancia funcional de estos cambios se desconocen (9).

1.4 Anatomía y relaciones anatómicas.

La pineal humana, descansa sobre la cara posterior del diencefalo entre los tubérculos bigéminos craneales, formando una depresión conocida como la huella de la epífisis, tiene forma cónica o de piña. (Fig. 2). Se calcula su peso medio entre 130-140 mg con amplias oscilaciones individuales, suele aumentar con la edad hasta los 30-50 años, y después disminuye ligeramente. Su color es gris oscuro y sus diámetros están comprendidos entre 7x5x4 mm y 12x8x4 mm aproximadamente (10), (11). En la figura 3, se representa la imagen obtenida



Figura 3

mediante TC de la pineal humana. Se describe una relación directa entre el tamaño de la pineal y la distancia al ecuador a la que se encuentra el hábitat de la especie animal considerada. Su morfología (cono, piña, elipse) nos ha permitido el desarrollo de un modelo teórico para obtener una aproximación válida de su volumen. Ese modelo se expresa en la (Fig. 4).

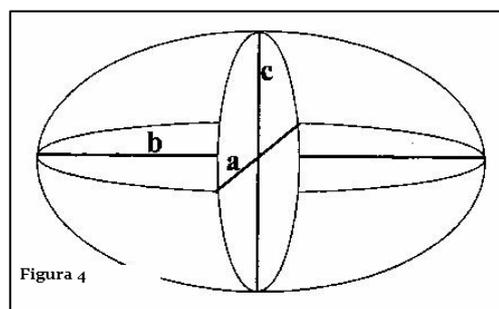


Figura 4

Su tamaño no guarda relación con el peso del cerebro, ni con la raza, siendo significativamente superior en individuos tratados con corticoides. Conforme aumenta la edad del individuo aumenta ligeramente la lobulación, fibrosis y gliosis, y desciende la celularidad. Las necropsias efectuadas a fallecidos por neoplasias malignas revelan una pineal de menor tamaño que los fallecidos por otra causa, y mayor número de cavidades (13). El flujo sanguíneo de la pineal es mucho mayor que el de otras glándulas y órganos, siendo superado únicamente por el riñón.

1.4.1 Inervación.

La pineal tiene una doble inervación: postganglionar simpática, (descrita por Ramón y Cajal en 1904) (14), de origen periférico, noradrenérgica, e inervación serotoninérgica, de origen central. Las fibras postgangliónicas llegan a la pineal junto a los vasos sanguíneos y terminan en los espacios pericapilares y a veces entre las células parenquimatosas sin formar sinapsis con éstas (15). La trascendencia funcional de la integridad de la vía nerviosa se pone de manifiesto porque la extirpación bilateral del SCG, su interrupción a cualquier nivel, así como la administración de fármacos β -bloqueantes provocan la supresión hormonal. La pineal también dispone de inervación parasimpática colinérgica. Las fibras pinealopatales parten del SNC y llegan a la pineal a través del tallo pineal. La mayoría tienen su origen en

células situadas en los núcleos del rafe y habenular medial y/o lateral. Usan serotonina como neurotransmisor. Hay además neuronas y fibras peptidérgicas. Algunos estudios atribuyen también a las hormonas hipotalámicas el papel de neurotransmisores con capacidad reguladora de la función pineal. La existencia de verdaderas fibras pinealofugales (inervación sensorial de la glándula pineal) no está plenamente establecida (11), (15), (16).

1.5 Control neural de la síntesis de melatonina.

La vía nerviosa que determina el ritmo pineal de producción hormonal comienza en la retina. Los axones de las células oculares, penetran en el nervio óptico y ejercen funciones visuales y procesos neuroendocrinos. Ambas vías están anatómicamente separadas: las fibras que vehiculan la información lumínica hacia la pineal caminan por el tracto retino-hipotalámico (17), (18).

Esta compleja vía polineuronal comienza en la retina, sinapsa en el SNC, y lo abandona como fibras pregangliónicas que penetran en el ganglio cervical superior (SCG). Incluye las proyecciones retino-hipotalámicas al núcleo supraquiasmático contralateral (2/3 partes), desde aquí al área hipotalámica tuberal medial y posteriormente al hipotálamo lateral dónde de nuevo sinapsa. Desde aquí los axones descienden por la columna celular intermediolateral de la médula torácica superior, que es el origen de las terminaciones pregangliónicas que llegan al ganglio cervical superior. En esta vía polisináptica está incluido el núcleo paraventricular del hipotálamo (19), (20).

El núcleo supraquiasmático es una pequeña agrupación neuronal, bilateral, situada inmediatamente por encima del quiasma óptico que mantiene una periodicidad autónoma (esto es, independiente de la variabilidad exógena) de tipo circadiano en su actividad metabólica y eléctrica. Es la estructura más importante del complicado mecanismo nervioso generador, regulador y sincronizador de los diferentes biorritmos, entre ellos la actividad rítmica de la glándula pineal. El SCG suple la inervación simpática de la glándula pineal, eminencia media, vasos sanguíneos craneales, plexo coroideo, neurohipófisis, ojos, glomus carotídeo y la glándula tiroidea, paratiroides y glándulas salivares. En consecuencia, su extirpación tiene efectos más amplios que una simple denervación pineal. Es un "*centro neuroendocrino periférico*" capaz de integrar señales hormonales y posee receptores para algunas hormonas (20), (21), (22).

1.6 Regulación de la síntesis de melatonina.

La biosíntesis de los metoxiindoles está controlada por un impulso nervioso simpático con ritmo circadiano, sincronizado con el ciclo de luz y modulado por las hormonas cir-

culantes. La NE (noradrenalina), agonista mixto de los receptores α y β , regula el ascenso nocturno de la producción de melatonina. La luz ambiente modula la liberación de NE por parte de las terminaciones nerviosas simpáticas libres entre los pinealocitos, de forma inversa a la intensidad lumínica: escasa liberación de NE durante el día con acusado aumento nocturno. Igual ritmo circadiano presentan las enzimas sintetizadoras NAT (N-acetiltransferasa) e HIOMT (hidroxi-indol-O-metiltransferasa) y los productos intermedios HT (serotonina), aHT (acetilserotonina) entre otros (Fig. 5). La exposición nocturna a la luz suprime la secreción de melatonina. En los seres vivos diurnos incluida la especie humana, esta supresión nocturna necesita una intensidad lumínica elevada (23), (24), (25), (26).

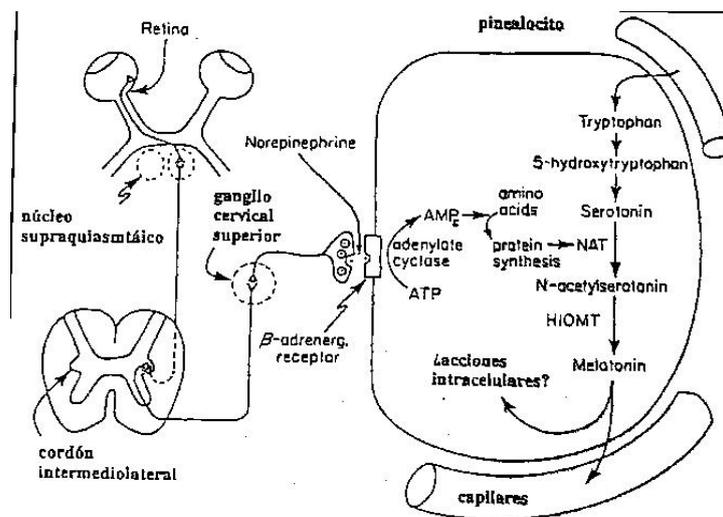


Fig. 5 La norepinefrina es el neurotransmisor de las terminaciones nerviosas postgangliónicas de la glándula pineal. La norepinefrina actúa sobre los Beta y en algunos casos sobre los alfa receptores o ambos, para estimular la producción de aMT, actuando como un segundo mensajero el AMPc. Reiter RJ, 1984.

El mecanismo de la síntesis de melatonina pasa por la estimulación del receptor β seguido de un aumento en la concentración intracelular de AMPc (adenosin-monofosfato cíclico). La NE liberada inicialmente interactúa con los receptores β_1 , que inducen un aumento rápido en la conversión de serotonina a melatonina. La síntesis nocturna de melatonina puede ser frenada por el propanolol, bloqueante β -adrenérgico. La concentración pineal de HT alcanza su pico a mediodía y la concentración mínima a medianoche, ritmo opuesto al de melatonina. Existe gran similitud entre los ritmos de NAT y melatonina. La NE es el principal neurotransmisor implicado en la regulación pineal. Un segundo regulador puede ser el péptido intestinal vasoactivo (VIP): en el tejido pineal abundan los receptores para VIP, su concentración sigue un ritmo circadiano y es capaz de estimular la producción de AMPc y de NAT (26), (27).

Dos enzimas primordiales intervienen en la interpretación de la señal transmembrana mediada por la activación del receptor: adenil-ciclasa y proteinquinasa, calcio-fosfolípido dependiente. El mecanismo implicado en la potenciación del estímulo β sobre la acumulación de AMPc y GMPc, parece producir una elevación de Ca iónico intracelular y de la actividad

fosfolipasa C. La fosfolipasa C aumenta la producción de diacilglicerol, que actuando sinérgicamente con el calcio iónico activa la protein-kinasa C. Esta enzima aumenta la eficacia de la activación β sobre la producción de AMPc y GMPc. Los receptores β están acoplados a la adenil-ciclasa, mientras los receptores α_2 pueden inhibir esta enzima, en presencia de agonistas adecuados (clonidina). El estímulo de la secreción de GH mediante clonidina provoca un descenso en la concentración de melatonina (Fig. 6) (28), (29), (30).

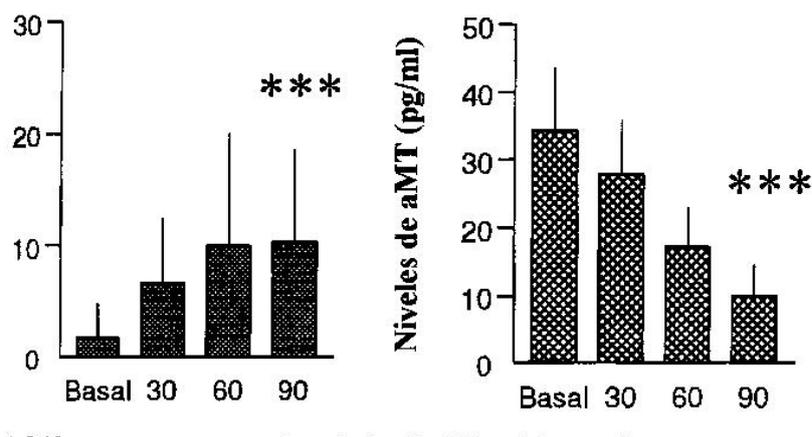


Fig. 6 Diferente respuesta de los niveles de GH y aMT tras la administración de clonidina. Fernández JM. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1993.

1.6.1 Receptores de melatonina.

Se ha demostrado la presencia de receptores de melatonina en diversas regiones del cerebro humano (31), intestino (32), ovarios (33) y vasos sanguíneos (34). Se distinguen dos tipos de receptores de membrana (35): **a) Me11** de alta afinidad (picomolar), de más amplia localización. Se han separado dos subtipos presentes en humanos, los *Me11 (a)* localizados en la "pars tuberalis" de la hipófisis y en el núcleo supraquiasmático, implicados presumiblemente en la regulación de los ritmos circadianos y la reproducción, y los *Me11 (b)* localizados en retina y cerebro e implicados en la regulación de la función retiniana. También se han encontrado en el riñón, tracto gastrointestinal y vasos sanguíneos. Un tercer subtipo, los receptores *Me11 (c)* no se ha descrito en mamíferos; **b) Me12** de baja afinidad (nanomolar) y distribución no determinada. Asimismo, la melatonina también puede interactuar con receptores intracelulares, dada su liposolubilidad, sugiriendo que pudiera intervenir en la acción nuclear de la hormona (35). Recientemente se han acumulado evidencias de que la melatonina es el ligando natural de la subfamilia RZR/ROR de receptores hormonales

huérfanos presentes en el núcleo celular, contrariamente a la creencia generalizada de que la hormona pineal actuaría exclusivamente a través de los receptores de membrana. La unión de melatonina al núcleo posibilita su control de la transcripción genética, que muy probablemente es responsable de parte de los efectos fisiológicos de la hormona. El RZR/ROR se une como un monómero al DNA. Es muy esclarecedor comprobar que el gen de la 5-lipoxigenasa, el primero identificado que responde a RZR/melatonina, no se expresa en el cerebro y no está implicado en el ritmo circadiano sino que actúa fundamentalmente en la periferia, sobre todo en las células mieloides, produciendo una de las enzimas clave en las reacciones alérgicas e inflamatorias. En consecuencia, la señal nuclear de la melatonina abre una nueva perspectiva en la comprensión de las acciones de la hormona pineal (36), (37), (38), (39), (40).

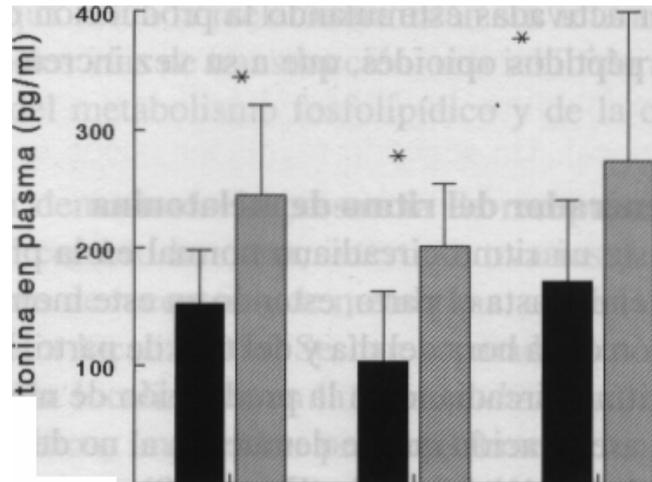
Otro receptor nuclear importante es el COUP-TE. Cuatro sustancias producidas en respuesta a la activación del RZR/ROR son inducibles por melatonina en condiciones de actividad baja, constitutiva. También como actividad constitutiva, el COUP-TF es estimulado por un componente sérico. Esta podría ser la primera pista para explicar las acciones antimutagénicas y antiproliferativas de la melatonina (41)

La melatonina se une a sus receptores específicos presentes en la membrana de las células T helper activadas estimulando la producción de interferón gamma, interleukina-2 y de péptidos opioides, que a su vez incrementan la respuesta inmune.

1.6.2 Maduración del sistema generador del ritmo de melatonina.

En la embarazada existe un ritmo circadiano normal en la producción de melatonina que se mantiene hasta el parto. En ese momento la concentración obtenida está en función de la hora del día y del tipo de parto. En sangre de cordón también existe ritmo circadiano de melatonina, reflejo del ritmo materno, lo que se comprueba al no detectarse dicho patrón en neonatos con más de 72 horas de vida (Fig. 7), cuando toda la hormona de procedencia materna ha sido aclarada, fundamentalmente vía hepática. La inmadurez de las vías nerviosas y de los mecanismos hormonales hacen que el recién nacido no sea capaz de imprimir a su producción de melatonina una variación circadiana. Aún así, sí es capaz de responder con un incremento de producción ante los estímulos que habitualmente la regulan, como se demuestra en el mismo grupo de neonatos que permanecieron con los ojos tapados para evitar el daño ocular por fototerapia indicada en la ictericia del recién nacido. Debemos recordar que la luz suprime y la oscuridad incrementa, la producción de melatonina; y que el momento de presentación de la luz, al amanecer, es el principal zeitgeber sincronizador de los ritmos circadianos.

Figura 7. Los recién nacidos sometidos a fototerapia, procedimiento mediante el cual permanecen con los ojos tapados, muestran un incremento de los niveles circulantes de melatonina, demostrándose que al nacimiento la glándula pineal ya es funcional. A la elevada concentración de melatonina contribuye parcialmente la inmadurez hepática (principal vía metabólica de degradación de la melatonina). Jaldo Alba F, Muñoz Hoyos A et al. *Light deprivation increases plasma levels of melatonin during the first 72h of life in human infants. Acta Endocrinol 1993; 129: 442-445.*



Gupta y cols (42) han demostrado que el incremento en las concentraciones circulantes y un ritmo tipo adulto de secreción de melatonina se establece entre los 3 y 6 meses de vida. Este momento coincide con la aparición del ritmo vigilia/sueño y con el freno en la producción pulsátil de la hormona

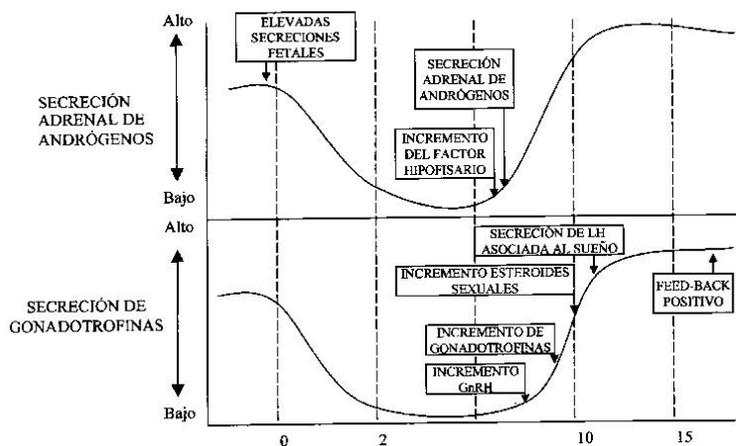


Figura 8. Conceptos actuales de la maduración del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (gonarquía) y la secreción de andrógenos adrenales (adrenarquía) durante la lactancia, infancia y desarrollo puberal. El brusco descenso prepuberal de la concentración sérica nocturna de melatonina vendría a coincidir con la adrenarquía.

hipotalámica liberadora de gonadotropinas (GnRH). Respecto al sueño, se modifica de modo profundo su estructura. Respecto al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, las secreciones de FSH/LH y en consecuencia de estradiol y testosterona (43), que están en rango adulto desde el nacimiento, disminuyen de modo acusado hasta situarse en niveles prepuberales. No vuelven a aumentar de nuevo hasta que se inicie la pubertad, y este hecho coincide con un brusco descenso de la concentración circulante nocturna de melatonina (Fig. 8).

Cuando el sistema neuroendocrino generador del ritmo de melatonina ha madurado, la concentración máxima de la hormona se obtiene en las muestras de alrededor de las dos de la mañana. La concentración mínima, después de mediodía, sobre las dos de la tarde. Todo

proceso que interrumpa anatómica o funcionalmente la vía nerviosa de producción antes descrita (traumatismos, tumores, neuropatía diabética, etc.) hará disminuir la concentración máxima de la madrugada. Cualquier proceso que conlleve modificación de niveles intracerebrales de neurotransmisores (envejecimiento, enfermedades mentales, migraña, etc.) es probable que además altere su momento horario de máxima secreción (acrofase).

Como veremos más adelante la máxima producción de melatonina se produce en el periodo preescolar, con un pico máximo en el segundo año de vida, con un descenso progresivo posterior tanto por caída en los valores absolutos como por aplanamiento del ritmo circadiano. El descenso más brusco de la concentración de melatonina medida en la acrofase ocurre coincidente con la adrenarquia, esto es aproximadamente dos años antes del inicio de los primeros signos anatómicos puberales (42).

1.7 Concentraciones de melatonina durante los primeros años de vida.

La medición de aMT en arteria y vena umbilical, con muestras procedentes de recién nacidos normales a término, pone de manifiesto la presencia de un ritmo diario de aMT tanto en arteria como en vena umbilical, con una correlación lineal positiva de la concentración hormonal entre ambos vasos, y mayor tasa en vena umbilical (sangre de procedencia materna) por la significativa contribución de la pineal materna a la cifra total de aMT (44).

Los hallazgos en cordón umbilical difieren claramente de los obtenidos en muestras procedentes de recién nacidos durante las primeras 72 horas de vida, en las que se hace evidente: 1) La ausencia de fluctuaciones significativas en la concentración plasmática de aMT, 2) La falta de variación día-noche, esto es, la desaparición del ritmo diario presente en vasos umbilicales más arriba reseñado, y 3) No obstante, en el período neonatal precoz y respecto a los valores en vasos umbilicales el valor absoluto de aMT se incrementa de modo importante, probablemente debido a la inmadurez hepática fisiológica con menor tasa de metabolización (44).

De los datos expuestos se extrae la conclusión de que el ritmo diario evidenciable en sangre de cordón es de origen materno, y que la pineal del recién nacido es incapaz de imprimir a su secreción tal periodicidad circadiana.

En otro trabajo de nuestro grupo pudimos demostrar que en recién nacidos sanos sometidos a fototerapia (por tanto, tenían cubiertos los ojos en el momento de extracción de la muestra) la pineal, a pesar de no imprimir una variación circadiana a su secreción, es funcionante y capaz de responder a los cambios en la tasa de luz ambiente de modo similar al adulto. La tasa media de melatonina en nuestros recién nacidos en el tercer día de vida fue de

142.61±14.94 pg/ml, que tras ser sometidos al menos a 24 horas de fototerapia pasó a 239.79±19.61 pg/ml (45). A la elevada concentración de aMT durante los primeros días de vida debe contribuir la inmadurez hepática con menor grado de degradación, por mecanismo similar al demostrado en la cirrosis, que sin embargo podría suponer una protección del recién nacido frente al brusco incremento del estrés oxidativo que supone pasar del hipóxico medio intrauterino al extrauterino con una hiperoxia relativa, si tenemos en cuenta el potencial antioxidante de la aMT.

1.7.1 Variación de la producción de aMT en función de la edad.

Los trabajos del grupo de Attanasio y Gupta (46) ponen de manifiesto que el ritmo circadiano típico de secreción de aMT está presente a partir del 3er mes de vida postnatal. En un grupo de nuestros niños entre 3 meses y 11 años hemos podido demostrar la presencia de un ritmo circadiano típico, con mínimos niveles diurnos y elevados durante la noche.

Actualmente se acepta de modo unánime que la máxima secreción de aMT ocurre durante la infancia, con un pico máximo en el segundo año de vida, iniciándose a partir de este momento un descenso, tanto por caída de los valores absolutos como por aplanamiento de su ritmo circadiano. Este hecho ha llevado a plantear que la pineal juega su función primordial durante la edad pediátrica y que su estudio en estos grupos de edad puede ayudarnos a desvelar la función primordial de la glándula pineal en la especie humana. En la edad adulta la secreción de melatonina sigue un paulatino descenso en función de la edad, dato que ha sido confirmado por distintos autores y que podría estar en relación con el proceso de envejecimiento, al que contribuiría el declive progresivo en la probable protección antioxidante aportada por la hormona pineal.

Gupta y colaboradores encuentran una relación inversa entre melatonina y maduración esquelética. La menor concentración de la hormona pineal ocurriría en niños esqueléticamente más maduros (puberales), aunque también demuestran diferencias entre niños prepuberales con diferente nivel de maduración ósea correspondiendo la menor concentración de melatonina a los niños con mayor maduración ósea. Queda patente que durante el desarrollo puberal la magnitud del incremento nocturno de melatonina disminuye, aunque la caída más marcada y altamente significativa ocurre en aquellos niños que están unos años antes del inicio de la pubertad. Para Gupta, con el avance de la maduración esquelética la magnitud del incremento nocturno de la melatonina emerge como un marcador de maduración esquelética que implica a otros procesos madurativos. Estos datos se confirman en los niños con pubertad precoz y edad ósea avanzada, que muestran en la acrofase nocturna un pico mucho menor que el observado en el grupo control de la misma

edad. Todos los sujetos estudiados por Gupta con edades óseas menores tenían incrementos que eran marcadamente mayores que los incrementos vistos en los controles de la misma edad. Dos niños con retraso puberal constitucional tenían incrementos día/noche de melatonina que no solo eran mayores que los esperados a su estado de desarrollo, sino que eran incluso mayores que el incremento medio observado en los niños prepuberales más jóvenes (42).

1.8 Acciones y aspectos de interés clínico de la melatonina.

Numerosos trabajos de investigación han conducido a la evidencia actual de que la melatonina, en condiciones fisiológicas, posee una serie de efectos, que despiertan el interés y la curiosidad para su posible aplicación a la clínica endocrinológica infantil: 1) Su papel antagonista. 2) Su estrecha relación con la pubertad-adolescencia-menopausia. 3) Participa de forma importante en la regulación del ciclo circadiano de la temperatura corporal, y en otros ritmos biológicos 4) Se ha demostrado una acción inhibitoria sobre mecanismos excitadores del sistema nervioso central 5) Más recientemente han sido descritos su papel inmunomodulador sobre el sistema inmune y su capacidad antioxidante. Acciones que probablemente y a pesar de su disparidad obedezcan a mecanismos muy básicos. Siguiéndose la directriz de esta monografía, vamos a describir los aspectos de mayor interés en relación a esta hormona.

1.8.1 Glándula pineal y eje tiroideo.

Al igual que sobre la mayoría de órganos y sistemas, la glándula pineal parece ejercer un efecto modulador inhibitorio sobre el tiroides, aunque los datos disponibles en la actualidad proceden de la investigación animal, y han de ser refrendados en el hombre. Parece claro que el estímulo de la función pineal (como la oscuridad) produce una disminución de la función tiroidea, mientras que la pinealectomía incrementa el tamaño y la función del tiroides (47), (48), (49). En ratas prepuberales, mantenidas durante 72 días con distintos fotoperiodos, la pinealectomía es capaz de elevar los niveles de TSH. En el hámster el acortamiento del fotoperiodo produce una reducción de los niveles plasmáticos de T₄ y de los índices de tiroxina libre plasmática (50).

Ha sido referido que la administración de melatonina inhibe la captación de yodo por la glándula tiroidea, y que estos cambios guardan relación con el fotoperiodo, dependiendo el efecto obtenido del momento del día en que la hormona es administrada (51), (52). En varones jóvenes, estudiados antes y después de una privación de sueño, no se encontraron

variaciones en los niveles de melatonina, ni el conocido incremento de los niveles de TSH en el grupo postdeprivación de sueño (53).

La administración de melatonina incrementa los niveles de TSH en la fase folicular sin que ocurra modificación alguna de las hormonas tiroideas, que no ejercen su efecto modulador central negativo sobre la TSH. El sitio donde la melatonina realiza su acción puede ser el hipotálamo anterior, pero no existen pruebas definitivas. Muchos de los datos que demuestran efectos moduladores de la melatonina en la glándula tiroidea y en las gónadas pueden ser explicados asumiendo que la melatonina interfiere con un mecanismo serotoninérgico involucrado en el control de los factores de liberación hipotalámica (54), (55).

1.8.2 Glándula pineal y eje hipófiso-adrenal: Participación de la glándula pineal en el crecimiento y desarrollo.

Una de las características fisiológicas de la glándula pineal es la gran cantidad de interrelaciones que establece con otras estructuras orgánicas de carácter endocrinológico y neuroendocrino. En este sentido existe una relación demostrada por la publicación de un gran número de artículos científicos que nos exponen las distintas vías de relación entre ambas estructuras. Existen múltiples razones para ello, pero una básica, es la procedencia de la glándula pineal y médula adrenal, ambas originarias en un núcleo embriológico neuroectodérmico común, siendo ambas estructuras productoras de aminas. Las relaciones entre ambas estructuras, son de carácter inhibitorio entre ambas, así de los estudios de Von Treuer y colaboradores (53), se desprende que la glándula pineal ejercería un efecto inhibitorio sobre la glándula adrenal, afirmación avalada porque se ha observado cómo la pinealectomía se acompaña de hipertensión arterial, cambios morfológicos de la glándula pineal así como un incremento en la actividad adrenal. No obstante esta relación de carácter inhibitorio, parece que las relaciones fisiológicas entre ambas glándulas no son muy simples, si bien al contrario, ya que otros trabajos afirman la existencia de esta relación pero con carácter circadiano (56). En nuestro propio grupo de investigación, hace ya unos años que Fernández García pudo observar cómo los ejes hipotálamo-hipofisario-adrenal y pineal están bajo control del sistema nervioso simpático, con un carácter inhibitorio tras la administración de un estimulante α_2 como es la clonidina (57). No obstante existen situaciones de relación aún no totalmente demostradas en sujetos normales, probablemente debidas a la dificultad de estudiar estas situaciones en sujetos sanos, con un claro impedimento de carácter deontológico, acentuado aún más en el caso de los niños. No obstante sí se ha podido evidenciar una estrecha relación entre aMT y eje HPA, en pacientes con trastornos endocrinos y/o psiquiátricos. Así se ha observado cómo en la depresión se observan altos

niveles de cortisol con bajos niveles de melatonina (58), y al contrario, la melatonina aumenta cuando el cortisol desciende (59).

Otra patología en la que también se observan interrelaciones de la glándula pineal y adrenal, es en la obesidad. Así en mujeres obesas se ha descrito una menor secreción nocturna de 6-sulfatoxi-melatonina, aumentando por el contrario en presencia de hiperprolactinemia o hiperandrogenmia (60). Tras la administración de ACTH, existe una correlación positiva entre los niveles de 6-sulfatoxi-melatonina con los de testosterona, dehidroepiandrosterona sulfato y con el pico de 17-hidroxiprogesterona (61).

1.9 Implicación de la glándula pineal en el desarrollo humano.

Hemos esbozado en apartados anteriores la relación existente entre melatonina y crecimiento, con aportaciones interesantes sobre este tema. Muy ligado el crecimiento es el desarrollo puberal, uno de los dos momentos de máximo crecimiento en el niño. Sabemos que la máxima secreción de melatonina ocurre durante la infancia, con un pico máximo en el segundo año de vida, iniciándose a partir de ese momento un descenso. Es lógico pensar que esta evolución en el perfil secretor de melatonina debe tener alguna participación tanto en el desarrollo somatométrico del niño como en el momento de la aparición de la pubertad, circunstancia por otra parte lógica ya que existe relación entre patología puberal y patología pineal.

1.9.1 Pubertad y glándula pineal.

La pubertad es un proceso complejo, cuya fisiología no está totalmente conocida, y en la que quedan por determinar los mecanismos íntimos de su puesta en marcha, sabiendo que la secreción pulsátil de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas marca el inicio de la misma. El generador hipotalámico de pulsos de GnRH recibe señales neurales y humorales entre las que cabe citar a los esteroides sexuales, señales metabólicas e impulsos ambientales.

En los primeros meses de vida la elevada secreción de FSH y LH conlleva el incremento de la actividad gonadal y coincide con niveles circulantes de aMT muy bajos. Este medio hormonal es similar al que ocurre en la pubertad pero se invierte a partir del tercer-cuarto mes justo cuando se establece el ritmo circadiano de secreción típica de la melatonina (62), y el eje hipófiso-gonadal entra en una fase silente que durará hasta la pubertad. (63). En los animales de reproducción estacional la glándula pineal y la melatonina juegan un papel antigonadal evidente: la pinealectomía ya sea quirúrgica o funcional mediante exposición a la luz continua conlleva que el animal ovule, mientras que la administración de aMT o la oscuridad continua provoca una regresión gonadal (64). En el ser humano se comprueba que

el descenso brusco de la concentración sérica de melatonina varios años antes del inicio puberal (65), (66), coincidiendo con la adrenaquia junto con su descenso mantenido posterior felicitaría la aparición de la pubertad (67).

1.10 Bases para la creación de un test de función pineal.

La determinación de tasas plasmáticas de melatonina en función de un estímulo para comprobar la capacidad secretora de la glándula pineal tiene elementos diferenciadores con otras glándulas endocrinas. En primer lugar una prueba de función pineal estaría dirigida fundamentalmente a la valoración de las tasas plasmáticas de melatonina, cuyo mayor porcentaje de secreción proviene de la glándula pineal pero que no es el único, aunque sí el más importante. Existe una gran variabilidad individual, habiéndose descrito individuos con una secreción escasa o ausente, circunstancia que lógicamente obliga a conocer los valores de referencia estándar para cada edad y las del propio individuo, en condiciones de normalidad., y finalmente la propia forma habitual de determinación de melatonina mediante RIA o ELISA, ha planteado ciertas dificultades metodológicas.

1.10.1 Factores que modifican la producción de melatonina.

1.10.1.1 Regulación lumínica. Sin lugar a dudas el factor más importante que regula la síntesis de indoles por la glándula pineal es el ciclo luz-oscuridad al que están expuestos todos los seres vivos. El neurotransmisor que regula el ascenso nocturno de la producción de melatonina es la noradrenalina (68), que se ha encontrado en altas concentraciones en los nervios simpáticos finales de la pineal, y además el contenido en NE de la glándula pineal está muy disminuido tras la eliminación bilateral del ganglio cervical superior (69), (70), (71). La NE es un agonista mixto de los receptores alfa y beta, existiendo receptores α_1 y β_1 en las membranas de los pinealocitos (72), (73). La tasa de luz ambiente modula la liberación de NE: la escasa liberación de NE durante el día contrasta con el acusado aumento nocturno, e imprime igual ritmo circadiano a las enzimas sintetizadoras (N-acetil-triptamina NAT, hidroxindol-O-metil-transferasa: HIOMT) y a los productos intermedios (serotonina: HT, acetilserotonina: aHT, etc.). En consecuencia, un único estímulo neural libera NE sobre el pinealocito y regularía por medio de un β -receptor tanto la NAT como la HIOMT.

El mecanismo comúnmente aceptado para el estímulo de la formación de aMT pasa por la estimulación del receptor β seguido de un aumento de en la concentración intracelular de AMPc. Sin embargo, el incremento de la tasa de CMPC pineal inducido por NE se bloquea mediante bajas concentraciones de antagonistas específicos α (72).

Se ha podido demostrar que el incremento de la exposición diaria a la oscuridad conduce a largos intervalos de alta producción de aMT, mientras que la exposición a la luz durante la noche acorta rápidamente la conversión de serotonina a aMT, produciendo un rápido descenso en las concentraciones pineal y sanguínea de aMT en mamíferos, incluido el hombre (74), (75).

Otro hecho interesante que concierne a la inhibición aguda de la producción nocturna de melatonina por la luz, es la duración de la exposición requerida. Así, una exposición de un minuto de luz por la noche detiene totalmente la actividad de síntesis de aMT en la glándula pineal de rata, siendo suficientes cinco segundos para la ardilla Richardson y tan sólo un segundo para el ratón blanco y el hámster sirio (76), (77). Es posible que además de la intensidad, algunas otras propiedades de la luz fuesen factores capaces de actuar sobre la glándula pineal. Entre ellas destaca la longitud de onda (78), (79). En el hombre el porcentaje máximo de disminución en los niveles plasmáticos de melatonina se consigue con una luz de 509 nm de longitud de onda (80).

1.10.1.2 Estación del año. Puesto que la duración del día y de la noche es diferente en cada estación, podría anticiparse que el ritmo de aMT debe ajustarse de forma apropiada al momento estacional. En humanos, al parecer, estas variaciones estacionales están presentes, pero los resultados obtenidos no son totalmente concluyentes, no obstante existen diferencias estacionales relacionadas con la presencia de mayor o menor cantidad de luz ambiental.

1.10.1.3 Edad. En todos los mamíferos estudiados la edad avanzada se asocia con una reducción nocturna considerable en la capacidad de la glándula pineal para producir aMT, mientras que los niveles más bajos durante el día parecen estar mínimamente afectados. En humanos la mayoría de los trabajos señalan un descenso de las tasas de melatonina y otros metabolitos con la edad. En el trabajo de mayor prestigio desarrollado por Iducho y colaboradores (81), se demuestra que la tasa plasmática de aMT durante las horas nocturnas es claramente inferior en una población anciana con una edad media de 80 años en relación con un grupo de jóvenes en torno a los 20 años.

1.10.2 Regulación hormonal.

1.10.2.1 Influencia de las hormonas gonadales sobre la función pineal. Ya se ha comentado en capítulos anteriores las interrelaciones existentes entre pineal y función gonadal. Con relación a la influencia de las hormonas gonadales o adenohipofisarias, afectan mediante un mecanismo de feed-back (69). Las manipulaciones endocrinas (extirpación de la

hipófisis, tiroides o adrenal), afectan la morfología y bioquímica de la pineal (82). Los efectos de las hormonas circulantes sobre la pineal se ejercen en parte a través de las neuronas del ganglio cervical superior, que actuaría como integrador de la información neural y hormonal. La amplitud del ritmo circadiano de aMT varía con el ciclo sexual en diversos mamíferos, con valores mínimos antes de la ovulación, probablemente porque el estradiol suprime la síntesis pineal de melatonina. También se ha observado una mayor concentración plasmática de aMT durante la fase lútea, en correlación directa con la mayor producción de progesterona (83).

1.10.2.2 Influencia de las hormonas liberadas en situación de estrés por la pineal. Puesto que la NE liberada por las terminales nerviosas simpáticas estimula la actividad NAT y la secreción de aMT, sería previsible que el aumento plasmático de catecolaminas por estrés procedentes de la médula adrenal o del sistema nervioso simpático inducido por estrés, produjera un aumento de la actividad NAT. Sin embargo, las neuronas de SCG no se estimulan por estrés, mientras que sí lo hacen el resto de las neuronas del sistema nervioso simpático. La capacidad de un determinado estímulo para incrementar el contenido pineal y sérico en aMT depende del momento del día y de las manipulaciones previas a que el animal es sometido. En cambio, en humanos los estudios son contradictorios. En mujeres se ha descrito que el ejercicio físico provoca un aumento transitorio de las concentraciones de aMT, lo que podría estar relacionado con los trastornos reproductivos que se describen en algunas atletas (84).

1.10.2.3 Drogas que disminuyen la producción de melatonina.

a) *Antiinflamatorios no esteroideos.* Voluntarios que tomaron una dosis normal de aspirina e ibuprofeno por la tarde tuvieron una reducción de un 75% en sus niveles de melatonina (85). De todos los AINE, la indometacina es la que parece causar una mayor reducción en los niveles de melatonina. La posible relación entre melatonina y AINE, también parece que puede estar relacionada con la descripción de trastornos del sueño durante la toma de estos fármacos. Se puede correlacionar estos trastornos del sueño con la disminución en las tasas de melatonina que producen estos fármacos (85), (86). Otros efectos que se suponen pueden estar relacionados con la inhibición que producen sobre la secreción de melatonina, son el incremento de la presión sanguínea y la interacción con drogas antihipertensivas como los β -bloqueantes (87).

b) *β -Bloqueantes.* El receptor β situado en la membrana de los pinealocitos es fundamental en la regulación pineal, siendo la NE el principal neurotransmisor pineal. Los β bloqueantes son tan efectivos en detener la síntesis de melatonina que se ha referido a su uso como pinealectomía farmacológica (88), (89). c) *Antagonistas del calcio.* Los antagonistas

del calcio actúan bloqueando los canales que permiten al calcio entrar en varias células del sistema cardiovascular. Los bloqueantes de los canales del calcio no distinguen entre las células del corazón y las células de la glándula pineal, y la participación del calcio es fundamental en la producción de melatonina. Su acción parece estar relacionada con diversos procesos celulares como la sensibilización de los β -receptores y la activación enzimática intracelular junto al fosfato. Los antagonistas del calcio producen una reducción significativa de los niveles nocturnos de melatonina (88), (90).

d) *Clonidina*. Esta droga es capaz de descender los niveles de melatonina, ejerciendo mayor efecto supresor a mayor dosis (91). La clonidina es un agonista de los receptores α_2 -adrenérgicos por lo que inhibe la liberación de catecolaminas.

e) *Drogas ansiolíticas e inductoras del sueño*. Al menos dos drogas ansiolíticas ampliamente descritas, diazepam y alprazolam, parecen inhibir la producción de melatonina (92). El GABA es el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso central. Sus receptores tiene sitios específicos para las benzodiazepinas que pueden incrementar la eficacia de la transmisión gabaérgica (complejo GABA-BZD). Se ha citado que los efectos que la melatonina produce pudieran estar mediados por el complejo GABA-benzodiazepinas incrementando su acción inhibitoria, habiéndose comprobado que la melatonina no se une al receptor GABA-BZD (92), (93).

f) *Antidepresivos*. La fluoxetina disminuye la secreción de melatonina, lo que podría explicar al menos en parte uno de sus secundarios como es el insomnio (94).

g) *Cafeína*. El café se ha usado durante siglos para aumentar el estado de alerta. Wright y colaboradores estudiaron la relación cafeína-melatonina, midiendo los niveles de melatonina en un grupo de individuos que voluntariamente permanecieron despiertos durante dos días consecutivos, tomando placebo y otros 200 mg de cafeína. Comparado con el placebo la cafeína indujo una reducción significativa de los niveles de melatonina (95).

h) *Tabaco*. Hay publicados algunos estudios que sugieren que los fumadores tiene niveles más bajos de melatonina (96), (97).

i) *Alcohol*. Se ha observado que en ratas mantenidas en un estado constante de intoxicación alcohólica se produce una abolición del pico nocturno en el contenido pineal de melatonina, que se acompaña de un aumento de la concentración de serotonina pineal, con déficit de la síntesis de melatonina (98), (99).

1.10.2.4 Sustancias que favorecen la producción de melatonina.

a) *Triptófano*. El triptófano es un aminoácido esencial precursor de la melatonina. Existen algunas publicaciones que refieren cómo un incremento en el aporte de triptófano puede dar lugar a un aumento en la producción de melatonina, pero esta hipótesis de trabajo no está completamente confirmada (100).

b) *Vitaminas y minerales*. Existen referencias bibliográficas en la literatura en las que se ha valorado la influencia de las vitaminas en la producción de melatonina, y dentro de éstas más concretamente las pertenecientes a las vitaminas del grupo B. Más concretamente la vitamina B₃ o niacinamida parece liberar algunos aminoácidos necesarios en la síntesis de melatonina, e igualmente la vitamina B₆ o piridoxina estimula la secreción de melatonina a través de la conversión del triptófano en serotonina. En este sentido y como veremos más adelante en este trabajo ha sido utilizada la piridoxina por nuestro grupo de investigación en otro trabajo similar intentado definir un test de estímulo de melatonina (101).

c) *Marihuana*. Parece ser que la marihuana es un potente estimulante de melatonina, producción mediada por la producción de prostaglandina E₂ (PGE₂). Este mecanismo de acción se ha utilizado para explicar de alguna forma los efectos estimulantes de la droga (102).

d) *Ciproheptadina*. La ciproheptadina es un antihistamínico ampliamente usado en la práctica médica diaria. Una de sus acciones es antagonizar la serotonina. El mecanismo patogénico mediante el cual la ciproheptadina podría ejercer su acción antagonista sobre la serotonina, se explicaría mediante tres vías o mecanismos de acción: a) bloque de los receptores para la serotonina; b) bloqueo de los canales del calcio y c) mediante la activación de la NAT tanto a nivel de glándula pineal como en las propias placas de Seller.

1.11 Glándula pineal y crecimiento humano: interrelaciones.

Uno de los aspectos que se presentan con interés en el estudio y conocimiento de la fisiología y también patología de la glándula pineal es su relación con el crecimiento tanto en situaciones de normalidad como de patología. Esta preocupación e interés sobre la interrelación con el crecimiento cobra especial interés en el niño pues en este, es justamente el crecimiento, el carácter fisiológico que lo define por excelencia. El niño es un ser continuo crecimiento, y por consiguiente la glándula pineal como venimos refiriendo a lo largo de esta introducción y conociendo sus numerosas interrelaciones, de alguna forma debe influir, ya sea positiva o negativamente, sobre el crecimiento del ser humano. Clásicamente la primera posibilidad que se establece en esta interrelación es el hecho objetivo y conocido de la

participación de La patología pineal en la patología de la pubertad, así como su factor definitorio de los ciclos reproductivos en numerosos seres vivos.

Si utilizamos algunos criterios de búsqueda para conocer hasta dónde es considerada esta interrelación entre pineal y crecimiento, podemos observar que existen numerosos trabajos que se interesan por esta faceta endocrinológica de la pineal y en consecuencia de su producto secretorio principal que es la melatonina. Así si consideramos como criterio de búsqueda las palabras melatonina y crecimiento, nos resultará un total de 1802 trabajos publicados y si introducimos como criterio de búsqueda melatonina y hormona de crecimiento aparecerán 261 publicaciones. Pero si introducimos un tercer criterio como es considerar la edad pediátrica, podremos observar que la cifra se reduce a 23 artículos sobre este capítulo. Podríamos considerar en consecuencia dos hechos contrapuestos, el primero podría ser que aún no se ha desarrollado adecuadamente la investigación en este campo por su escaso interés o por factores deontológicos, o bien que los resultados obtenidos en los trabajos ya publicados son tan suficientemente claros y evidentes que desaconsejan seguir por esta línea de investigación. Circunstancia totalmente diferente si consideramos otros criterios de búsqueda como puede ser por ejemplo melatonina y sueño. Intentaremos en este capítulo establecer la situación más actualizada de este aspecto de la glándula pineal y la melatonina, como elemento básico en el desarrollo posterior de este proyecto de investigación.

1.11.1 Glándula pineal y crecimiento.

Dentro de este capítulo introductorio es para nosotros principal objetivo poder establecer las bases lo más actualizadas posible de las interrelaciones existentes entre la hormona de crecimiento (Growth Hormone, GH) y la melatonina (aMT). Es éste uno de los capítulos más controvertidos de la fisiología de la glándula pineal y por ende de la melatonina. Y esta situación de controversia está condicionada de una parte por el complejo sistema neuroregulador de la producción, secreción y acción de la hormona de crecimiento, y por otra, del escaso número de trabajos dedicados a estudiar las interrelaciones entre melatonina y hormona de crecimiento. Sabemos por ejemplo que en ratas ciegas o mantenidas en oscuridad constante y prolongada, reducen su peso así como la longitud de su tibia, y del análisis de su hipófisis se aprecia una menor concentración de hormona de crecimiento (GH),(103). El estudio de la interrelación entre hormona de crecimiento y melatonina en seres humanos presenta publicaciones con resultados ciertamente contradictorios. Wright y colaboradores (104), estudiaron las posibles interrelaciones existentes entre LH, GH, T4, testosterona, cortisol y aMT, no encontrando efecto alguno de la aMT sobre los niveles de estas hormonas. La interrelación de aMT y GH en niños

prepuberales, tampoco ha quedado especialmente clarificada, y así Lissoni y colaboradores observaron una disminución de los niveles plasmáticos de GH tras la administración aguda de aMT en niños prepuberales, no observándose cambios significativos en las mismas condiciones en niños púberes (105). Valcalvi (106) por el contrario en sus trabajos aporta resultados contrapuestos a los dos autores anteriormente mencionados. Así aprecia un incremento de la GH basal tras la administración de aMT, y que a su vez esta administración de aMT, disminuye la intensidad de respuesta de secreción de GH a la hipoglucemia insulínica. Este mismo autor en aportaciones posteriores refuerza la hipótesis del efecto estimulante de la aMT sobre la secreción de GH, argumentando una inhibición del sistema somatostatinérgico sobre la liberación de GH, es decir hace referencia a un mecanismo de acción central que explicaría la interrelación aMT y GH (107). Para reforzar esta teoría se han estudiado las relaciones entre melatonina y otro inhibidor somatostatinérgico como es la piridostigmina, y los resultados han arrojado cierta luz, ya que al administrar conjuntamente ambas sustancias no existió un incremento de la liberación (efecto aditivo) de hormona de crecimiento. Esto hace suponer que la aMT tiene el mismo mecanismo de acción que la piridostigmina, es decir, inhibiendo la acción de la somatostatina sobre la secreción de GH.

Existen trabajos, ciertamente no muy numerosos, que investigan las posibles relaciones entre melatonina e IGF-I. Estudios realizados en hámsteres demuestran que la administración diaria de aMT produce aumento del peso corporal en estos animales, sin que los niveles circulantes de GH se vean afectados. Vriend y colaboradores (108) observaron la existencia de incremento de los niveles de IGF-I tras la administración de aMT a hámsteres machos.

1.11.1.1 Melatonina y crecimiento lineal.

En la neuroregulación de la hormona de crecimiento (109), la melatonina no es sino uno de los múltiples factores posiblemente implicados, siendo los datos al respecto escasos y en ocasiones contradictorios.

Para Gupta (110) la melatonina es un marcador de la maduración ósea. El menor incremento de las concentraciones nocturnas conforme avanza la edad no estaría relacionado únicamente con el desarrollo puberal, ya que tiene lugar antes y después de este período, y en los trastornos del desarrollo como pubertad precoz o retrasada, o disgenesia gonadal, el incremento nocturno de melatonina está sincronizado con la maduración esquelética del individuo. Este autor señala una relación inversa marcada entre melatonina y hormona de crecimiento, mediada por el estímulo de la melatonina sobre la somatostatina (Fig. 9).

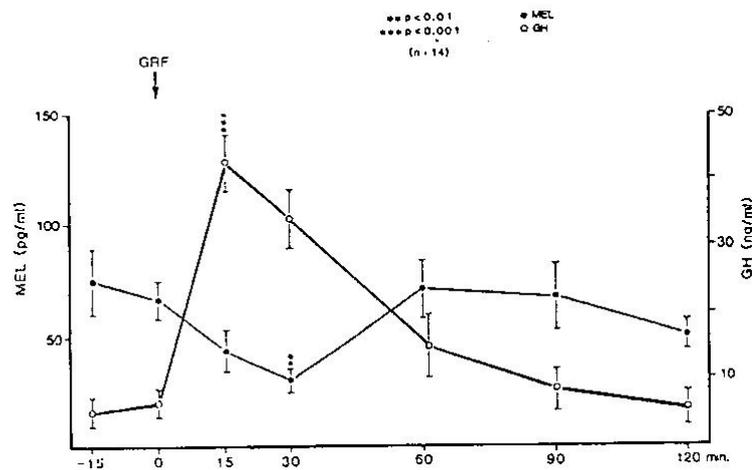


Fig. 9 Interacciones entre GH inducida por GHRH indicada por razones diagnósticas y melatonina en niños. Se observa que el pico de GH se alcanza a los 15 minutos y vuelve a valores normales a los 90 minutos. La melatonina alcanza su nadir a los 30 minutos, recobrando su niveles basal a los 60 minutos (Gupta, 1986).

Desde los trabajos iniciales de Smithe y Lazarus (111), (112), (113), varios autores han señalado que la administración de melatonina aumenta la secreción basal de hormona de crecimiento, mientras que la respuesta difiere tras un test de estímulo. Así, hay autores que afirman que la melatonina suprime la liberación de GH tras la hipoglucemia insulínica y tras la administración de L-triptófano (114), mientras que incrementa la secreción de hormona de crecimiento si previo se administra GRH (115), o no altera la respuesta de la hormona de crecimiento a la apomorfina (114). El estímulo de la melatonina sobre la secreción basal de hormona de crecimiento probablemente se deba a una disminución de la liberación hipotalámica de somatostatina (116) (figura 9). En estudios *in vitro*, en ratas, la melatonina estimula la secreción de somatostatina y en consecuencia inhibe la secreción de hormona de crecimiento (117).

En niños, la respuesta de hormona de crecimiento a la administración de melatonina parece ser diferente según la edad y el grado de desarrollo puberal. En la etapa prepuberal la melatonina a dosis única de 0,2 mg/kg vía intramuscular, administrada a las 15,00 horas, produjo un descenso en la administración de hormona de crecimiento, mientras que no hubo ninguna modificación alguna en 8 de 10 niños puberales, mientras en los dos restantes se observó un importante incremento de la secreción (105). En las condiciones indicadas no se alteró la concentración basal de FSH, LH ni PRL. Los autores obtienen la conclusión de que la respuesta hormonal hipofisaria es diferente según el estadio puberal estudiado.

En adultos acromegálicos se detecta un importante descenso en la concentración de melatonina, aunque no se altera su ritmo circadiano salvo por su acrofase precoz. El

tratamiento con octreótido recupera parte de la tasa normal y el ritmo de melatonina. Estos hallazgos sugieren para algunos autores una interrelación negativa entre las secreciones de hormona de crecimiento y melatonina, o un efecto positivo de la somatostatina sobre la liberación de melatonina (118). En un estudio previo realizado en adultos normales, una dosis farmacológica de melatonina incrementó la tasa de prolactina sin alterar las concentraciones de hormona de crecimiento, LH, FSH, testosterona o cortisol (119).

Nuestros datos en niños estudiados por talla baja, la mayoría en edad prepuberal y diagnosticados de retraso constitucional del crecimiento o talla baja familiar, muestran que tras un estímulo con clonidina aumenta la GH y disminuye la secreción de melatonina (57). El test de la clonidina está indicado como prueba de estímulo de hormona de crecimiento en la valoración de un posible déficit de hormona de crecimiento, dado que estimula su producción al inducir la liberación de GRH. La implicación de los receptores α_2 en el control de la síntesis de melatonina, se pone de manifiesto por la supresión de melatonina tras la administración del agonista α_2 clonidina (120), y por el incremento de melatonina inducido por Organon 3770, un antagonista α_2 (121). A pesar de todos los datos expuestos y de acuerdo con García Patterson y colaboradores (122), queda por saber si la melatonina tiene una importancia fisiológica en la neuroregulación de GH (123).

Otro estímulo usado habitualmente en la práctica endocrinológica pediátrica para valorar la secreción de hormona de crecimiento es la hipoglucemia insulínica, objeto del presente proyecto, observando cómo autores previos han observado una disminución en la producción de melatonina tras su desarrollo. No obstante profundizaremos más sobre esta cuestión en el capítulo de discusión del presente proyecto de Tesis Doctoral (57).

En otro orden de ideas, pero siguiendo la misma línea argumental, relacionando melatonina y crecimiento, puede ser interesante referirnos a la asociación del inicio puberal con la obtención de una masa corporal crítica, es interesante conocer la función pineal en patologías con alteración del metabolismo energético. Así, en el hipotiroidismo se describe un incremento de la concentración nocturna de melatonina, que en cambio no se ve alterada en la obesidad ni en el hipertiroidismo, aunque en esta última patología sí se describe un adelanto en la acrofase (124). Los pinealocitos de los obesos nutricionales secretan una cantidad normal de melatonina durante la noche, conservando su ritmo circadiano de secreción, pero pierden su potencial durante la hipoglucemia por ayuno (124), (125). Dado que el aporte de glucosa durante el ayuno hace retornar la secreción de melatonina a valores normales, se asome que los pinealocitos de los obesos requieren un aporte mínimo de glucosa para funcionar con normalidad. En el síndrome de Prader-Willi, que asocia pubertad retrasada y obesidad, la concentración de melatonina es similar a la encontrada en la

obesidad nutricional, y es independiente del peso y del estado puberal (126), datos contradictorios a los referidos anteriormente y que no apoyan la participación de la melatonina en el inicio de la pubertad. En este sentido se ha de considerar que las características genéticas y clínicas de estos pacientes condicionen claramente los resultados y no se puedan establecer conclusiones totalmente válidas, ya que en el desarrollo de la obesidad de estos pacientes no intervienen de forma exclusiva los factores nutricionales en su desarrollo.

En la secuencia de eventos que conducen a la producción de melatonina, es el β -receptor pinealocítico el mecanismo fundamental de membrana implicado. En lógica consecuencia, los fármacos β -bloqueantes inhiben la secreción pineal de melatonina (127), como se ha observado en pacientes sometidos a un estímulo como es la realización de ejercicio y la administración posterior de propanolol.

1.12 Neuroregulación de la hormona de crecimiento.

La secreción de hormona de crecimiento, al igual que ocurre con otras hormonas que se segregan en la adenohipófisis, es el resultado de un complejo sistema neuroendocrino, que está modulado por dos reguladores hipotalámicos, la Hormona Liberadora de Hormona de Crecimiento (GHRH) y la Somatostatina (SS) u hormona inhibidora de la secreción de hormona de crecimiento. Ambos factores hipotalámicos, están a su vez, regulados e influenciados por otros péptidos hipotalámicos así como por complejas redes de neurotransmisores, que influyen tanto sobre GHRH como SS, haciendo de éstos los mediadores finales de influencias metabólicas, endocrinas, neurales e inmunológicas en la secreción de GH por la hipófisis (128), (129).

1.12.1 Patrón de secreción de hormona de crecimiento.

No existen diferencias en los patrones de secreción de hormona de crecimiento en las distintas especies estudiadas, incluida la especie humana. La secreción de hormona de crecimiento se realiza mediante un patrón pulsátil que es común a todas las especies (130). La ritmicidad y pulsatilidad de la secreción de hormona de crecimiento, se pudo demostrar tras la determinación de las concentraciones de hormona de crecimiento mediante radioinmunoanálisis. El método Cluster para determinar la pulsatilidad de secreción de hormona de crecimiento y el análisis de deconvolución, los cuales observaban de forma simultánea el tipo de secreción endógena de hormona de crecimiento cinética, mostraba que la secreción pulsátil de hormona de crecimiento continuaba en todos los individuos en el

estado de sueño y de ayuno. A pesar de las indetectables tasas de hormona de crecimiento detectadas en las muestras analizadas durante el día mediante radioinmunoanálisis convencional, el ensayo Cluster demostraba por primera vez una secreción basal de hormona de crecimiento, mezclada con variaciones nictamerales pulsátiles de hormona de crecimiento (131), (132). A raíz de estos trabajos fueron realizadas nuevas investigaciones en sujetos delgados y obesos con la finalidad de investigar de qué manera la edad, obesidad o esteroides sexuales podrían influenciar de alguna manera la pulsatilidad en la liberación de hormona de crecimiento. En estos trabajos se pudo establecer que la tasa de secreción basal de hormona de crecimiento se correlacionaba de forma negativa con los estrógenos circulantes (E_2), mientras que el pico secretorio máximo de GH, se correlacionaba de forma positiva con las concentraciones de testosterona. Posteriormente también se han realizado trabajos para conocer la relación entre la pulsatilidad secretora de hormona de crecimiento y los factores de crecimiento IGF-I y su principal proteína IGFBP-3 (133).

Los conocimientos sobre el neuroregulación y secreción de hormona de crecimiento, nos indican que el patrón de secreción de la hormona de crecimiento depende de la interacción entre GHRH y SS a nivel somatotropo, si bien, nosotros no conocemos la existencia de conexiones anatómicas o las interacciones funcionales de péptidos entre el hipotálamo y el sistema de péptidos liberadores de hormona de crecimiento (GHRP).

El sistema íntimo que caracteriza la secreción pulsátil de hormona de crecimiento, permanece desconocido. Distintos factores como la nutrición, composición corporal, metabolismo, mecanismos esteroideos relacionados con la edad, glucocorticoides, hormonas tiroideas y funcionamiento renal y hepático, se autorrelaciona para modular de alguna forma la liberación pulsátil de hormona de crecimiento en adultos, mientras que elevaciones espontáneas en la secreción de GH son con mayor probabilidad el resultado de la capacidad de las células neuroendocrinas hipotalámicas para promover y mantener potenciales de acción en esas células que origine los picos secretorios (134). La liberación basal de GH también puede estar sujeta a una regulación neurofisiológica (132).

En humanos, el control neuroendocrino de la secreción pulsátil de hormona de crecimiento es conocido de forma incompleta, debido creemos a su complejidad. Debido a cuestiones deontológicas, como puede ser la extracción de muestras en sujetos sanos, muchos de los conocimientos básicos que disponemos sobre este capítulo en la fisiología del crecimiento son extrapolaciones de estudios en seres humanos en los cuales la extracción de muestras sanguíneas están justificados por otras razones o bien por la extrapolación al ser humano que se pueda realizar a partir de hallazgos en series de animales de experimentación. En individuos sanos se ha podido comprobar cómo la administración de un antagonista de la

acción de la GHRH, puede disminuir en un 75% la secreción nocturna de hormona de crecimiento (135), apoyando la hipótesis de que la secreción de hormona de crecimiento en el ser humano está dirigida por la acción del GHRH. La persistencia de la secreción pulsátil de GH en individuos normales y con déficit de hormona de crecimiento durante la infusión continua de GHRH (136), (137) y la capacidad del GHRH exógeno para liberar GH visto en las importantes elevaciones en las tasas de GHRH que ocurren en el síndrome de secreción ectópica de GHRH (138), también apoyan la hipótesis de la acción reguladora mediante la estimulación de la secreción de GH por parte del GHRH.

Descensos periódicos en la secreción de somatostatina (SS) deben ocurrir para que se produzca la secreción pulsátil de GH en las condiciones que hemos referido anteriormente, circunstancias que se han puesto de manifiesto tras los análisis realizados en estudios de deconvolución en la secreción de hormona de crecimiento (139). Los patrones de secreción de GH fueron medidos en varones adultos a los cuales se les midió la secreción basal y tras estímulo de GHRH, cada 2 horas durante 6 días, observando que a cada bolo de GHRH se siguió un aumento en la concentración basal de GH, respetándose los patrones circadianos de secreción de hormona de crecimiento, y observando que dichos patrones fueron similares tanto durante la fase basal, como tras la estimulación con GHRH (140). Este patrón es similar con el modelo de secreción ultradiana de GH, en el cual la secreción de somatostatina (SS) estaría reducida durante la noche.

1.12.2 Patrón de secreción de hormona de crecimiento: influencia del sexo.

Se han descrito la existencia de diferencias, considerando el sexo, en el patrón de secreción de hormona de crecimiento entre ratas macho y ratas hembras, en este sentido las principales diferencias, residirían en los siguientes puntos: 1) diferencia en la respuesta a la administración exógena de GHRH (141), (142), 2) en el contenido endógeno a nivel hipotalámico de GHRH y SS (143), 3) niveles hipotalámicos de ARNm de (IR) GHRH y SS, (144), (145), 4) expresión del receptor para el GHRH en hipófisis (146) y 5) los mecanismos de feedback (147).

Las diferencias si consideramos el sexo, en relación a los patrones de secreción de GH, no están realmente diferenciadas ni claras, no obstante existen diversos trabajos que aportan diferencias en el patrón secretor de GH entre hombres y mujeres (148), (149), (130). En un grupo de hombres de edad mediana y mujeres en edad premenopáusicas, se demostró que la secreción de GH en 24 horas fue tres veces mayor en mujeres que en hombres, los episodios secretorios de GH fueron mayores y más prolongados, en cada pico se secretaba más cantidad de GH y las concentraciones plasmáticas de GH fueron mayores en las mujeres que

en los hombres. En otro trabajo la frecuencia de pulsos y las tasas de aclaración endógena para la GH no fueron distintas entre hombres y mujeres (150).

1.12.3 Edad y patrón secretor de hormona de crecimiento.

El patrón secretor circadiano de GH, presenta cambios relacionados con la edad tanto en modelos experimentales en animales, como en humanos. En este sentido se conocen cómo los niveles plasmáticos de GH en fetos, van descendiendo desde la mitad de la gestación hacia el tercer trimestre y en el período neonatal (151). Estos hallazgos se han relacionado con un exceso de GHRH o por el contrario una deficiente liberación en la secreción de Somatotatina (SS) en el hipotálamo fetal, una respuesta excesiva de las células somatotropas al GHRH, un deficiente control del mecanismo de feed-back del IFG-I o estimulación de a secreción de GH por factores paracrin, que puedan ocurrir en la gestación.

El hipersomatotropismo funcional en los recién nacidos gemelares pequeños para su edad gestacional (SGA) en los que se han demostrado unos mayores niveles basales de GH y respuesta a GHRH que en recién nacidos gemelos adecuados a su edad gestacional (152), (153). En estos mismos estudio se observó una concentración sérica de IGF-I mayor en los pequeños para su edad gestacional que en los recién nacidos adecuados a su edad gestacional lo que podría excluir algún efecto no detectado de un defecto en el mecanismo de feed-back del IGF-I o una resistencia funcional a la GH (154), (155), (156).

Miller (157) estudió los cambios que podían ocurrir tras el nacimiento en la pulsatilidad de la GH en recién nacidos de ambos sexos a término. Encontró diferencias entre los niños a las 28 horas y a las 80 horas después del nacimiento. La pulsatilidad de la hormona de crecimiento estuvo presente en todos los recién nacidos en los 2 primeros días de vida.

También se realizan estudios en otras épocas de la vida con picos de crecimiento, como es la edad prepuberal. En estos casos se ha evaluado la secreción de GH mediante el programa Pulsar, no observándose correlación entre la liberación de GH y la edad en niños prepuberales, lo que apoya la idea de que las hormonas gonadales no son determinantes para la regulación del crecimiento y secreción de hormona de crecimiento durante esta época de la vida, circunstancia que se ofrece contraria en la época puberal en la que existe un marcado incremento de la secreción de hormona de crecimiento en ambos sexos (158). Las hormonas gonadales, y en particular los andrógenos circulantes parecen jugar un papel central en los cambios de amplitud de los pulsos de GH (159), (160). Sin embargo, los andrógenos por sí solos no parecen ser los únicos responsables del incremento de los pulsos de GH en la edad puberal en humanos, visto los patrones en jóvenes y los datos obtenidos en ratas (161), el

papel que juega la testosterona en la secreción de GH en seres humanos, no está suficientemente claro. Existen algunas aportaciones bibliográficas, que apoyan la idea de que la testosterona por sí misma no podría ejercer su efecto estimulador sobre la hormona de crecimiento, y que sería una aromatización de la misma produciendo estradiol, el que ejercería estimulación sobre la secreción de GH. Esta teoría está sustentada en diversos trabajos realizados en niños con retraso constitucional del crecimiento y desarrollo (162). En niños con hipogonadismo hipogonadotropo, dosis progresivamente mayores de testosterona, con niveles plasmáticos de E₂ afectados, incrementaban el número y amplitud de picos de GH en respuesta a un estímulo combinado de GHRH y arginina (163). Es lógico pensar que la edad, sexo, estado puberal, índice de masa corporal u otros índices, como puede ser el sueño, medicación concomitante o el ejercicio físico son factores que deben ser tenidos en cuenta por su influencia, en el diseño de estudios en esta área.

1.12.4 Sueño y patrón de secreción de hormona de crecimiento.

Es conocido que la secreción de hormona de crecimiento se realiza fundamentalmente durante la noche, de tal manera que se ha propuesto el estudio secretorio de la secreción de GH nocturna mediante la extracción de muestras de sangre sustituya a las pruebas de estímulo en el diagnóstico del déficit de hormona de crecimiento (164), (165). Se han realizado numerosos estudios en los que se ha demostrado la interrelación entre la secreción de hormona de crecimiento y el sueño (166), (167), (168), (169), (170). Pero aunque esta relación está demostrada y es evidente que la fase de sueño ondas lentas es en la que la secreción de hormona de crecimiento ocurre, también sabemos que un tercio de los picos secretorios de hormona de crecimiento durante la noche acontecen fueron de la fase de ondas lentas, y en este tercio de casos tampoco se ha asociado picos secretorios de GH con esta fase de del sueño (171).

1.12.5 Hormonas hipotalámicas y secreción de hormona de crecimiento.

El papel de las hormonas hipotalámicas GHRH y somatostatina (SS), en la secreción por la hipófisis de hormona de crecimiento, la primera estimulándolo y la segunda inhibiéndolo, tiene claras referencias bibliográficas, conocidas desde hace muchos años, por lo que sólo nos detendremos en este capítulo del presente proyecto en señalar aquéllos aspectos que creemos pueden ser de interés.

1.12.6 Hormona liberadora de hormona de crecimiento.

La GHRH es la hormona estimuladora principal, aceptada desde que se describiera en 1982, al estudiar tumores pancreáticos que producían acromegalias en dos pacientes. Se

describieron tres péptidos con actividad biológica, denominados hp-GRF-37, hp-GRF-40 y hpGRF-44. Se han encontrado dos precursores de este péptido denominados prepro-GHRH 107 y prepro-GHRH 108. Ambos contienen la secuencia de GHRH 1-44, que posee la acción fisiológica. Tras unirse a un receptor específico, la GHRH estimula la secreción de GH por la célula somatotropa adenohipofisaria de forma dosis dependiente. Este efecto es específico y selectivo, ya que no afecta la secreción de ninguna otra hormona hipofisaria. El efecto estimulador de la GHRH es inhibido por la somatostatina, mediante un mecanismo no competitivo.

La caracterización molecular de la GHRH y del receptor para la GHRH, es un instrumento para entender mejor la regulación del hipotálamo sobre la célula adenohipofisaria somatotropa. El modelo de acción de la GHRH, propone la interacción de ésta sobre un receptor de membrana de la célula somatotropa, estimulando la secreción de hormona de crecimiento desde los gránulos secretorios, presumiblemente mediada esta liberación, por la interacción de una proteína G con canales de iones y mediante la estimulación intracelular de AMPc. La elevación del AMPc llevarían a la (172), (173). Una diana para la acción del CREB es el factor de Transcripción Pit-1, que está implicado en el desarrollo de somatotrofos y en la regulación de genes para la GH, prolactina y posiblemente para la cadena beta de la hormona estimulante del tiroides (TSH). Es previsible que sea la vía por la que la GHRH incrementa la síntesis de GH en la hipófisis, y además, está para regular directamente la síntesis de GHRH-R. Esto, de hecho, no está presente en la hipófisis del ratón *dw/dw* en el que falta la función del Pit-1 (174). El péptido inhibitorio SS presumiblemente actúe a través de la proteína G mediadora, suprimiendo la vía del AMPc (175). La disrupción de algunos de los pasos de la vía referida, pueden originar una deficiencia de GH. Una mutación inactivando el GHRH-R se ha encontrado en ratones enanos, y alteraciones similares en la función del receptor pueden jugar un papel en algunos desórdenes del crecimiento humano.

La GHRH tiene efectos fuera de la hipófisis, así en ratas se ha visto que altas dosis administradas en el ventrículo lateral, provocan efectos motores y del comportamiento, con incremento de los niveles de glucosa en sangre (176). Más fidedignos son los hallazgos de que la GHRH induce el sueño en animales, circunstancia que se ha descrito tras la administración de GHRH a nivel del hipocampo en ratas (177), (178). Igualmente otros estudios demuestran que el sueño fue reducido en ratas cuando la acción de la GHRH fue inhibida por un antagonista específico o por anticuerpos anti-GHRH (179), (180). Otro efecto descrito tras la administración intraventricular de GHRH es el aumento de la ingesta de alimentos (181). La GHRH parece que contribuye tanto en el patrón circadiano como comportamiento alimentario de la ingesta de macronutrientes (182), (183). La participación

de la GHRH en la ingesta de alimentos en animales, puede ocurrir igualmente en humanos, así en un trabajo realizado en enfermos con anorexia nerviosa, los cuales recibieron GHRH, observaron cómo en éstos la GHRH estimulaba la ingesta de alimentos, especialmente hidratos de carbono y grasas (184).

1.12.7 Somatostatina.

La somatostatina fue identificada primariamente como un péptido hipotalámico implicado en el control inhibitorio de la hormona de crecimiento y de la TSH. Posteriormente se observó que la SS podría inhibir la secreción de otras hormonas bajo circunstancias unas fisiológicas y otras patológicas, pudiendo también inhibir secreciones exocrinas (185).

Las células productoras de somatostatina están presentes en el sistema nervioso central y periférico, intestino, páncreas endocrino, y en menor cantidad en tiroides, adrenales, glándulas submandibulares, próstata, y placenta (185). En el hipotálamo su presencia mayor se localiza fundamentalmente a nivel del núcleo periventricular, observándose también en otras localizaciones como los núcleos arcuato y ventromedial (186). Los axones de las neuronas de estas localizaciones forman vías hasta la neurohipófisis donde se va a ejercer su acción, no obstante también interactúan, en menor cantidad con la neurohipófisis donde puede jugar cierto papel en la neuroregulación de hormonas neurohipofisarias como occitocina y vasopresina. También es conocido que estas fibras interactúan con otras áreas extrahipotalámicas como son el sistema límbico, otros núcleos hipotalámicos incluyendo el núcleo arcuato, donde se sintetiza la GHRH. Las neuronas somatostatinérgicas localizadas en el área anterior del núcleo periventricular interactúan con otras neuronas tales como las que neuroregulan la producción de galanina, neuropéptido Y, GABA, serotonina y otros péptidos opioides endógenos (187).

Estudios in Vitro han demostrado, que la somatostatina es liberada mediante un mecanismo de despolarización de membrana por potasio, mediada por el flujo de ión calcio, interactuando también el AMPc, dopamina, IGF-I, GH y GHRH (188). La forma principal de somatostatina liberada es la SS-14. Otros factores que influyen en su secreción son: acetilcolina que tiene un efecto inhibitorio (189), el GABA se ha observado que igualmente tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de SS, observado en cultivos de células hipotalámicas (190). Otros neurotransmisores que también intervienen de alguna manera en la liberación de SS, unos favoreciéndola y otros inhibiéndola, son: respecto a la primera estaría la dopamina (191), norepinefrina (192), TRH (193) y CRH (194). Mientras GABA o acetilcolina inhiben su secreción (190), (195).

Los efectos inhibidores de la SS sobre la secreción de GH, se han demostrado tanto en estudios realizados en distintas especies animales, como en los propios seres humanos. En humanos la SS impide la secreción de GH tras estímulo como la administración de L-dopa, tras el ejercicio físico, e hipoglucemia. La SS puede no sólo inhibir la secreción de GH, sino que bajo condiciones determinadas puede también desencadenar la liberación de GH, a través de un lugar de acción intrahipotalámico (196). La SS también actúa de forma directa inhibiendo la secreción de TSH o puede actuar en el hipotálamo inhibiendo la secreción de TRH. La extensa localización de las regiones en las que se encuentra SS, nos dan una idea del papel de neurotransmisor y/o neuromodulador que juega. En este sentido en los últimos años se ha centrado la investigación de su papel y acción en determinadas áreas cerebrales como el córtex o el hipocampo y sus implicaciones clínicas en procesos como la enfermedad de Parkinson o en el Alzheimer (197). De otra parte la SS también juega un papel importante en la fisiología del páncreas e intestino, regulando funciones endocrinas y exocrinas del estómago, intestino y páncreas, en los dos primeros mediante mecanismos locales y paracrinós (198).

1.12.8 Péptidos liberadores de hormona de crecimiento.

El descubrimiento de los péptidos liberadores de hormona de crecimiento, abre una vía de interés e investigación sobre el conocimiento de la regulación y secreción de la hormona de crecimiento. Su mecanismo de acción es aún debatido, no conocemos la naturaleza y estructura de los ligandos endógenos (199) para los receptores de GHRP aunque se han propuesto algunas teorías sobre su auténtica función en la fisiología de la hipófisis (200) y están esperando la obtención de datos concluyentes sobre su utilidad clínica. No obstante es indiscutible que estas moléculas tienen un interés renovado en neuroendocrinología. Además, hasta ahora sólo conocemos una pequeña parte de las los GHRP. Los hallazgos de receptores para GHRP en otros tejidos además de hipófisis e hipotálamo sugieren un papel, no conocido aún completamente, no sólo a nivel del sistema nervioso central, sino también en otras localizaciones periféricas (199).

1.12.9 Otras moléculas cerebrales en la neuroregulación de hormona de crecimiento.

El estudio de la neuroregulación de la secreción de hormona de crecimiento, es uno de los aspectos de la fisiología y endocrinología pediátrica de máximo interés, existiendo hallazgos de gran interés como son los ya comentados en capítulos anteriores y sobre los que existe una gran controversia y permanente y actualizada discusión según se van obteniendo resultados de los investigadores. En lo que se refiere al presente proyecto de investigación en

el que se intenta aportar una nueva visión sobre la interrelación existente entre hormona de crecimiento y melatonina, en este capítulo referente a la participación de distintos neurotransmisores en la neuroregulación de la hormona de crecimiento nos vamos a referir aquello que son de interés en la fisiología de ambas moléculas: GH y melatonina.

4.2.4.1 Catecolaminas.

a) α_2 -Adrenoceptores. El concepto, ya descrito hace más de 25 años, de que la norepinefrina (NE) es un transmisor sináptico que favorece la liberación de GRF, es válido aún (201). Hay numerosas referencias observadas a lo largo de todos estos años en los que se define que vías centrales adrenérgicas, estimulan la secreción de hormona de crecimiento en ratas y seres humanos estimulando los α_2 -Adrenoceptores. (202). La contribución material para llegar a esta conclusión fue la realización de varios experimentos en ratas a las que mediante una cánula intraauricular, a las que se les bloqueaba la síntesis de catecolaminas mediante la administración de un agente bloqueante de las mismas como la alfa-metil-p-tirosina, administración de reserpina que deplecciona las reservas de catecolaminas hipotalámicas, y la inyección de 6-hidroxidopamina, una neurotoxina catecolamínica, se producía una marcada disminución de la secreción de hormona de crecimiento, y de otra parte estos efectos fueron contrarrestados tras la administración de clonidina un estimulante de los receptores α (202), (203).

La importancia de los mecanismos α -adrenérgicos en la secreción de hormona de crecimiento, están basados fundamentalmente en el descubrimiento de que la clonidina administrada durante 10 días en ratas, producía un aumento en la concentración plasmática de hormona de crecimiento, elevación, que no fue dosis dependiente. Igualmente la administración de clonidina durante 5 días a un grupo ratas también producía un aumento de los niveles plasmáticos de hormona de crecimiento así como el contenido de GH a nivel de hipófisis (204). En otros trabajos que han investigado cuál sería el mecanismo mediante el cual la clonidina, la que mediante una estimulación de los α_2 -Adrenoceptores aumentaría la presencia de hormona de crecimiento, se ha visto que dicha acción estaría mediada por un bloqueo a nivel hipotalámico de SS, lo que induciría un aumento de la liberación de GHRH por el hipotálamo y un aumento de la síntesis y secreción de hormona de crecimiento en la hipófisis. No obstante tampoco, a partir de estas observaciones, podemos descartar la posibilidad de que la clonidina pueda actuar sobre la liberación de GH inhibiendo de forma más o menos directa las vías somatostatinérgicas (205), (206). En este sentido también se ha podido observar que las vías α_2 -adrenérgicas, parece que también ejercen un efecto inhibitor sobre la liberación de SS (207).

b) α_1 -Adrenoceptores. La disponibilidad de clonidina y su capacidad para estimular la secreción de hormona de crecimiento en distintas especies animales admitida la de los subtipos de receptores de NE mediando su efecto neuroendocrino. En perros, el pretratamiento con el antagonista de los α_1 -adrenoceptores, prazosin, deja inalterado el aumento de GH inducido por la clonidina, mientras que el bloqueo de los α_2 -adrenoceptores por la yohimbina, previene completamente dicho efecto (208). Sin embargo, el prazosin, suprime parcialmente el efecto liberador de la hormona de crecimiento al estímulo inducido por la clonidina, en ratas, lo que cual puede indicar una participación de ambos α_1/α_2 en el efecto estimulador de la clonidina sobre la hormona de crecimiento (209).

c) β -Adrenoceptores. El papel inhibitorio de los receptores β sobre la liberación de hormona de crecimiento es conocido desde hace años. El propranolol un β -antagonista inespecífico no tiene efecto sobre la secreción de GH en condiciones basales (210), mientras que aumenta la respuesta de GH indirectamente a agonistas catecolaminérgicos como las anfetaminas y la desipramina (211), (212). Este efecto es llevado a cabo mediante la supresión, mediada por el propranolol, de los efectos inhibitorios mediados por los β -adrenoreceptores, sobre los que actúa las catecolaminas liberadas a la sinapsis. El mismo mecanismo podría explicar por qué la infusión intravenosa de epinefrina combinada con propranolol estimularía la secreción de hormona de crecimiento (213). Ha sido demostrado que el agonista β_2 -adrenérgico, salbutamol, inhibe la secreción de hormona de crecimiento en respuesta a la GHRH en humanos (214). Esto se puede explicar por la posibilidad de que los β -agonistas podrían estimular la secreción de SS a nivel hipotalámico, y que la inhibición de los β -receptores podría inhibir la liberación de SS.

El agonismo β -adrenérgico y sus implicaciones clínicas concierne especialmente al salbutamol, un estimulante β_2 -adrenérgico usado profusamente como broncodilatador en el tratamiento del asma. La inhibición de la liberación de hormona de crecimiento tras el tratamiento con GHRH fue descrito en pacientes con diabetes tipo 1, tras la administración durante un corto periodo de tiempo de esta droga (215). La evaluación a corto y largo plazo de los efectos del salbutamol oral, en niños asmáticos con baja talla, mostraron que a las 24 horas de recibir el tratamiento se producía un descenso en las concentraciones nocturnas de GH y una disminución de los picos de GH tras la administración de GHRH; sin embargo, después de 3 meses de tratamiento, los niveles de hormona de crecimiento no fueron diferentes de los niveles basales y aumentaban normalmente tras la administración de GHRH (216).

d) Dopamina. Las vías dopaminérgicas están involucradas en el control de la secreción de GH, aunque su papel parece estar ampliamente “ancillary”. En ratas, perros y monos la

administración sistémica del precursor de la dopamina, Levodopa, o bien la administración de agonistas de la DA estimulaba la liberación de hormona de crecimiento (202). En humanos, sanos, aunque agonistas directos de la dopamina como la apomorfina, bromocriptina, lisurita, cabergolina, o agonistas indirectos de la DA como la anfetamina, nomifensina o metilfenidato producen un aumento agudo de la liberación de GH y un aumento de la liberación de GH en respuesta a la GHRH (217), estos bloquean la respuesta de GH a la hipoglucemia insulínica, levodopa y arginina, cuando se administran mediante infusión (218), (219). Estos hallazgos pueden ser explicados por la capacidad de la DA para estimular tanto GHRH como SS en el hipotálamo de rata (220) y por la diferente sensibilidad de las neuronas somatostatinérgicas y productoras de GHRH a la estimulación dopaminérgica en relación al tono endógeno de DA. Este puzzle se complica, pues está descrita la inhibición de la liberación de GH por la dopamina y sus agonistas en estudios *in vitro* y *in vivo*, en ratas y humanos con hipersecreción patológica de GH (221), (222).

4.2.4.2 Serotonina.

La participación de las vías serotoninérgicas en la neuroregulación de la hormona de crecimiento es distinta según consideremos especies animales o el ser humano. Así, en las primeras parece que tiene un efecto evidente sobre la liberación de GH, mientras que en los seres humanos la situación es menos clara y los resultados de los numerosos trabajos son contradictorios o poco evidentes (202).

Los datos que implican la serotonina aumentando la concentración de la GH circulante se han puesto de manifiesto en trabajos en los que la administración de agentes bloqueantes de la síntesis de triptófano, precursor de la serotonina, se acompañaban de una disminución en los pulsos de secreción de GH en ratas no anestesiadas o bien el bloqueo de los receptores para la serotonina con antagonistas no específicos de serotonina, se acompañaba de una disminución de los niveles de GH. Inversamente, el precursor de la serotonina, el L-triptófano, administrado de forma sistémica, incrementaba los niveles cerebrales de triptófano y serotonina e inducía una liberación sostenida de GH (223). Igualmente la administración del precursor inmediato de la serotonina, el 5-hidroxitriptófano, administrado vía sistémica a ratas no anestesiadas, estimulaba de forma evidente la liberación de GH, circunstancia que se inhibía cuando se administraba un inhibidor no específico de la serotonina, como es la ciproheptadina (224).

De acuerdo con esto en ratas de pocos días de vida, el importante aumento en los niveles de GH plasmáticos inducidos por el 5-OHT no fueron contrarrestados mediante dos

antagonistas del receptor para 5-OHT, sino por el bloqueo de receptores dopaminérgicos o α -adrenérgicos o por la simpatectomía central inducida por la 6-OHDA (225).

La ausencia de discriminación de los agonistas y antagonistas selectivos de muchos de los subtipos de receptores de 5-HT ciertamente es de tener en cuenta para explicar los primeros hallazgos controvertidos (129). Ahora que disponemos de los ligandos específicos para los receptores, se han diseñado estudios para dilucidar cuál es la implicación de los distintos receptores para 5-HT. En ratas machos, conscientes y con libertad de movimientos, la activación de los receptores 5-HT_{1A}, tras la administración del agonista específico OH-2- (di-*n*-propilaminotetralina) o por la ipsapirona o por otros agonistas menos específicos de los receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{1c} afectada a los niveles de GH plasmática a cualquier dosis probada (226).

Los papeles de los diferentes receptores de la serotonina han sido algo clarificados mediante estudios sobre la estimulación de GH inducida por los α_2 -adrenoceptores. Entre los distintos antagonistas del receptor de 5-HT, sólo la metergolina, un antagonista no selectivo del receptor 5-HT_{1/2} y la mesulergina, antagonista selectivo del receptor 5-HT_{1c}/5-HT₂, suprimían de forma casi completa los incrementos en los niveles de GH inducidos por la clonidina, mientras que otros dos antagonistas de los receptores 5-HT_{1c}/5-HT₂, como son la ritanserina y la mianserina, atenuaban, sólo de forma parcial el efecto de la clonidina. En estos mismos trabajos se observó que el propranolol un antagonista β -adrenérgico y del receptor 5-HT₂, fue incapaz de antagonizar los efectos de la clonidina (227). Por otra parte, el perfil farmacológico de estos componentes y su orden de potencia sugiere que los receptores 5-HT_{1c} más que los 5-HT₂, están implicados en el incremento de GH mediante la estimulación de los α_2 -adrenoceptores, en ratas. Estudios tras la separación materna durante cortos períodos de tiempo en ratas previas al destete, un modelo experimental utilizado para el estudio en humanos del síndrome de privación materna, el cual cursa con retraso del crecimiento, pérdida de peso y alejamiento social (228), una vez terminado en nanismo psicosocial (229) se tiene a concluir de que los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2c} están implicados en el mecanismo de hiposecreción de GH (230).

La contribución real de los diferentes subtipos de receptores para la serotonina, la estrechas relaciones funcionales entre las vías adrenérgicas y serotoninérgicas implicadas en la liberación de hormona de crecimiento, y la idea de que los cambios cerebrales de 5-HT están implicados en la etiología de las enfermedades afectivas y el mecanismo de acción de los antidepresivos (231) pueden explicar por qué distintos estudios clínicos encuentran bloqueada la respuesta de GH a la clonidina en pacientes depresivos comparados con pacientes controles (202). La moclobemida, un fármaco antidepresivo e inhibidor selectivo

reversible de la MAO, incrementa de forma muy marcada la función de la 5-HT y estimula la secreción GH en pacientes depresivos (232).

Estudios muy bien diseñados, implican que la 5-HT en la estimulación de hormona de crecimiento en perros difiere de los mecanismos relacionados con el estrés en la liberación de GH, están basados en el uso de 5-HTP como un activador específico de la neurotransmisión de 5-HT. En perros anestesiados, el efecto del 5-HTP estuvo inhibido por la acción del antagonista del receptor fenoxibenzamina (233), y lo mismo se encontró en voluntarios sanos.

En humanos, usando distintos agonistas y antagonistas de receptores de la serotonina, se ha observado que las vías serotoninérgicas pueden inhibir, estimular o no tener efecto alguno sobre la secreción de GH (202). El sumatripan un agonista selectivo del receptor 5-HT₄, sin actividad sobre otros receptores serotoninérgicos como son 5-HT₂, 5-HT₃ y 5-HT₄, y receptores de otros neurotransmisores, ha permitido establecer de forma estrecha los efectos de la 5-HT sobre la secreción de GH basal y tras estímulo. En niños prepuberales normales, el sumatripan incrementaba los niveles basales de GH y la respuesta de GH a la GHRH; sin embargo, el pretratamiento con sumatripan no modificaba la respuesta de GH a la clonidina o a la piridostigmina, un inhibidor de AChE, pero favorecía la respuesta de la GH a la arginina. En un grupo de niños obesos, el sumatripan no modificaba los niveles basales de GH, sin embargo mantenía aumentado el efecto de la GHRH (234). Una interpretación, prudente, de estos hallazgos es que el sumatripan puede activar en sujetos normales y obesos vía inhibición del tono somatostatinérgico, con la única reserva en este razonamiento el aumento de la respuesta de GH a la arginina, la cual pretendidamente operaría a través del mismo mecanismo. El mecanismo de acción a nivel central para el sumatripan es sugerido por su ausencia de efecto sobre la secreción de GH en la acromegalia (235).

Otros estudios han atizado antagonistas de los receptores 5-HT₂ para explicar la participación de la serotonina en la regulación de la hormona de crecimiento en humanos. En sujetos sanos la ketanserina no modifica la respuesta de hormona de crecimiento a la hipoglucemia insulínica mientras que su compañera, la ritanserina lo hizo, quizás debido a su alta afinidad por el receptor 5-HT₂ (236), (237). Los estudios que existen en la literatura sobre la participación de la serotonina en la regulación de la hormona de crecimiento son contradictorios. La difícil naturaleza de la modulación serotoninérgica de la secreción de hormona de crecimiento, también se observa en estudios realizados con fenfluramina, un potente liberador de serotonina e inhibidor de la recaptación de la misma. Así en sujetos sanos, aquélla inhibe la liberación de hormona de crecimiento inducida por la combinación de L-dopa y propanolol, pero no cuando para la estimulación de hormona de crecimiento

estaba mediada por la arginina. La fenfluramina sola, disminuía los niveles basales de GH (238). En resumen podríamos afirmar, observando en conjunto los resultados de los trabajos comentados, que, la liberación de hormona de crecimiento no estaría apoyada por un efecto estimulador de la serotonina.

2.- Objetivos

2. Justificación y objetivos

2.1 Justificación

El aumento de la complejidad funcional que experimentan los seres vivos durante la evolución, hace necesaria la existencia de sistemas de regulación que coordinen las diferentes funciones y las respuestas de las variaciones del medio externo. Los sistemas nervioso y endocrino son los responsables de dicha acción. Ambos están íntimamente ligados entre sí, siendo numerosas las circunstancias que precisan la intervención de ambos sistemas para una adecuada actividad orgánica. Recordemos entre otros el establecimiento y mantenimiento de la lactancia materna, secreción de corticoides endógenos, o la propia hormona de crecimiento que posee un complicado sistema neuroregulador de su secreción.

Es justamente el hipotálamo una de las regiones encefálicas en las que la interacción entre el sistema nervioso y el endocrino se encuentran más estrechamente relacionadas, junto con la hipófisis. Las neuronas hipotalámicas reciben información de otras áreas del sistema nervioso central, así como de los niveles circulantes de hormonas esteroideas, tiroideas y peptídicas y en base a esta información liberan distintas hormonas y péptidos que son secretados a la circulación general, al líquido cefalorraquídeo o a la circulación portal hipotálamo-hipofisaria, para controlar la secreción de las hormonas elaboradas en la hipófisis.

La secreción de las sustancias estimulantes del hipotálamo sobre la hipófisis y la posterior secreción de dichas sustancias hipofisarias a la circulación general se realiza de forma pulsátil. En este sentido son clásicos los estudios sobre la pulsatilidad en la secreción de la hormona de crecimiento por autores como Bercu (239), (240), (241), (242), (243) o Spiliotis (244). El estudio de la neuroregulación y secreción de la hormona de crecimiento, ha sido uno de los capítulos de las ciencias biomédicas que más ha interesado a un gran número de autores. En este sentido basta introducir en el buscador bibliográfico por excelencia, la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos en su página WEB: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>, los términos “*neuroregulation*” y “*growth hormone*”, para obtener más de 50.000 artículos publicados sobre este tema. Cuando añadimos los términos “*infant*” o “*children*”, los trabajos quedan reducidos, a un número tampoco despreciable de artículos que se contabilizan alrededor de 8000, es decir algo más del 10% del total de publicaciones. Si seguimos la línea principal de trabajo de nuestro grupo de investigación, observamos que las publicaciones que relacionan la secreción de “*hormona de crecimiento con melatonina*”, quedan más disminuidas, con un total de 256 trabajos publicados y si añadimos los términos “*infant*” o “*children*”, observamos que este número

queda aún más mermado, a un total de 37 artículos. Es obvio que no siempre por escasamente seguido, deja de ser menos interesante el estudio de una determinada área de la Medicina. Por consiguiente consideramos demostrado el interés del estudio de la neuroregulación de la hormona de crecimiento y su interrelación que con la melatonina pueda tener en el niño.

Uno de las razones que pueda explicar este escaso número de publicaciones se de carácter deontológico. En este sentido, debemos considerar que, con la adecuada información y consentimiento informado a los padres, hemos de aprovechar aquellas circunstancias en las que bajo una indicación clínica y diagnóstica, hemos de someter al paciente pediátrico a realizar exámenes complementarios, algunos de ellos como es el caso del test que nos ocupa, de carácter funcional, estimulando de alguna forma la secreción de Hormona de Crecimiento.

De otra parte conocemos desde 1954 (245), y hasta la fecha en los resultados de numerosas publicaciones en ésta área, cómo la principal secreción hormonal de la glándula pineal, la melatonina, participa en:

- a) El desarrollo sexual.
- b) La patología hormonal.
- c) Los trastornos de la conducta.
- d) La regulación determinante de los ritmos biológicos.
- e) Como antioxidante.

2.2 Objetivos

Siguiendo la línea argumental anteriormente expuesta, y considerando la principal línea de investigación de nuestro grupo, el presente proyecto se plantea como una aportación más para intentar describir la capacidad funcional de la glándula pineal y sus interrelaciones con otros órganos productores de hormonas, en este caso la hipófisis, y en este sentido nos propusimos los siguientes objetivos:

1. Valorar la respuesta conjunta de epífisis e hipófisis tras un test de estímulo de hormona de crecimiento, como es la hipoglucemia inducida tras la administración de insulina.
2. Analizar el comportamiento sobre la glándula pineal de una situación que podemos considerar como un estrés agudo cual es una situación de hipoglucemia.
3. Establecer si nos fuera posible, nuevos aspectos sobre la neuroregulación de la glándula pineal y su principal secreción: la melatonina.

3.- Material y Métodos

3. Material y métodos.

Para poder desarrollar los objetivos propuestos, los participantes en este proyecto fueron seleccionados de entre los niños que son remitidos a la Unidad de Endocrinología Pediátrica del Hospital Universitario San Cecilio, durante un periodo de tiempo comprendido entre enero de 2003 y junio de 2004. Los criterios de selección de estos pacientes fueron los siguientes:

1. Niños, remitidos por sus pediatras de centro de salud, con la sospecha de baja talla patológica.
2. Velocidad de crecimiento inferior al percentil 25.
3. Talla en percentil 3 o inferior al percentil 3, para las tablas de referencia, que en ese momento en nuestro hospital eran las publicadas por Tanner (246), (247) (248), (249), (250).

El material objeto de este proyecto fueron en total 39 niños, con una edad media en el grupo de niños de 10,65 años y para el grupo de niñas de 10,41 años. De éstos, 3 fueron rechazados por no obtener los valores completos en la recogida de datos. A su vez la muestra poblacional objeto del presente proyecto, fue dividido en 3 subgrupos: un primer grupo, denominado constituido por 11 pacientes diagnosticados de Baja Talla Familiar, y que se denomina en el estudio como BTF, un segundo grupo constituido por 6 pacientes, diagnosticados de Retraso Constitucional del Crecimiento y Desarrollo, denominado en nuestro proyecto como RCCyD y un tercer grupo constituido por 19 pacientes, todos ellos diagnosticados de Déficit de Hormona de Crecimiento, y en nuestro proyecto con las siglas DGH. Aunque las muestras se obtenían de las mismas extracciones de sangre empleadas en la prueba de función, los padres eran informados y consintieron expresamente en la utilización del excedente de muestra para la realización de este proyecto de Tesis Doctoral, con el correspondiente consentimiento informado. Así mismo, este proyecto fue aprobado por la Comisión de Bioética e Investigación del Hospital Universitario San Cecilio de Granada.

Las variables que fueron determinadas en este proyecto fueron las siguientes:

1. Generales: edad cronológica y sexo.
2. Somatométricas: peso, talla, talla paterna, talla materna, talla diana, velocidad de crecimiento, edad ósea.
3. Analíticas: tasas plasmáticas de Hormona de Crecimiento y Melatonina, basal y a los 30, 60 90 y 120 minutos de administrarse insulina; IGF-1 e IGFBP3.

3.1 Método clínico.

3.1.1 Diagnóstico del paciente con sospecha de Baja Talla Patológica.

En el desarrollo de la metodología clínica para nuestro grupo problema, se aplicó el protocolo diagnóstico aceptado para el estudio de esta patología en nuestra unidad. Siempre que asistimos a un paciente que acude por baja talla, hemos de considerar que esta variable somatométrica tiene un carácter dinámico y por consiguiente y salvo circunstancias concretas, la talla debe ser valorada en el tiempo. Y es que como hemos referido en la introducción, sobre un adecuado y normal crecimiento en un niño, no sólo intervienen factores genéticos, son también otros de carácter exógeno como ambientales o sociales, los que finalmente van a modular la talla final del niño.

En este sentido hemos de considerar tres aspectos fundamentales para valorar correctamente el crecimiento en un paciente pediátrico:

1. Situación en lo que a talla en valor absoluto se refiere, relacionada con los parámetros y estándares que consideramos estadísticamente normales, para su grupo racial, de edad y sexo.
2. Valoración de un adecuado crecimiento en un espacio de tiempo determinado, su velocidad de crecimiento, parámetro de referencia dinámico fundamental en el diagnóstico de la patología de la talla, que valoramos durante un periodo de un año y mínimo de 6 meses, expresado en cm/año.
3. Relación entre la talla del paciente, y su talla genética o talla diana.

Antes de obtener los parámetros somatométricos que nos indicarán la posible existencia de una baja talla, realizamos una minuciosa historia clínica, en donde recogeremos la historia familiar, con especial interés a líneas familiares de baja talla; una historia obstétrica y perinatal completa con la finalidad de determinar patologías que puedan tener repercusiones neurológicas y en consecuencia sobre los correctos mecanismos de producción y secreción de hormona de crecimiento y entre éstos hemos considerado: edad gestacional, adecuación del peso a la edad gestacional, parto distócico, pérdida de bienestar fetal o trastornos metabólicos como la hipoglucemia. No debemos olvidar aspectos en la historia propia del paciente como: patología de la nutrición, cronología de la introducción de los alimentos, enfermedades crónicas o situaciones ambientales y sociales, que puedan condicionar una deprivación afectiva y un retraso del crecimiento este último de carácter psicosocial y aquéllos de carácter exógeno a una afectación propia del sistema hipotálamo-hipofisario.

Una vez confeccionada la historia clínica se procede a la exploración física del paciente, que se debe realizar en un ambiente adecuado y con la presencia obvia de los padres o tutores del/la paciente. Esta exploración física debe procederse obligadamente con el niño desnudo, y se iniciará con la apreciación de rasgos dismórficos y estigmas malformativos. Es también de interés anotar la apreciación subjetiva de “proporcionalidad” que se confirmará o no, más tarde al determinar los parámetros somatométricos. La visualización y estadiaje del desarrollo sexual es fundamental en una correcta exploración física del niño que consulta por baja talla. Se finaliza con la exploración física completa del paciente.

Dentro del apartado de valoración somatométrica son obligados la determinación de los siguientes parámetros: peso, talla, talla sentado, perímetro cefálico, pliegues cutáneos y perímetro braquial. Determinación de la velocidad de crecimiento, como ya se ha indicado, la talla diana o genética y si nos es posible, la determinación de un pronóstico de talla.

Los exámenes complementarios que hemos realizado en nuestros pacientes son los siguientes:

1. Hemograma completo.
2. Velocidad de sedimentación globular.
3. Bioquímica completa, con especial atención a los parámetros que pudieran indicar un trastorno de carácter malabsortivo.
4. Despistaje de enfermedad celíaca.
5. Despistaje de anemia.
6. IGF-1 e IGFBP3.
7. Edad Ósea.
8. Cariotipo si es niña o existen rasgos dismórficos.
9. Hormonas Tiroideas.
10. Radiografía de cráneo, T.A.C o Resonancia Nuclear Magnética, en aquellos cuadros en los que se sospecha una causa orgánica como origen del déficit de talla, así: craneofaringiomas, hamartomas hipotalámicos, etc.

3.1.2 Indicaciones para el estudio de la secreción de GH en la Baja Talla.

Son candidatos a realizar pruebas funcionales de la secreción de GH aquellos niños cuya historia clínica, datos somatométricos, predicción de la talla y resultados de la analítica y exámenes complementarios, nos hagan sospechar un probable déficit de hormona de crecimiento, en algunas de sus modalidades. De manera general, se establece el siguiente protocolo diagnóstico para la selección de estos pacientes:

1. Pacientes de proporciones corporales armónicas.
2. Talla inferior al percentil 3 o 2 SD, según datos de referencia (Tablas de Tanner y Whitehouse).
3. Velocidad de Crecimiento inferior al percentil 25 (Tablas de Tanner y Whitehouse). Aquí deben incluirse niños con talla en los límites de la normalidad, pero con velocidad de crecimiento estacionada. Este dato debe ser observado por el endocrinólogo infantil o bien por el pediatra general, durante un período mínimo de seis meses. Siguiendo a MacGillvray (252), se considera que la velocidad de crecimiento es inadecuada en los siguientes casos:
 - a. Inferior a 7 cm/año antes de los tres años de edad.
 - b. Inferior a 4-5 cm/año en los tres años anteriores a la pubertad.
 - c. Inferior a 5,5-6 cm/año durante la pubertad.
4. Retraso de la maduración ósea, expresado en una edad ósea inferior en más de dos años a la edad cronológica.
5. Retrasos de la talla asociados a alteraciones en la línea media (incluido labio leporino simple), antecedentes de trauma obstétrico principalmente en varones, hipoxia perinatal de cualquier etiología, hipoglucemia en la primera infancia y trastornos del sistema nervioso central (infecciones, encefalitis, meningitis, tumoraciones, radiaciones, traumatismo craneales).

3.2 Método Analítico.

3.2.1 Tests funcionales para estimular la producción de hormona de crecimiento.

Las concentraciones de la GH en plasma no distinguen entre un sujeto normal y un paciente con retraso de la talla por déficit de GH. Es axioma de la semiología endocrina que para diagnosticar una hipofunción hormonal deben realizarse pruebas de estimulación (Fig. 3.1).

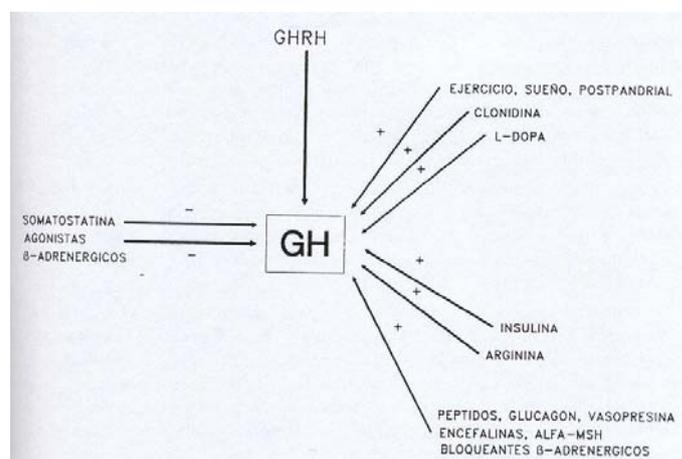


Fig. 3.1

La elección de una prueba para descartar o confirmar un déficit de GH debe realizarse según los siguientes criterios:

1. Escaso número de falsos negativos en sus resultados.
2. Carencia de efectos secundarios importantes.
3. Facilidad de realización, de preferencia de ingreso hospitalario.

La obtención de muestras para determinar GH ha de ser siempre en ayunas y en condiciones basales de reposo, realizando posteriormente el estímulo adecuado. La respuesta de la GH a estímulos se considera normal si el valor máximo obtenido es igual o superior a 10 ng/mL (20 U/L), (253), (254), (255).

Cifras de respuesta de GH inferiores a 5 ng/mL en dos pruebas convencionales son consideradas patológicas correspondiendo a un déficit de GH.

3.2.2. Tests fisiológicos de estimulación de GH.

El mejor conocimiento actual de la fisiología de la secreción de GH, la importancia de su secreción pulsátil y de la liberación nocturna estimulada por el sueño profundo, de gran importancia sobre todo en etapas de crecimiento rápido, ha revalorizado la importancia de los tests fisiológicos de estimulación.

La determinación de la GH a lo largo de las 24 horas del día o durante la noche coincidiendo con esta etapa de mayor secreción de la hormona es de interés en relación al concepto de disfunción neurosecretora de GH (240), (242). El ejercicio como estímulo de producción de GH es preferido por otros autores ya que carece de efectos secundarios prácticamente en su totalidad (256), (257), (258), (259).

3.2.3 Tests farmacológicos.

Una vez que el RIA para GH estuvo disponible, y con ello la posibilidad de cuantificar sus niveles circulantes, se pudo observar que la secreción de GH es de carácter pulsátil y que como consecuencia de esta característica era posible encontrar niños normales con niveles basales de GH bajos e incluso indetectables. Este es el motivo por el que es inútil realizar determinaciones basales de GH en el diagnóstico de su déficit y debemos recurrir a tests funcionales que provoquen su secreción (260), (261), (262), (263), (264). Entre los tests farmacológicos utilizados destacan la hipoglucemia insulínica, clonidina, guanfacina, ornitina, arginina, L-dopa. La ventaja de estas pruebas es su gran reproducibilidad y la

potencia controlada de estimular GH. Desventaja serían los efectos secundarios no deseados y, sobre todo, la artificialidad que suponen al no ser reflejo de circunstancias fisiológicas.

La valoración de la capacidad secretora de GH se basaba clásicamente en la manipulación farmacológica de los factores que modulan la interacción somatostatina-GHRH endógenos. Su forma de actuación es mediante la estimulación de GHRH endógeno o mediante una inhibición de la somatostatina endógena, aunque ambos mecanismos, hipotéticos en la mayoría de los casos, pueden combinarse. La elevación del GHRH Endógeno determinado en plasma, después de la realización del estímulo con l-Dopa y clonidina, induciría a admitir el primer mecanismo en estos casos como responsable de la respuesta de GH. Igual ocurriría en otros estímulos dopaminérgicos en los que se observa un

aumento de GRH Hipotalámico

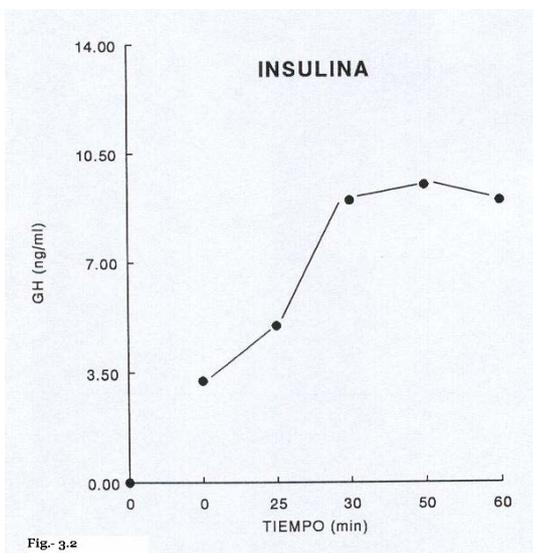


Fig.- 3.2

3.2.3.1 Test de la Hipoglucemia Insulínica.

Para la realización de esta prueba, el paciente se debe encontrar en ayunas. Una vez ingresado y en decúbito supino, se procede a la disección de una vía periférica, y colocación de un catéter y bránula que nos permita la administración de insulina y extracción seriada de las muestras. Se administra insulina regular a la dosis de 0,1 UI/kg de peso corporal y se procede a la extracción de muestras para la determinación de GH basal y a los

30, 60, 90 y 120 minutos. Consideramos que el test está adecuadamente realizado si la glucemia del paciente desciende un 50% respecto a la basal o bien aparecen signos/síntomas clínicos de hipoglucemia. Como efectos secundarios destacamos la aparición de sueño y los síntomas anteriormente referidos. Puede no obstante provocar hipoglucemia severa e incluso convulsiones que requieren la suspensión inmediata de la prueba y recuperación urgente de los niveles normales de glucosa en plasma. En consecuencia está contraindicada su realización en niños con antecedentes de convulsiones y lógicamente es obligada su realización en medio hospitalario con supervisión permanente del paciente por personal sanitario cualificado.

3.3 Metodología de laboratorio.

3.3.1 Radioinmunoensayo para la hormona de crecimiento.

El principio del ensayo está basado en la competición de la GH de la muestra con la GH contenida en los reactivos, la cual está fijada a un número limitado de anticuerpos en los lugares de unión. Tras la incubación, la cantidad de GH unida al anticuerpo está inversamente relacionada con la cantidad de GH no fijada presente en la muestra. El kit usado por nosotros fue proporcionado por SROIN BIOMÉDICA (13040 Saluggia, Vercelli, Italia).

Los reactivos presentes en el kit son los siguientes: I^{125} unido a HGH, HGH Standard, HGH antisuero, reactivo precipitante y suero control.

(i) **HGH unida a I^{125}** . El vial contiene hormona marcada, proteínas, conservantes y un colorante rojo inerte. La radioactividad es de 61 Kbp (1.65 μ Ci), sobre la fecha de calibración. Se reconstituye el vial con 10 ml de agua destilada. La solución resultante es estable durante 4 semanas a temperaturas de 2 a 4°C.

(ii) **HGH estándar**. El vial contiene cantidades crecientes de HG, suero bovino y conservantes. Reconstituir el contenido del vial estándar con 2 ml de agua destilada y los contenidos de los viales 1 al 6 con 1 ml de agua destilada. Las soluciones resultantes contienen 0-0,5-1,5-3-8-20-50 N^o/M^a ó 0-1-3-6-16-40-100 EU/M^a de HGH respectivamente, siendo estable durante 4 semanas a una temperatura de 2-8°C.

(iii) **HGH antisuero**. Los viales contienen antisuero obtenido en conejos, proteínas, conservantes y un colorante azul inerte. Reconstituir el vial con 10 ml de agua destilada. La solución resultante tiene estabilidad durante 4 semanas a una temperatura ambiente de 2-8° C.

(iv) **Reactivo Precipitante**. Contiene 105 ml de tampón, polietilenglicol, segundo anticuerpo y conservantes.

(v) **Suero Control**. El vial contiene HGH, suero humano y conservantes. Reconstituir el vial con 1 ml de agua destilada.

El material necesario y disponible en el Kit es el siguiente: agua destilada, micropipetas, tubos de polietileno, micropipetas de distintas calibraciones, tubos de test, mezclador Vortex, bloque de termostato controlado, centrífuga multiuso, bomba de extracción y contador gamma.

El ensayo puede ser realizado en suero o plasma. Las muestras bemozadas no deben ser usadas. Si el ensayo es realizado en las 24 horas siguientes, las muestras deben ser

conservadas a una temperatura entre 2° C y 8° C; de otra parte se podrá tomar una alícuota y almacenarla en el congelador, evitándose ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Si los niveles de GH son mayores a 50 ng/ml, las muestras pueden ser diluidas con el estándar cero.

Es conveniente realizar cada ensayo con al menos un duplicado. Se deben mezclar los tubos en el mezclador tipo Vortex, al menos durante tres horas a una temperatura de 37° C (procedimiento A) o bien durante 18 a 24 horas a temperatura ambiente (procedimiento B). Extender muy bien el reactivo precipitante mezclándolo a temperatura ambiente. Dispensar 1 ml de reactivo precipitante en todos los tubos. Mezclar los contenidos de los tubos en el mezclador tipo Vortex a temperatura ambiente durante un periodo de 15 minutos. Centrifugar todos los tubos a 1500-2000 G. Descartar el sobrenadante mediante decantación o aspiración. Una vez decantados extraer el contenido de los tubos mediante una micropipeta o bien mediante aspiración directa. Medir la radioactividad del precipitado.

3.3.2 Radioinmunoensayo para melatonina.

El desarrollo de esta técnica requiere:

a) Melatonina-H₃.

Acetil-5-metoxitriptamina, N-(2-aminoetil-2-H₃), proporcionada por New England Nuclear (NEW), con una actividad específica de 30 Ci/mmol. La hormona se presenta en solución etanol-agua (96:4). Esta solución se diluye para su uso de forma que se obtenga una radioactividad de alrededor de 1800 c.p.m por 100 µ.

(i) Melatonina estándar: se presenta liofilizada en un vial que contiene 2 ng del estándar. Para su uso se reconstituye el vial con 2 ml de agua destilada lo que proporciona una solución madre de 1000 pg/ml. A partir de aquí se realizan sucesivas diluciones para la curva estándar.

(ii) Anticuerpo anti-melatonina: obtenido de conejo, se proporciona solución lista para su uso, 150 ml; cantidad suficiente para 150 tubos de radioinmunoensayo. Esta solución se conserva congelada a -20°C durante varios meses.

(iii) Suero de referencia: se presenta liofilizado con una concentración de 348 pg de melatonina por vial. Para su uso se reconstituye con 3 ml de agua destilada, lo que proporciona una concentración de 116 pg/ml.

b) Gelatina.

c) Fibra de vidrio con un diámetro de 0.001-0.002 mm.

d) Tampón fosfato 0,05 M, pH 7: se prepara primeramente una solución madre con la siguiente fórmula:

- $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na x H}_2\text{O}$ 69 g.
- Agua destilada 900 ml

Se ajusta seguidamente el pH a 7 con NaOH 2M, y se lleva la solución a 1000 ml de agua destilada. Esto proporciona una solución 0,5 M de tampón fosfato. De aquí se toman 100 ml y se diluyen con 1000 ml de agua destilada, que es la solución lista para su uso.

e) Cloruro de metileno: grado analítico de Merck.

f) Tampón fosfosalino 0,5M pH 7,5 con 0,1% de gelatina. Se prepara de la siguiente forma:

- $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na x H}_2\text{O}$ 3,45 g
- Cl Na 4,50 g
- Azida sódica (N_3Na) 0,50 g
- Gelatina 0,50 g
- Agua destilada 400 ml

A continuación se ajusta el PH a 7,5 con NaOH 2M, y la solución ajustada se diluye hasta 500 ml con agua destilada.

g) Solución de sulfato amónico saturada. Su preparación es la siguiente: se saturan a 130 ml de agua destilada con sulfato amónico ($\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$) de Merck. Se almacena a temperatura ambiente. Se neutraliza con 0,5 ml de Na OH 2M. Se comprueba que el pH sea de 7.

h) Hidróxido sódico 0,1 M. para ello, se disuelven a 0,4 g de Na OH (Merck) en 100 ml de agua destilada.

i) Líquido de centelleo. Se utiliza para esta radioinmunoensayo el Bioflúor, obtenido de New England Nuclear (cat, n° NEF-961).

Melatonina. El radioinmunoensayo de melatonina, fue obtenido de la casa Eurodiagnostic, y se caracteriza por presentar un anticuerpo muy específico para la

melatonina sin apenas reacción cruzada con sus metabolitos principales (6-OH-melatonina y 6-sulfatoxi-melatonina). El cual debe seguir las siguientes etapas:

1. Extracción de muestras.
2. Procedimiento del radioinmunoensayo.
3. Curva estándar y cálculo de los resultados.
4. Extracción de las muestras.

Las muestras necesitan una previa extracción con cloruro de metileno a pH 7. El procedimiento es el siguiente:

1. Transferir a 1ml de muestra, 2 ml de tampón fosfato 0,05 M pH 7,5 de cloruro de metileno (diclorometano, Merck) a los tubos de extracción correspondientes.
2. Agitar en un agitador magnético durante 15 minutos a un ritmo mínimo de 70 agitaciones por minuto.
3. Centrifugar durante 10 minutos a 3000 r.p.m.
4. Aspirar la fase acuosa.
5. Añadir 1 ml de Na OH 0,1 M y agitar otros 15 minutos en las mismas condiciones antes de separar las capas de nuevo por centrifugación.
6. Aspirar la fase acuosa.
7. Filtrar la fase de cloruro de metileno a través de una pequeña malla de fibra de vidrio en una pipeta Pasteur.
8. Lavar el tubo de centrífuga con 0,5 ml de cloruro de metileno y volver a filtrar.
9. Secar el cloruro de metileno filtrando en un baño a 37°C bajo una corriente de aire.
10. Disolver el residuo seco en 0,5 ml de tampón fosfosalino, 0,05 M, pH 7,5 con 0,1% de gelatina.

Procedimiento del radioinmunoensayo. Se prepara una tanda de tubos por duplicado, como sigue:

-Actividad total. Se añaden a los tubos correspondientes 100 µl de hormona marcada, 0,2 ml de Na OH 0,1 M y 0,2 ml de agua destilada. Esta solución se pasa directamente a los viales de contaje.

- Blanco. Llevará 300 µl de tampón fosfosalino 0,05M, pH 7,5 con 0,1% de gelatina y 100 µl de hormona marcada.

- Estándar Cero (B). Está constituido por 200 µl de tampón, 10 µl de hormona marcada.

- Curva estándar. Se agregan 100 µl de tampón fosfosalino con gelatina, 100 µl de hormona marcada, y 100 µl de cada estándar.

- Problemas. Normalmente, además de los 100 µl de tampón fosfosalino con gelatina y 100 µl de hormona marcada, se agregan 100 µl del estrato. Sin embargo, a bajas concentraciones, se puede agregar 200 µl del estrato, excluyendo entonces los 100 µl del tampón. Incluso si el contenido de melatonina, es muy bajo, la mezcla de incubación puede aumentarse a 600 µl, agregando 400 µl del extracto y eliminando el tampón. En este caso el volumen del blanco y de la curva estándar se aumenta a 200 µl por adición del tampón. En estas circunstancias se altera la concentración molar de la mezcla de reacción, aunque esto no afecta a los resultados.

- Añadir a cada tubo (excepto a la actividad total y al blanco) 100 µl de anticuerpo antimelatonina.

- Incubar los tubos durante una hora en un baño a 37°C.

- Enfriar los tubos en baño de hielo unos minutos y añadir a cada uno 0,4 ml de solución de sulfato amónico saturada. A continuación se incuban los tubos una hora en baño de hielo.

- Centrifugar en una centrífuga refrigerada (2-4°) durante 10 minutos a 3.000 r.p.m.; a continuación se eleva la velocidad a 5.000 r.p.m. durante otros 20 minutos.

- Disolver el precipitado disuelto a los viales de contaje respectivos, y añadir 10 ml de líquido de centelleo (Bioflúor, NEW). Agitar los viales y medir la radioactividad.

Curva estándar y cálculo de resultados. Para el cálculo manual se utilizan las DPH (desintegraciones por minuto), las cuales se pueden obtener directamente del contador.

a) Curva estándar. Para su trazado se calcula primeramente la siguiente expresión para todos los tubos estándar:

Fórmula

St Correspondiente a los estándares que corresponden al tanto por ciento de unión de los estándares con el anticuerpo. Estos resultados se presentan en papel semilogarítmico en la escala lineal, frente a los valores respectivos de los estándares de la escala logarítmica (Fig. Curva estándar de Melatonina)

b) Cálculo de resultados. Para ello, se calcula previamente la siguiente expresión para todos los tubos problema:

Fórmula

P: correspondiente a los problemas que corresponden al tanto por ciento de unión de la melatonina en las distintas muestras. Estos valores se interpolan en la curva estándar en su tramo recto.

El contenido de melatonina en la muestra en pg/ml se obtiene de la siguiente forma:

- Se divide la concentración en el extracto por 2, en el caso de utilizar 100 µl de muestra.
- Se divide la concentración en el extracto por 4, en el caso de utilizar 200 µl de muestra.
- Se divide la concentración en el extracto por 8, en el caso de utilizar 400 µl de muestra.

3.4 Método estadístico.

3.4.1 Medidas de centralización.

Se llaman medidas de centralización a aquellos valores que tienden a situarse en el centro del conjunto de datos ordenados respecto a su magnitud.

En nuestro estudio hemos considerado la media aritmética como a continuación detallamos:

Media aritmética: La media aritmética \bar{x} , de un conjunto de n números: X_1, X_2, \dots, X_n , que se presentan con frecuencias absolutas f_1, f_2, \dots, f_n .

3.4.2 Medidas de dispersión.

En ocasiones el conocimiento de los valores centrales no es suficiente, y es preciso conocer en que medida los datos numéricos están agrupados o no, alrededor de la media. Este hecho se conoce como dispersión. En nuestro estudio hemos utilizado las siguientes medidas de dispersión:

1. Desviación típica. Se conoce también como desviación estándar o desviación cuadrática de la; media. Se define la desviación típica como la raíz cuadrada de la media aritmética de los cuadrados de las desviaciones respecto a la media.

2. Varianza. Se define como el cuadrado de la desviación típica.
3. Coeficiente de variación. Es el cociente entre la desviación típica y la media aritmética. El coeficiente de variación tiene escasa utilidad cuando la media se aproxima a cero, ya que entonces toma valores infinitamente grandes.

3.4.3 Medidas de forma.

Además de las medidas de centralización y de dispersión conviene al estudiar una distribución conocer su forma mediante un índice lo mas simplificado posible.

1. Momentos respecto al origen, respecto a la media y relación entre ellos.
2. Sesgo, asimetría y curtosis. Se denomina sesgo a la mayor o menor asimetría o simetría de una distribución. Al hablar de curtosis nos referimos al grado de "apuntamiento" de una distribución. Generalmente, se compara el mayor o menor apuntamiento de una distribución con la curtosis de la distribución normal. De esta forma el coeficiente de curtosis es nulo para una distribución normal. Si es negativo se trata de una distribución menos apuntada que la normal y recibe el nombre de planicúrtica. Si es positivo se trata de una distribución más apuntada que la normal y recibe el nombre de leptocúrtica. A las distribuciones con coeficientes de curtosis nulo se les denomina mesocúrticas.

3.4.4 Test de comparación de dos medias.

Aceptada la hipótesis de normalidad, empleamos test paramétricos para la comparación de dos medias a partir de dos tipos de muestreo diferentes:

Muestras independientes. Dadas dos muestras de tamaño n_1 y n_2 , con x_1 y x_2 de medias muestrales; al tratarse de muestras independientes la variable $x_1 - x_2$ tendría por media la diferencia de las medias y por varianza la suma de varianzas.

Comparada con una t en la distribución t de Student. Si la t_{exp} es menor o igual que t_a se acepta la hipótesis nula (las medias son iguales); si t_{exp} es mayor que t_a se acepta la hipótesis alternativa (las medias son distintas), con un error α .

Muestras apareadas. Cuando las variables son dependientes como ocurre en el caso de muestras apareadas, consideraremos la variable $d = x_1 - x_2$ (diferencias entre cada par de valores apareados de las dos muestras). Con ello, la hipótesis $H_a = J_1 = J_2$ sólo se cumplirá si $J_d = 0$. En consecuencia la comparación de dos medias se convierte en un test de hipótesis

para una media. Comparada con la u en la distribución *t de Student con $n-l$ grados de libertad*. La regla de decisión es igual que en el apartado anterior.

3.4.5 Análisis de la Varianza de una vía (Anova 1).

Dadas r muestras aleatorias e independientes, de tamaños cualesquiera, obtenidos de r poblaciones normales, de media $f_{-l_1}, f_{-l_2}, \dots, f_{-l_r}$ varianzas iguales, donde n_i, n_x y s , son los tamaños, medias y varianzas muestrales respectivamente.

Tras análisis de los datos y comparación de la homogeneidad de las varianzas mediante las varianzas muestrales. En el caso de que las varianzas sean heterogéneas, se consigue su homogeneidad realizando una transformación logarítmica de los datos. Notemos por *S.C.* la suma de cuadrados, *M.C.* medias cuadradas, refiriéndose a las estimadas de la varianza obtenidas por división de cada *S.C.*, por sus correspondientes grados de libertad. Donde *S.C.* es *Suma de Cuadrados Entre = i. - R. Suma de ni Cuadrados Dentro = SCT-SCE. Y Suma de Cuadrados Total = x^2-R* . La conclusión del test será, si

$$F_{exp} < F_a$$

$(r-l, N-r)$, se acepta *H_a*. Si

$$F_{exp} > F_a$$

$(r-1; N-r)$, se rechaza *H_a*.

3.4.6 Recta de regresión y coeficiente de correlación.

Partiendo de n pares de valores cuantitativos $(x_1, y_1), (x_2, y_2), (x_n, y_n)$ pertenecientes a una muestra de n individuos, en los cuales (x_i) corresponden a una variable e (y_i) a otra, se puede obtener una nube de puntos sencillamente representando en un sistema de ordenadas, los valores correspondientes a cada uno de los pasos citados. Para medir el grado de relación entre las variables se utiliza el *coeficiente de correlación de Pearson*.

3.4.7 Regresión múltiple.

Mediante ella se busca la posible relación existente no entre dos variables sino entre tres o más. Se investiga el poder estimar una variable biológica, no en función de los valores que pueda tomar otra, sino en función de los valores que pueden tomar otras dos o más de dos. La ecuación de regresión tiene entonces la forma:

$$(z) = a(x) + b(y) + e$$

en el primer caso bien generalizando

$$(N) = a(A) + b(B) + \dots m(M) + n.$$

Los coeficientes de las sucesivas variables ($a, b, \dots n$) juntamente con el término independiente n , una vez calculada, proporcionan la ecuación de regresión que ya no será una recta sino un plano o un hiperplano.

El cálculo convencional requiere naturalmente la utilización de álgebra y espacios afines mediante rectas y matrices en el que no vamos a entrar por que los programas automáticos de ordenador los resuelven de una forma rápida y con gran sencillez.

3.4.8 Contraste de la diferencia entre coeficientes de correlación (transformación Z de Fisher).

Se pretende contrastar la hipótesis nula que consiste en afirmar que no existe diferencia alguna entre dos coeficientes de correlación T_1, T_2, T_3 , y T_4 de las poblaciones (NA) y (NB):

$$H_0 = T_{1,2} = T_{3,4}$$

El primer paso consiste en transformar cada coeficiente en el estadístico z de Fisher, para lo cual se procede según la expresión:

$$z = -\frac{1}{2} \ln \left(\frac{1+T}{1-T} \right)^2$$

Posteriormente se calculará el error típico de la diferencia de z , procediéndose finalmente a realizar el contraste de significación entre los dos valores de z , el cual se obtendrá tras calcular:

Si existe una diferencia significativa entre los dos estadísticos z_1 y z_2 , se puede deducir que también la hay entre los dos coeficientes de correlación de las poblaciones .

4.- Resultados

4. 1 Estadística Descriptiva.

La realización de cualquier proyecto de investigación, por sencillo que sea, como es el caso, requiere una presentación adecuada de los resultados que se obtienen al aplicar la metodología experimental. Los datos así obtenidos deben ser presentados de manera que el lector pueda saber exactamente cuál es el desarrollo del trabajo experimental y si éste está de acuerdo a los objetivos que se expresan para confirmar la hipótesis planteada. El fin del capítulo de resultados trata justamente de lo expresado anteriormente. La presentación de los datos obtenidos debe realizarse de forma científica y contrastada, de esto se ocupa la realización del estudio estadístico de cualquier trabajo científico. La aplicación del estudio matemático a través de la estadística y en nuestro caso de la estadística aplicada al campo de las ciencias de la salud es fundamental y en la actualidad no queda lugar a dudas de su necesidad para poder confirmar o rechazar cualquier hipótesis de trabajo en nuestra área de conocimiento.

La primera función de la aplicación estadística, consiste en definir adecuadamente la muestra utilizada sobre la cual se aplicarán posteriores estudios matemáticos que nos permitirán comprobar o rechazar la hipótesis planteada. La definición de una muestra poblacional comprende el estudio de la frecuencia y presentación de los datos y las medidas de tendencia central y dispersión de la muestra (Tablas I a XXV).

Tabla I. Tabla de Frecuencias. Diagnósticos

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos | BTF | 11 | 28,2 | 30,6 | 30,6 |
| | RCCyD | 6 | 15,4 | 16,7 | 47,2 |
| | DGH | 19 | 48,7 | 52,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla II. Frecuencias. Edad Cronológica (años).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 6,1 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | 7,2 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | 7,3 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | 7,4 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | 7,5 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | 7,7 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | 8,2 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 9,0 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 9,1 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 9,2 | 2 | 5,1 | 5,6 | 30,6 |
| | 9,5 | 2 | 5,1 | 5,6 | 36,1 |
| | 9,6 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | 9,7 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 10,0 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 10,2 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 11,1 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 11,2 | 3 | 7,7 | 8,3 | 58,3 |
| | 11,3 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 11,5 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 11,7 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 11,9 | 2 | 5,1 | 5,6 | 72,2 |
| | 12,0 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | 12,3 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | 12,4 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 12,8 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 13,0 | 3 | 7,7 | 8,3 | 91,7 |
| | 13,5 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 13,9 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 14,1 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla III. Frecuencias. Edad Ósea (años).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 4,0 | 2 | 5,1 | 5,9 | 5,9 |
| | 4,5 | 2 | 5,1 | 5,9 | 11,8 |
| | 6,0 | 3 | 7,7 | 8,8 | 20,6 |
| | 6,1 | 1 | 2,6 | 2,9 | 23,5 |
| | 6,5 | 1 | 2,6 | 2,9 | 26,5 |
| | 6,6 | 1 | 2,6 | 2,9 | 29,4 |
| | 6,8 | 1 | 2,6 | 2,9 | 32,4 |
| | 7,4 | 1 | 2,6 | 2,9 | 35,3 |
| | 7,5 | 1 | 2,6 | 2,9 | 38,2 |
| | 7,8 | 1 | 2,6 | 2,9 | 41,2 |
| | 8,0 | 1 | 2,6 | 2,9 | 44,1 |
| | 8,9 | 1 | 2,6 | 2,9 | 47,1 |
| | 9,0 | 3 | 7,7 | 8,8 | 55,9 |
| | 9,6 | 1 | 2,6 | 2,9 | 58,8 |
| | 10,0 | 6 | 15,4 | 17,6 | 76,5 |
| | 10,5 | 2 | 5,1 | 5,9 | 82,4 |
| | 11,0 | 3 | 7,7 | 8,8 | 91,2 |
| | 12,0 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,1 |
| | 12,3 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 13,0 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 34 | 87,2 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 5 | 12,8 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla IV . Frecuencias. Talla Padre (cm).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válidos | 157,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 2,9 |
| | 157,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 5,7 |
| | 159,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 8,6 |
| | 160,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 11,4 |
| | 161,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 17,1 |
| | 162,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 22,9 |
| | 163,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 25,7 |
| | 164,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 28,6 |
| | 165,00 | 5 | 12,8 | 14,3 | 42,9 |
| | 165,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 45,7 |
| | 167,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 48,6 |
| | 168,00 | 3 | 7,7 | 8,6 | 57,1 |
| | 169,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 62,9 |
| | 170,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 68,6 |
| | 172,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 74,3 |
| | 173,00 | 5 | 12,8 | 14,3 | 88,6 |
| | 174,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 94,3 |
| | 175,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 180,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 35 | 89,7 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 4 | 10,3 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla V. Frecuencias. Talla Madre (cm).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 136,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 2,9 |
| | 149,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 5,7 |
| | 150,00 | 5 | 12,8 | 14,3 | 20,0 |
| | 153,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 25,7 |
| | 153,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 28,6 |
| | 154,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 31,4 |
| | 154,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 34,3 |
| | 155,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 37,1 |
| | 156,00 | 3 | 7,7 | 8,6 | 45,7 |
| | 156,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 48,6 |
| | 156,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 51,4 |
| | 157,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 54,3 |
| | 157,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 57,1 |
| | 158,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 60,0 |
| | 158,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 62,9 |
| | 159,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 68,6 |
| | 160,00 | 5 | 12,8 | 14,3 | 82,9 |
| | 160,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,7 |
| | 161,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 88,6 |
| | 162,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 91,4 |
| | 164,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,3 |
| | 165,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 168,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 35 | 89,7 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 4 | 10,3 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla VI. Frecuencias.Talla Diana (cm).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 147,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 2,9 |
| | 150,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 5,7 |
| | 151,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 8,6 |
| | 152,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 11,4 |
| | 154,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 14,3 |
| | 154,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 17,1 |
| | 156,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 20,0 |
| | 156,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 22,9 |
| | 157,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 25,7 |
| | 157,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 28,6 |
| | 158,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 34,3 |
| | 158,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 37,1 |
| | 159,15 | 1 | 2,6 | 2,9 | 40,0 |
| | 159,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 42,9 |
| | 160,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 45,7 |
| | 161,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 48,6 |
| | 161,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 51,4 |
| | 164,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 54,3 |
| | 165,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 57,1 |
| | 165,50 | 2 | 5,1 | 5,7 | 62,9 |
| | 166,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 65,7 |
| | 166,50 | 2 | 5,1 | 5,7 | 71,4 |
| | 167,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 77,1 |
| | 168,00 | 2 | 5,1 | 5,7 | 82,9 |
| | 170,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,7 |
| | 170,50 | 2 | 5,1 | 5,7 | 91,4 |
| 171,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,3 | |
| 175,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 | |
| 176,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 | |
| | Total | 35 | 89,7 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 4 | 10,3 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla VII. Frecuencias. Peso (g).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 17,200 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | 17,650 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | 18,100 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | 18,350 | 2 | 5,1 | 5,6 | 13,9 |
| | 19,650 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | 19,750 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 20,050 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 20,750 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 21,050 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 21,300 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 21,750 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 21,800 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | 23,850 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | 23,950 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 25,550 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 26,550 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 26,700 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 27,000 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 27,900 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 28,550 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | 28,700 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 29,350 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 30,050 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 30,300 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 32,950 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 33,850 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | 34,250 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | 35,000 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 35,700 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 37,500 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | 38,250 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | 39,800 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 41,300 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 48,150 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 54,600 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla VIII. Frecuencias.Peso (sds).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | -2,12 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | -2,01 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | -1,98 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | -1,94 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | -1,82 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | -1,73 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | -1,58 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | -1,52 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | -1,48 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | -1,46 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | -1,44 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | -1,41 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | -1,39 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | -1,38 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | -1,36 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | -1,30 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | -1,27 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | -1,22 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | -1,21 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | -1,17 | 2 | 5,1 | 5,6 | 58,3 |
| | -1,01 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | -,99 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | -,97 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | -,92 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | -,88 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | -,81 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | -,68 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | -,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | -,43 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | -,36 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | -,16 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | -,15 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | ,26 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 2,19 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 3,53 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla IX. Frecuencias Talla (cm).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 104,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | 110,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | 110,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | 111,20 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | 111,60 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | 114,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | 115,30 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 115,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 117,90 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 118,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 119,20 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 119,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 120,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | 122,30 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | 122,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 127,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 128,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 130,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 130,90 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 131,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 131,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | 131,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 132,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 133,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 134,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 134,30 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 135,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | 136,40 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | 137,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 139,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 139,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | 140,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | 140,40 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 142,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 143,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 146,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla X. Frecuencias. Talla (sds).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | -3,20 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | -2,90 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | -2,50 | 4 | 10,3 | 11,1 | 16,7 |
| | -2,40 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | -2,33 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | -2,30 | 3 | 7,7 | 8,3 | 30,6 |
| | -2,20 | 3 | 7,7 | 8,3 | 38,9 |
| | -2,10 | 6 | 15,4 | 16,7 | 55,6 |
| | -2,03 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | -2,00 | 2 | 5,1 | 5,6 | 63,9 |
| | -1,99 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | -1,97 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | -1,90 | 4 | 10,3 | 11,1 | 80,6 |
| | -1,86 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | -1,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | -1,75 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | -1,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | -1,68 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | -1,48 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 1,06 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XI: Frecuencias. Velocidad de Crecimiento (cm/año).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 1,2 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | 2,6 | 2 | 5,1 | 5,6 | 8,3 |
| | 2,9 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | 3,2 | 2 | 5,1 | 5,6 | 16,7 |
| | 3,4 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 3,5 | 4 | 10,3 | 11,1 | 30,6 |
| | 3,6 | 2 | 5,1 | 5,6 | 36,1 |
| | 3,7 | 3 | 7,7 | 8,3 | 44,4 |
| | 3,8 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 3,9 | 2 | 5,1 | 5,6 | 52,8 |
| | 4,0 | 2 | 5,1 | 5,6 | 58,3 |
| | 4,1 | 4 | 10,3 | 11,1 | 69,4 |
| | 4,3 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 4,4 | 3 | 7,7 | 8,3 | 80,6 |
| | 4,6 | 3 | 7,7 | 8,3 | 88,9 |
| | 4,8 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 5,0 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 5,2 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 6,5 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XII. Frecuencias.Velocidad de Crecimiento (sds).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | -4,32 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | -3,55 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | -3,38 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | -3,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | -2,93 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | -2,90 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | -2,87 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | -2,79 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | -2,60 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | -2,59 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | -2,58 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | -2,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | -2,35 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | -2,32 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | -2,20 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | -2,11 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | -2,07 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | -2,06 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | -2,05 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | -1,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | -1,73 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | -1,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | -1,65 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | -1,60 | 2 | 5,1 | 5,6 | 69,4 |
| | -1,56 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | -1,52 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | -1,38 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | -1,25 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | -1,24 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | -1,14 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | -,77 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | -,13 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | -,02 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | ,37 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 1,77 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XIII. Frecuencias. Hormona de Crecimiento Basal (GH b) (ug/ml).

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,10 | 6 | 15,4 | 17,6 | 17,6 |
| | ,20 | 9 | 23,1 | 26,5 | 44,1 |
| | ,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 47,1 |
| | ,40 | 3 | 7,7 | 8,8 | 55,9 |
| | ,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 58,8 |
| | ,60 | 2 | 5,1 | 5,9 | 64,7 |
| | ,70 | 3 | 7,7 | 8,8 | 73,5 |
| | ,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 76,5 |
| | 1,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 79,4 |
| | 1,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 82,4 |
| | 1,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,3 |
| | 2,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 88,2 |
| | 2,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 91,2 |
| | 2,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,1 |
| | 5,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 6,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 34 | 87,2 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 5 | 12,8 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XIV. Frecuencias. Hormona de Crecimiento 30 minutos (GH 30) (ug/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,01 | 1 | 2,6 | 2,9 | 2,9 |
| | ,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 5,7 |
| | ,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 8,6 |
| | ,40 | 3 | 7,7 | 8,6 | 17,1 |
| | ,70 | 2 | 5,1 | 5,7 | 22,9 |
| | 1,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 25,7 |
| | 1,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 28,6 |
| | 1,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 31,4 |
| | 1,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 34,3 |
| | 2,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 37,1 |
| | 2,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 40,0 |
| | 2,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 42,9 |
| | 3,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 45,7 |
| | 3,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 48,6 |
| | 3,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 51,4 |
| | 5,20 | 2 | 5,1 | 5,7 | 57,1 |
| | 5,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 60,0 |
| | 6,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 62,9 |
| | 6,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 65,7 |
| | 7,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 68,6 |
| | 7,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 71,4 |
| | 8,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 74,3 |
| | 9,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 77,1 |
| | 9,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 80,0 |
| | 10,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 82,9 |
| | 11,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,7 |
| | 12,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 88,6 |
| | 14,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 91,4 |
| | 16,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,3 |
| | 17,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 23,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 35 | 89,7 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 4 | 10,3 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XV. Frecuencias. Hormona de Crecimiento 60 minutos (GH 60) (ug/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado | |
|---------|----------|------------|------------|----------------------|-------------------------|--|
| Válidos | ,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 2,9 | |
| | ,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 5,7 | |
| | 1,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 8,6 | |
| | 1,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 11,4 | |
| | 1,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 14,3 | |
| | 2,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 17,1 | |
| | 2,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 20,0 | |
| | 2,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 22,9 | |
| | 3,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 25,7 | |
| | 3,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 28,6 | |
| | 3,30 | 2 | 5,1 | 5,7 | 34,3 | |
| | 3,60 | 2 | 5,1 | 5,7 | 40,0 | |
| | 4,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 42,9 | |
| | 4,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 45,7 | |
| | 4,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 48,6 | |
| | 5,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 51,4 | |
| | 5,10 | 4 | 10,3 | 11,4 | 62,9 | |
| | 5,50 | 2 | 5,1 | 5,7 | 68,6 | |
| | 6,50 | 2 | 5,1 | 5,7 | 74,3 | |
| | 7,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 77,1 | |
| | 7,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 80,0 | |
| | 8,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 82,9 | |
| | 8,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,7 | |
| | 8,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 88,6 | |
| | 10,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 91,4 | |
| | 10,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,3 | |
| | 13,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 | |
| | 17,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 | |
| | | Total | 35 | 89,7 | 100,0 | |
| | Perdidos | Sistema | 4 | 10,3 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | | |

Tabla XVI. Frecuencias. Hormona de Crecimiento 90 minutos (GH 90), (ug/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,30 | 3 | 7,7 | 8,6 | 8,6 |
| | 1,00 | 3 | 7,7 | 8,6 | 17,1 |
| | 1,10 | 4 | 10,3 | 11,4 | 28,6 |
| | 1,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 31,4 |
| | 1,40 | 2 | 5,1 | 5,7 | 37,1 |
| | 1,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 40,0 |
| | 2,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 42,9 |
| | 3,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 45,7 |
| | 3,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 48,6 |
| | 3,50 | 2 | 5,1 | 5,7 | 54,3 |
| | 3,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 57,1 |
| | 3,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 60,0 |
| | 4,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 62,9 |
| | 5,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 65,7 |
| | 5,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 68,6 |
| | 5,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 71,4 |
| | 5,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 74,3 |
| | 6,10 | 2 | 5,1 | 5,7 | 80,0 |
| | 7,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 82,9 |
| | 7,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,7 |
| | 7,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 88,6 |
| | 8,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 91,4 |
| | 10,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,3 |
| | 13,10 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 14,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 35 | 89,7 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 4 | 10,3 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XVII. Frecuencias. Hormona de Crecimiento 120 minutos (GH 120), (ug/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,03 | 1 | 2,6 | 3,0 | 3,0 |
| | ,10 | 2 | 5,1 | 6,1 | 9,1 |
| | ,20 | 2 | 5,1 | 6,1 | 15,2 |
| | ,30 | 3 | 7,7 | 9,1 | 24,2 |
| | ,50 | 2 | 5,1 | 6,1 | 30,3 |
| | ,60 | 3 | 7,7 | 9,1 | 39,4 |
| | ,70 | 1 | 2,6 | 3,0 | 42,4 |
| | 1,00 | 2 | 5,1 | 6,1 | 48,5 |
| | 1,10 | 2 | 5,1 | 6,1 | 54,5 |
| | 1,20 | 1 | 2,6 | 3,0 | 57,6 |
| | 1,30 | 1 | 2,6 | 3,0 | 60,6 |
| | 1,70 | 1 | 2,6 | 3,0 | 63,6 |
| | 1,90 | 1 | 2,6 | 3,0 | 66,7 |
| | 2,40 | 1 | 2,6 | 3,0 | 69,7 |
| | 2,60 | 1 | 2,6 | 3,0 | 72,7 |
| | 3,10 | 1 | 2,6 | 3,0 | 75,8 |
| | 3,20 | 1 | 2,6 | 3,0 | 78,8 |
| | 4,40 | 1 | 2,6 | 3,0 | 81,8 |
| | 5,50 | 1 | 2,6 | 3,0 | 84,8 |
| | 5,90 | 1 | 2,6 | 3,0 | 87,9 |
| | 6,20 | 1 | 2,6 | 3,0 | 90,9 |
| | 6,50 | 1 | 2,6 | 3,0 | 93,9 |
| | 7,70 | 1 | 2,6 | 3,0 | 97,0 |
| | 7,90 | 1 | 2,6 | 3,0 | 100,0 |
| | Total | 33 | 84,6 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 6 | 15,4 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XIX. Frecuencias. Melatonina Basal (aMT b), (pg/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,71 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | 1,25 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | 1,69 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | 1,78 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | 2,09 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | 2,18 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | 2,25 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 2,56 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 2,63 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 2,78 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 3,35 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 3,49 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 3,81 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | 3,91 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | 4,05 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 4,12 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 4,14 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 4,35 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 4,62 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 4,64 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 4,66 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | 4,81 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 5,02 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 5,38 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 5,39 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 6,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 6,58 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | 6,60 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | 6,76 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 7,40 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 7,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | 11,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | 14,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 30,49 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 49,45 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 128,60 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XX. Frecuencias. Melatonina 30 minutos (aMT 30), (pg/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,16 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | ,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | 1,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | 1,06 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | 1,13 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | 1,16 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | 1,20 | 2 | 5,1 | 5,6 | 22,2 |
| | 1,30 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 1,37 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 1,44 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 1,62 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 1,63 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | 1,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | 1,78 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 1,90 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 1,92 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 1,94 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 2,02 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 2,03 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 2,19 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | 2,36 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 2,57 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 3,04 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 3,11 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 3,15 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 3,50 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | 3,86 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | 4,02 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 4,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 4,12 | 2 | 5,1 | 5,6 | 88,9 |
| | 4,17 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 4,86 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 8,87 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 23,08 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XXI. Frecuencias. Melatonina 60 minutos (aMT 60), (pg/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,19 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | ,55 | 1 | 2,6 | 2,8 | 5,6 |
| | ,76 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | ,90 | 2 | 5,1 | 5,6 | 13,9 |
| | ,95 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | ,97 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 1,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 1,11 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 1,40 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 1,42 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 1,48 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 1,64 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | 1,80 | 2 | 5,1 | 5,6 | 41,7 |
| | 1,84 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 1,90 | 2 | 5,1 | 5,6 | 50,0 |
| | 1,96 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 2,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 2,06 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | 2,09 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 2,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 2,23 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 2,27 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 2,30 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 2,42 | 2 | 5,1 | 5,6 | 77,8 |
| | 2,59 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 2,60 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 2,81 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | 2,89 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | 2,95 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 2,99 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 4,81 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 5,55 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XXII. Frecuencias. Melatonina 90 minutos (aMT 90), (pg/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,35 | 1 | 2,6 | 2,8 | 2,8 |
| | ,72 | 2 | 5,1 | 5,6 | 8,3 |
| | ,82 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | ,84 | 2 | 5,1 | 5,6 | 16,7 |
| | ,96 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 1,15 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 1,18 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 1,26 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 1,65 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 1,68 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 1,70 | 1 | 2,6 | 2,8 | 36,1 |
| | 1,71 | 1 | 2,6 | 2,8 | 38,9 |
| | 1,80 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 1,85 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 1,88 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 1,95 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 1,96 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 2,06 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 2,08 | 1 | 2,6 | 2,8 | 58,3 |
| | 2,10 | 1 | 2,6 | 2,8 | 61,1 |
| | 2,20 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 2,23 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 2,28 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 2,37 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 2,55 | 2 | 5,1 | 5,6 | 77,8 |
| | 3,21 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 3,36 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 3,38 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | 3,39 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | 3,45 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 4,23 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 11,57 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 12,83 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XXIII. Frecuencias. Melatonina 120 minutos (aMT 120), (pg/ml)

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | ,79 | 2 | 5,1 | 5,6 | 5,6 |
| | ,90 | 1 | 2,6 | 2,8 | 8,3 |
| | 1,05 | 1 | 2,6 | 2,8 | 11,1 |
| | 1,06 | 1 | 2,6 | 2,8 | 13,9 |
| | 1,11 | 1 | 2,6 | 2,8 | 16,7 |
| | 1,14 | 1 | 2,6 | 2,8 | 19,4 |
| | 1,15 | 1 | 2,6 | 2,8 | 22,2 |
| | 1,17 | 1 | 2,6 | 2,8 | 25,0 |
| | 1,37 | 1 | 2,6 | 2,8 | 27,8 |
| | 1,45 | 1 | 2,6 | 2,8 | 30,6 |
| | 1,53 | 1 | 2,6 | 2,8 | 33,3 |
| | 1,55 | 2 | 5,1 | 5,6 | 38,9 |
| | 1,63 | 1 | 2,6 | 2,8 | 41,7 |
| | 1,68 | 1 | 2,6 | 2,8 | 44,4 |
| | 1,77 | 1 | 2,6 | 2,8 | 47,2 |
| | 1,82 | 1 | 2,6 | 2,8 | 50,0 |
| | 1,91 | 1 | 2,6 | 2,8 | 52,8 |
| | 2,11 | 1 | 2,6 | 2,8 | 55,6 |
| | 2,12 | 2 | 5,1 | 5,6 | 61,1 |
| | 2,46 | 1 | 2,6 | 2,8 | 63,9 |
| | 2,52 | 1 | 2,6 | 2,8 | 66,7 |
| | 2,55 | 1 | 2,6 | 2,8 | 69,4 |
| | 3,02 | 1 | 2,6 | 2,8 | 72,2 |
| | 3,21 | 1 | 2,6 | 2,8 | 75,0 |
| | 3,33 | 1 | 2,6 | 2,8 | 77,8 |
| | 3,63 | 1 | 2,6 | 2,8 | 80,6 |
| | 4,40 | 1 | 2,6 | 2,8 | 83,3 |
| | 4,61 | 1 | 2,6 | 2,8 | 86,1 |
| | 5,37 | 1 | 2,6 | 2,8 | 88,9 |
| | 6,28 | 1 | 2,6 | 2,8 | 91,7 |
| | 13,92 | 1 | 2,6 | 2,8 | 94,4 |
| | 130,00 | 1 | 2,6 | 2,8 | 97,2 |
| | 313,20 | 1 | 2,6 | 2,8 | 100,0 |
| | Total | 36 | 92,3 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 3 | 7,7 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XXIV. Frecuencias. IGF-I

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 3,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 2,9 |
| | 3,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 5,9 |
| | 6,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 8,8 |
| | 26,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 11,8 |
| | 39,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 14,7 |
| | 41,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 17,6 |
| | 46,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 20,6 |
| | 52,90 | 1 | 2,6 | 2,9 | 23,5 |
| | 66,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 26,5 |
| | 80,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 29,4 |
| | 82,20 | 1 | 2,6 | 2,9 | 32,4 |
| | 90,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 35,3 |
| | 92,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 38,2 |
| | 96,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 41,2 |
| | 105,50 | 1 | 2,6 | 2,9 | 44,1 |
| | 120,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 47,1 |
| | 127,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 50,0 |
| | 139,30 | 1 | 2,6 | 2,9 | 52,9 |
| | 140,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 55,9 |
| | 141,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 58,8 |
| | 142,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 61,8 |
| | 150,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 64,7 |
| | 156,70 | 1 | 2,6 | 2,9 | 67,6 |
| | 163,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 70,6 |
| | 165,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 73,5 |
| | 175,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 76,5 |
| | 182,80 | 1 | 2,6 | 2,9 | 79,4 |
| | 183,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 82,4 |
| | 213,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 85,3 |
| | 220,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 88,2 |
| | 224,60 | 1 | 2,6 | 2,9 | 91,2 |
| | 227,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 94,1 |
| | 246,00 | 1 | 2,6 | 2,9 | 97,1 |
| | 284,40 | 1 | 2,6 | 2,9 | 100,0 |
| | Total | 34 | 87,2 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 5 | 12,8 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

Tabla XXV. Frecuencias. IGFBP3

| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|---------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válidos | 1,00 | 1 | 2,6 | 3,6 | 3,6 |
| | 1,20 | 1 | 2,6 | 3,6 | 7,1 |
| | 1,30 | 2 | 5,1 | 7,1 | 14,3 |
| | 1,40 | 2 | 5,1 | 7,1 | 21,4 |
| | 1,60 | 1 | 2,6 | 3,6 | 25,0 |
| | 1,80 | 1 | 2,6 | 3,6 | 28,6 |
| | 2,00 | 2 | 5,1 | 7,1 | 35,7 |
| | 2,10 | 1 | 2,6 | 3,6 | 39,3 |
| | 2,20 | 1 | 2,6 | 3,6 | 42,9 |
| | 2,30 | 3 | 7,7 | 10,7 | 53,6 |
| | 2,40 | 1 | 2,6 | 3,6 | 57,1 |
| | 2,50 | 2 | 5,1 | 7,1 | 64,3 |
| | 2,70 | 1 | 2,6 | 3,6 | 67,9 |
| | 2,80 | 3 | 7,7 | 10,7 | 78,6 |
| | 3,00 | 1 | 2,6 | 3,6 | 82,1 |
| | 3,10 | 1 | 2,6 | 3,6 | 85,7 |
| | 3,20 | 1 | 2,6 | 3,6 | 89,3 |
| | 3,50 | 1 | 2,6 | 3,6 | 92,9 |
| | 3,70 | 1 | 2,6 | 3,6 | 96,4 |
| | 5,80 | 1 | 2,6 | 3,6 | 100,0 |
| | Total | 28 | 71,8 | 100,0 | |
| Perdidos | Sistema | 11 | 28,2 | | |
| Total | | 39 | 100,0 | | |

4.2 Estadística Básica (Tablas XXVI a XXX).

Medidas de Tendencia Central.

Un promedio es un valor que es típico o representativo de un conjunto de datos. Como tales valores tienden a situarse en el centro de un conjunto de datos ordenados según su magnitud, los promedios se conocen también como “Medidas de Centralización”. Se pueden definir varios tipos de estas medidas: la considerada en esta experiencia fue la media aritmética (muestral).

Medidas de Dispersión.

Una medida de dispersión es un número que pretende indicar cómo de variables, discrepantes o dispersos son los datos de la muestra, surgiendo también varias definiciones según cual sea el criterio que se adopte para medir tal variabilidad. Las medidas de posición, si bien dan información acerca de cuáles son los valores de la muestra, no indican nada de cómo de diferentes son los mismos. Para conocer cómo de agrupados o dispersos se encuentran los datos de una muestra necesitamos de las medidas de dispersión.

Rango o Amplitud. Rango a Amplitud de la muestra es la medida de dispersión más simple y de mayor valor intuitivo, definiéndose como la diferencia entre los valores más grande y más pequeño de la muestra.

Error Típico de de la Media. Es la media aritmética de las desviaciones absolutas a la media. Es un estadígrafo que indica la fiabilidad del mismo. Cuando el error típico es pequeño respecto de las unidades de medida, el estadígrafo considerado presenta una variación menor de muestra a muestra, por lo cual se puede tener mayor confianza en los resultados obtenidos.

Desviación Típica (DS). De todas las medidas de dispersión es el estadígrafo que más se utiliza en la práctica, siendo necesaria su comprensión para la definición de otros muchos estadígrafos. Se define la desviación típica como la raíz cuadrada de la media aritmética de los cuadrados de las desviaciones con respecto a la media.

Varianza. Se define como el cuadrado de la desviación típica.

Medidas de Forma.

Asimetría. Curtosis. En términos corrientes, este concepto hace referencia a un desplazamiento de la curva de distribución en un sentido positivo o negativo; mientras que la curtosis va a definir el perfil de la curva en relación a un eje de coordenadas.

**Tabla XXVI. Medidas de Tendencia Central
Edad Cronológica, Edad Ósea, Talla Padre, Talla Madre.**

| | Edadcro | Edadósea | TPadre | TMadre |
|-------------------------|---------|----------|-----------|-----------|
| Media | 10,539 | 8,484 | 167,3714 | 156,2971 |
| Error típ. de la media | ,3553 | ,4222 | ,94276 | ,96807 |
| Mediana | 11,150 | 9,000 | 168,0000 | 156,8000 |
| Moda | 11,2(a) | 10,0 | 165,00(a) | 150,00(a) |
| Desv. típ. | 2,1317 | 2,4616 | 5,57745 | 5,72715 |
| Varianza | 4,544 | 6,060 | 31,108 | 32,800 |
| Asimetría | -,247 | -,239 | ,016 | -1,002 |
| Error típ. de asimetría | ,393 | ,403 | ,398 | ,398 |
| Curtosis | -,880 | -,851 | -,626 | 3,079 |
| Error típ. de curtosis | ,768 | ,788 | ,778 | ,778 |
| Rango | 8,0 | 9,0 | 23,00 | 31,50 |
| Mínimo | 6,1 | 4,0 | 157,00 | 136,50 |
| Máximo | 14,1 | 13,0 | 180,00 | 168,00 |
| Suma | 379,4 | 288,5 | 5858,00 | 5470,40 |

**Tabla XXVII. Medidas de Tendencia Central
Talla Diana, Peso, Talla, Velocidad de Crecimiento.**

| | TDiana | Peso | Pesosds | Talla | Tallasds | Vcto | Vctosds |
|-------------------------|-----------|----------|---------|-----------|----------|--------|---------|
| Media | 162,1929 | 28,20972 | -,9400 | 127,2389 | -2,0481 | 3,894 | -1,8950 |
| Error típ. de la media | 1,20271 | 1,495581 | ,18301 | 1,86147 | ,10494 | ,1461 | ,19362 |
| Mediana | 161,5000 | 26,85000 | -1,2150 | 130,8500 | -2,1000 | 3,900 | -2,0550 |
| Moda | 158,00(a) | 18,350 | -1,17 | 104,50(a) | -2,10 | 3,5(a) | -1,60 |
| Desv. típ. | 7,11535 | 8,973483 | 1,09807 | 11,16884 | ,62965 | ,8763 | 1,16170 |
| Varianza | 50,628 | 80,523 | 1,206 | 124,743 | ,396 | ,768 | 1,350 |
| Asimetría | -,053 | 1,009 | 2,640 | -,238 | 3,359 | -,110 | ,899 |
| Error típ. de asimetría | ,398 | ,393 | ,393 | ,393 | ,393 | ,393 | ,393 |
| Curtosis | -,685 | ,909 | 8,515 | -1,038 | 17,432 | 3,170 | 2,031 |
| Error típ. de curtosis | ,778 | ,768 | ,768 | ,768 | ,768 | ,768 | ,768 |
| Rango | 28,30 | 37,400 | 5,65 | 42,20 | 4,26 | 5,3 | 6,09 |
| Mínimo | 147,70 | 17,200 | -2,12 | 104,50 | -3,20 | 1,2 | -4,32 |
| Máximo | 176,00 | 54,600 | 3,53 | 146,70 | 1,06 | 6,5 | 1,77 |
| Suma | 5676,75 | 1015,550 | -33,84 | 4580,60 | -73,73 | 140,2 | -68,22 |

Tabla XXVIII. Medidas de Tendencia Central. Hormona de Crecimiento.

| | GHbasal | GH30 | GH60 | GH90 | GH120 |
|-------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Media | ,9324 | 5,7889 | 5,3829 | 4,1171 | 2,1433 |
| Error típ. de la media | ,23586 | ,97608 | ,61686 | ,61340 | ,41751 |
| Mediana | ,4000 | 3,6000 | 5,0000 | 3,5000 | 1,1000 |
| Moda | ,20 | ,40 | 5,10 | 1,10 | ,30(a) |
| Desv. típ. | 1,37526 | 5,77454 | 3,64937 | 3,62893 | 2,39839 |
| Varianza | 1,891 | 33,345 | 13,318 | 13,169 | 5,752 |
| Asimetría | 2,568 | 1,283 | 1,457 | 1,270 | 1,270 |
| Error típ. de asimetría | ,403 | ,398 | ,398 | ,398 | ,409 |
| Curtosis | 6,749 | 1,371 | 3,043 | 1,357 | ,340 |
| Error típ. de curtosis | ,788 | ,778 | ,778 | ,778 | ,798 |
| Rango | 5,90 | 23,39 | 17,40 | 14,30 | 7,87 |
| Mínimo | ,10 | ,01 | ,50 | ,30 | ,03 |
| Máximo | 6,00 | 23,40 | 17,90 | 14,60 | 7,90 |
| Suma | 31,70 | 202,61 | 188,40 | 144,10 | 70,73 |

Tabla XIX. Medidas de Tendencia Central. Melatonina.

| | aMTbasal | aMT30 | aMT60 | aMT90 | aMT120 |
|-------------------------|----------|---------|---------|---------|----------|
| Media | 10,0483 | 3,0411 | 1,9903 | 2,5239 | 14,7297 |
| Error típ. de la media | 3,70025 | ,63235 | ,17694 | ,42514 | 9,24097 |
| Mediana | 4,4850 | 1,9800 | 1,9300 | 1,9550 | 1,8650 |
| Moda | ,71(a) | 1,20(a) | ,90(a) | ,72(a) | ,79(a) |
| Desv. típ. | 22,20149 | 3,79413 | 1,06167 | 2,55085 | 55,44583 |
| Varianza | 492,906 | 14,395 | 1,127 | 6,507 | 3074,240 |
| Asimetría | 4,776 | 4,513 | 1,363 | 3,265 | 4,979 |
| Error típ. de asimetría | ,393 | ,393 | ,393 | ,393 | ,393 |
| Curtosis | 24,671 | 23,346 | 3,421 | 11,206 | 25,843 |
| Error típ. de curtosis | ,768 | ,768 | ,768 | ,768 | ,768 |
| Rango | 127,89 | 22,92 | 5,36 | 12,48 | 312,41 |
| Mínimo | ,71 | ,16 | ,19 | ,35 | ,79 |
| Máximo | 128,60 | 23,08 | 5,55 | 12,83 | 313,20 |
| Suma | 361,74 | 109,48 | 71,65 | 90,86 | 530,27 |

**Tabla XXX. Medidas de Tendencia Central
IGF-I, IGFBP3**

| | IGFI | IGFBP3 |
|-------------------------|----------|---------|
| Media | 124,6029 | 2,3929 |
| Error típ. de la media | 12,72470 | ,18487 |
| Mediana | 133,1500 | 2,3000 |
| Moda | 3,30(a) | 2,30(a) |
| Desv. típ. | 74,19712 | ,97826 |
| Varianza | 5505,213 | ,957 |
| Asimetría | ,124 | 1,476 |
| Error típ. de asimetría | ,403 | ,441 |
| Curtosis | -,698 | 4,276 |
| Error típ. de curtosis | ,788 | ,858 |
| Rango | 281,10 | 4,80 |
| Mínimo | 3,30 | 1,00 |
| Máximo | 284,40 | 5,80 |
| Suma | 4236,50 | 67,00 |

4.3 Inferencia Estadística.

Análisis Comparativo entre grupos.

Como ha sido descrito en el método estadístico, los procedimientos seguidos para obtener conclusiones teóricamente aplicables a poblaciones mayores: 1) Comparación de medias para muestras independientes. 2) Comparación múltiple de medias (Anova I), mediante este procedimiento en cada uno de los grupos se desarrollo un análisis de la varianza de una vía (previa comprobación de la conclusión previa para su aplicación; normalidad, aleatoriedad y homogeneidad de la varianza). 2) Análisis y valoración del grado de relación entre pares de variables.

Definidas las características previas de aleatoriedad, normalidad y homogeneidad de las varianzas, se procedió a realizar un análisis de la varianza (Fisher), cuyo fundamento en última instancia pretende demostrar posibles diferencias entre medias de varias poblaciones. En principio desarrollamos un análisis de la varianza de una vía para cada una de las variables fundamentales incluidas en el diseño experimental, obteniéndose como resultado de este análisis un valor de F_{exp} , el cual tras consultar en la tabla de la distribución F de Snedecor para V_1 y V_2 *grados de libertad*, permitió afirmar si $F_{exp} > F_{\alpha}$, diferencia significativa; si $F_{exp} < F_{\alpha}$, no diferencia significativa.

En aquellas variables en las que se obtuvo, como mínimo, un valor de $p < 0.05$ (nivel crítico aceptado), se procedió a la búsqueda entre las distintas medias participantes, de sus diferencias, para lo cual y teniendo en cuenta las características de las mismas y la comparación numérica de cada uno de los grupos (igual número de casos), fue aplicado un *test de Tukey*, a través del cual se obtuvieron finalmente tantas t_{exp} como posibles comparaciones se hacían para cada variable, procediendo por último a consultar estos valores en las tablas teóricas de la distribución "*t*" de Tukey, igualmente se comparó cada una de las t_{exp} con la correspondiente "*t*" teórica (con F –número de casos- y K –número de tratamientos que se va hacer en grados de libertad).

Comparación de Medias.

En el diseño experimental del presente proyecto se intenta ver la relación existente entre hipófisis y epífisis, modulada entre otros aspectos por las posibles interrelaciones entre las características secretoras de la hormona de crecimiento como producto hipofisario y la melatonina como secreción fundamental de la glándula pineal. El estudio que se pueda realizar en el ámbito pediátrico del objetivo definido, es en nuestro caso la obtención de muestras en la realización de exámenes complementarios destinados objetivar si existe o no alteraciones en la secreción de hormona de crecimiento. Tras obtener el material, una primera cuestión ha sido valorar la adecuación de la muestra y establecer una primera

aproximación considerando el sexo de nuestros pacientes y una segunda los diagnósticos de los mismos. Para conseguir este primer objetivo valoramos si existían o no diferencias entre las medias muestrales de las variables objeto de la investigación del presente proyecto, resultados que pasamos a exponer a continuación en el texto y en las Tablas y Gráficos (...).

Comparación de Medias para la agrupación de la muestra por sexos.

Edad cronológica. Edad ósea. Al comparar las medias de nuestra muestra para las variables edad cronológica y edad ósea, no observamos diferencias significativas entre ambos sexos, con una edad media para los niños de $10,65 \pm 2,77$ años y de $10,41 \pm 1,58$ para las niñas, en lo que a la variable edad cronológica se refiere y para la edad ósea los valores medios fueron de $8,38 \pm 2,96$ para los niños y de $8,6 \pm 1,83$ años para las niñas.

Talla padre. Talla madre. Talla diana. Con respecto a las variables que determinan con carácter genético la talla diana, como son la talla del padre y de la madre, no observamos diferencia estadísticamente significativas entre las medias para ambos grupos con una talla media de los padres de nuestros pacientes de $166,44 \pm 5,91$ cm en el grupo de niños y $167,94 \pm 5,17$ cm en el grupo de niñas y para la variable de talla en las madres de $156,42 \pm 6,76$ centímetros para el grupo de niños y de $156,15 \pm 4,58$ centímetros. Por el contrario, y como era de esperar sí pudimos encontrar diferencias significativas para la talla diana, ya que como se conocido, la variable sexo influye de manera evidente en la misma. Siendo para el grupo de niños la talla diana media de $167,63 \pm 4,68$ cm y para el grupo de niñas de $156,42 \pm 3,95$ cm, con un valor de $p < 0,001$.

Peso. Peso (sds). Talla. Talla (sds). Velocidad de crecimiento. Velocidad de crecimiento (sds). El estudio de las variables somatométricas peso y talla, tanto en valores absolutos, como los referidos a la desviación estándar a la media, no arrojaron diferencias significativas entre ambos grupos, con los siguientes valores medios para cada sexo en lo que se refiere a peso absoluto $29,33 \pm 10,64$ kg para el grupo de niños y de $26,95 \pm 6,74$ kg para el grupo de niñas. Al referirnos al valor relativo de la desviación estándar, observamos una media de $-0,82 \pm 1,41$ para los niños y de $-1,07 \pm 0,59$ para las niñas. De forma similar observamos en nuestra muestra poblacional cómo las tallas tanto en valor absoluto como en desviaciones estándar no diferían, con una talla media para los niños de $128,26 \pm 13,15$ cm, y de $126,09 \pm 8,68$ cm para las niñas. Igual consideración apreciamos en lo que se refiere a la variable velocidad de crecimiento, con unos valores sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos, de $3,73 \pm 0,64$ cm/año para los niños y de $4,07 \pm 1,07$ cm/año para las niñas. Expresada la velocidad de crecimiento en desviación estándar, obtuvimos los siguientes resultados para el grupo de niños de $-1,76 \pm 1,05$ sds y $-2,04 \pm 1,29$ sds en el grupo de niñas.

Hormona de crecimiento (GH) basal, 30, 60,90 y 120 minutos. Como ya hemos definido en el capítulo de la metodología, tras la administración de la insulina en el paciente por vía intravenosa, se produce un aumento en el pico de secreción de Hormona de Crecimiento en individuos no deficitarios de aquella, y por el contrario si el paciente presenta déficit de esta hormona, no se produce dicho aumento en el pico secretorio, o se produce a niveles considerados patológicos. Pues bien al analizar las tasas plasmáticas medias de Hormona de Crecimiento tras la administración de insulina no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes pediátricos niños y el grupo de pacientes pediátricos niñas. Así para la variable concentración basal de Hormona de Crecimiento que hemos definido como *GH b*, la tasa plasmática fue de $1,17 \pm 1,70$ ug/ml para los niños y de $0,62 \pm 0,74$ ug/ml para las niñas. De igual manera se definen para las siguientes variables:

1. Concentración a los 30 minutos de Hormona de crecimiento, GH 30:
 - a. Niños: $5,28 \pm 6,09$ ug/ml.
 - b. Niñas: $6,38 \pm 5,50$ ug/m.
 - c. $p = N.S.$
2. Concentración a los 60 minutos de Hormona de crecimiento, GH 60:
 - a. Niños: $5,31 \pm 4,11$ ug/ml.
 - b. Niñas: $5,46 \pm 3,13$ ug/ml.
 - c. $p = N.S.$
3. Concentración a los 90 minutos de Hormona de crecimiento, GH 90:
 - a. Niños: $4,03 \pm 3,63$ ug/ml.
 - b. Niñas: $4,21 \pm 3,74$ ug/ml.
 - c. $p = N.S.$
4. Concentración a los 120 minutos d Hormona de crecimiento, GH 120:
 - a. Niños: $1,85 \pm 2,19$ ug/ml.
 - b. Niñas: $2,48 \pm 2,65$ ug/ml.
 - c. $p = N.S.$

Melatonina (aMT), basal, 30, 60, 90 y 120 minutos. En el estudio de estas variables, al comparar las concentraciones plasmáticas entre ambos sexos en cada momento de la extracción, los resultados expresados difieren de los escritos anteriormente para la Hormona de Crecimiento. Así pudimos observar que existen diferencias significativas para las tasas plasmáticas de melatonina tras el estímulo como consecuencia de la hipoglucemia insulínica, expresadas para las muestras de melatonina a los 30 minutos (aMT30), en los que existía una concentración media para el grupo de niños de $1,82 \pm 0,92$ pg/ml y para el grupo de niñas de $4,39 \pm 5,17$ pg/ml, con una $p < 0,04$.

Variabes IGF-I e IGFBP3. El estudio de las tasas plasmáticas para la IGF-I e IGFBP3, no arrojaron diferencias estadísticamente significativas para las tasas plasmáticas de IGF-I. Por el contrario pudimos observar cómo existía una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0,02$, al comparar las concentraciones medias de IGFBP3, con una media de $1,97 \pm 0,72$ en el grupo de niños, inferior a las concentraciones medias de $2,81 \pm 1,03$ para el grupo de niñas.

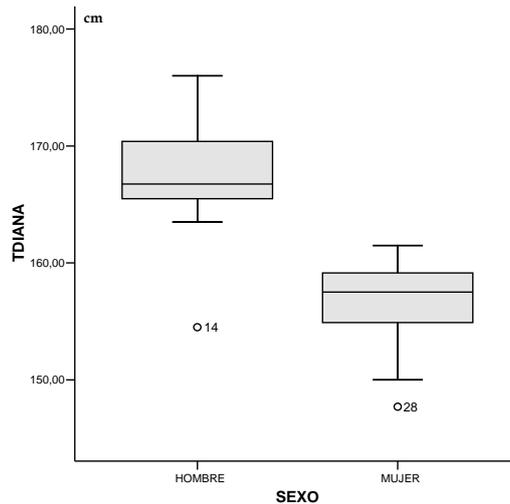


Figura 4.1 Variable Talla Diana

Como era de esperar, al comparar entre ambos sexos la talla diana en nuestro grupo de estudio se confirma que es mayor en el grupo de niños con respecto al de niñas, siendo para el grupo de niños la talla diana media de $167,63 \pm 4,68$ cm y para el grupo de niñas de $156,42 \pm 3,95$ cm, con un valor de $p < 0,001$.

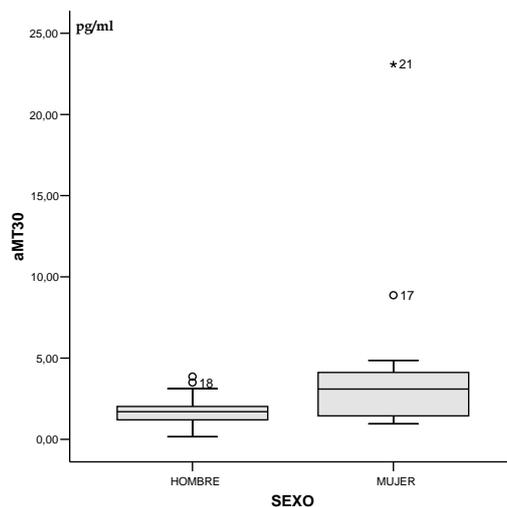


Figura 4.2 Variable aMT 30

Al comparar las medias referidas a las tasas plasmáticas de melatonina tras el estímulo determinado por la hipoglucemia insulínica, pudimos observar cómo a los 30 minutos de inducida la hipoglucemia, la tasa plasmática de melatonina era mayor en el grupo de niñas respecto al de niños con una $p < 0,04$.

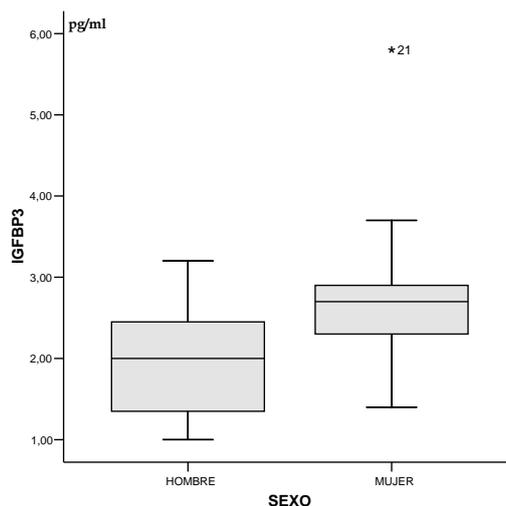


Figura 4.3 Variable IGFBP3

Llama la atención que observados éstos y otros resultados que exponemos más adelante, existen modificaciones en las tasas plasmáticas de IGFBP3. En este capítulo pudimos observar cómo las tasas plasmáticas de IGFBP3, observadas en nuestros pacientes eran superiores en el sexo femenino respecto al masculino, con una significación de $p < 0,002$, y unos valores medios de $1,97 \pm 0,72$ en el grupo de niños y de $2,81 \pm 1,03$ para el grupo de niñas.

Inferencia estadística: estudio de correlación y regresión entre variables.

El coeficiente de correlación *r de Pearson* es adecuado para medir la magnitud y el signo de la relación lineal entre dos variables cuantitativas. El coeficiente *r* varía entre -1 y 1 . La fuerza de la asociación o magnitud de la relación es una función directa del valor absoluto del coeficiente *r*, cuanto más cerca de 0 menor es la relación entre las variables, cuanto más cerca de 1 (en valor absoluto) mayor es la relación entre las variables. La relación es perfecta cuando el coeficiente vale tanto $+1$, como -1 , y no existe ninguna relación lineal entre las variables cuando *r* es igual a 0.

Una vez determinada la relación entre dos variables nos interesa conocer la relación entre una variable criterio y dos o más variables predictoras. El interés de emplear esta técnica puede radicar en estudiar la naturaleza de la relación o bien en predecir las puntuaciones de la variable criterio. Lo primero que interesa conocer es la fuerza global de la asociación entre las variables predictoras y criterio. Esto se mide mediante el coeficiente de correlación múltiple *R*, siendo preferible emplear R^2 (*R square*) debido a su mejor interpretación. Este coeficiente R^2 también se conoce como coeficiente de determinación, y varía entre 0 y 1. Cuando $R^2=1$ quiere decir que el 100% de la variabilidad de la variable criterio es explicada por las variables predictoras; y también que la relación lineal entre las variables es perfecta. Cuando $R^2 = 0$ se explica el 0% de la variable criterio, y no existe ninguna relación lineal entre la variable criterio y las variables predictoras. El coeficiente R^2 ajustado (*Adjusted R Square*) se haya para compensar los efectos del tamaño de la muestra

sobre R^2 . Posteriormente se realiza el contraste para comprobar si la relación es significativa o no. Se realiza mediante la prueba *F de Snedecor*.

Dicho todo lo anterior en nuestro proyecto pudimos establecer las siguientes correlaciones y una vez ejecutadas sobre éstas la correspondiente función Anova, no encontramos los resultados que expresamos en las siguientes tablas y figuras.

Como Era de esperar exista una relación significativa y muy elevada entre edad ósea y edad cronológica para nuestro grupo de estudio, con $r = 0,94$ y $p < 0,0001$. De igual forma y como también era esperable pudimos encontrar una relación directa entre la talla paterna, materna y la talla diana en nuestro grupo, con una $r = 0,36$ y $p < 0,02$ y $r = 0,46$ y $p < 0,05$ respectivamente. Al resultar una relación significativa, estudiamos a continuación el grado de predicción de las variables estudiadas sobre la talla diana en el grupo estudio pudiendo comprobar, como no podía ser de otra forma, la relación positiva. Resultados que se exponen en las Tablas XXXI a XXXIII y Figuras 4.4 y 4.5.

Tabla XXXI.- Correlación entre las variables Edad cronológica, Edad ósea, Talla paterna, Talla materna y Talla diana.

| | | Edad Cronológica | Edad ósea | T Padre | T Madre | T Diana |
|---------------------|---------------------------|---------------------|--------------|------------|------------|----------|
| Edad Cronológica | Correlación de Pearson | 1 | ,944(**) | -,280 | ,221 | ,031 |
| | Sig. (bilateral) | | ,000 | ,103 | ,202 | ,860 |
| | N | 36 | 34 | 35 | 35 | 35 |
| Edad ósea | Correlación de Pearson | ,944(**) | 1 | -,158 | ,208 | -,027 |
| | Sig. (bilateral) | ,000 | | ,380 | ,245 | ,881 |
| | N | 34 | 34 | 33 | 33 | 33 |
| T padre | Correlación de Pearson | -,280 | -,158 | 1 | ,127 | ,361(*) |
| | Sig. (bilateral) | ,103 | ,380 | | ,468 | ,033 |
| | N | 35 | 33 | 35 | 35 | 35 |
| T madre | Correlación de Pearson | ,221 | ,208 | ,127 | 1 | ,463(**) |
| | Sig. (bilateral) | ,202 | ,245 | ,468 | | ,005 |
| | N | 35 | 33 | 35 | 35 | 35 |
| T diana | Correlación de Pearson | ,031 | -,027 | ,361(*) | ,463(**) | 1 |
| | Sig. (bilateral) | ,860 | ,881 | ,033 | ,005 | |
| | N | 35 | 33 | 35 | 35 | 35 |

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla XXXII.- Estudio de Regresión y Anova para las variables Talla Padre, Talla Madre y Talla Diana.

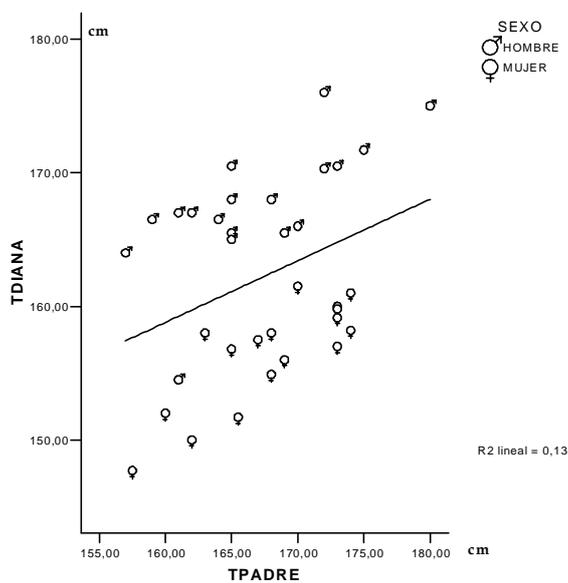
| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación | Estadísticos de cambio | | | | |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|------------------------|-------------|-----|-----|----------------------|
| | | | | | Cambio en R cuadrado | Cambio en F | gl1 | gl2 | Sig. del cambio en F |
| 1 | ,164(a) | ,027 | -,036 | ,516 | ,027 | ,427 | 2 | 31 | ,656 |

ANOVA

| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------|-----------|-------------------|----|------------------|--------|---------|
| 1 | Regresión | 7,106 | 2 | 3,553 | 69,478 | ,000(a) |
| | Residual | 1,637 | 32 | ,051 | | |
| | Total | 8,743 | 34 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), TDIANA, TPADRE

b Variable dependiente: SEXO

**Figura 4.4**

Como era de esperar, se obtuvo una correlación positiva entre la talla diana y la talla del padre.

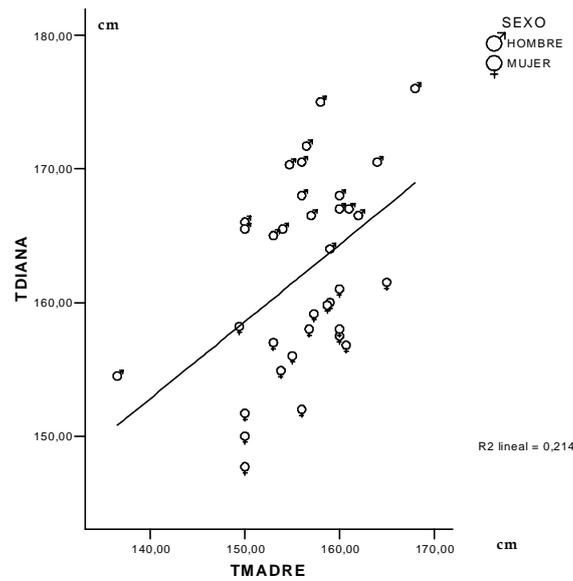


Figura 4.5

Al igual que ocurría con la figura anterior pudimos comprobar una correlación directa entre la Talla Diana y la Talla de la madre, para ambos sexos

Las siguientes variables en las cuales estudiamos las posibles relaciones entre ellas, fueron las referidas a peso, talla y velocidad de crecimiento, tanto en valores absolutos como SdS, obteniendo los resultados que exponemos en la siguiente Tabla XXXIII.

Tabla XXXIII. Correlación entre las variables Edad Cronológica, Edad Ósea, Talla paterna, Talla Materna y Talla Diana.

| | | PESO | PESOsds | TALLA | TALLAsds | VCTO | VCTOsds |
|----------|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| PESO | Correlación de Pearson | 1 | ,758(**) | ,793(**) | ,275 | ,028 | ,041 |
| | Sig. (bilateral) | | ,000 | ,000 | ,104 | ,873 | ,814 |
| | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| PESOsds | Correlación de Pearson | ,758(**) | 1 | ,295 | ,662(**) | ,119 | ,152 |
| | Sig. (bilateral) | ,000 | | ,081 | ,000 | ,489 | ,377 |
| | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| TALLA | Correlación de Pearson | ,793(**) | ,295 | 1 | ,095 | ,047 | ,051 |
| | Sig. (bilateral) | ,000 | ,081 | | ,583 | ,786 | ,766 |
| | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| TALLAsds | Correlación de Pearson | ,275 | ,662(**) | ,095 | 1 | ,146 | ,314 |
| | Sig. (bilateral) | ,104 | ,000 | ,583 | | ,394 | ,062 |
| | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| VCTO | Correlación de Pearson | ,028 | ,119 | ,047 | ,146 | 1 | ,716(**) |
| | Sig. (bilateral) | ,873 | ,489 | ,786 | ,394 | | ,000 |
| | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| VCTOsds | Correlación de Pearson | ,041 | ,152 | ,051 | ,314 | ,716(**) | 1 |
| | Sig. (bilateral) | ,814 | ,377 | ,766 | ,062 | ,000 | |
| | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |

De igual manera procedimos para el estudio de las variables objeto principal de nuestro proyecto como era observar qué ocurría en las tasas plasmáticas de hormona de crecimiento y de melatonina, tras un estímulo como es la hipoglucemia insulínica y poder deducir de esta posible relación nuevos aspectos en la interrelación entre ambas hormonas, si es que existen y nuevos aspectos en los mecanismos neurreguladores de la secreción de melatonina (aMT). En este sentido, la Tabla XXXIV, muestran los resultados al establecer la Correlación r de Pearson entre hormona de crecimiento y melatonina, en cada momento de extracción de muestra del test de estímulo. La Tabla XXXV, muestra los resultados estadísticos obtenidos al correlacionar las tasas plasmáticas de hormona de crecimiento en cada momento del test con las tasas plasmáticas globales previas de IGF-I e IGFBP3, y en la Tabla XXXVI, se muestran las correlaciones que existen entre las tasas de melatonina en cada extracción, con las tasas plasmáticas de IGF-I e IGFBP3. Tras la valoración de estas correlaciones, procedimos a la realización del Anova correspondiente para calcular el valor predictivo de las mismas, observando exclusivamente un posible valor predictivo entre las variables aMT basal e IGF BP3, como se demuestra en las Tablas y Figura correspondientes, Tablas XXXVII a XIL y Figuras 4.6 a 4.17

Tabla XXXIV. Correlación r de Pearson entre los valores de HGH y aMT.

| | | GHbasal | GH30 | GH60 | GH90 | GH120 | aMTbasal | aMT30 | aMT60 | aMT90 | aMT120 |
|----------|------------------------|---------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| GHbasal | Correlación de Pearson | 1 | ,137 | ,090 | ,348(*) | ,394(*) | -,142 | -,146 | ,350(*) | -,248 | -,128 |
| | Sig. (bilateral) | | ,439 | ,612 | ,044 | ,026 | ,424 | ,409 | ,042 | ,157 | ,470 |
| | N | 34 | 34 | 34 | 34 | 32 | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 |
| GH30 | Correlación de Pearson | ,137 | 1 | ,167 | -,007 | ,066 | -,042 | -,090 | ,048 | -,055 | ,072 |
| | Sig. (bilateral) | ,439 | | ,336 | ,969 | ,716 | ,810 | ,606 | ,782 | ,755 | ,681 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| GH60 | Correlación de Pearson | ,090 | ,167 | 1 | ,551(**) | ,398(*) | -,304 | -,205 | -,066 | -,129 | ,146 |
| | Sig. (bilateral) | ,612 | ,336 | | ,001 | ,022 | ,076 | ,237 | ,708 | ,461 | ,404 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| GH90 | Correlación de Pearson | ,348(*) | -,007 | ,551(**) | 1 | ,594(**) | -,287 | -,176 | ,268 | -,235 | -,076 |
| | Sig. (bilateral) | ,044 | ,969 | ,001 | | ,000 | ,095 | ,312 | ,119 | ,175 | ,663 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| GH120 | Correlación de Pearson | ,394(*) | ,066 | ,398(*) | ,594(**) | 1 | -,240 | -,191 | ,282 | -,244 | -,062 |
| | Sig. (bilateral) | ,026 | ,716 | ,022 | ,000 | | ,179 | ,286 | ,112 | ,171 | ,734 |
| | N | 32 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 |
| aMTbasal | Correlación de Pearson | -,142 | -,042 | -,304 | -,287 | -,240 | 1 | ,357(*) | ,545(**) | ,301 | ,015 |
| | Sig. (bilateral) | ,424 | ,810 | ,076 | ,095 | ,179 | | ,032 | ,001 | ,075 | ,933 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT30 | Correlación de Pearson | -,146 | -,090 | -,205 | -,176 | -,191 | ,357(*) | 1 | ,052 | ,786(**) | ,214 |
| | Sig. (bilateral) | ,409 | ,606 | ,237 | ,312 | ,286 | ,032 | | ,763 | ,000 | ,209 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT60 | Correlación de Pearson | ,350(*) | ,048 | -,066 | ,268 | ,282 | ,545(**) | ,052 | 1 | -,058 | -,079 |
| | Sig. (bilateral) | ,042 | ,782 | ,708 | ,119 | ,112 | ,001 | ,763 | | ,739 | ,647 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT90 | Correlación de Pearson | -,248 | -,055 | -,129 | -,235 | -,244 | ,301 | ,786(**) | -,058 | 1 | ,629(**) |
| | Sig. (bilateral) | ,157 | ,755 | ,461 | ,175 | ,171 | ,075 | ,000 | ,739 | | ,000 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT120 | Correlación de Pearson | -,128 | ,072 | ,146 | -,076 | -,062 | ,015 | ,214 | -,079 | ,629(**) | 1 |
| | Sig. (bilateral) | ,470 | ,681 | ,404 | ,663 | ,734 | ,933 | ,209 | ,647 | ,000 | |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |

Tabla XXXV. Correlación r de Pearson entre los valores plasmáticos de hormona de crecimiento, IGF-I e IGFBP3.

| | | GHbasal | GH30 | GH60 | GH90 | GH120 | IGFI | IGFBP3 |
|---------|------------------------|---------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|
| GHbasal | Correlación de Pearson | 1 | ,137 | ,090 | ,348(*) | ,394(*) | -,066 | -,302 |
| | Sig. (bilateral) | | ,439 | ,612 | ,044 | ,026 | ,719 | ,125 |
| | N | 34 | 34 | 34 | 34 | 32 | 32 | 27 |
| GH30 | Correlación de Pearson | ,137 | 1 | ,167 | -,007 | ,066 | ,083 | ,104 |
| | Sig. (bilateral) | ,439 | | ,336 | ,969 | ,716 | ,644 | ,597 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 33 | 28 |
| GH60 | Correlación de Pearson | ,090 | ,167 | 1 | ,551(**) | ,398(*) | - | -,307 |
| | Sig. (bilateral) | ,612 | ,336 | | ,001 | ,022 | ,506(**) | ,113 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 33 | 28 |
| GH90 | Correlación de Pearson | ,348(*) | -,007 | ,551(**) | 1 | ,594(**) | -,249 | -,129 |
| | Sig. (bilateral) | ,044 | ,969 | ,001 | | ,000 | ,163 | ,513 |
| | N | 34 | 35 | 35 | 35 | 33 | 33 | 28 |
| GH120 | Correlación de Pearson | ,394(*) | ,066 | ,398(*) | ,594(**) | 1 | -,301 | -,031 |
| | Sig. (bilateral) | ,026 | ,716 | ,022 | ,000 | | ,100 | ,879 |
| | N | 32 | 33 | 33 | 33 | 33 | 31 | 27 |
| IGFI | Correlación de Pearson | -,066 | ,083 | - | -,249 | -,301 | 1 | ,602(**) |
| | Sig. (bilateral) | ,719 | ,644 | ,506(**) | ,163 | ,100 | | ,001 |
| | N | 32 | 33 | 33 | 33 | 31 | 34 | 28 |
| IGFBP3 | Correlación de Pearson | -,302 | ,104 | -,307 | -,129 | -,031 | ,602(**) | 1 |
| | Sig. (bilateral) | ,125 | ,597 | ,113 | ,513 | ,879 | ,001 | |
| | N | 27 | 28 | 28 | 28 | 27 | 28 | 28 |

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla XXXVI. Correlación r de Pearson entre los valores plasmáticos de Melatonina (aMT), IGF-I e IGFBP3.

| | | IGFI | IGFBP3 | aMTbasal | aMT30 | amt60 | amt90 | aMT120 |
|----------|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| IGFI | Correlación de Pearson | 1 | ,602(**) | ,274 | ,230 | ,103 | ,071 | -,386(*) |
| | Sig. (bilateral) | | ,001 | ,117 | ,190 | ,563 | ,689 | ,024 |
| | N | 34 | 28 | 34 | 34 | 34 | 34 | 34 |
| IGFBP3 | Correlación de Pearson | ,602(**) | 1 | ,415(*) | ,678(**) | ,166 | ,721(**) | -,309 |
| | Sig. (bilateral) | ,001 | | ,028 | ,000 | ,398 | ,000 | ,110 |
| | N | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 |
| aMTbasal | Correlación de Pearson | ,274 | ,415(*) | 1 | ,357(*) | ,545(**) | ,301 | ,015 |
| | Sig. (bilateral) | ,117 | ,028 | | ,032 | ,001 | ,075 | ,933 |
| | N | 34 | 28 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT30 | Correlación de Pearson | ,230 | ,678(**) | ,357(*) | 1 | ,052 | ,786(**) | ,214 |
| | Sig. (bilateral) | ,190 | ,000 | ,032 | | ,763 | ,000 | ,209 |
| | N | 34 | 28 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT60 | Correlación de Pearson | ,103 | ,166 | ,545(**) | ,052 | 1 | -,058 | -,079 |
| | Sig. (bilateral) | ,563 | ,398 | ,001 | ,763 | | ,739 | ,647 |
| | N | 34 | 28 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT90 | Correlación de Pearson | ,071 | ,721(**) | ,301 | ,786(**) | -,058 | 1 | ,629(**) |
| | Sig. (bilateral) | ,689 | ,000 | ,075 | ,000 | ,739 | | ,000 |
| | N | 34 | 28 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| aMT120 | Correlación de Pearson | -,386(*) | -,309 | ,015 | ,214 | -,079 | ,629(**) | 1 |
| | Sig. (bilateral) | ,024 | ,110 | ,933 | ,209 | ,647 | ,000 | |
| | N | 34 | 28 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla XXXVII. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables GH Basal y GH 90.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| | ,217(a) | ,047 | -,014 | ,508 |

a Variables predictoras: (Constante), GH90, GHbasal

| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------|-----------|-------------------|----|------------------|------|------|
| 1 | Regresión | ,395 | 2 | ,198 | ,767 | ,473 |
| | Residual | 7,987 | 31 | ,258 | | |
| | Total | 8,382 | 33 | | | |

| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados Beta | t | Sig. |
|--------|-------------|--------------------------------|------------|----------------------------------|--------|------|
| | | B | Error típ. | | | |
| 1 | (Constante) | 1,471 | ,134 | | 10,990 | ,000 |
| | GHbasal | -,085 | ,069 | -,231 | -1,238 | ,225 |
| | GH90 | ,012 | ,026 | ,089 | ,476 | ,638 |

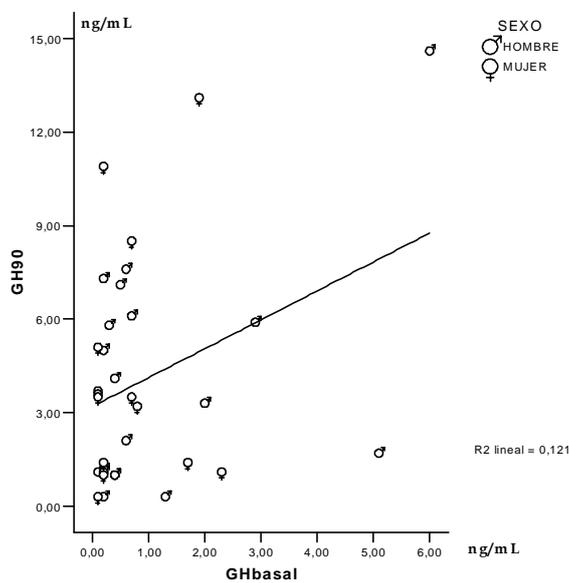


Figura 4.6

Tabla XXXVIII. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables GH Basal y GH 120

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,281(a) | ,079 | ,015 | ,500 |

| ANOVA (b) | | | | | | |
|-----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | ,621 | 2 | ,311 | 1,242 | ,304(a) |
| | Residual | 7,254 | 29 | ,250 | | |
| | Total | 7,875 | 31 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), GH120, GHbasal

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | 1,455 | ,123 | | 11,856 | ,000 |
| | GHbasal | -,105 | ,069 | -,294 | -1,517 | ,140 |
| | GH120 | ,042 | ,042 | ,192 | ,989 | ,331 |

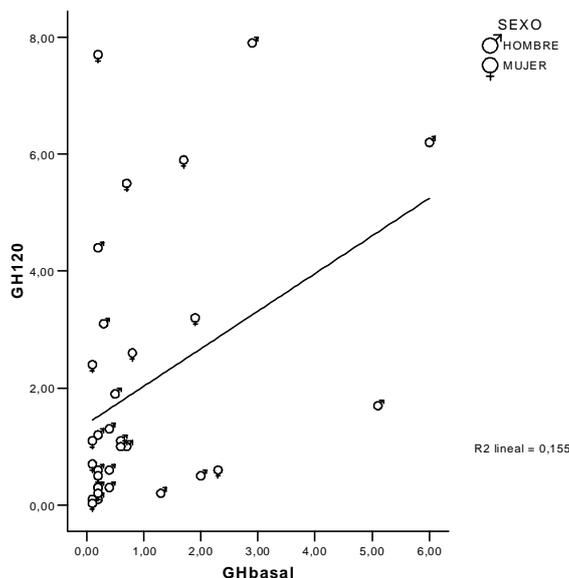


Figura 4.7

Tabla XXXIX. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables GH Basal y aMT Basal

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,281(a) | ,079 | ,020 | ,499 |

a Variables predictoras: (Constante), aMTbasal, GHbasal

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | ,662 | 2 | ,331 | 1,329 | ,279(a) |
| | Residual | 7,720 | 31 | ,249 | | |
| | Total | 8,382 | 33 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), aMTbasal, GHbasal

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | 1,454 | ,115 | | 12,684 | ,000 |
| | GHbasal | -,063 | ,064 | -,172 | -,989 | ,330 |
| | aMTbasal | ,004 | ,004 | ,199 | 1,143 | ,262 |

a Variable dependiente: SEXO

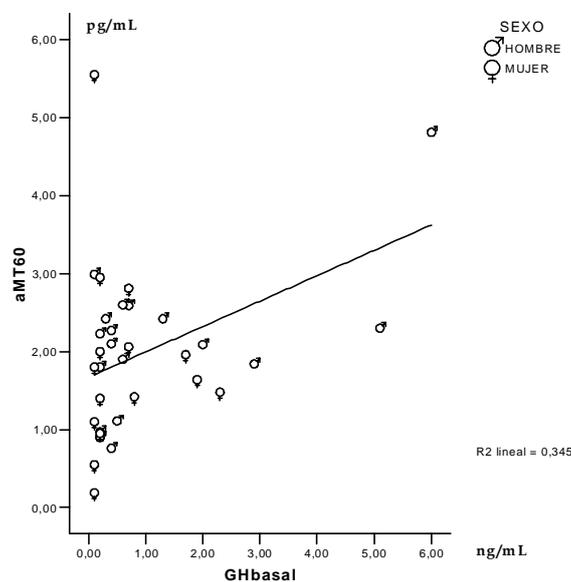
**Figura 4.8**

Tabla XL. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables GH Basal y GH 120

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,028(a) | ,001 | -,062 | ,521 |

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | ,007 | 2 | ,003 | ,012 | ,988(a) |
| | Residual | 8,679 | 32 | ,271 | | |
| | Total | 8,686 | 34 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), GH90, GH60

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | 1,438 | ,162 | | 8,866 | ,000 |
| | GH60 | ,002 | ,029 | ,011 | ,051 | ,959 |
| | GH90 | ,003 | ,029 | ,020 | ,095 | ,925 |

a Variable dependiente: SEXO

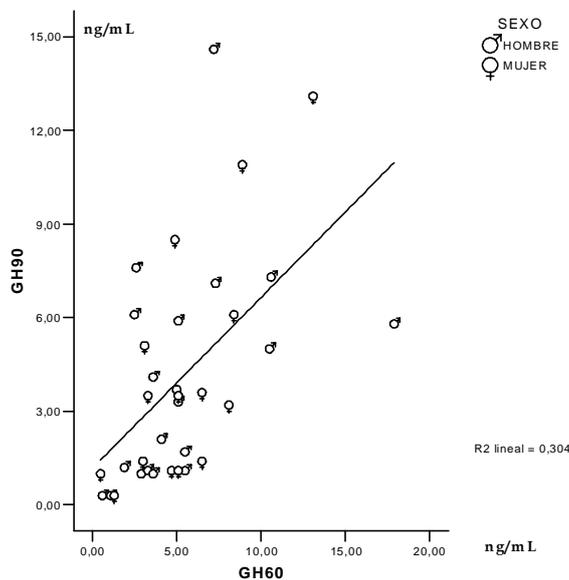
**Figura 4.9**

Tabla XLI. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables GH 60 y GH 120

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,141(a) | ,020 | -,045 | ,517 |

a Variables predictoras: (Constante), GH120, GH60

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | ,163 | 2 | ,081 | ,304 | ,740(a) |
| | Residual | 8,019 | 30 | ,267 | | |
| | Total | 8,182 | 32 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), GH120, GH60

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | t | |
| 1 | (Constante) | 1,422 | ,164 | | 8,675 | ,000 |
| | GH60 | -,007 | ,027 | -,050 | -,251 | ,803 |
| | GH120 | ,032 | ,042 | ,153 | ,778 | ,443 |

a Variable dependiente: SEXO

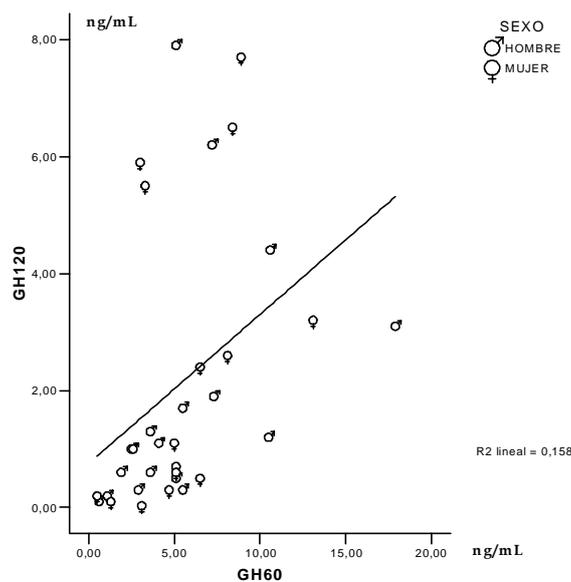


Figura 4.10

Tabla XLII. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables GH 60 e IGF-I.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,230(a) | ,053 | -,010 | ,510 |

a Variables predictoras: (Constante), IGFI, GH60

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | ,436 | 2 | ,218 | ,838 | ,442(a) |
| | Residual | 7,806 | 30 | ,260 | | |
| | Total | 8,242 | 32 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), IGFI, GH60

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | 1,134 | ,293 | | 3,873 | ,001 |
| | GH60 | ,025 | ,028 | ,184 | ,893 | ,379 |
| | IGFI | ,002 | ,001 | ,260 | 1,260 | ,217 |

a Variable dependiente: SEXO

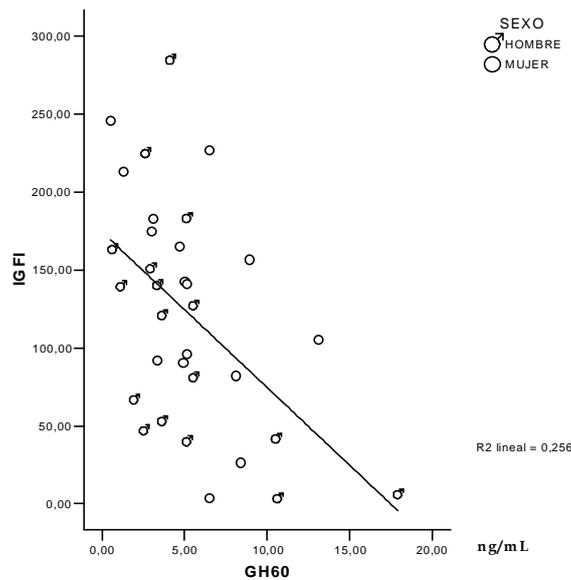
**Figura 4.10**

Tabla XLIII. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT Basal y aMT 30.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,353(a) | ,124 | ,071 | ,488 |

a Variables predictoras: (Constante), aMT30, aMTbasal

ANOVA(b)

| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| 1 | Regresión | 1,116 | 2 | ,558 | 2,344 | ,112(a) |
| | Residual | 7,856 | 33 | ,238 | | |
| | Total | 8,972 | 35 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), aMT30, aMTbasal
Variable dependiente: SEXO

Coefficientes(a)

| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
|--------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | 1,326 | ,106 | | 12,527 | ,000 |
| | aMTbasal | ,002 | ,004 | ,086 | ,493 | ,625 |
| | aMT30 | ,042 | ,023 | ,313 | 1,793 | ,082 |

a Variable dependiente: SEXO

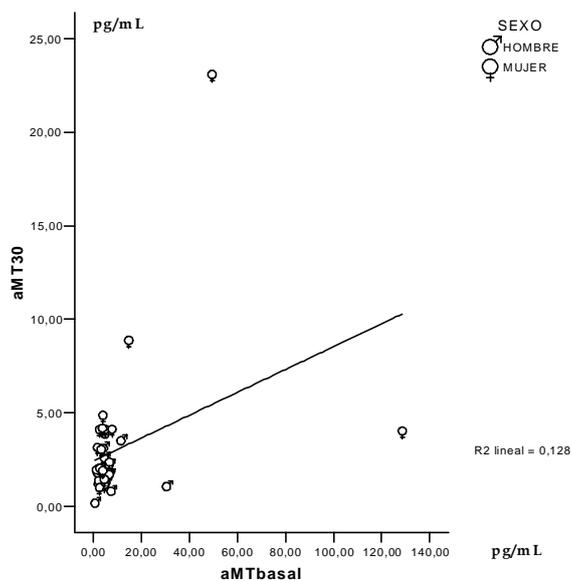


Figura 4.11

Tabla XLIV. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT Basal y aMT 60.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error tıp. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,284(a) | ,081 | ,025 | ,500 |

a Variables predictoras: (Constante), aMT60, aMTbasal

ANOVA(b)

| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| 1 | Regresión | ,723 | 2 | ,361 | 1,446 | ,250(a) |
| | Residual | 8,249 | 33 | ,250 | | |
| | Total | 8,972 | 35 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), aMT60, aMTbasal

b Variable dependiente: SEXO

Coefficientes(a)

| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
|--------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
| | | B | Error tıp. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | 1,627 | ,188 | | 8,656 | ,000 |
| | aMTbasal | ,008 | ,005 | ,330 | 1,658 | ,107 |
| | aMT60 | -,116 | ,095 | -,243 | -1,220 | ,231 |

a Variable dependiente: SEXO

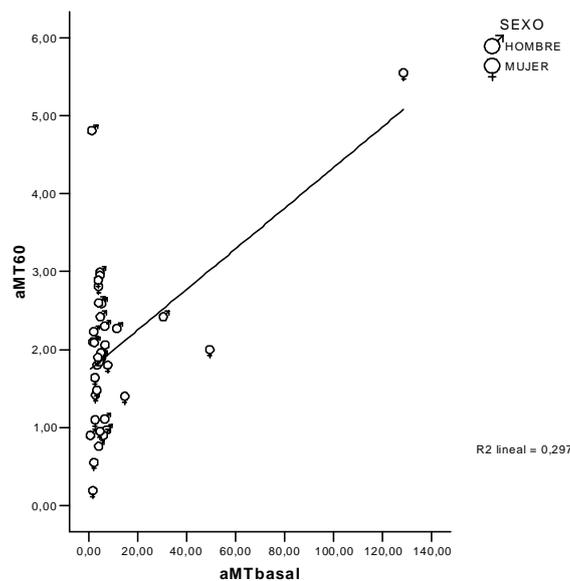
**Figura 4.12**

Tabla XLV. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT Basal, IGFBP3.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,439(a) | ,193 | ,128 | ,475 |

a Variables predictoras: (Constante), IGFBP3, aMTbasal

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | 1,348 | 2 | ,674 | 2,982 | ,069(a) |
| | Residual | 5,652 | 25 | ,226 | | |
| | Total | 7,000 | 27 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), IGFBP3, aMTbasal

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | ,957 | ,248 | | 3,867 | ,001 |
| | aMTbasal | ,000 | ,004 | ,013 | ,065 | ,949 |
| | IGFBP3 | ,226 | ,103 | ,433 | 2,194 | ,038 |

a Variable dependiente: SEXO

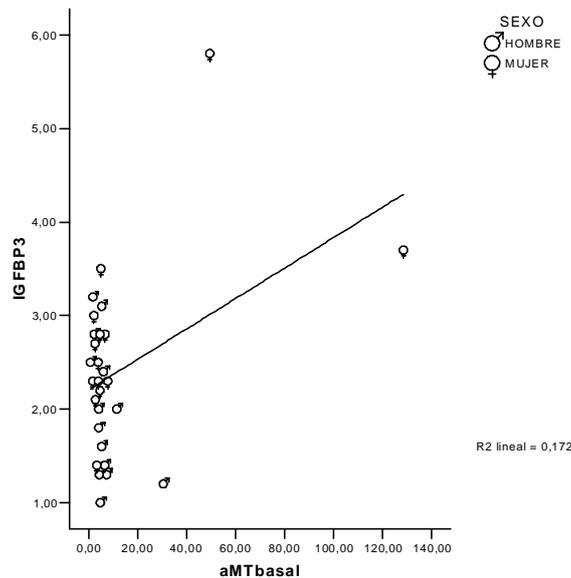
**Figura 4.13**

Tabla XLVI. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT 30 y aMT 90.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,353(a) | ,124 | ,071 | ,488 |

a Variables predictoras: (Constante), aMT90, aMT30

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | 1,117 | 2 | ,558 | 2,346 | ,112(a) |
| | Residual | 7,855 | 33 | ,238 | | |
| | Total | 8,972 | 35 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), aMT90, aMT30

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | | | |
| 1 | (Constante) | 1,309 | ,115 | | 11,360 | ,000 |
| | aMT30 | ,032 | ,035 | ,241 | ,912 | ,368 |
| | aMT90 | ,026 | ,052 | ,131 | ,496 | ,623 |

a Variable dependiente: SEXO

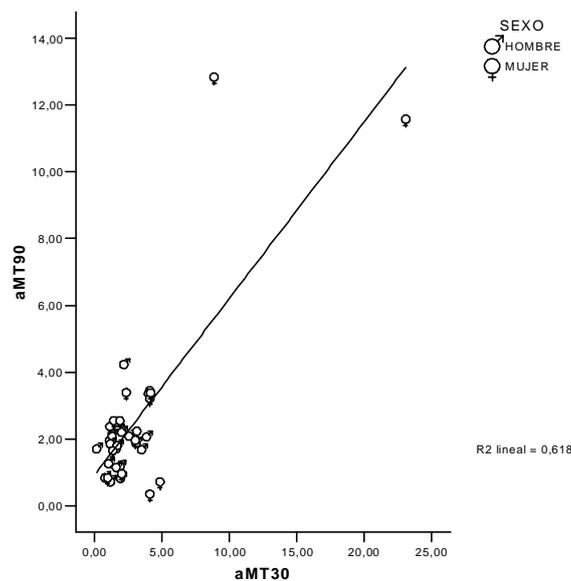
**Figura 4.14**

Tabla XLVII. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT e IGFBP3.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,439(a) | ,193 | ,128 | ,475 |

a Variables predictoras: (Constante), IGFBP3, aMT30

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | 1,350 | 2 | ,675 | 2,987 | ,069(a) |
| | Residual | 5,650 | 25 | ,226 | | |
| | Total | 7,000 | 27 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), IGFBP3, aMT30

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | ,940 | ,268 | | 3,509 | ,002 |
| | aMT30 | -,003 | ,030 | -,028 | -,115 | ,909 |
| | IGFBP3 | ,238 | ,127 | ,458 | 1,872 | ,073 |

a Variable dependiente: SEXO

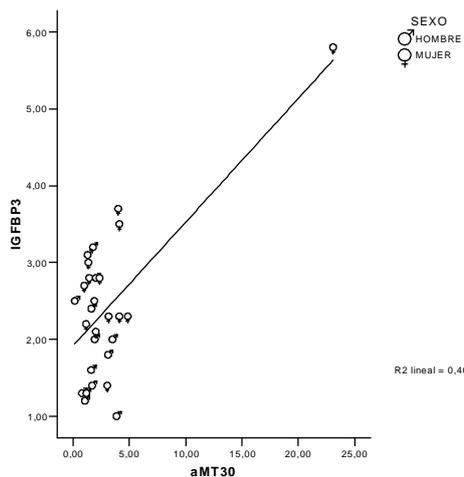


Figura 4.15

Tabla XLVIII. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT y aMT 120.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,347(a) | ,120 | ,067 | ,489 |

a Variables predictoras: (Constante), aMT120, aMT90

| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | 1,078 | 2 | ,539 | 2,253 | ,121(a) |
| | Residual | 7,894 | 33 | ,239 | | |
| | Total | 8,972 | 35 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), aMT120, aMT90

b Variable dependiente: SEXO

Coeficientes(a)

| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
|--------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
| | | B | Error típ. | | | |
| 1 | (Constante) | 1,281 | ,122 | | 10,539 | ,000 |
| | aMT90 | ,085 | ,042 | ,428 | 2,037 | ,050 |
| | aMT120 | -,002 | ,002 | -,171 | -,816 | ,421 |

a Variable dependiente: SEXO

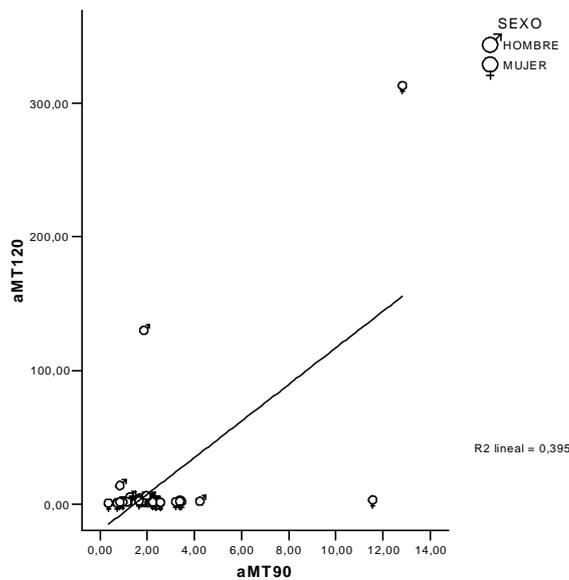


Figura 4.16

Tabla XLIX. Coeficiente de Regresión y Anova para las variables aMT 90 e IGFBP3.

| Modelo | R | R cuadrado | R cuadrado corregida | Error típ. de la estimación |
|--------|---------|------------|----------------------|-----------------------------|
| 1 | ,443(a) | ,196 | ,132 | ,474 |

a Variables predictoras: (Constante), IGFBP3, aMT90

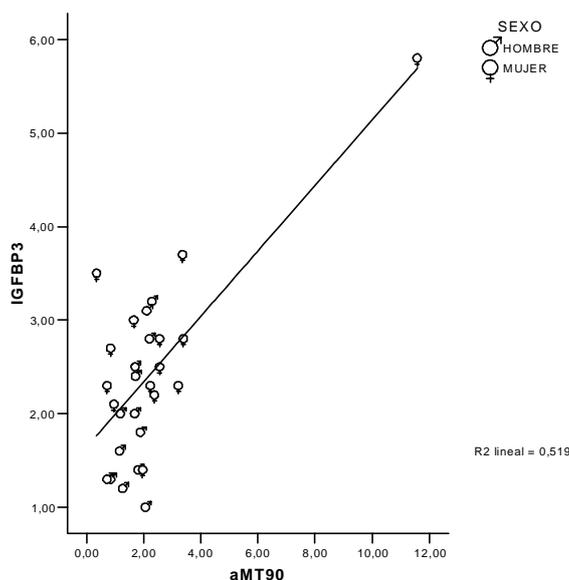
| ANOVA(b) | | | | | | |
|----------|-----------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Modelo | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| 1 | Regresión | 1,373 | 2 | ,687 | 3,051 | ,065(a) |
| | Residual | 5,627 | 25 | ,225 | | |
| | Total | 7,000 | 27 | | | |

a Variables predictoras: (Constante), IGFBP3, aMT90

b Variable dependiente: SEXO

| Coeficientes(a) | | | | | | |
|-----------------|-------------|--------------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|
| Modelo | | Coeficientes no estandarizados | | Coeficientes estandarizados | t | Sig. |
| | | B | Error típ. | Beta | | |
| 1 | (Constante) | ,923 | ,257 | | 3,585 | ,001 |
| | aMT90 | -,022 | ,065 | -,088 | -,340 | ,737 |
| | IGFBP3 | ,261 | ,135 | ,502 | 1,941 | ,064 |

a Variable dependiente: SEXO

**Figura 4.17**

4.3.1 Inferencia Estadística: análisis comparativo según diagnósticos.

Una vez observados los resultados que se obtienen de forma global en nuestra muestra con relación a las variables que nos hemos propuestos estudiar en los objetivos del presente proyecto de investigación, un segundo planteamiento es comprobar si existían diferencias en los resultados obtenidos, fundamentalmente referidas a las tasas plasmáticas de hormona de crecimiento y de melatonina, y su posible correlación, introduciendo como variable definitoria los diagnósticos de nuestros pacientes. En este sentido a continuación exponemos los resultados con este planteamiento, no obstante y teniendo en cuenta la “n” muestral, hemos escogido los diagnósticos en los que la realización de los tests estadísticos fueran adecuados a nuestro tamaño muestral. Así, hemos dividido nuestra muestra según los tres diagnósticos más frecuentes realizados en los pacientes objetos del test funcional: Déficit de hormona de crecimiento (DGH), Baja Talla Familiar (BTF) y Retraso Constitucional del Crecimiento y Desarrollo (RCCyD). Al igual que en el apartado anterior, hemos estructurado el desarrollo estadístico en los siguientes puntos:

1. Estadística descriptiva, frecuencias y mediadas de tendencia central de las variables estudiadas para cada uno de los grupos diagnósticos.
2. Comparación de Medias y Anova I para dos o más muestras.
3. Estudio de Correlación y Regresión.

Estadística básica: frecuencias y medidas de tendencia central.

En las Tablas L a LXIV, se muestran los valores referentes a las medidas de tendencia central, dispersión y distribución de las variables correspondientes al grupo de pacientes con Baja Talla Familiar (BTF), Retraso Constitucional del Crecimiento y Desarrollo (RCCyD) y déficit de hormona de crecimiento (DGH).

1) Grupo A: Baja Talla Familiar.

Tabla L. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para BTF.

| | | Sexo | Edad Cro | Edad Ósea | T Padre | T Madre | T Diana |
|-------------------------|----------|--------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| N | Válidos | 12 | 12 | 10 | 12 | 12 | 12 |
| | Perdidos | 27 | 27 | 29 | 27 | 27 | 27 |
| Media | | 1,50 | 10,167 | 8,200 | 167,2500 | 155,6833 | 162,0167 |
| Mediana | | 1,50 | 10,400 | 8,350 | 166,5000 | 156,4000 | 162,5000 |
| Moda | | 1(a) | 6,1(a) | 10,0 | 165,00(a) | 150,00(a) | 158,00(a) |
| Desv. típ. | | ,522 | 2,5850 | 2,9086 | 5,49587 | 4,66122 | 6,07855 |
| Varianza | | ,273 | 6,682 | 8,460 | 30,205 | 21,727 | 36,949 |
| Asimetría | | ,000 | -,037 | ,036 | -,233 | ,132 | -,321 |
| Error típ. de asimetría | | ,637 | ,637 | ,687 | ,637 | ,637 | ,637 |
| Curtosis | | -2,444 | -1,175 | -,865 | -,815 | -,911 | -,199 |
| Error típ. de curtosis | | 1,232 | 1,232 | 1,334 | 1,232 | 1,232 | 1,232 |
| Rango | | 1 | 8,0 | 9,0 | 17,00 | 14,60 | 20,50 |
| Mínimo | | 1 | 6,1 | 4,0 | 157,00 | 149,40 | 150,00 |
| Máximo | | 2 | 14,1 | 13,0 | 174,00 | 164,00 | 170,50 |
| Suma | | 18 | 122,0 | 82,0 | 2007,00 | 1868,20 | 1944,20 |

Tabla LI. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para BTF.

| | | Peso | Peso sds | Talla | Talla sds | V cto | V cto sds |
|-------------------------|----------|-----------|----------|-----------|-----------|--------|-----------|
| N | Válidos | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | Perdidos | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 |
| Media | | 26,69583 | -1,0075 | 125,3250 | -2,0400 | 4,108 | -1,5217 |
| Mediana | | 28,62500 | -1,0700 | 125,4000 | -2,0650 | 4,000 | -1,6650 |
| Moda | | 18,100(a) | -1,48(a) | 104,50(a) | -2,20(a) | 3,5(a) | -3,55(a) |
| Desv. típ. | | 6,562478 | ,38213 | 13,52379 | ,24365 | 1,0449 | 1,40392 |
| Varianza | | 43,066 | ,146 | 182,893 | ,059 | 1,092 | 1,971 |
| Asimetría | | -,040 | ,467 | ,073 | ,903 | ,912 | ,991 |
| Error típ. de asimetría | | ,637 | ,637 | ,637 | ,637 | ,637 | ,637 |
| Curtosis | | -1,623 | -,990 | -1,216 | 1,546 | 1,499 | 1,889 |
| Error típ. de curtosis | | 1,232 | 1,232 | 1,232 | 1,232 | 1,232 | 1,232 |
| Rango | | 17,600 | 1,12 | 42,20 | ,92 | 3,9 | 5,32 |
| Mínimo | | 18,100 | -1,48 | 104,50 | -2,40 | 2,6 | -3,55 |
| Máximo | | 35,700 | -,36 | 146,70 | -1,48 | 6,5 | 1,77 |
| Suma | | 320,350 | -12,09 | 1503,90 | -24,48 | 49,3 | -18,26 |

Tabla LII. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para BTF.

| N | Válidos | GHbasal | GH30 | GH60 | GH90 | GH120 |
|-------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | Perdidos | | | | | |
| Media | | 1,2000 | 7,2545 | 5,8273 | 6,2091 | 2,9273 |
| Mediana | | ,6000 | 3,0000 | 5,0000 | 4,1000 | 1,3000 |
| Moda | | ,20 | ,70 | ,60(a) | ,30(a) | 1,10 |
| Desv. típ. | | 1,74814 | 8,11139 | 3,74542 | 4,88886 | 2,62301 |
| Varianza | | 3,056 | 65,795 | 14,028 | 23,901 | 6,880 |
| Asimetría | | 2,445 | 1,151 | ,733 | ,597 | ,712 |
| Error típ. de asimetría | | ,661 | ,661 | ,661 | ,661 | ,661 |
| Curtosis | | 6,390 | -,165 | -,124 | -,957 | -,997 |
| Error típ. de curtosis | | 1,279 | 1,279 | 1,279 | 1,279 | 1,279 |
| Rango | | 5,90 | 22,70 | 12,50 | 14,30 | 7,60 |
| Mínimo | | ,10 | ,70 | ,60 | ,30 | ,10 |
| Máximo | | 6,00 | 23,40 | 13,10 | 14,60 | 7,70 |
| Suma | | 13,20 | 79,80 | 64,10 | 68,30 | 32,20 |

Tabla LIII. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para BTF.

| N | Válidos | aMTbasal | aMT30 | aMT60 | aMT90 | aMT120 |
|-------------------------|----------|----------|---------|---------|--------|----------|
| | Perdidos | | | | | |
| Media | | 3,3742 | 2,0658 | 1,9517 | 1,9900 | 12,7217 |
| Mediana | | 3,5800 | 1,9300 | 1,9000 | 1,9200 | 1,5900 |
| Moda | | ,71(a) | ,16(a) | 1,90 | ,82(a) | 1,05(a) |
| Desv. típ. | | 1,78812 | 1,13866 | 1,19205 | ,83881 | 36,96154 |
| Varianza | | 3,197 | 1,297 | 1,421 | ,704 | 1366,156 |
| Asimetría | | ,266 | ,236 | 1,042 | ,358 | 3,455 |
| Error típ. de asimetría | | ,637 | ,637 | ,637 | ,637 | ,637 |
| Curtosis | | -,442 | -,413 | 2,277 | -,297 | 11,952 |
| Error típ. de curtosis | | 1,232 | 1,232 | 1,232 | 1,232 | 1,232 |
| Rango | | 6,05 | 4,01 | 4,62 | 2,57 | 128,95 |
| Mínimo | | ,71 | ,16 | ,19 | ,82 | 1,05 |
| Máximo | | 6,76 | 4,17 | 4,81 | 3,39 | 130,00 |
| Suma | | 40,49 | 24,79 | 23,42 | 23,88 | 152,66 |

Tabla LIV. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para BTF.

| | | IGFI | IGFBP3 |
|-------------------------|----------|----------|--------|
| N | Válidos | 11 | 9 |
| | Perdidos | 28 | 30 |
| Media | | 140,1091 | 2,3778 |
| Mediana | | 142,8000 | 2,5000 |
| Moda | | 3,30(a) | 2,80 |
| Desv. típ. | | 81,80933 | ,55176 |
| Varianza | | 6692,767 | ,304 |
| Asimetría | | ,150 | -,593 |
| Error típ. de asimetría | | ,661 | ,717 |
| Curtosis | | -,302 | -,547 |
| Error típ. de curtosis | | 1,279 | 1,400 |
| Rango | | 281,10 | 1,70 |
| Mínimo | | 3,30 | 1,40 |
| Máximo | | 284,40 | 3,10 |
| Suma | | 1541,20 | 21,40 |

2) Grupo B: Retraso Constitucional del Crecimiento y Desarrollo.**Tabla LV. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para RCCyD.**

| | Sexo | Edadcro | Edadósea | Tpadre | Tmadre | Tdiana |
|-------------------------|----------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|
| N | Válidos | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 |
| | Perdidos | 32 | 32 | 32 | 33 | 33 |
| Media | 1,43 | 11,029 | 9,143 | 165,8333 | 157,9500 | 161,8833 |
| Mediana | 1,00 | 9,600 | 9,000 | 165,0000 | 157,5000 | 161,1500 |
| Moda | 1 | 9,2 | 6,0(a) | 162,00(a) | 150,00(a) | 150,00(a) |
| Desv. típ. | ,535 | 2,0950 | 2,2360 | 3,97073 | 6,32890 | 9,38305 |
| Varianza | ,286 | 4,389 | 5,000 | 15,767 | 40,055 | 88,042 |
| Asimetría | ,374 | ,461 | ,034 | ,731 | ,538 | ,356 |
| Error típ. de asimetría | ,794 | ,794 | ,794 | ,845 | ,845 | ,845 |
| Curtosis | -2,800 | -2,374 | -1,205 | -,676 | ,116 | -,617 |
| Error típ. de curtosis | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,741 | 1,741 | 1,741 |
| Rango | 1 | 4,7 | 6,3 | 10,00 | 18,00 | 26,00 |
| Mínimo | 1 | 9,2 | 6,0 | 162,00 | 150,00 | 150,00 |
| Máximo | 2 | 13,9 | 12,3 | 172,00 | 168,00 | 176,00 |
| Suma | 10 | 77,2 | 64,0 | 995,00 | 947,70 | 971,30 |

Tabla LVI. Medidas de tendencia central, dispersión y distribución para RCCyD.

| | | Peso | Pesosds | Talla | Tallasds | Vcto | Vctosds |
|-------------------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|--------|----------|
| N | Válidos | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | Perdidos | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 |
| Media | | 30,99286 | -,5871 | 130,8571 | -1,6771 | 3,486 | -2,0143 |
| Mediana | | 32,95000 | -1,3900 | 139,1000 | -2,0000 | 3,700 | -2,0600 |
| Moda | | 19,750(a) | -1,82(a) | 115,70(a) | -1,90 | 1,2(a) | -4,32(a) |
| Desv. típ. | | 10,890685 | 1,89159 | 12,33138 | 1,22977 | 1,1495 | 1,40338 |
| Varianza | | 118,607 | 3,578 | 152,063 | 1,512 | 1,321 | 1,969 |
| Asimetría | | ,428 | 2,260 | -,371 | 2,439 | -1,287 | ,104 |
| Error típ. de asimetría | | ,794 | ,794 | ,794 | ,794 | ,794 | ,794 |
| Curtosis | | -1,134 | 5,238 | -2,609 | 6,212 | 3,313 | 1,913 |
| Error típ. de curtosis | | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,587 |
| Rango | | 28,400 | 5,35 | 27,40 | 3,56 | 3,8 | 4,69 |
| Mínimo | | 19,750 | -1,82 | 115,70 | -2,50 | 1,2 | -4,32 |
| Máximo | | 48,150 | 3,53 | 143,10 | 1,06 | 5,0 | ,37 |
| Suma | | 216,950 | -4,11 | 916,00 | -11,74 | 24,4 | -14,10 |

Tabla LVII. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para RCCyD.

| | | GHbasal | GH30 | GH60 | GH90 | GH120 |
|-------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| N | Válidos | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 |
| | Perdidos | 32 | 32 | 32 | 32 | 33 |
| Media | | ,5571 | 5,3714 | 6,7857 | 3,3286 | 2,4833 |
| Mediana | | ,4000 | 5,5000 | 5,0000 | 3,2000 | 2,2500 |
| Moda | | ,10 | ,40 | 2,90(a) | 1,00(a) | ,30(a) |
| Desv. típ. | | ,55934 | 3,78537 | 5,32742 | 2,40119 | 1,95389 |
| Varianza | | ,313 | 14,329 | 28,381 | 5,766 | 3,818 |
| Asimetría | | 1,727 | -,435 | 1,874 | ,639 | 1,081 |
| Error típ. de asimetría | | ,794 | ,794 | ,794 | ,794 | ,845 |
| Curtosis | | 3,190 | -1,240 | 3,785 | -1,083 | 1,575 |
| Error típ. de curtosis | | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,741 |
| Rango | | 1,60 | 9,70 | 15,00 | 6,10 | 5,60 |
| Mínimo | | ,10 | ,40 | 2,90 | 1,00 | ,30 |
| Máximo | | 1,70 | 10,10 | 17,90 | 7,10 | 5,90 |
| Suma | | 3,90 | 37,60 | 47,50 | 23,30 | 14,90 |

Tabla LVIII. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para RCCyD.

| N | Válidos | aMTbasal | aMT30 | aMT60 | aMT90 | aMT120 |
|-------------------------|----------|----------|---------|--------|---------|---------|
| | Perdidos | | | | | |
| | | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 |
| Media | | 3,9029 | 2,8143 | 1,7414 | 2,0271 | 2,2129 |
| Mediana | | 4,6600 | 2,5700 | 1,9600 | 2,0800 | 1,5500 |
| Moda | | 1,69(a) | 1,78(a) | ,19(a) | ,35(a) | 1,55 |
| Desv. típ. | | 1,84731 | ,91700 | ,92238 | 1,21882 | 1,30931 |
| Varianza | | 3,413 | ,841 | ,851 | 1,486 | 1,714 |
| Asimetría | | -,002 | ,472 | -,507 | ,616 | ,977 |
| Error típ. de asimetría | | ,794 | ,794 | ,794 | ,794 | ,794 |
| Curtosis | | -1,400 | -1,577 | ,160 | 1,528 | -,360 |
| Error típ. de curtosis | | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,587 | 1,587 |
| Rango | | 4,89 | 2,34 | 2,80 | 3,88 | 3,61 |
| Mínimo | | 1,69 | 1,78 | ,19 | ,35 | ,79 |
| Máximo | | 6,58 | 4,12 | 2,99 | 4,23 | 4,40 |
| Suma | | 27,32 | 19,70 | 12,19 | 14,19 | 15,49 |

Tabla LIX. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para RCCyD.

| N | Válidos Perdidos | IGFI | IGFBP3 |
|-------------------------|---------------------|----------|---------|
| | | | |
| | | 6 | 5 |
| | | 33 | 34 |
| Media | | 116,1167 | 2,4200 |
| Mediana | | 141,4000 | 2,3000 |
| Moda | | 6,00(a) | 1,00(a) |
| Desv. típ. | | 62,00272 | ,98843 |
| Varianza | | 3844,338 | ,977 |
| Asimetría | | -1,380 | -,502 |
| Error típ. de asimetría | | ,845 | ,913 |
| Curtosis | | 1,453 | -,395 |
| Error típ. de curtosis | | 1,741 | 2,000 |
| Rango | | 169,00 | 2,50 |
| Mínimo | | 6,00 | 1,00 |
| Máximo | | 175,00 | 3,50 |
| Suma | | 696,70 | 12,10 |

3) Grupo C: Déficit de Hormona de Crecimiento.

Tabla LX. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para DGH.

| | | Sexo | Edadcro | Edadosea | Tpadre | Tmadre | Tdiana |
|-------------------------|----------|--------|---------|----------|-----------|-----------|----------|
| N | Válidos | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 |
| | Perdidos | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Media | | 1,53 | 10,595 | 8,434 | 167,6842 | 156,0263 | 161,5395 |
| Mediana | | 2,00 | 11,200 | 9,000 | 168,0000 | 157,3000 | 160,0000 |
| Moda | | 2 | 11,2(a) | 10,0 | 168,00(a) | 150,00(a) | 168,00 |
| Desv. típ. | | ,513 | 1,8173 | 2,2694 | 6,05349 | 6,26718 | 7,57152 |
| Varianza | | ,263 | 3,303 | 5,150 | 36,645 | 39,278 | 57,328 |
| Asimetría | | -,115 | -,602 | -,520 | ,007 | -1,718 | -,025 |
| Error típ. de asimetría | | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 |
| Curtosis | | -2,235 | -,743 | -,724 | -,529 | 4,407 | -,882 |
| Error típ. de curtosis | | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 |
| Rango | | 1 | 5,8 | 8,0 | 22,50 | 28,50 | 27,30 |
| Mínimo | | 1 | 7,2 | 4,0 | 157,50 | 136,50 | 147,70 |
| Máximo | | 2 | 13,0 | 12,0 | 180,00 | 165,00 | 175,00 |
| Suma | | 29 | 201,3 | 160,3 | 3186,00 | 2964,50 | 3069,25 |

Tabla LXI. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para DGH.

| | | Peso | Pesosds | Talla | Tallasds | Vcto | Vctosds |
|-------------------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-------|----------|
| N | Válidos | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 |
| | Perdidos | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Media | | 27,80263 | -1,0732 | 127,0579 | -2,2163 | 3,942 | -2,1305 |
| Mediana | | 26,55000 | -1,3000 | 131,0000 | -2,2000 | 4,000 | -2,2000 |
| Moda | | 17,200(a) | -2,12(a) | 110,10(a) | -2,50(a) | 4,4 | -3,38(a) |
| Desv. típ. | | 9,416482 | 1,00731 | 9,00940 | ,39401 | ,5621 | ,83344 |
| Varianza | | 88,670 | 1,015 | 81,169 | ,155 | ,316 | ,695 |
| Asimetría | | 1,455 | 2,079 | -,654 | -,869 | -,589 | ,745 |
| Error típ. de asimetría | | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 |
| Curtosis | | 2,432 | 5,538 | -,804 | ,951 | ,157 | ,648 |
| Error típ. de curtosis | | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 |
| Rango | | 37,400 | 4,31 | 29,60 | 1,52 | 2,2 | 3,36 |
| Mínimo | | 17,200 | -2,12 | 110,10 | -3,20 | 2,6 | -3,38 |
| Máximo | | 54,600 | 2,19 | 139,70 | -1,68 | 4,8 | -,02 |
| Suma | | 528,250 | -20,39 | 2414,10 | -42,11 | 74,9 | -40,48 |

Tabla LXII. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para DGH.

| | | GHbasal | GH30 | GH60 | GH90 | GH120 |
|-------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| N | Válidos | 18 | 19 | 19 | 19 | 18 |
| | Perdidos | 21 | 20 | 20 | 20 | 21 |
| Media | | ,9444 | 5,1321 | 4,5737 | 3,0158 | 1,4072 |
| Mediana | | ,2000 | 3,6000 | 5,1000 | 1,7000 | ,6000 |
| Moda | | ,20 | ,01(a) | 5,10 | 1,10 | ,60 |
| Desv. típ. | | 1,34524 | 4,46492 | 2,51746 | 2,44819 | 2,20222 |
| Varianza | | 1,810 | 19,935 | 6,338 | 5,994 | 4,850 |
| Asimetría | | 2,117 | ,620 | ,404 | ,740 | 2,430 |
| Error típ. de asimetría | | ,536 | ,524 | ,524 | ,524 | ,536 |
| Curtosis | | 4,615 | -,776 | ,462 | -,566 | 5,181 |
| Error típ. de curtosis | | 1,038 | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,038 |
| Rango | | 5,00 | 14,19 | 10,00 | 8,20 | 7,87 |
| Mínimo | | ,10 | ,01 | ,50 | ,30 | ,03 |
| Máximo | | 5,10 | 14,20 | 10,50 | 8,50 | 7,90 |
| Suma | | 17,00 | 97,51 | 86,90 | 57,30 | 25,33 |

Tabla LXIII. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para DGH.

| | | aMTbasal | aMT30 | aMT60 | aMT90 | aMT120 |
|-------------------------|----------|----------|---------|---------|---------|----------|
| N | Válidos | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 |
| | Perdidos | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Media | | 15,7353 | 3,7463 | 1,9847 | 2,9989 | 19,4711 |
| Mediana | | 5,3800 | 1,9000 | 1,8400 | 1,9500 | 2,4600 |
| Moda | | 2,18(a) | ,80(a) | 1,80 | ,72 | ,79(a) |
| Desv. típ. | | 29,71851 | 5,07347 | 1,09959 | 3,35041 | 71,19351 |
| Varianza | | 883,190 | 25,740 | 1,209 | 11,225 | 5068,516 |
| Asimetría | | 3,450 | 3,430 | 1,848 | 2,514 | 4,346 |
| Error típ. de asimetría | | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 | ,524 |
| Curtosis | | 12,731 | 12,918 | 5,533 | 5,573 | 18,920 |
| Error típ. de curtosis | | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 | 1,014 |
| Rango | | 126,42 | 22,28 | 5,00 | 12,11 | 312,41 |
| Mínimo | | 2,18 | ,80 | ,55 | ,72 | ,79 |
| Máximo | | 128,60 | 23,08 | 5,55 | 12,83 | 313,20 |
| Suma | | 298,97 | 71,18 | 37,71 | 56,98 | 369,95 |

Tabla LXIV. Medidas de Tendencia Central, Dispersión y Distribución para DGH.

| | | IGFI | IGFBP3 |
|-------------------------|----------|----------|---------|
| N | Válidos | 19 | 16 |
| | Perdidos | 20 | 23 |
| Media | | 117,7579 | 2,3250 |
| Mediana | | 120,7000 | 2,2500 |
| Moda | | 3,60(a) | 1,30(a) |
| Desv. típ. | | 71,76534 | 1,16648 |
| Varianza | | 5150,264 | 1,361 |
| Asimetría | | ,206 | 1,892 |
| Error típ. de asimetría | | ,524 | ,564 |
| Curtosis | | -,995 | 4,644 |
| Error típ. de curtosis | | 1,014 | 1,091 |
| Rango | | 242,40 | 4,60 |
| Mínimo | | 3,60 | 1,20 |
| Máximo | | 246,00 | 5,80 |
| Suma | | 2237,40 | 37,20 |

4.3.1.1 Inferencia Estadística. Análisis Comparativo de Medias (Anova I).

Una vez obtenidos los valores estadísticos más elementales que nos definen una muestra, hemos desarrollado el estudio estadístico con el objetivo de averiguar si existían diferencias significativas entre los distintos valores medios de las variables objeto de la hipótesis de trabajo (tasas de hormona de crecimiento y melatonina) del presente proyecto de investigación. Debemos considerar que dadas las características clínicas de los pacientes sobre los que estamos desarrollando nuestra labor, el número total de la muestra obtenida no es el deseado, circunstancia que se compensa por la mayor exigencia en el desarrollo de los distintos tests estadísticos.

La primera aplicación matemática que establecimos sobre nuestra muestra fue la comparación de medias para muestras independientes entre los tres grupos diagnósticos, para lo que aplicamos una Análisis de la varianza de una vía (Anova I). Los resultados obtenidos fueron los que exponemos en la Tabla LXV a la Tabla LXXVI y gráficos 4.18 a 4.26 correspondientes, donde podemos observar que no existen diferencias estadísticamente significativas prácticamente en ninguna de las comparaciones exceptuando las tasas plasmáticas de hormona de crecimiento (GH), entre los pacientes con BTF y RCC yD, con una $p < 0,02$. No obstante representaremos todos los valores obtenidos así como sus gráficas correspondientes, realizando las consideraciones oportunas en el capítulo correspondiente.

Tabla LXV. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Hormona de Crecimiento Basal (GHb).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | ,788 | 2 | ,394 | ,198 | ,821 | |
| Intra-grupos | 61,627 | 31 | 1,988 | | | |
| Total | 62,414 | 33 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,462 | 2 | 17,513 | ,637 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|----------------------------|--------------|------|-------------------------------|-----------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | ,45667 | ,72810 | ,806 | -1,3353 | 2,2486 |
| | DGH | ,14556 | ,55609 | ,963 | -1,2231 | 1,5142 |
| RCCyD | BTF | -,45667 | ,72810 | ,806 | -2,2486 | 1,3353 |
| | DGH | -,31111 | ,66466 | ,887 | -1,9470 | 1,3247 |
| DGH | BTF | -,14556 | ,55609 | ,963 | -1,5142 | 1,2231 |
| | RCCyD | ,31111 | ,66466 | ,887 | -1,3247 | 1,9470 |

Tabla LXVI. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Hormona de Crecimiento 30 minutos (GH30).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 31,040 | 2 | 15,520 | ,450 | ,641 | |
| Intra-grupos | 1102,700 | 32 | 34,459 | | | |
| Total | 1133,740 | 34 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,260 | 2 | 12,575 | ,775 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|----------------------------|--------------|------|-------------------------------|-----------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | 1,87000 | 3,03136 | ,812 | -5,5792 | 9,3192 |
| | DGH | 2,13789 | 2,29338 | ,624 | -3,4978 | 7,7736 |
| RCCyD | BTF | -1,87000 | 3,03136 | ,812 | -9,3192 | 5,5792 |
| | DGH | ,26789 | 2,74898 | ,995 | -6,4874 | 7,0232 |
| DGH | BTF | -2,13789 | 2,29338 | ,624 | -7,7736 | 3,4978 |
| | RCCyD | -,26789 | 2,74898 | ,995 | -7,0232 | 6,4874 |

Tabla LXVII. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Hormona de Crecimiento 60 minutos (GH 60).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|-------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 32,465 | 2 | 16,232 | 1,236 | ,304 | |
| Intra-grupos | 420,345 | 32 | 13,136 | | | |
| Total | 452,810 | 34 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,855 | 2 | 10,217 | ,454 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|------|----------------------------------|--------------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | -1,18333 | 1,87160 | ,804 | -5,7825 | 3,4159 |
| | DGH | 1,32632 | 1,41596 | ,621 | -2,1532 | 4,8058 |
| RCCyD | BTF | 1,18333 | 1,87160 | ,804 | -3,4159 | 5,7825 |
| | DGH | 2,50965 | 1,69725 | ,314 | -1,6611 | 6,6804 |
| DGH | BTF | -1,32632 | 1,41596 | ,621 | -4,8058 | 2,1532 |
| | RCCyD | -2,50965 | 1,69725 | ,314 | -6,6804 | 1,6611 |

Tabla LXVIII. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Hormona de Crecimiento 90 minutos (GH 90).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|-------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 95,135 | 2 | 47,568 | 4,317 | ,022 | |
| Intra-grupos | 352,615 | 32 | 11,019 | | | |
| Total | 447,750 | 34 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | 2,461 | 2 | 11,843 | ,128 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|------|----------------------------------|--------------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | 3,45333 | 1,71419 | ,125 | -,7591 | 7,6657 |
| | DGH | 3,70421(*) | 1,29687 | ,020 | ,5173 | 6,8911 |
| RCCyD | BTF | -3,45333 | 1,71419 | ,125 | -7,6657 | ,7591 |
| | DGH | ,25088 | 1,55451 | ,986 | -3,5691 | 4,0709 |
| DGH | BTF | -3,70421(*) | 1,29687 | ,020 | -6,8911 | -,5173 |
| | RCCyD | -,25088 | 1,55451 | ,986 | -4,0709 | 3,5691 |

Tabla LXIX Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Hormona de Crecimiento 120 minutos (GH 120).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|-------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 21,991 | 2 | 10,995 | 2,035 | ,148 | |
| Intra-grupos | 162,082 | 30 | 5,403 | | | |
| Total | 184,073 | 32 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|-----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico (a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | 1,838 | 2 | 11,044 | ,205 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|-----------------|----------------------------|--------------|------|-------------------------------|-----------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | ,40000 | 1,27311 | ,947 | -2,7386 | 3,5386 |
| | DGH | 1,75278 | ,91675 | ,153 | -,5073 | 4,0128 |
| RCCyD | BTF | -,40000 | 1,27311 | ,947 | -3,5386 | 2,7386 |
| | DGH | 1,35278 | 1,17503 | ,491 | -1,5440 | 4,2495 |
| DGH | BTF | -1,75278 | ,91675 | ,153 | -4,0128 | ,5073 |
| | RCCyD | -1,35278 | 1,17503 | ,491 | -4,2495 | 1,5440 |

Tabla LXX. Resultados de la realización de ANOVA I, para la variable Melatonina Basal (aMT b).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|-------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 1304,368 | 2 | 652,184 | 1,350 | ,273 | |
| Intra-grupos | 15947,345 | 33 | 483,253 | | | |
| Total | 17251,714 | 35 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | 1,967 | 2 | 18,431 | ,168 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|-----------------|----------------------------|--------------|------|-------------------------------|-----------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | -,89530 | 11,15680 | ,996 | -28,2718 | 26,4812 |
| | DGH | -12,35890 | 8,32865 | ,311 | -32,7957 | 8,0779 |
| RCCyD | BTF | ,89530 | 11,15680 | ,996 | -26,4812 | 28,2718 |
| | DGH | -11,46360 | 10,29449 | ,513 | -36,7242 | 13,7970 |
| DGH | BTF | 12,35890 | 8,32865 | ,311 | -8,0779 | 32,7957 |
| | RCCyD | 11,46360 | 10,29449 | ,513 | -13,7970 | 36,7242 |

Tabla LXXI. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Melatonina 30 minutos (aMT 30).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 22,378 | 2 | 11,189 | ,767 | ,473 | |
| Intra-grupos | 481,462 | 33 | 14,590 | | | |
| Total | 503,840 | 35 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | 1,739 | 2 | 18,779 | ,203 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|----------------------------------|-----------------|------|----------------------------------|--------------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | -,78106 | 1,93855 | ,915 | -5,5379 | 3,9757 |
| | DGH | -1,76904 | 1,44714 | ,449 | -5,3200 | 1,7819 |
| RCCyD | BTF | ,78106 | 1,93855 | ,915 | -3,9757 | 5,5379 |
| | DGH | -,98798 | 1,78872 | ,846 | -5,3771 | 3,4012 |
| DGH | BTF | 1,76904 | 1,44714 | ,449 | -1,7819 | 5,3200 |
| | RCCyD | ,98798 | 1,78872 | ,846 | -3,4012 | 5,3771 |

Tabla LXXII. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Melatonina 60 minutos (aMT 60).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | ,001 | 2 | ,001 | ,001 | ,999 | |
| Intra-grupos | 39,448 | 33 | 1,195 | | | |
| Total | 39,450 | 35 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,001 | 2 | 16,385 | ,999 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|-------|----------------------------------|--------------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | -,00545 | ,55489 | 1,000 | -1,3671 | 1,3561 |
| | DGH | ,00981 | ,41423 | 1,000 | -1,0066 | 1,0263 |
| RCCyD | BTF | ,00545 | ,55489 | 1,000 | -1,3561 | 1,3671 |
| | DGH | ,01526 | ,51201 | 1,000 | -1,2411 | 1,2716 |
| DGH | BTF | -,00981 | ,41423 | 1,000 | -1,0263 | 1,0066 |
| | RCCyD | -,01526 | ,51201 | 1,000 | -1,2716 | 1,2411 |

Tabla LXXIII. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Melatonina 90 minutos (aMT 90).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 9,080 | 2 | 4,540 | ,685 | ,511 | |
| Intra-grupos | 218,659 | 33 | 6,626 | | | |
| Total | 227,739 | 35 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,746 | 2 | 14,098 | ,492 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|----------------------------|--------------|-------|-------------------------------|-----------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | -,00061 | 1,30641 | 1,000 | -3,2063 | 3,2051 |
| | DGH | -1,00622 | ,97525 | ,562 | -3,3993 | 1,3868 |
| RCCyD | BTF | ,00061 | 1,30641 | 1,000 | -3,2051 | 3,2063 |
| | DGH | -1,00561 | 1,20544 | ,685 | -3,9635 | 1,9523 |
| DGH | BTF | 1,00622 | ,97525 | ,562 | -1,3868 | 3,3993 |
| | RCCyD | 1,00561 | 1,20544 | ,685 | -1,9523 | 3,9635 |

Tabla LXXIV. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variables Melatonina 120 minutos (aMT 120).

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 1372,892 | 2 | 686,446 | ,213 | ,809 | |
| Intra-grupos | 106225,513 | 33 | 3218,955 | | | |
| Total | 107598,405 | 35 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,954 | 2 | 17,210 | ,405 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|----------------------------|--------------|------|-------------------------------|-----------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | 10,98394 | 28,79453 | ,923 | -59,6719 | 81,6398 |
| | DGH | -6,16378 | 21,49537 | ,956 | -58,9090 | 46,5814 |
| RCCyD | BTF | -10,98394 | 28,79453 | ,923 | -81,6398 | 59,6719 |
| | DGH | -17,14772 | 26,56899 | ,796 | -82,3426 | 48,0471 |
| DGH | BTF | 6,16378 | 21,49537 | ,956 | -46,5814 | 58,9090 |
| | RCCyD | 17,14772 | 26,56899 | ,796 | -48,0471 | 82,3426 |

Tabla LXXV. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variable IGF-I.

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | 5812,499 | 2 | 2906,250 | ,512 | ,604 | |
| Intra-grupos | 175859,530 | 31 | 5672,888 | | | |
| Total | 181672,030 | 33 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|--------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,427 | 2 | 10,877 | ,663 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|------|----------------------------------|--------------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | 33,74000 | 41,25368 | ,695 | -67,7931 | 135,2731 |
| | DGH | 26,76211 | 29,42553 | ,638 | -45,6597 | 99,1839 |
| RCCyD | BTF | -33,74000 | 41,25368 | ,695 | -135,2731 | 67,7931 |
| | DGH | -6,97789 | 37,85698 | ,981 | -100,1511 | 86,1953 |
| DGH | BTF | -26,76211 | 29,42553 | ,638 | -99,1839 | 45,6597 |
| | RCCyD | 6,97789 | 37,85698 | ,981 | -86,1953 | 100,1511 |

Tabla LXXVI. Resultados de la realización de ANOVA I, para las variable IGFBP3.

| ANOVA | | | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------------|------|------|--|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | |
| Inter-grupos | ,179 | 2 | ,089 | ,087 | ,917 | |
| Intra-grupos | 25,660 | 25 | 1,026 | | | |
| Total | 25,839 | 27 | | | | |

| Pruebas robustas de igualdad de las medias | | | | |
|--|----------------|-----|-------|------|
| | Estadístico(a) | gl1 | gl2 | Sig. |
| Welch | ,129 | 2 | 7,635 | ,881 |

| Comparaciones múltiples | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|------|----------------------------------|--------------------|
| (I) Diagnóstico | (J) Diagnóstico | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig. | Intervalo de confianza al 95% | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| BTF | RCCyD | ,05000 | ,62040 | ,996 | -1,4953 | 1,5953 |
| | DGH | ,17500 | ,43869 | ,916 | -,9177 | 1,2677 |
| RCCyD | BTF | -,05000 | ,62040 | ,996 | -1,5953 | 1,4953 |
| | DGH | ,12500 | ,56635 | ,974 | -1,2857 | 1,5357 |
| DGH | BTF | -,17500 | ,43869 | ,916 | -1,2677 | ,9177 |
| | RCCyD | -,12500 | ,56635 | ,974 | -1,5357 | 1,2857 |

Expresados en las tablas anteriores los resultados, exponemos a continuación los gráficos correspondientes, en los que podemos observar que si bien es cierto que no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas con relación a las variables estudiados, podemos ver, cómo existe una tendencia inversa en el tiempo en la evolución de las tasas plasmáticas de melatonina vs hormona de crecimiento, en el sentido de que conforme desciende el estímulo hipoglucémico disminuye como era esperado las tasas plasmáticas de hormona de crecimiento y aumentan las de melatonina, circunstancia que razonaremos en el capítulo de discusión.

Expresados en las tablas anteriores los resultados, exponemos a continuación los gráficos correspondientes, en los que podemos observar que si bien es cierto que no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas con relación a las variables estudiados, podemos ver, cómo existe una tendencia inversa en el tiempo en la evolución de las tasas plasmáticas de melatonina vs hormona de crecimiento, en el sentido de que conforme desciende el estímulo hipoglucémico disminuye como era esperado las tasas plasmáticas de hormona de crecimiento y aumentan las de melatonina, circunstancia que razonaremos en el capítulo de discusión.

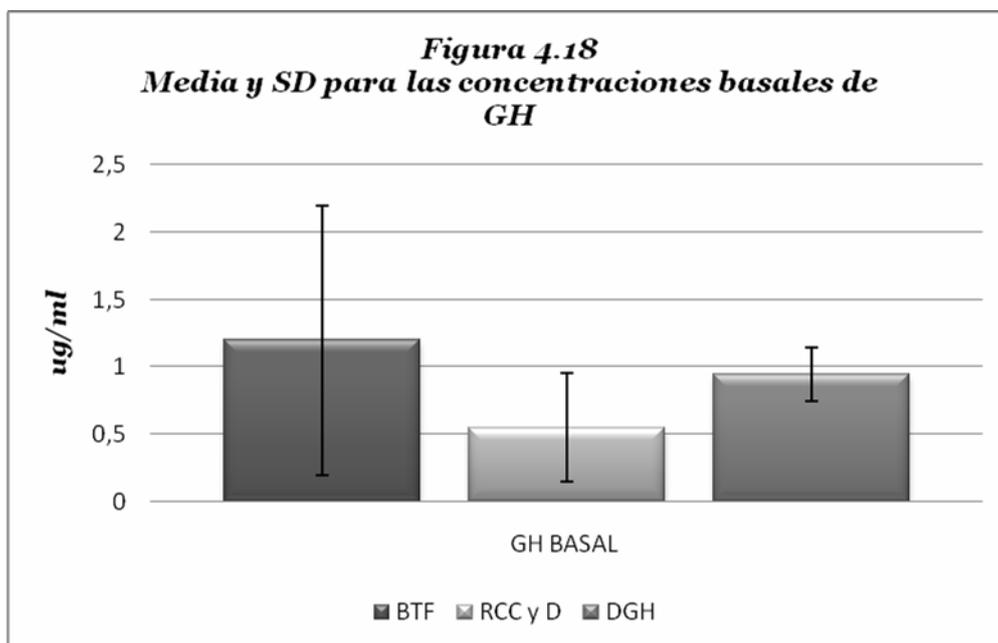


Figura 4.18. Al comparar las concentraciones basales en los tres grupos de estudio comprobamos como las comparaciones de dichos valores no arrojaron valores significativos.

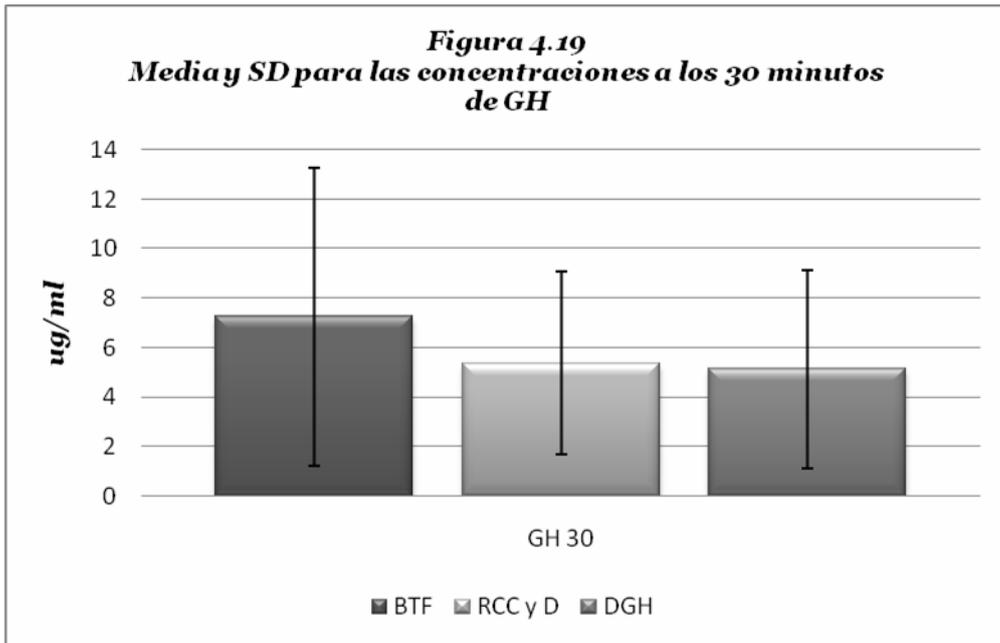


Figura 4.19. Al comparar las concentraciones de GH a los 30 minutos en los tres Grupos de estudio pudimos comprobar como las comparaciones entre dichos valores no arrojaron valores significativos.

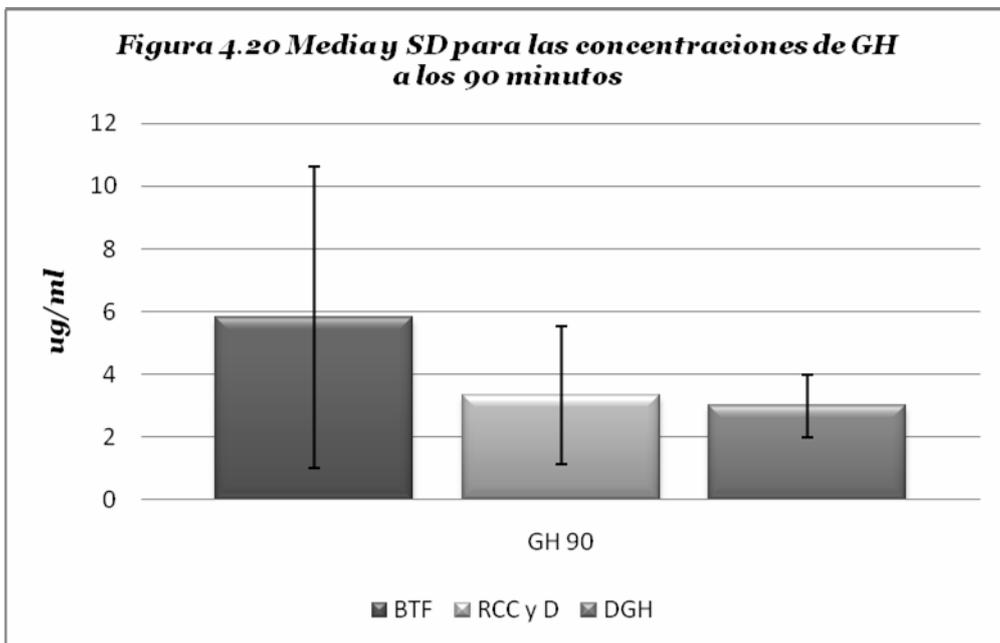


Figura 4.20. Al comparar las concentraciones de GH a los 90 minutos de iniciado el estímulo hipoglucémico, pudimos comprobar diferencias estadísticamente significativas, entre los pacientes con Baja Talla Familiar y aquellos con Déficit de Hormona de Crecimiento con un valor de $p < 0,02$.

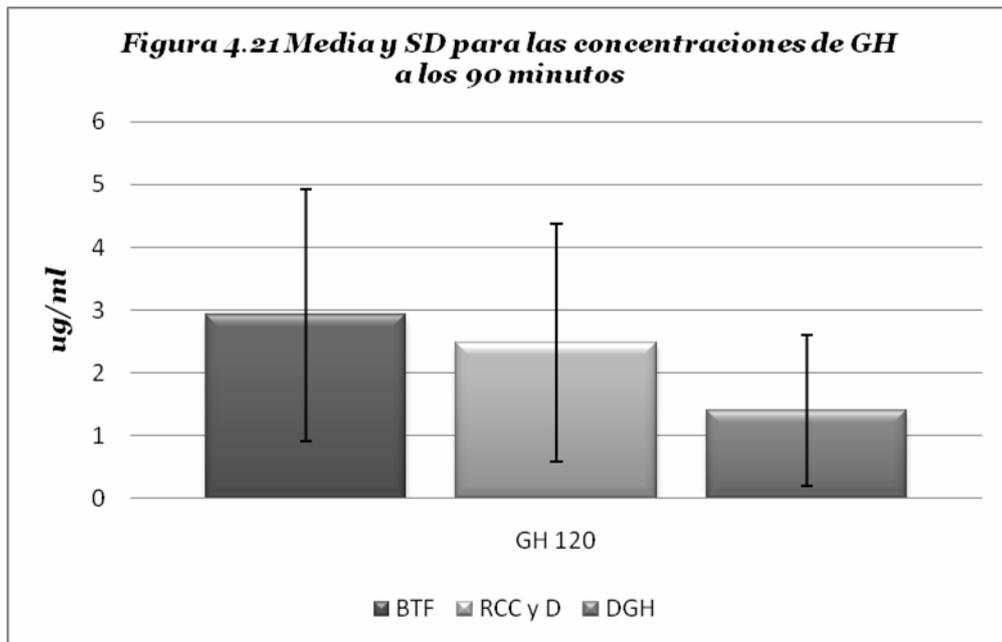


Figura 4.21. Al comparar las concentraciones de GH a los 120 minutos de iniciado el estímulo hipoglucémico, pudimos comprobar diferencias estadísticamente significativas, entre los pacientes con Baja Talla Familiar y aquellos con Déficit de Hormona de Crecimiento con un valor de $p < 0,01$.

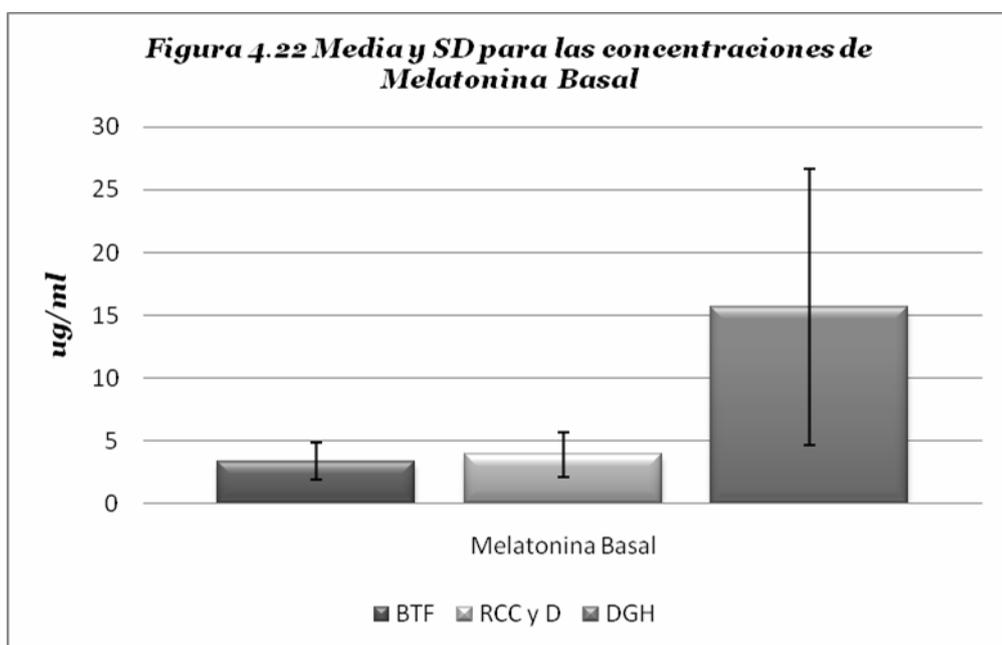


Figura 4.22 Como se aprecia en la figura, existen diferencias aparentes en las concentraciones de melatonina en los pacientes con Déficit de Hormona de Crecimiento, respecto a los grupos con Baja Talla Familiar y retraso constitucional del crecimiento y desarrollo, probablemente la exigencia del test ha hecho que no se ofrezcan valores estadísticamente significativos.

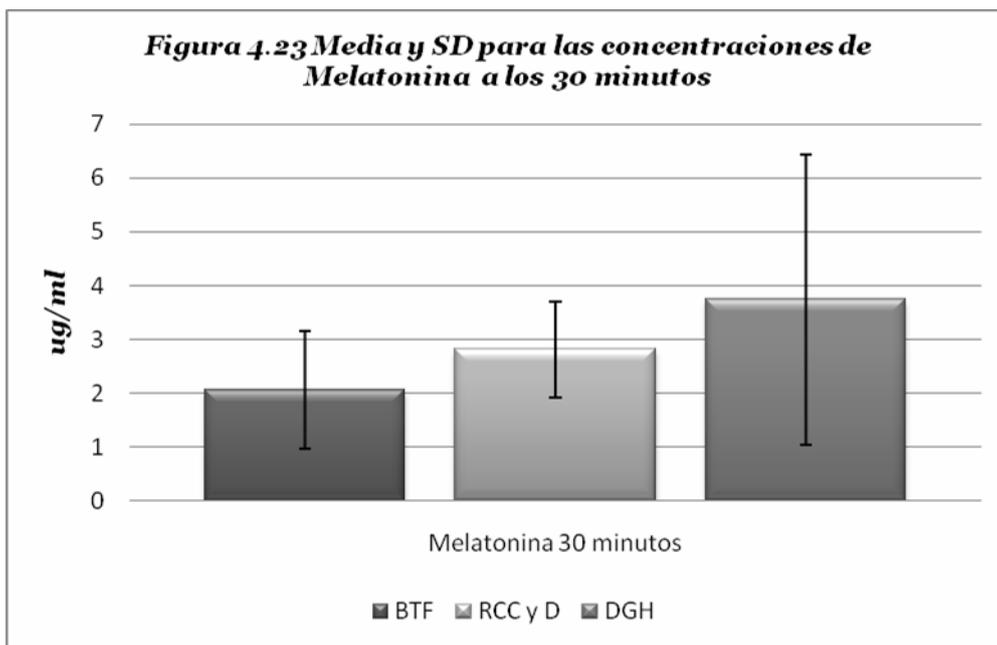


Figura 4.23 En esta ocasión, tampoco encontramos en nuestra muestra elevaciones significativas de las concentraciones de melatonina entre los tres grupos, aunque podemos observar una tendencia ascendente en el grupo de pacientes con Déficit de Hormona de Crecimiento.

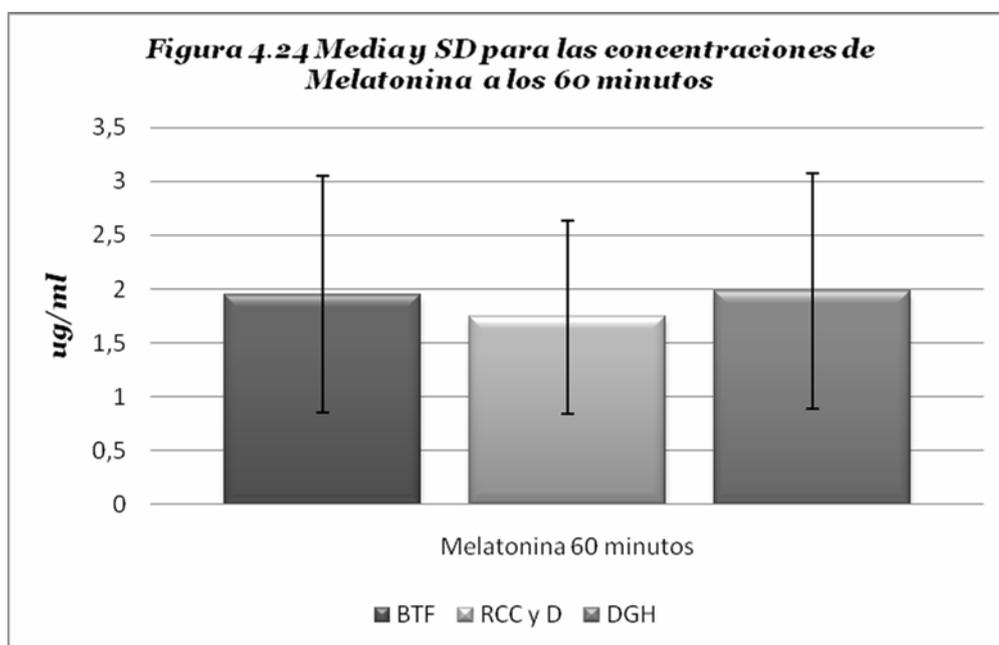


Figura 4.24 No encontramos en nuestra muestra elevaciones significativas de las concentraciones de melatonina entre los tres grupos, en este momento de extracción de la muestra tras el estímulo hipoglucémico.

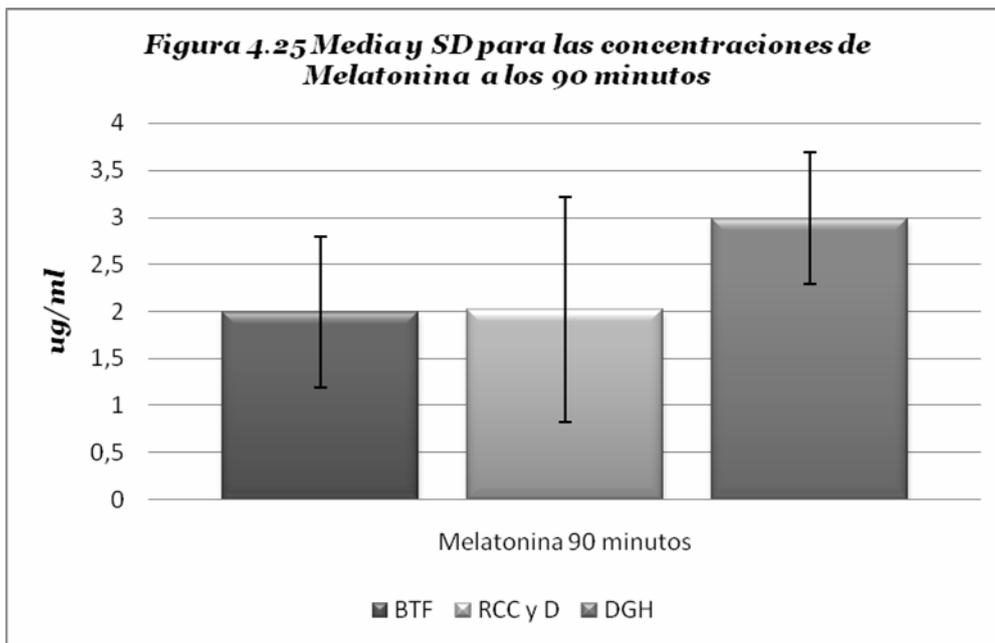


Figura 4.25 No encontramos elevaciones significativas de las concentraciones de melatonina entre los tres grupos, en las muestras correspondientes a los 90 minutos, pero si podemos observar una tendencia ascendente más evidentes.

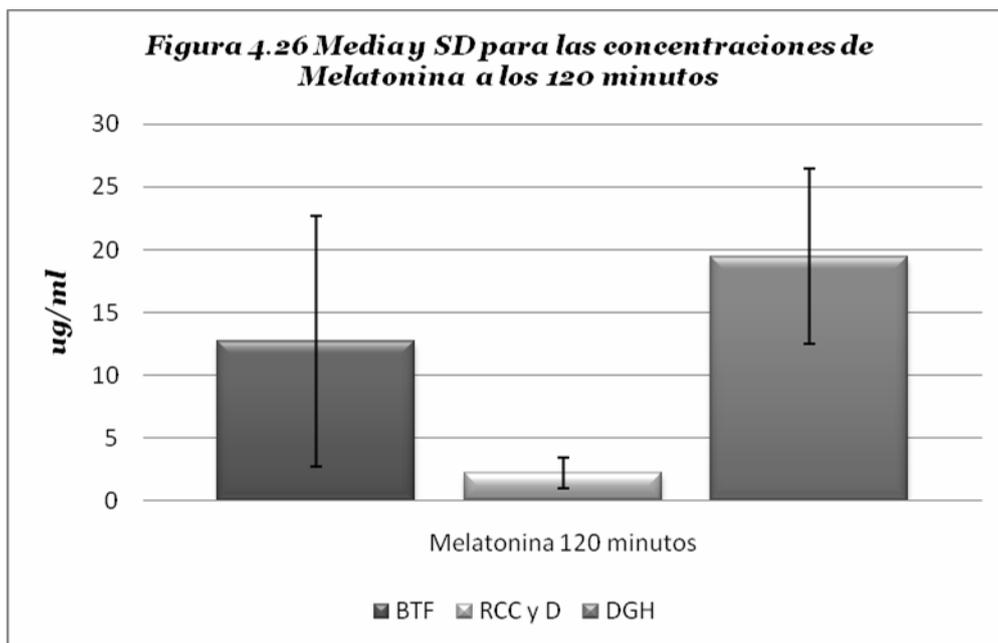


Figura 4.26 En esta ocasión se puede apreciar una diferencia evidente en la concentración de melatonina a los 120 minutos, siendo mayor en los pacientes con déficit de Hormona de Crecimiento, con $p < 0,02$.

A continuación vamos a exponer los datos obtenidos al correlacionar las tasas plasmáticas de melatonina y hormona de crecimiento, fundamentalmente para el grupo de pacientes con déficit de hormona de crecimiento. Como hemos podido comprobar anteriormente existe diferencia entre las tasas plasmáticas de melatonina y hormona de crecimiento para los tres grupos de estudio, pero con una significación débil y sólo para el caso reflejado en la figura 4.26. Como hemos comentado en la introducción y más adelante en la discusión, así como en trabajos anteriores de nuestro grupo de investigación, podemos presuponer una relación inversa, entre tasas plasmáticas de melatonina y de hormona de crecimiento, circunstancia que pudimos observar de manera fehaciente, al correlacionar ambas variables, como se aprecia en las figuras que siguen a continuación.

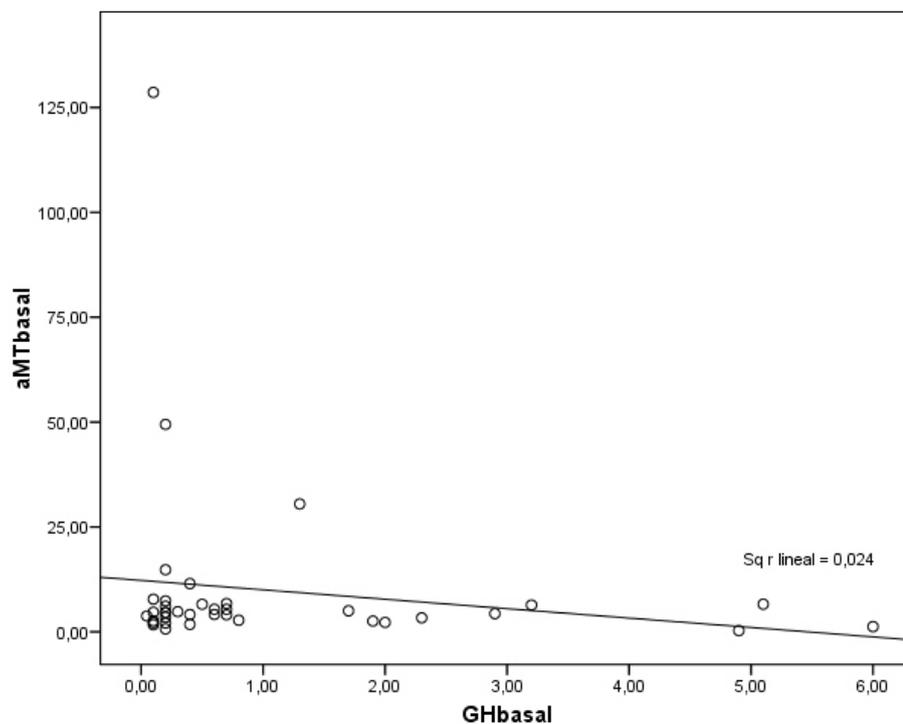


Figura 4.27 Cuando hemos estudiado las relaciones existentes entre las tasas plasmáticas de melatonina y hormona de crecimiento, en concreto para el grupo de pacientes con déficit de hormona de crecimiento, obtuvimos una relación negativa, con $r = 0,024$, y $p = n.s.$ Aunque observamos una tendencia claramente negativa.

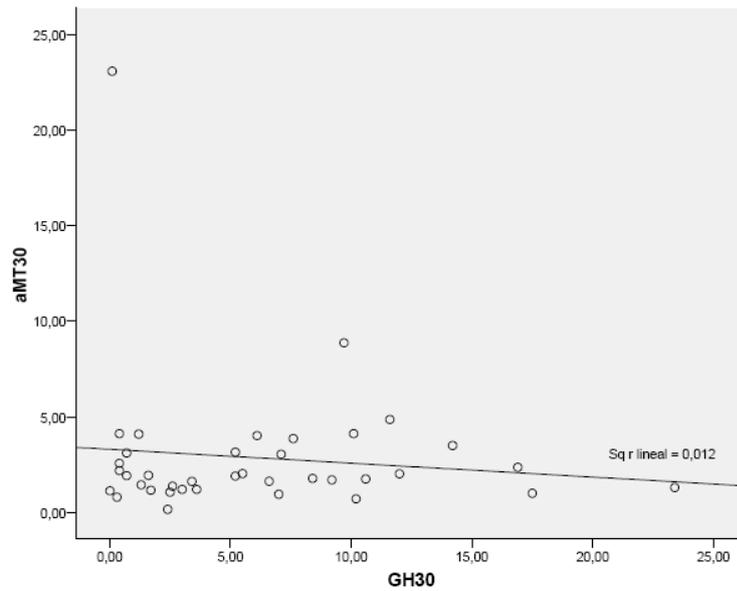


Figura 4.28. Al igual que ocurría para las variables aMT basal y GH basal, podemos comprobar que aún existiendo una relación inversa entre ambas variables, debido quizás al número de casos, y exigencias del test, no pudimos establecer valores estadísticamente significativos.

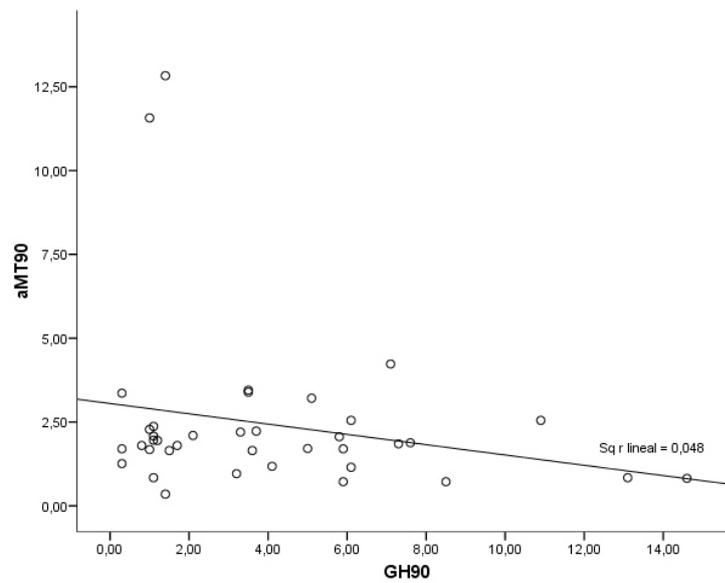


Figura 4.29 Al estudiar la correlación entre las tasas plasmáticas de melatonina y hormona de crecimiento, en las muestras extraídas a los 90 minutos tras estimulación hipoglucémica no pudimos constatar una correlación estadísticamente significativa.

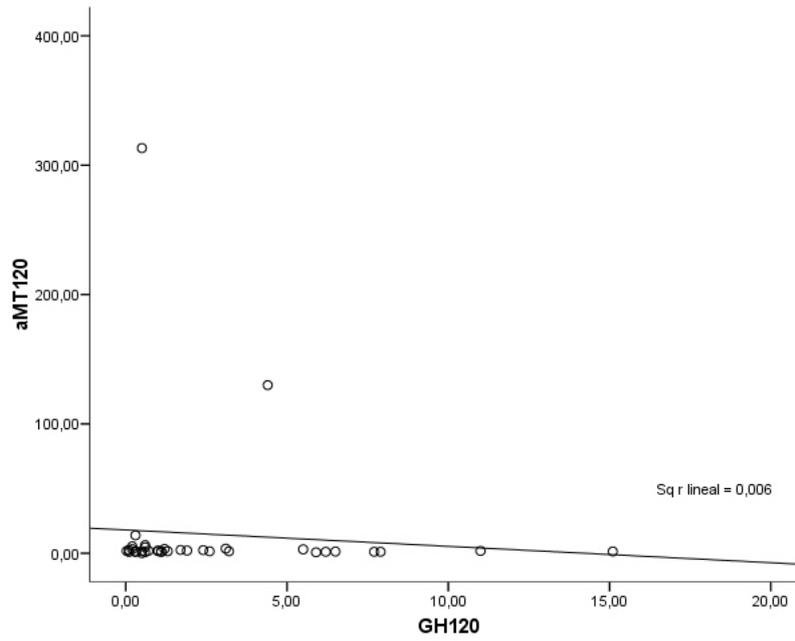


Figura 4.30 Resultados similares obtuvimos al correlacionar las tasas plasmáticas de aMT y GH, en las muestras obtenidas a los 120 minutos, con ausencia de significación estadística.

5.- Discusión

5.1 Caracterización de los receptores hipofisarios.

La liberación de una hormona por una célula secretora hipofisaria, representa el evento final de una secuencia iniciada con el reconocimiento de una señal específica por parte de la misma célula. La señal es generalmente de tipo químico, representada por moléculas biológicamente activas (neurohormonas o simplemente hormonas) que, contactando con la célula hipofisaria, interaccionan con zonas especializadas llamadas receptores.

La unión de la hormona con el receptor, “función de reconocimiento”, a su vez, produce una señal química que es elaborada en el interior de la célula y convertida tras una serie de eventos químicos, en el efecto biológico común, esto es la liberación de una hormona. No obstante debe ser tenido en cuenta que la señal generada de la interacción hormona-receptor no necesariamente finaliza con un evento positivo, siendo incluso la inhibición de esta secreción un proceso activo, que se señala también de forma específica y es regulado con características similares a las de la estimulación.

Una concepción moderna del receptor, debe tener en cuenta la naturaleza bifuncional de esta entidad. Podremos así definir al receptor como un componente celular que realiza dos funciones: la de “reconocimiento” y unir selectivamente una molécula y la de convertir tal unión en una señal elaborable por la célula, estos es “activar” la célula. Las dos funciones receptoriales son generalmente realizadas por partes o sitios diferentes de la molécula y a menudo forman parte de las moléculas o subunidades diferentes: sitio o subunidad de reconocimiento y subunidad efectora.

La transferencia del mensaje de exterior al interior de la célula, requiere que las dos funciones receptoriales estén “acopladas”.

5.1.1 Consideraciones metodológicas.

Las primeras informaciones disponibles sobre la existencia y propiedades de los receptores hipofisarios han sido obtenidas de modo indirecto, estudiando el efecto de la

administración de diversos agentes farmacológicos sobre la secreción de las hormonas hipofisarias.

Utilizando esta aproximación ha sido posible hipotizar la existencia de receptores dopaminérgicos localizados a nivel de las células lactotropas, dado que, fármacos agonistas dopaminérgicos provocan la inhibición de la secreción de prolactina tanto en el animal de experimentación intacto como en la hipófisis anterior “*in vitro*”.

Más recientemente, con el desarrollo de método para la preparación de sustancias marcadas radioactivamente con alta actividad específica, ha sido posible estudiar las interacciones entre hormona y receptor. La metodología más empleada es la del “*binding*”, que permite medir “*in Vitro*” la unión entre hormona y receptor. Una hormona marcada isotópicamente (hormona*) o un análogo suyo (agonista o antagonista) es incubado en presencia del tejido, en condiciones determinadas de pH, temperatura, fuerza iónica, etc. A un tiempo establecido, el complejo, hormona*-receptor es separado de la hormona libre permitiendo así valorar la cantidad de radioactividad ligada (*binding total*). Esta comprende la cuota de hormona que se ha unido “específicamente” al receptor y una cuota de “*binding inespecífico*” que representa la unión de la hormona en sitios no-receptoriales, presentes en el tejido. Para substraer el componente inespecífico es necesario incubar la hormona marcada en presencia de un exceso de hormona no marcada que sature los puntos de unión específicos. La radioactividad ligada en tales condiciones representa “*binding inespecíficos*” y pueden ser restados del “*binding total*” para obtener el “*binding específico*”. Este último representa el componente saturable del “*binding*”; debe por tanto alcanzar un “*plateau*” al aumentar la concentración de la hormona incubada, cuando todos los receptores presentes en el tejido están ocupados por la hormona. Si la separación entre la hormona ligada y la hormona libre, ocurre cuando la reacción ha alcanzado la condición de equilibrio, es posible deducir de los resultados obtenidos, tanto la concentración de receptores presentes en el tejido como la afinidad, esto es “*la fuerza*”, con la cual la hormona se une al receptor.

A tal fin son empleadas representaciones gráficas como el análisis de Scatchard en el cual los resultados son expresados dibujando en un gráfico la relación entre la hormona ligada (*binding* específico) y la hormona libre en función de la concentración de la hormona unida.

5.1.2 Definición funcional del receptor.

La presencia en un tejido de sitios de unión para una hormona, es condición necesaria, pero no suficiente para demostrar la existencia de receptores dotados de función biológica. Se debe por tanto verificar que a través de la interacción específica de la hormona y tales sitios se produzca una respuesta biológica definida. En otras palabras, la afinidad con la que una hormona se une, debe ser correlacionada con la actividad biológica de la misma. La presencia de receptores dopaminérgicos en la hipófisis anterior, que controlan de forma inhibitoria la secreción de prolactina en las células lactotropas, ha sido demostrada verificando que la potencia con la que una serie de fármacos agonistas y antagonistas interfieren con el *binding* de la 3H-dihidroergocriptina (agente dopaminérgico), se correlaciona con su capacidad para influir sobre la secreción de prolactina.

5.1.3 Naturaleza química de los receptores.

La extrema dificultad para aislar y purificar receptores de un cierto grado de homogeneidad, y en cantidad suficiente para poder realizar un análisis químico detallado, no ha permitido hasta el momento clarificar completamente la estructura y organización de sus diversos componentes.

Todos los receptores son susceptibles de degradación por parte de enzimas proteolíticas, sugiriendo cada receptor posee un componente proteico importante en la función receptorial. En particular, alteraciones de los fosfolípidos, que son los componentes lipídicos más abundantes de las membranas celulares, provocan importantes variaciones en las propiedades con las que las hormonas interaccionan con sus propios receptores. Los modelos

más recientes de estructuras de las membranas atribuyen a los fosfolípidos un papel fundamental tanto en el mantenimiento de la integridad estructural de la membrana como en la interacción con los componentes proteicos que modulan la actividad funcional.

La actividad del receptor hipofisiario a la hormona liberadora de TSH (TRH) es dependiente de los fosfolípidos de membrana; la digestión de las membranas con cantidades de fosfolipasa A extremadamente reducidas, fosfolipasa C, o el tratamiento con digitonina disminuyen notablemente la unión del TRH al receptor. En adición a los componentes proteicos y lipídicos, la estructura del receptor puede comprender también carbohidratos. Es necesario recordar que la mayor parte de los receptores están constituidos por complejos oligoméricos en los cuales la interacción positiva entre las diversas subunidades es necesaria para la expresión de la función del receptor. Este concepto, es particularmente importante cuando se considera la integridad del receptor solamente en función de la unión de la hormona específica. En el caso de receptores asociados con una actividad enzimática (adenilciclase), es posible de hecho, desacoplar el sitio de reconocimiento del enzima manteniendo inalterada las propiedades de la unión con la hormona.

5.1.4 Localización subcelular.

La localización de los receptores en la célula depende de la naturaleza química de la hormona que condiciona la accesibilidad a los sitios de unión. Las hormonas, de hecho, pueden ser subdivididas en dos clases en función de su solubilidad:

a.- Hidrosolubles. La mayor parte de las hormonas son hidrosolubles; esta clase de hormonas comprenden las hormonas proteicas y las catecolaminas, estas no son capaces de atravesar la barrera lipídica constituida por la membrana celular y por tanto sus receptores están situados en la superficie de la célula. En general, el mecanismo por el cual estas hormonas activan las células diana requiere la intervención de proteínas que están presentes a nivel de la membrana plasmática. La unión de la hormona con el receptor debe ser convertida en una señal química constituida por un “segundo mensajero” (a-AMP, Ca), que

puede difundir libremente en la célula desempeñar su acción a nivel de diversos componentes.

B.- Liposolubles. Esta segunda clase de hormonas (yodotironina, esteroides y la 1,25-OH-vitamina D) penetran fácilmente en la membrana celular e interacciona con diversos componentes intracelulares. Los receptores para los esteroides y para la vitamina D, son solubles en el citoplasma; los complejos formados entre hormonas y receptor, tras haber sufrido transformaciones migran al núcleo donde realizan su función en el procesamiento del RNA, mensajero transcrito.

5.1.5 Receptores de superficie y estructura de membranas plasmáticas.

La membrana plasmática, que reviste la superficie de la célula, representa una estructura clave en la regulación de las interacciones hormona-receptor. Esta, no tiene solamente una función de soporte para las moléculas receptoriales, sino que condiciona las propiedades fundamentales del mismo receptor.

Según el modelo propuesto por Singer y Nicolson, su estructura está constituida por un estrato lipídico doble en la cual los componentes más importantes, fosfolípidos y colesterol, están orientados de una forma ordenada, con la extremidad hidrofílica dirigida hacia la superficie externa e interna de la célula y las cadenas hidrofóbicas dirigidas hacia el interior del estrato doble. Tal estructura, no es rígidamente estática: las moléculas se mueven literalmente a lo largo del plano de la membrana a la interna y viceversa. En este “mar lipídico” más o menos sumergidas en la membrana, flotan las proteínas, en las cuales “flotan” los receptores.

Resulta por tanto evidente que, variaciones en la composición química o en el estado físico de la membrana puede condicionar en gran medida las propiedades del receptor. En particular, las interacciones entre las diversas subunidades, necesarias para la expresión de la

función del receptor, pueden ser favorecidas o perjudicadas por una mayor o menor fluidez de la membrana celular.

La secreción de una hormona hipofisaria es el producto de la interacción continua entre señales químicas estimuladoras o inhibitorias que llegan a las células y las moléculas receptoriales situadas sobre la célula receptora. La intensidad de la respuesta celular está cuantitativamente correlacionada con el número de tales interacciones que, a su vez, es función de la entidad de las señales que llegan a la célula, de la concentración de receptores y de la fuerza con que ocurren las interacciones. Cada uno de estos procesos es regulado con la finalidad de mantener la homeostasis del organismo. Fluctuaciones de los niveles de las sustancias endógenas que estimulan o inhiben la secreción de las hormonas hipofisarias, ocurren frecuentemente en el organismo e respuesta a diversos estímulos fisiológicos. Por otra parte la concentración de receptores hipofisarios no es constante, sino que se adapta dinámicamente a las condiciones ambientales alteradas. En definitiva, las propiedades del receptor y, en particular, la afinidad de la unión, son altamente sensibles a las variaciones fisicoquímicas del microambiente con los cuales los receptores están en estrecho contacto. Estos conceptos, como posteriormente comentaremos, pueden en parte explicar el porque de ciertas diferencias en el tipo de respuesta que se encuentra tras un determinado estímulo (α -agonista), de hecho a nivel de la glándula pineal, es un criterio uniformemente aceptado, la variabilidad del receptor en el transcurso de las 24 horas del día, y pueden esperarse respuestas diferentes ante un determinado estímulo, en función de la hora en que este se produzca.

5.1.6 Regulación del receptor.

Seguidamente comentaremos las diversas modalidades de regulación de los receptores. A) regulación homóloga o autorregulación (la hormona regula su propio receptor). B) regulación heteróloga (secundaria a la interacción de otra hormona con el receptor propio), y

c) regulación inespecífica (debida a modificaciones alostéricas del sitio de unión para la hormona inducido por alteraciones fisicoquímicas del microambiente receptorial)

1.6.1. Regulación homóloga o autorregulación.

Se sabe que la exposición de una célula a concentraciones muy elevadas de un agente farmacológico de tipo agonista puede producir una pérdida total o parcial de la respuesta a ese agente (desensibilización o taquifilaxis). Por el contrario, el bloqueo prolongado de la acción agonista induce en la célula un estado de hipersensibilidad al mismo agonista. Estos son ejemplos de un fenómeno fisiológico más general por el cual la sensibilidad de una célula diana a la estimulación por parte de una hormona está, con frecuencia, inversamente correlacionada con los niveles crónicos de la hormona a los que ha sido expuesta. Los procesos con los que la célula diana regula su sensibilidad, ocurren rápidamente, y el receptor es uno de los sitios donde más comúnmente se verifica su regulación; la disminución del número de receptores es una respuesta a las variaciones de las concentraciones de hormona homóloga a las que la célula es expuesta, son referidos como “*down regulation*” mientras que el aumento de receptores se llama “*up regulation*”.

En general, un aumento crónico de los niveles de hormonas produce una caída en la concentración de sus receptores. Este efecto requiere que el agente sea un agonista (la unión al receptor es necesaria, pero no suficiente), y frecuentemente comporta procesos postreceptoriales.

Cuando las células poseen receptores sobrantes (spare receptors), la máxima respuesta es producida si sólo una fracción de los receptores total es ocupada, como se verifica en la mayor parte de los sistemas receptoriales, tal regulación provee un método ingenioso para la célula capaz de regular su sensibilidad la hormona específica: bajando la concentración de receptores se desplaza hacia la derecha la curva dosis-respuesta biológica, mientras que aún se permite a la célula producir una respuesta máxima si es expuesta a concentraciones muy

elevadas de la hormona. Si la célula no tuviera “spare receptors”, reduciendo la concentración de los propios receptores se disminuiría la respuesta máxima obtenida de la célula.

La variación del número de receptores no es el único mecanismo de autorregulación receptorial: una hormona puede regular la sensibilidad de la propia célula diana, alterando la afinidad de los propios receptores. En el caso de la insulina, la saturación progresiva de los receptores reduce progresivamente la afinidad de estos por la hormona. Esto ocurre por un aumento de la velocidad de disociación de la hormona del receptor. Este fenómeno implica una interacción entre sitios receptoriales o cooperatividad, dado que la unión de la hormona reduce la afinidad, se llama cooperatividad negativa. Esta situación es la contraria de la que ocurre con la hemoglobina, donde la unión de una molécula de oxígeno aumenta la afinidad de los sitios de unión (cooperatividad positiva).

Las variaciones de afinidad receptorial parecen ser debidas a un fenómeno físico-químico acoplado a la unión de la hormona al receptor y ocurre incluso que cuando la célula ha perdido su integridad o el receptor ha sido extraído de la membrana por solubilización con un detergente.

1.6.2. Regulación heteróloga.

Una hormona A puede alterar la respuesta inducida por otra hormona B modificando los niveles plasmáticos de B (a menudo regulando la secreción más que la degradación) o alterando la respuesta de las células diana de la hormona B. Uno de los sitios preferentes sobre los que se muestra tal acción es el receptor; tanto la concentración como la afinidad del receptor específico para la hormona B puede ser modulado por la hormona A, actuando a través de los receptores de la hormona A, sea directamente sobre las células diana para la hormona B o indirectamente sobre otras células que a su vez influyen a la célula diana para la hormona B.

En algunos casos las interrelaciones complejas se correlacionan con situaciones fisiológicas determinadas, como las variaciones sufridas por los receptores hipofisarios en situaciones de hiperprolactinemia inducidas por el tratamiento con estrógenos o ligado a la lactancia o durante el ciclo estral. El estradiol, administrado durante 5 días consecutivos a ratas ovariectomizadas, provoca una disminución de los receptores dopaminérgicos hipofisarios. Este efecto puede ser consecuencia de una acción directa de los estrógenos sobre la adenohipófisis o un aumento de la síntesis y liberación de dopamina (DA) a nivel del sistema tuberoinfundibular inducida por la administración de estrógeno (en este caso se trataría de un fenómeno de desensibilización receptorial). El mismo cuadro se obtiene en la hipófisis anterior de madres lactantes cuando éstas son separadas por un largo periodo (18 horas) de las crías: aumento de la concentración de DA y disminución de los receptores dopaminérgicos hipofisarios.

Durante el ciclo estral, concomitantemente a la elevación de PRL plasmática, que se verifica en el proestro, el número de receptores dopaminérgicos hipofisarios aumenta rápidamente para después volver a los niveles normales en el diestro. También en este caso la alteración receptorial puede ser una consecuencia de la disminución de la hormona homóloga DA, que ocurre durante el proestro pero puede ser también inducida de una forma heteróloga por la progesterona, cuyos niveles plasmáticos aumentan paralelamente a la marcha de los receptores dopaminérgicos. La acción de progesterona podría ser indirecta, a través de un bloqueo de los estrógenos. Además en este caso, la interacción sería a nivel receptorial, entre los dos sitios de unión citoplasmático, habiendo sido demostrado que el tratamiento con progesterona reduce “in Vitro” el número de receptores para el estradiol en el cultivo de células GH₃.

1.6.3 Regulación Inespecífica.

La estructura y la función del receptor son in fluidas notablemente por el ambiente físico-químico y, particularmente, por las variaciones de temperatura, pH y de la

composición iónica. Si bien las alteraciones receptoriales así producidas pueden en muchos casos, considerarse efectos inespecíficos, no se puede excluir que a veces tengan un significado fisiológico en términos de regulación de la funcionalidad receptorial y pueden ser promovidos por interacciones específicas hormona-receptor.

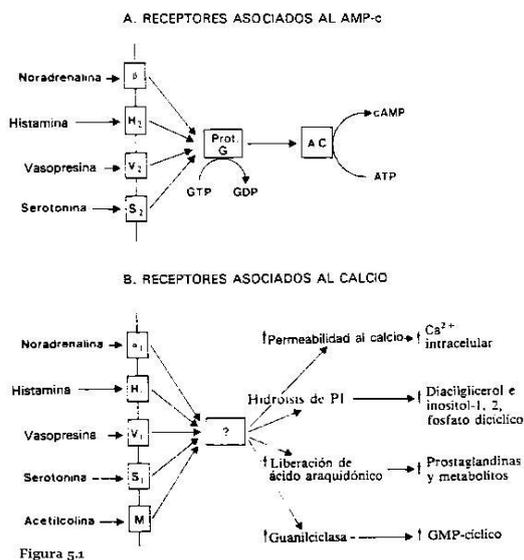
El aumento de fluidez de la membrana celular, que se verifica tras la activación del receptor β -adrenérgico en los eritrocitos, es un claro ejemplo de ello. En este sistema, la interacción de una hormona con su propio sitio de reconocimiento estimula la mutilación de los fosfolípidos de la membrana.

El aumento de la fluidez vuelve más eficaz el acoplamiento entre sitios de unión y proteínas efectoras (adenilciclase) aumentando la eficacia por la cual la hormona ligada al receptor genera la señal intracelular (c-AMP). Por otra parte, una metilación aumentada de los fosfolípidos de la membrana causa un aumento del número de receptores adrenérgicos disponibles, probablemente desenmascarando los receptores preexistentes, pero vueltos inaccesibles a la hormona por estar inmersos en la membrana celular.

Dado que los receptores están constituidos por complejos oligoméricos formados por diversas subunidades que interaccionan entre sí, modificaciones de las propiedades de la unión pueden ser transmitidas alostéricamente al sitio de reconocimiento hormonal tras alteraciones producidas en sitios diferentes. Los guanidin-nucleótidos, en particular el GPT (guanisintrifosfato) regulan la afinidad de la unión del agonista al receptor dopaminérgico antehipofisario. Este efecto es probablemente mediado por una variación de la conformación de una proteína GTP dependiente, que acopla el sitio de reconocimiento dopaminérgico a la enzima adenilciclase. En el caso del receptor muscarínico, presente en la hipófisis anterior y probablemente asociado al canal que regula la permeabilidad de las células al Ca^{++} , la presencia o ausencia de este ión altera profundamente la unión al receptor. El efecto del calcio es interpretado como una redistribución de las diversas subunidades que componen el receptor muscarínico.

5.1.7 Sistema de acoplamiento receptorial y activación celular.

Para que una célula sea capaz de responder a las señales externas debe poseer mecanismos para reconocer y traducir la información que le llega en un lenguaje comprensible para ella. En el caso de los receptores de superficie el proceso de “traducción” ocurre a nivel de la membrana celular donde se generan los “segundos mensajeros” como los nucleótidos cíclicos (c-AMP o c-GMP) y el calcio. Es posible subdividir los receptores en base al tipo de segundo mensajero empleado. Una clase actúa a través de c-AMP y comprende receptores (β , $2h$, $2v$, HT_{5-2}) que son distintos farmacológicamente de la segunda clase de receptores (α_1 , $1h$, $1v$, HT_{5-2}), que actúan principalmente a través del calcio. Todos los receptores que usan el cAMP poseen un mecanismo común de traducción en el cual una proteína que une de forma específica el GTP (proteína G) funciona como sistema de acoplamiento para transmitir la información del sitio de unión externo al enzima adenilcilasa localizado en la cara citoplasmática de la membrana y responsable de la síntesis de cAMP (Fig. 5.1).



Mientras que se han hecho progresos en la comprensión de los mecanismos moleculares con los que las hormonas activan la adenilcilasa, produciendo un aumento de los niveles intracelulares de cAMP, existen escasas informaciones sobre el modo por el cual la activación receptorial es traducida en variaciones de las concentraciones citoplasmáticas de calcio. El problema viene complicado por el hecho de que estos receptores son capaces de producir otros segundos mensajeros además del calcio. Por ejemplo la activación de estos receptores está asociada invariablemente a un aumento c-GMP y a una mayor síntesis de prostaglandina y de sus metabolitos. Otro evento asociado con la activación de estos receptores es la hidrólisis del fosfatidil-inositol (PI), un constituyente

lipídico de las membranas celulares, con formación de diglicéridos e inositol 1,2 fosfato cíclico que han sido propuestos como segundos mensajeros. Estos receptores pueden ser considerados como multifuncionales en tanto que son capaces de generar varias señales intracelulares (Fig. 5.1). Una pregunta obvia es plantearse si estos receptores multifuncionales utilizan un mecanismo común. Esta última posibilidad es confirmada por algunas evidencias experimentales en las que la hidrólisis del PI ha sido implicada como mecanismo de traducción para la elevación del calcio intracelular para la formación de c-GMP y para la producción de prostaglandinas.

Una clasificación de los receptores basada sobre el tipo de segundo mensajero empleado (cAMP o calcio) resulta hoy día reductiva. Existen de hecho, ejemplos de receptores que utilizan ambos sistemas de transmisión celular. Como será discutido a continuación, hormonas activas sobre la secreción de hormonas hipofisarias provocan alteraciones de las concentraciones celulares de cAMP y modifican los niveles celulares de calcio. Resta por clarificar, cuál de estos segundos mensajeros es responsable del efecto biológico final (secreción hormonal), aunque existe la posibilidad que ambos puedan intervenir modulando selectivamente fases diversas de la compleja secuencia de eventos que llevan a la respuesta secretoria. Además, el calcio podría actuar indirectamente sobre la secreción regulando el metabolismo del cAMP. De hecho Brostrom y han descrito la presencia de una forma de adenilciclase dependiente del calcio en células tumorales hipofisarias tipo GH₃.

1.7. 1 Receptores asociados al AMP-c.

La mayor parte de los factores peptídicos que regulan la secreción de las hormonas hipofisarias activan las propias células diana estimulando la producción de AMP-c. Una asociación con la actividad adenilciclase se ha demostrado para los receptores de TRH; LHRH, CRF y VIP. Por otra parte las prostaglandinas son potentes estimuladores de la acumulación de cAMP en la hipófisis anterior y paralelamente aumenta la secreción de hormona de crecimiento.

Estas observaciones favorecen la hipótesis de que existe una relación estrecha entre secreción hormonal y variaciones del cAMP. De hecho, es posible inducir la liberación de todas las hormonas hipofisarias in Vitro con un análogo del cAMP el dibutilil-cAMP, efecto que es potenciado al asociar inhibidores de la fosfodiesterasa (enzima que degrada cAMP) como la aminofilina y la teofilina. La hipótesis formulada ha sido posteriormente confirmada por el hecho de que algunos factores que inhiben la secreción de las hormonas hipofisarias provocan una disminución de los niveles de cAMP. La dopamina, por ejemplo, que representa el liberador endógeno de la liberación de prolactina, inhibe selectivamente la actividad de la adenilciclase asociada a la célula lactotropa y antagoniza la secreción de prolactina inducida por el dibutilil-cAMP.

La organización celular de los receptores que utilizan cAMP como segundo mensajero (tanto en sentido estimulador con inhibidor) comprende al menos tres subunidades de distinta naturaleza proteica y forman parte de la membrana celular: el sitio de unión específico para la hormona, la subunidad reguladora de la adenil-ciclase (proteína G) que regula la actividad de la tercera proteína, la subunidad catalítica, esto es, el enzima que convierte el ATP en c-AMP. Mientras se conocen los mecanismos con los que la adenilciclase es activada por las hormonas, se posee escasa información sobre los procesos que modulan la inhibición de enzima. Si bien recientemente ha sido propuesto que la inhibición de la adenilciclase por una hormona es debida a una aclaración de la reacción de inactivación, mediada por GTP-ASA, con las cuales el enzima se relaciona en el estado basal.

La activación de la adenilciclase es puesta en marcha por la unión de la hormona al sitio de reconocimiento y comprende la subunidad reguladora y la catalítica. En el estado basal, el sitio de reconocimiento no está ocupado y posee una alta afinidad por la hormona. La proteína reguladora es inactiva y posee una alta afinidad por la hormona teniendo el sitio de unión por los guanin-nucleótidos ocupados por el GDP (guanosil-difosfato). La adenilciclase está inactiva y posee una baja afinidad por el substrato ATP (acoplado al magnesio para formar Mg^{++} -ATP).

la unión de la hormona promueve la disociación del GDP de la subunidad reguladora y su sustitución con el GTP. En esta forma la subunidad reguladora activa el enzima aumentando su afinidad por el sustrato Mg^{++} -ATP, que así es convertido rápidamente en cAMP. La unión del ATP a la subunidad reguladora no sólo lleva la activación del componente catalítico, sino que pone en marcha el mecanismo de activación que reporta el sistema al estado basal: el sitio de reconocimiento es convertido a una forma de baja afinidad que favorece la disociación de la hormona y el GTP unido es hidrolizado a GDP por un enzima GTP-asa asociada a la subunidad reguladora. Dado que esta última es inactiva cuando el GDP está ligado, la conversión de Mg^{++} -ATP en cAMP requiere una sustitución continua del GDP en GTP.

El proceso de activación ocurre dinámicamente: la matriz fluida de la membrana celular permite el movimiento lateral de las tres subunidades, y en particular, de la proteína reguladora que lleva el mensaje de activación del sitio de reconocimiento a la subunidad efectora.

Cuando en la misma célula se encuentran más de un tipo de receptores ligados a la adenilciclasa, los diversos sitios de unión compiten por un mismo pool de subunidades regulatorias y catalíticas. En otras palabras, la especificidad de la información que llega a la célula es proporcionada por el sitio de reconocimiento, mientras los otros componentes del sistema son perfectamente modulares: cualquier receptor capaz de activar la adenilciclasa es perfectamente compatible con la unidad reguladora y catalítica de células diversas.

1.7.2 Receptores asociados al calcio.

El calcio posee un papel fundamental en múltiples procesos celulares. Este se encuentra libre en los fluidos extracelulares y en forma unida dentro de la célula. Más aún, la parte de calcio activa en los procesos celulares, es aquella presente bajo forma de calcio ionizado libre (Ca^{++}) en el interior de las células. Tal cuota de calcio libre representa el producto del flujo del calcio que penetra en la célula desde los espacios extracelulares y de aquel que es

movilizado internamente de los sitios de almacenamiento celular. El calcio libre actúa como segundo mensajero intracelular análogamente al cAMP, y media la activación hormonal de numerosos procesos biológicos fundamentales.

En la mayor parte de la célula con función secretoria (células endocrinas, exocrinas y células nerviosas) un aumento de las concentraciones intracelulares de calcio libre ha sido implicado como mecanismo de acoplamiento necesario para traducir un estímulo en un evento secretorio. Un estímulo secretorio puede elevar el calcio intracelular tanto promoviendo la entrada de calcio como movilizándolo el calcio celular.

5.2 Receptores en cerebro y pineal.

5.2.1 Variaciones en ciclos de 24 horas de los receptores adrenérgicos en la glándula pineal de los mamíferos.

Tanto en la glándula pineal humana como en la glándula pineal de la rata y del hámster sirio, los aumentos nocturnos de la actividad del NAT y el contenido de melatonina se regulan principalmente mediante los receptores β -adrenérgicos. Mientras que en la rata la producción de melatonina puede estimularse con antagonistas adrenérgicos en cualquier momento de las 24 horas del día, no ocurre así en la glándula pineal humana ni en la del hámster sirio. Durante el día ni la glándula pineal humana ni la del hámster sirio son capaces de aumentar la producción de melatonina como consecuencia de los antagonistas β -adrenérgicos proporcionados de modo exógeno. Sin embargo, la glándula pineal del hámster responde a estos fármacos durante un periodo muy limitado de la noche; tal vez la glándula pineal humana responda de modo similar.

De esta manera, la glándula pineal del hámster puede ser un modelo mejor que el de la glándula de la rata a la hora de estudiar los mecanismos moleculares de la fisiología pineal humana. De hecho, la experiencia de nuestro grupo, hemos trabajado con dos tests de función pineal, empleando para ello piridoxina y triptófano, observando que sólo existe

respuesta pineal cuando ambos elementos se administran al iniciarse la noche (21,00 horas), y no así durante las horas de la mañana.

Tanto los receptores α y β adrenérgicos de la rata como en los del hámster se encuentran en la glándula pineal. En el hámster ambos receptores presentan ritmos de 24 horas, con valores mínimos durante la noche. Los resultados de la glándula pineal de la rata son algo menos lógicos. En algunos estudios los valores más altos del receptor β -adrenérgico fueron medios durante la noche, mientras que en otros la densidad máxima del receptor tenía lugar casi al final de la fase luminosa. Solamente en las ratas hembras ovariectomizadas se ha documentado una fluctuación de la densidad del receptor pineal α -adrenérgico.

Existen diferencias entre el control de la producción de melatonina en la rata y en el hámster sirio. Mientras que la glándula pineal de la rata aumenta la producción de melatonina en respuesta a los antagonistas β -adrenérgicos en cualquier momento de las 24 horas del día, la glándula pineal del hámster (y posiblemente la humana) sólo responde a estos fármacos durante un breve intervalo, al final de la fase oscura. Los mecanismos de estas respuestas diferenciales siguen siendo desconocidos, aunque parece claro que las diferencias no se refieren a los receptores adrenérgicos del pinealocito pero sí a algunos mecanismos intracelulares fuera del cAMP. Los valores de unión de los receptores adrenérgicos en la médula pineal del hámster son bajos en los momentos de producción elevada de melatonina y altos en los momentos de insensibilidad (durante el día y el principio de la noche). Un mecanismo circadiano fuera de los receptores adrenérgicos (actividad de la adenil-ciclasa y fosfodiesterasa, contenido en c-AMP y cGMP, contenido de calcio intracelular, la síntesis de proteínas y mRNA) probablemente estén implicados en determinar el tiempo, dependiendo de la sensibilidad de la glándula pineal del hámster a la estimulación adrenérgica.

5.2.2 Receptores de melatonina en cerebro, retina e hipófisis.

En mamíferos fotoperiódicos como el carnero y el hámster, los cambios estacionales en la luz del día (fotoperiodo) regula la función reproductiva, peso corporal, color del pelo,

metabolismo y conducta. Los efectos neuroendocrinos de la aMT que conducen a cambios reproductivos, se cree ocurren en el sistema nervioso, a través de la activación de melatonina situados primariamente a nivel del. Evidencias documentales sugieren que la aMT puede ser efectiva regulando los ritmos circadianos de los vertebrados. La melatonina afecta el tiempo necesario para la resincronización después de un cambio de fase del ciclo de luz y es efectiva sincronizando los ritmos circadianos alterados en mamíferos, incluyendo al hombre, estos efectos de la aMT parecen ser debidos a su acción sobre el hipotálamo, consideraciones deducidas tras observar que lesiones en el SNC de barata, evita los efectos sincronizadores de la melatonina. Para un mayor conocimiento del papel de la melatonina endógena como mediador de la respuesta fisiológica en mamíferos sería necesario desarrollar análogos de la aMT selectivos y potentes que imiten o neutralicen los efectos de la hormona a nivel de sus receptores específicos en los tejidos diana.

En base a estudios de “*binding*” y funcionales, dos receptores de aMT el ML-1 y el ML-2, han sido. Los receptores ML-1 muestran una afinidad en rango picomolar para la 2-yodo-¹²⁵I-iodomelatonina, y han sido caracterizados de modo repetido en retina de conejos y pollos donde inhiben la liberación de dopamina, los receptores ML-1 y ML-. Tienen características farmacológicas diferentes, por ejemplo: la N-Acetyl-serotonina y la 6-metoxi-melatonina muestran la baja afinidad por el ML-1 en la retina del pollo y del conejo, mientras que son equipolentes respecto de la aMT sobre el ML-2. Los receptores específicos en la eminencia media –pars tuberalis de la rata, en la pars tuberalis de la oveja y en el hipotálamo del hámster *jungariam*- parecen poseer la misma afinidad picomolar y similares características farmacológicas observadas para el receptor ML-1 en la retina. El ML-1 en la eminencia media-pars tuberalis del H. *jungariam* parece estar asociado a una inhibición de la adenilciclase y muestra la farmacología propia del receptor retinal de melatonina usando un homogeneizado de membranas cerebrales de hámster sirios y *jungariam*, ponen de manifiesto un segundo tipo de receptores específicos para melatonina (ML-2) que muestran

afinidad nanomolar en rango bajo para 2-¹²⁵I-iodomelatonina, y aún más una distribución regional concentraciones elevadas en hipotálamo.

En retina de conejos procedentes animales albinos así como pigmentados, los receptores de alta afinidad para melatonina han sido localizados primariamente en la capa plexiforme interna, donde se encuentran las células amarrinas productoras de dopamina, la retina procedente de ratones albinos muestra una unión específica de 2-¹²⁵I-iodomelatonina, tanto en la capa plexiforme interna, como en las capas segmentarias externas e internas. La unión específica al 2-¹²⁵I-iodomelatonina, al epitelio pigmentado retiniano también se ha observado en varias especies de mamíferos. Además, este trabajo proporciona evidencias de una acción local de la aMT sintetizada en retina. Los estudios autoradiográficos han identificado una unión de alta afinidad para 2-¹²⁵I-iodomelatonina en regiones cerebrales concretas de varias especies mamíferas. En la rata y en el hámster sirio y siberiano, así como en dos cepas distintas de ratones, las áreas comunes marcadas con 2-¹²⁵I-iodomelatonina incluyen el hipotálamo (el núcleo supraquiasmático y núcleo talámico), núcleo paraventricular, así como la pars tuberalis de la glándula hipofisaria. En la pars tuberalis, los receptores de melatonina muestran la farmacología propia de los receptores ML-1. Los receptores para melatonina en el núcleo supraquiasmático y pars tuberalis pueden ser los lugares fisiológicos donde la aMT actúa regulando y sincronizando los ritmos reproductivos circanales en animales fotoperiódicos así como otros ritmos circadianos y estacionales en los mamíferos.

El descubrimiento de que la aMT es un inhibidor muy potente de la liberación de dopamina en la retina del conejo “in Vitro”, llevó a hacer la primera caracterización farmacológica y en profundidad de un receptor funcional para la melatonina en la retina de los mamíferos. El receptor se activa por concentraciones picomolares de aMT y muestra un perfil farmacológico diferente del propio de los receptores presinápticos. De los análogos de la aMT examinados, el agonista más potente posee un grupo 5-metoxi- en el carbono 5 del núcleo indólico y un grupo N-acetil en la misma posición que en la aMT. La aMT es aproximadamente mil veces más potente que su precursor biosintético y que su metabolito

N-acetil-serotonina, mientras que la serotonina no tiene efecto sobre la liberación de dopamina. La metabolización de la melatonina N-acetil-5-metoxi-kinurenina en el SNC o hacia 6-Hidroxy-melatonina en el hígado da lugar a moléculas que son menos efectivas que la aMT.

El análisis posterior de la actividad relacionada con la estructura de los receptores retinianos presinápticos de aMT, mostró que los análogos de aMT sustituidos en la posición del carbono 2, son buenos agonistas. De hecho la 2-yodo-melatonina es ocho veces más potente que la melatonina inhibiendo la liberación de dopamina. La N-acetyl-triptamina que carece de un grupo 5-metoxi, se ha visto que actúa como un agonista parcial en la retina del conejo. Añadiendo un grupo 2-bencil a la N-acetyl-tryptamina, se crea un antagonista competitivo (el luzindol), el primero descrito para un receptor de aMT en mamíferos. Se encontró que el luzindol, tiene una afinidad relativamente alta y que es un antagonista selectivo de los receptores presinápticos de aMT en la retina.

Los receptores presinápticos de aMT muestran una especificidad regional sobre la liberación de dopamina por membranas del estriatum o de los tubérculos olfatorios, en la medida que no son alterados por melatonina. Aunque las concentraciones micromolares de aMT se han visto que son capaces de inhibir la liberación de dopamina en la membrana del hipotálamo y otras regiones del cerebro de la rata, este efecto no se correlaciona con el heterorreceptor presináptico de aMT en retina ni en afinidad ni en farmacología. Los receptores de aMT con características farmacológicas de los receptores retinianos deben denominarse como receptores de tipo ML-1 en orden a distinguirlos de otros posibles receptores de aMT que han sido descritos.

En retina de conejo, la 2-¹²⁵I-iodomelatonina se une con una afinidad picomolar a un receptor de ML-1 de melatonina. En este tejido la afinidad del luzindol para competir con los receptores de 2-¹²⁵I-iodomelatonina, es aproximadamente mil veces menor que la afinidad de

la aMT. Se deduce que el luzindol será efectivo antagonizando los efectos de la aMT en vivo cuando se administre en dosis al menos mil veces mayores que los de la hormona.

Lo estudios en retina de conejos han definido el primer receptor de aMT en los mamíferos referido como ML-1: 1.- La aMT y sus análogos inhiben de modo reversible y selectivo la liberación de dopamina tritiada calcio-dependiente en retina de conejos a muy bajas concentraciones. 2.- Pequeños cambios estructurales en la molécula de aMT modifican sustancialmente la potencia de los compuestos para el receptor. Finalmente el efecto inhibitor de la aMT se antagoniza de modo competitivo por el posible antagonista de los receptores de aMT: N-acetyl-triptamina y luzindol.

Los trabajos de Dubocovich acerca de la caracterización de un receptor de aMT como mediador de la inhibición de la liberación de dopamina en la retina representan la única demostración concluyente que apoya la evidencia de un receptor para melatonina. Aunque se evidencia que la melatonina inhibe la liberación calcio-dependiente de dopamina en hipotálamo y que desciende la formación de c-AMP estimulado por la forskolina en la eminencia media del hámster (*pars tuberalis*) y (células procedentes de la *pars tuberalis* de ovejas), los criterios farmacológicos que certifiquen la presencia de un receptor de aMT en estos tejidos todavía no se han.

En definitiva la caracterización farmacológica de los receptores funcionales de aMT ML-1 en tejido neural de mamíferos, la localización concreta de receptores de aMT en áreas implicadas en la regulación de la ritmicidad circadiana y de funciones endocrinas, así como el desarrollo de agonistas y antagonistas de aMT selectivos y potentes para estos subtipos de receptor aportará los medios para aclarar el papel fisiológico de aMT en los mamíferos. La capacidad de la aMT para sistemas circadianos y regular funciones neuroendocrinas, nos abre posibilidades para el desarrollo de moléculas relacionadas con la aMT con potencial terapéutico útiles en el tratamiento del jet-lag, trabajo nocturno, disturbios en el ciclo sueño-vigilia, trastornos afectivos estacionales, convulsiones, etc.

5.2.3 Melatonina: metabolitos y SCN.

El papel del núcleo supraquiasmático (SCN) en el control de la secreción hormonal pineal está firmemente establecido. La luz que llega a la retina, se traduce en un gran volumen de señales neuronales que corren a través del tracto óptico, algunas de las terminales nerviosas terminan en el SCN. Este efecto directo de la luz sobre el SCN junto a la ritmicidad intrínseca del mismo SCN, da lugar a que la hormona pineal melatonina, sea producida solamente en el periodo normal de oscuridad nocturna. La pregunta acerca de si el SCN es por sí mismo el órgano diana para la acción de la aMT es controvertida. La hipótesis de que el núcleo supraquiasmático o un núcleo que directamente afecte al SCN sean órganos diana para la aMT, se sustenta además en evidencias que implican a los metabolitos específicos de la aMT como mediadores intracelulares de la acción de la melatonina. Es un hecho sorprendente que después de 30 años de su descubrimiento no haya acuerdo acerca del lugar de acción exacto de la hormona, esto es un fiel reflejo de la complejidad de sus funciones y de la falta de unos métodos bioquímicos apropiados. No obstante, el SCN se acepta generalmente que es el órgano diana para la aMT en contraste con las gónadas. Los efectos gonadales de la aMT pueden ser todavía de alguna importancia, particularmente cuando se prueban acciones farmacológicas de la aMT, dado que pueden ser suficientes altas concentraciones sanguíneas periféricas para inhibir directamente la esteroidegénesis. Dado que el SCN está íntimamente implicado en el ritmo de producción de aMT ha sido difícil diseñar experimentos para investigar las interacciones de aMT-SCN, los experimentos con extirpación del núcleo supraquiasmático son extremadamente difíciles de interpretar dado que en ellos se elimina la ritmicidad endógena de la secreción de aMT. La pregunta continúa siendo si el SCN está implicado en la mediación de todas las acciones de la aMT.

En 1979 Bittman y colaboradores llegaron a la conclusión de que el SCN del hámster sirio, no es necesario en la mediación de los efectos antigonadotrópicos de la aMT. La inyección de 25 μ de aMT una vez al día durante 7 semanas previno el colapso gonadal en animales con lesiones del SCN. Animales inyectados 3 veces al día sin embargo, desarrollaron

una regresión testicular. La administración continua de aMT en un implante subcutáneo retrasó la reactivación testicular en animales con simulación de extirpación del núcleo supraquiasmático, pero no en aquéllos con lesiones del SCN. Otros trabajos han sido incapaces de resolver la controversia a pesar del uso de metodologías renovadas. La mayoría de los autores señalan que las lesiones del SCN previenen la inducción de las respuestas gonadales a días cortos mediante el aporte de infusiones de aMT durante 10 horas en el hámster Px. Otros trabajos han desarrollado experimentos que implican al sistema pineal-aMT en las acciones mediadas por el SCN, lo cual puede ser de vital importancia en animales sin una implicación directa del eje reproductivo. Otros encuentran que el ritmo circadiano de despolarización neuronal en el SCN en cultivo fue atenuado mediante breves perfusiones de aMT 30 minutos, al final del día. Una extensión de estos hallazgos es la fluctuación del número de células del SCN sensible a aMT durante el día. De nuevo hubo más células sensibles a aMT al final del día que en ningún otro momento del día. Finalmente, se ha aportado la evidencia de que la aMT altera la actividad metabólica del SCN, estos experimentos junto a la observación de que la sincronización de la actividad circadiana de correteo por aMT, nos llevan a la hipótesis de que la glándula pineal puede jugar un papel en la generación de ritmos circadianos o en su mantenimiento.

Una posible unión entre ritmicidad circadiana, aMT y eje gonadal se ha demostrado en una cepa de hámster jugarían en la que un grupo de individuos no respondieron a las acciones antigonadales de la aMT. Inyecciones diarias de la aMT tuvieron dos efectos concomitantes en algunos animales: ocurrió un avance de fase de la actividad del correteo, que se acompañó de un colapso gonadal. Estos animales que no respondieron de modo reproductor a las inyecciones de aMT fueron incapaces de mantener un ritmo de correteo normal. Y aún más, mostraban ritmos de desarrollo libres durante el tiempo en que fueron tratados.

A la vista de esta observación, se ha analizado la hipótesis de que inyecciones diarias de aMT pueden también alterar el ritmo endógeno de producción de aMT por interacción

directa con el SCN de la misma manera que la aMt altera la actividad de correteo de los hámster.

En resumen, Bittman ha aportado una fuerte evidencia a la hipótesis de que la aMT actúa directamente sobre el SCN o sobre los centros nerviosos que proyectan terminaciones nerviosas hacia el SCN. La rata es particularmente un buen animal de experimentación para demostrar este fenómeno dado el intervalo de 2-3 horas desde el inicio de la oscuridad y el inicio de la producción de aMT. En animales como el hámster jungarian o el carnero, que producen aMT, a los pocos minutos del inicio de la oscuridad, un experimento similar al descrito previamente no habría sido posible. No obstante un fenómeno similar puede ser todavía operativo, por ejemplo, la administración diaria de aMT puede provocar un avance de fase del ritmo de actividad neuronal responsable de la inducción o cese de la actividad reproductora, pero el efecto inhibitorio directo de la luz sobre la función del núcleo SCN, puede prever una sobre exposición de la potencialmente más larga duración del ritmo de aMT.

5.2.4 Mecanismo de acción: receptores y/o metabolitos.

El apartado anterior ha expuesto la propuesta de que el SCN pueda estar implicado en la mediación de al menos algunas de las acciones de la aMt. Conviene recordar sin embargo, que la región de la eminencia media/pars tuberalis, al igual que el núcleo supraquiasmático, también se ha demostrado capaz de concentrar aMT iodada en estudios de *binding* con autoradiografías "in Vitro". La función fisiológica de la pars tuberalis en la estacionalidad y fisiología reproductiva no es bien comprendida en la actualidad, pero no debe ser infraestimada.

Particular interés en este punto es como la aMT ejerce su control fino sobre el eje reproductivo y otros sistemas biológicos. Independientemente de la importancia relativa del sitio o sitios anatómicos de acción de la aMT, la investigación pineal, sólo podrá progresar con un amplio conocimiento o comprensión de estos mecanismos. Hasta este momento, se ha

hecho un considerable esfuerzo acerca de la caracterización e individualización de los receptores de aMT.

Se ha aceptado como un artículo de fe, que puesto que la aMT se clasifica como una hormona, al igual que otras hormonas puede actuar por vía de un receptor y con la mediación de un sistema de segundo mensajero alterando los sucesos celulares. Desafortunadamente, hasta fechas recientes a esta área de investigación no se le ha dedicado el tiempo necesario. Estudios iniciales que emplean aMT acetilada y tritiada y posteriormente ligando tritiados metoxilados, no pudieron reproducir la existencia de receptores para aMT en tejidos cerebrales o periféricos. La llegada del ^{125}I -2-iodomelatonina sin embargo ha proporcionado a los investigadores un ligando con una actividad altamente específica que aparentemente marca proteínas específicas implicadas en el *binding* de aMT, los estudios de un gran número de investigadores han identificado receptores en varias regiones cerebrales y en la retina, los cuales aparentemente cumplen los criterios para ser considerados como receptores.

Kennaway y colaboradores comenzaron a considerar, ante los resultados que se obtienen en otras publicaciones, la hipótesis de que la aMT no actuara a través de un receptor, sino que es metabolizada intracelularmente en sitios dianas específicos y que sus metabolitos median la acción de la aMT. Esta hipótesis se apoya en una serie de observaciones. En primer lugar, otras hormonas como testosterona y tiroxina, son metabolizadas en células diana por enzimas que producen más componentes activos: dihidrotestosterona y triiodo-tironina. Segundo, se ha observado que la enzima indoleamina-2, 3-dioxigenasa está presente en cerebro de ratas y la oxidación de aMT hacia N-acetyl-N²-formil-5-metoxi-kynurenamina y N-acetyl-5-metoxi-kynurenamina. En tercer lugar, se ha indicado que la aMT, la N-acetyl-N-2-formoyl-5-metoxi-kynurenamina y en menor medida la N-acetyl-5-meotxy-kynuneramina, aumentan la secreción de prolactina cuando se inyecta por vía intraventricular a ratas. En cuarto lugar, la AMK desplaza al diazepam tritiado de su lugar de unión a nivel del complejo ionóforo para el cloro-GABA receptor. Finalmente, se ha demostrado que la SAMK es un

inhibidor de la síntesis de prostaglandina y que es más potente que la indometacina, aspirina o melatonina.

La hipótesis examinada anteriormente y la hipótesis de que la aMT actúa a través de un receptor no son mutuamente excluyentes, algunas acciones de la aMT pueden llevarse a cabo mediante metabolitos y otras mediante receptores, una evaluación crítica de la literatura sobre receptores, sugiere que algunas observaciones han sido minusvaloradas por sus autores.

Una observación respecto a los estudios de receptores de aMT es que los sitios de alta afinidad, no están uniformemente distribuidos por todo el cerebro, los principales lugares de unión están en el núcleo supraquiasmático y en la eminencia media/ pars tuberalis, en la mayoría de los animales maduros estudiados. Esto impone de modo inmediato restricciones acerca del tipo de investigaciones que pueden ser realizadas para evaluar bioquímicamente los lugares de unión, por igual motivo muchas de las investigaciones hasta la fecha, han utilizado autorradiografías in vitro de los lugares de unión para ¹²⁵I-2-Iodomelatonina en membrana de tejido cerebral, esta técnica es adecuada para estudios de localización de lugares de unión, pero tiene serias deficiencias si es utilizada en ausencia de rigurosos estudios de unión convencionales en preparaciones de células destruidas. En estudios de unión por autorradiografía in Vitro, no se puede distinguir entre una unión a lugares de receptores específicos o a lugares de acepción, unión a proteínas de transporte, a proteínas transportadoras o a enzimas, más aún es probable que estén poderosamente influidos por ligandos andrógenos dado que un lavado riguroso no se realiza de modo general antes de la exposición de radioligandos.

En el caso de los lugares de unión para aMT en cerebro, la evaluación crítica en los lugares en preparaciones de células trituradas, se ha restringido al global de cerebro de ratas, hámster, y de cerebro de aves, y a la pars tuberalis de óvidos. Los estudios en cerebro completo de ratas y hámster han revelado lugares de unión de baja afinidad que poseen o una

curva de saturación inusuales o una farmacología de la unión que no se corresponde con la especificidad conocida de la acción de la aMT. Sobre la base de una afinidad en rango nanomolar, su perfil farmacológico y su amplia distribución, Dubocovich, ha llamado a estos receptores como ML-2. El papel fisiológico de estos lugares unión, no es conocido.

En contraste con la afinidad nanomolar de los lugares de unión del ^{125}I -2-Iodomelatonina a áreas cerebrales concretas como el SCN, y pars tuberalis de roedores es muy alta afinidad típicamente 20-200 picomolar. En estos lugares concretos sólo la pars tuberalis de la oveja ha sido estudiada en detalle y es evidente que la especificidad farmacológica es consistente con la especificidad aceptada de la acción de la aMT, por ejemplo la N-acetil-serotonina es menos potente que ala aMT. El análisis de la literatura sobre los lugares de alta afinidad de unión, ha evidenciado algunos hallazgos inusuales y distorsionantes de la reacción de unión. A diferencia de la baja afinidad de los lugares de unión que tienen unas tasas de asociación y disociación rápida, en los sitios de alta afinidad se encuentra con frecuencia una cinética aberrante, los experimentos de disociación en los que excesos masivos de ligandos no marcados se añaden a las incubaciones en equilibrio, han demostrado a menudo que el radioligando no es completamente desplazado. Más aún, la tasa de disociación resultó a menudo tan baja que los cálculos de la constante de afinidad usando el ratio entre la tasa de disociación y la tasa de asociación, condujo a afinidades significativamente mayores que las calculadas tanto por saturación como por métodos de desplazamiento. La unión del ^{125}I -2-Iodomelatonina, es también muy dependiente de la temperatura (mayores afinidades a temperaturas elevadas) y la constante de afinidad calculada para el cerebro de pollo fue dependiente de la temperatura de incubación. Estas observaciones de la literatura han sido conformadas usando membranas de cerebro de pollo lavadas.

Una evaluación de la literatura permite afirmar que en algunos tejidos el *binding* de ^{125}I -2-Iodomelatonina a preparaciones de membrana puede no representar una unión a receptor. La evaluación de algunos estudios autoradiográficos “*in vitro*” utilizando el ligando iodinado,

nos lleva a la misma conclusión. Por ejemplo, es una observación común y ventajosa que el análisis autoradiográfico in Vitro de la unión de alta afinidad para aMT s favorecido por la estabilidad de la unión durante el lavado prolongado de membranas. De modo claro, este es un ejemplo de irreversibilidad o de un binding sólo parcialmente reversible a las preparaciones de tejido, una proposición más directamente apoyada por los experimentos actuales de tasas de disociación. Posterior evidencia de características de unión inusuales usando el procedimiento autoradiográfico, Weaver y colaboradores mostraron isotermas de saturación y plot scatchard de ^{125}I -2-Iodomelatonina a SCN y PVN. Los plot scatchard de sus datos mezclados claramente exhiben una curvatura descendente en cinco de seis casos, se ha resumido recientemente sus posibles “*downard curved scatchard plot*”:

- (i) Ligamentos marcados impuros.
- (ii) Un efecto del microambiente de la membrana.
- (iii) Binding irreversibles o internalización.
- (iv) Degradación del ligando.
- (v) Degradación de los lugares de unión.
- (vi) Condiciones de *binding* no equilibradas.

A la vista de las consideraciones anteriores proponemos una serie de comentarios alternativos del *binding* de aMT:

1 El *binding* a membrana de los ligandos de aMT, puede indicar la existencia de un transporte dependiente de energía (sistema de captación para la aMT). Tal sistema podría explicar la dependencia de la temperatura de binding y la observación de que las tasas de asociación son más rápidas que las de disociación. Una vez dentro de la célula una enzima similar a la indoleamina-2-3-dioxigenasa puede metabolizar la aMT hacia metabolitos kinurenaminas bioactivos.

2 Los ligandos de aMT, pueden unirse a una forma de indoleamina 2-3 dioxigenasa acoplada a la membrana que metaboliza la aMT. Las diferencias de comportamiento entre los

radioligandos indinados y tritiados puede explicarse por el hecho de que el átomo de yodo esta presente en el lugar de la rotura por mecanismos oxidativos de la molécula. La metabolización puede no ocurrir en incubaciones homogeneizadas o en preparaciones para autoradiografías in Vitro puesto que importantes cofactores y sustratos presumiblemente han sido lavados.

3 Un lugar de unión aceptora fisiológicamente irrelevante está presenta en algunos tejidos y bajo ciertas condiciones, una reacción química entre ^{125}I -2-aMT y la proteína. Como resultado la proteína de unión puede ser indinada.

4 Un *binding* fisiológicamente relevante está presente en algunos tejidos y una vez ocupado por aMT, se precipitan una serie de sucesos bioquímicos. Las dos alternativas que claramente no son mutuamente excluyentes implican:

a) El *binding* de aMT a un receptor unido a la membrana y/o por alteración de la síntesis proteica, vía interacción con el genoma o alterando un canal iónico.

b) La aMT captada por la célula y metabolizada por la IDO y por la formidasa para producir N-acetil-5-metoxi-kynurenina (AMK), este componente puede entonces actuar directamente sobre los canales iónicos, sobre la síntesis de PG o el genoma. Alternativamente puede tener su propio sistema receptor citosólico.

Mientras hay razones para ser optimista de que estamos cerca de un punto de inflexión fundamental en la determinación de cómo la aMT altera la actividad productiva, todavía hay bastantes y sorprendentes preguntas que tiene que ser respondidas. Por ejemplo, nosotros hemos aclarado la conflictiva evidencia acerca de la implicación del SCN en la acción de la aMT. También hemos discutido brevemente algunos de los anómalos resultados obtenidos en estudios de unión que no están de acuerdo con las interacciones ligando/receptor convencionales. Nuestra propuesta de que la célula diana para aMT metaboliza la aMT para

producir metabolitos activos intracelularmente, ha surgido de nuestra propia investigación y de una apreciación de las anomalías que han aparecido en la literatura en el curso del tiempo.

5.2.5 Melatonina: lugares y mecanismo de acción.

La melatonina ejerce una gran variedad de acciones sobre diversos órganos tanto dentro como fuera del sistema nervioso central, entre los que se incluyen: hipotálamo, cerebro medio, hipófisis, nervios periféricos, gónadas y la propia glándula pineal. Los efectos directos más conocidos en la actualidad corresponden a los relacionados con la actividad hipotalámica, y parecen adquirir cada vez más importancia los efectos que podría ejercer sobre la propia pineal modulando los receptores hormonales, y por tanto, las señales que provienen del medio interno.

El tratamiento con melatonina modifica diversos indicadores de la función hipotalámica, que comprenden las tasas de recambio de diferentes neurotransmisores como son la serotonina, dopamina y el ácido gamma aminobutírico (GABA). Parece que el efecto principal iría mediado por los cambios en serotonina, pero también modifica la secreción y el contenido hipotalámico de LHRH y la síntesis proteica, en particular de la tubulina, que es la subunidad proteica del sistema microtubular neuronal, afectando por tanto a la conducción del impulso nervioso.

Un aspecto interesante del mecanismo de acción de la melatonina es su similitud estructural con la indometacina, agente antiinflamatorio que inhibe la síntesis de prostaglandinas. Esta semejanza llevó a plantear que la melatonina inhibiese la síntesis de prostaglandinas en sus órganos efectores, lo que se ha comprobado mediante estudios “in vitro” a nivel del hipotálamo medio basal y del útero. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas tanto por inyección de indometacina como de melatonina provoca un cuadro neuroendocrino semejante: ambos inhiben la liberación de LH inducida por estrógenos, la elevación postcastración de LH y el ritmo pulsátil de liberación de LH en ratas castradas. Por diversos estudios se ha llegado a la conclusión de que estos efectos son neurales y no

hipofisarios. Parece probable que la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por la melatonina en sus sitios efectores, desempeñe un papel importante en su mecanismo de acción hormonal.

La existencia de receptores para melatonina en la propia glándula pineal, desempeña un papel importante de la regulación de dicha glándula. La glándula pineal presenta oscilaciones diarias en su sensibilidad a la administración de melatonina exógena. Estas oscilaciones parecen depender del número de receptores disponibles en cada momento, que a su vez están regulados por los niveles de melatonina circulantes. Es posible que la presencia de concentraciones elevadas de la hormona durante la noche, produzca hacia el final de la fase oscura una desensibilización de los receptores, que se exterioriza por la refractariedad a la hormona exógena, mientras que los bajos niveles circulantes de melatonina que se encuentran durante el periodo de luz, permite el restablecimiento paulatino de dichos receptores y, por tanto, de su sensibilidad a la administración exógena de la hormona. La repercusión de este fenómeno se ha relacionado fundamentalmente con la función reproductora.

Este hecho, que ha sido demostrado experimentalmente, permite la elaboración de una hipótesis capaz de explicar el mecanismo por el cual la glándula pineal regula, en las especies con reproducción estacional, la época del año más adecuada para el apareamiento y para el subsiguiente nacimiento de sus crías más idóneo para la supervivencia. La superposición del periodo de máxima sensibilidad a la melatonina con la existencia de niveles elevados de ésta durante los fotoperiodos cortos, que se dan el invierno, producen quiescencia gonadal, mientras que el alargamiento progresivo de los días produce el efecto opuesto, es decir, reducción de la hormona y, por tanto, abolición del efecto antigonadotrópico.

Además, recientemente se ha descrito que la melatonina es el más potente agente antioxidante, capaz de proteger la integridad de las células y organelas al “barrer” los más peligrosos radicales libres originados por el metabolismo aeróbico de las células, puesto que

su liposolubilidad le permite llegar a cualquier parte de la célula. Esta capacidad de la melatonina no se ejercería por su unión a receptor alguno. Considerando esta función primordial de la aMT, resulta evidente que la glándula pineal debe ser considerada un importante órgano de secreción interna en todos los vertebrados, no sólo en aquellos de reproducción estacional.

5.3 Melatonina y hormona de crecimiento. Vías de interconexión y su traducción en la fisiología neuroendocrina del sistema hipotálamo-hipofisario.

Como ya referíamos en la introducción es Smythe y Lazarus (111), (112), (113), en el año 1974, publicaron varios artículos en los que establecieron por vez primera la relación entre hormona de crecimiento (GH) y melatonina (aMT) (11). El objetivo era conocer la neuroregulación de la secreción de la GH y se realizaron las primeras investigaciones en ratas y posteriormente en, observaron en adultos, cómo la administración de 1 de melatonina originaba un aumento en la secreción de GH. En otros de los trabajos que mencionamos y de forma contradictoria, observaron, que la administración de un gramo de melatonina, vía oral, previo a la realización de la prueba de estímulo de GH mediante la hipoglucemia insulínica originaba una disminución en el pico secretorio de GH, y que esta misma respuesta se observaba al administrar ciproheptadina. Ambas sustancias tiene en común que son antagonistas serotoninérgicos, concluyendo que de alguna forma, el bloqueo de los receptores para la serotonina podrían ejercer una acción inhibitoria la secreción de GH, no pudiéndose afirmar que las sustancias similares a la serotonina tuvieran una acción estimulante de la secreción de GH. Nosotros, hemos utilizado muchos años después un modelo similar para poder establecer la relación entre melatonina y hormona de crecimiento en niños. Igualmente como hemos podido ver al elaborar nuestros resultados, observamos igualmente una correlación inversa entre pico secretoria de GH y aMT, circunstancia puesta de manifiesto en las *figuras 4.18 a 4.26*.

En este mismo sentido, el estudio de la relación entre hormona de crecimiento y melatonina ha sido constante en las últimas dos décadas. Se ha descrito en voluntarios sanos, cómo la administración previa de melatonina oral originaba una disminución en la secreción de hormona de crecimiento (265), Gupta, demostró cómo la estimulación de hormona de crecimiento inducida tras la administración de GHRH, era inhibida en ratas, tanto adultas como en crías, postulando que la relación de la melatonina con hormona de crecimiento, se producía a nivel hipotalámico, actuando la melatonina sobre la somatostatina (266). Lisoni y colaboradores, en su objetivo de estudiar la relación entre melatonina y pubertad, observa que existen cambios significativos entre sujetos prepúberes y púberes en lo que se refiere a la relación entre melatonina, y prolactina, FSH, LH y hormona de crecimiento. Observaron que existía una relación proporcional entre prolactina y melatonina al comparar niños prepúberes y púberes, siendo mayor en estos últimos, por el contrario la relación entre melatonina y hormona de crecimiento, fue de carácter inverso, observando disminución de esta última tras la administración de melatonina vía parenteral (267). Posteriores a estos trabajos, se encuentran los referidos ya en la introducción de este proyecto, de Valcavi y Diéguez, en los que encontraron datos contrarios a los descritos anteriormente, en el sentido de un incremento de las concentraciones plasmáticas de hormona de crecimiento, tras administrar melatonina oral a voluntarios sanos (115), (116). Bien es cierto que estos trabajos no existía ninguna prueba de estímulo, que influenciara sobre la liberación de hormona de crecimiento, e igualmente se realizó el estudio en individuos sanos, en consecuencia son circunstancias diferenciadoras a nuestro ensayo y que puedan condicionar la diferencia de resultados.

A nivel experimental, sí existen estudios y trabajos que establecen relaciones entre melatonina y hormona de crecimiento, os cuales están realizados en distintos modelos experimentales y bajo distintas condiciones, y nos referimos a modelos tanto fisiológicos, como el sometimiento de estos animales de experimentación a diversos factores de estímulo, inhibición o estrés. Lógicamente, los resultados obtenidos de estos trabajos de investigación,

aunque ciertamente interesantes, no podemos en ningún momento extrapolarlos al modelo humano, y en consecuencia, exceptuando su interés científico, poder obtener conclusiones y/o comparaciones válidas y aplicables al modelo experimental humano. De la misma manera, hemos de referir que los trabajos realizados en el ser humano, han sido en la gran mayoría de ocasiones, ejecutados en muestras poblacionales con escaso número de participantes, y generalmente adultos voluntarios sanos. Esto quiere decir que en la población infantil han sido escasos, por motivos fundamentalmente deontológicos, los trabajos publicados intentado establecer las relaciones entre ambas hormonas, melatonina y hormona de crecimiento, en el niño, siendo quizás, nuestro grupo de investigación uno de los que con mayor fortuna hemos podido aportar datos en este sentido, como lo demuestra el hecho de otros proyectos de tesis doctoral, en esta misma línea.

Pues bien, tras delimitar el marco conceptual en el cual nos movemos, podemos comentar algunos de las publicaciones que más se asemejan al proyecto de investigación que presentamos. Strassman y colaboradores, pudieron demostrar que en distintas condiciones ambientales de sueño (deprivación, presencia de luz, o estímulo farmacológico), la administración de melatonina, no ejercía un efecto modulador sobre la secreción de dos hormonas, de clara secreción durante el sueño, como son la hormona de crecimiento y la prolactina. Otra circunstancia de estrés que puede modificar la relación entre las hormonas objeto de nuestro estudio son los estados afectivos alterados. Uno de ellos, la depresión en niños y jóvenes, está cada vez siendo más estudiada desde una visión neuroinmunoendocrinológica, con resultados distintos según los modelos experimentales. De todos es conocida la acción que el estrés ejerce sobre el eje hipófiso-adrenal, siendo el aumento en la secreción de corticoides uno de sus efectos más estudiados. Igualmente existe relación entre la secreción de melatonina y hormona de crecimiento. En este sentido nuestro grupo ya ha publicado varios trabajos en los que demuestra como situaciones de estrés, sobre todo estrés crónico, como ocurre en circunstancias semejantes a trastornos afectivos como la

depresión, se acompaña de alteraciones significativas en la secreción de melatonina y hormonas relacionadas (269), (270).

Pero siguiendo con el tema que nos ocupa, hemos de referir los hallazgos obtenidos por otros autores, en modelos humanos y relacionando las hormonas y secreciones hormonales objeto de nuestro proyecto. Lissoni y colaboradores, estudiaron las características de la actividad pineal en pacientes con tumores hipofisarios, analizando fundamentalmente la secreción circadiana de tres hormonas: melatonina, prolactina y hormona de crecimiento. Observaron como resultados de interés, una alteración clara en el ritmo circadiano de melatonina, con niveles séricos aumentados durante la fase de luz y descendidos durante la fase de oscuridad, claramente contrarios a la ritmicidad fisiológica. Cuando administraron a estos pacientes melatonina, no observaron alteración alguna sobre la secreción tanto de prolactina como de hormona de crecimiento. De los pacientes estudiados 11 padecían acromegalia, lo cual de alguna manera nos hace pensar que la relación inversa que mantienen ambas hormonas, melatonina y hormona de crecimiento, como se ha demostrado tanto en nuestro proyecto como en otras publicaciones ya comentados anteriormente, puede mantenerse incluso en situaciones de hipersecreción de hormona de crecimiento, (271).

Kostoglou y colaboradores, han publicado dos estudios, muy interesantes, con la finalidad de incrementar el conocimiento sobre las interrelaciones de glándula hipofisaria y epífisis. En uno de sus diseños experimentales estudiaron a 10 adultos, voluntarios, sanos, con edades comprendidas entre los 21 y 33 años a los que tras la administración oral de melatonina y placebo, se estudia el ritmo circadiano durante las 24 horas observando que existía un adelanto en los picos secretorios de prolactina y cortisol, y no se modificaba el de hormona de crecimiento (272). En este mismo sentido, estudiaron el perfil secretorio de varias hormonas, entre ellas melatonina y hormona de crecimiento, en mujeres sanas sometidas a luz brillante entre las 20,00 y 02,00 horas, y en una segunda fase sin este estímulo luminoso, observaron que la hormona de crecimiento disminuye su secreción durante la fase de exposición a la luz, y que posteriormente en la fase seguida de oscuridad

hubo una respuesta en forma de hipersecreción de GH. La melatonina, sólo sufrió un retraso en la aparición de su pico secretorio de dos horas. Podemos suponer que la fase de hipersecreción de hormona de crecimiento podría coincidir con la fase de descenso en la secreción de melatonina. Hecho que no especifica claramente este trabajo. No se puede concluir que bajo estas condiciones un retraso en la aparición del pico de producción de melatonina se acompañe de un aumento en la secreción de hormona de crecimiento (273).

Como hemos observado a lo largo de este proyecto tanto en la introducción como en la discusión, los efectos e interrelaciones entre epífisis e hipófisis, y más concretamente entre melatonina y hormona de crecimiento, son de cierta complejidad. Como venimos observando la existencia de resultados en las distintas investigaciones realizadas son a todas luces contradictorios. Creemos que esta situación tiene una circunstancia o denominador común que puede explicarla, y es, la compleja neuroregulación tanto de la producción de melatonina como de hormona de crecimiento. Prueba de ello son los resultados obtenidos por Forsling y colaboradores, al estudiar el efecto que la administración exógena de melatonina a distintas dosis ejercía sobre la producción de occitocina, prolactina y hormona de crecimiento. A diferencia de otros trabajos comentados anteriormente observó un incremento significativo en la secreción de melatonina, cuando se administraron estos sujetos dosis tanto de 0,5 como de 5 mg de melatonina (274).

Hasta ahora hemos comentado los trabajos más interesantes que creemos podemos de laguna manera comparar con el proyecto que desarrollamos, quizás no en la metodología, pues podemos observar es amplia pero sí en el objetivo final. Sin perjuicio de lo anterior y con la idea de centrar aún más la discusión hemos realizado una última revisión bibliográfica especificando y siendo más exigentes en nuestros criterios de búsqueda, así al introducir la palabra “*child*” unida a la de “*melatonin*” y “*growth hormone*”, pudimos comprobar, que sin limitación de tiempo, sólo aparecen 18 artículos publicados, de los cuales 3 pertenecen a publicaciones de nuestro grupo de investigación referenciadas ampliamente a lo largo de este proyecto, y siendo la primera referencia en 1969, considerando que la palabra “*child*”, podría

aparecer en cualquier párrafo del artículo. No obstante, se ha publicado en marzo de 2007, un artículo ciertamente interesante de Karasek y colaboradores en *Journal Pineal Research*. Estos autores, han estudiado en 22 niños (20 niños y 2 niñas), con edades medias comprendidas entre 11 y 16 años, el ritmo circadiano de melatonina y hormona de crecimiento durante 24 horas. Igualmente han dividido en dos grupos la muestra poblacional, uno constituido por 11 niños, con baja talla idiopática y otro con el mismo número de niños con déficit de hormona de crecimiento. Como resultados más interesantes, han observado que en las horas de la noche de máxima secreción de melatonina, que ocurrían entre las 02 y 04 horas, como no podía ser de otra manera, la secreción de melatonina era mayor en el grupo de pacientes con déficit de hormona de crecimiento que en el grupo de pacientes con baja talla idiopática. De alguna manera y aunque metodológicamente los resultados obtenidos por nosotros presentan este sesgo en la comparación, podemos decir que el hallazgo de esta autor, corrobora los hallazgos expresados en nuestros resultados, de manera que incluso bajo situaciones no fisiológicas como ocurre en las pruebas de estímulo de GH en el diagnóstico del déficit de esta hormona podemos comprobar una relación inversa entre las concentraciones plasmáticas de melatonina y hormona de crecimiento, como se pueden apreciar en nuestros resultados. Resultados que se apreciaron igualmente al correlacionar ambos parámetros. También hemos podido observar cómo las concentraciones plasmáticas de melatonina eran mayores para el grupo de pacientes con déficit de hormona de crecimiento, para todas las muestras de melatonina, exceptuando para las tasas de melatonina a los 60 minutos, como podemos observar en las *figuras 4.22, 4.23, 4.25 y 4.26*. Para el grupo de pacientes con baja talla familiar, podemos observar una menor concentración de melatonina.

6.- Conclusiones

1. Tras el análisis de los resultados obtenidos en la presente experiencia, podemos establecer la existencia de una interrelación entre epífisis e hipófisis, expresada en los productos hormonales secretados, para la epífisis la melatonina y para la hipófisis, en el presente trabajo, la hormona de crecimiento. Interrelación, que confirma los hechos publicados previamente por otros autores.
2. La realización del test de estímulo de hormona de crecimiento mediante la hipoglucemia insulínica en pacientes con déficit de crecimiento, se acompaña de cambios en la concentración plasmática de melatonina.
3. Los resultados obtenidos en relación a las tasas plasmáticas de melatonina para el grupo de niños estudiados en el presente proyecto de investigación, nos hacen deducir que el estímulo positivo que la hipoglucemia insulínica ejerce sobre la secreción de hormona de crecimiento, se transforma en un estímulo inhibitorio sobre la secreción de melatonina para los niños de nuestro estudio diagnosticados de Baja Talla Familiar y Retraso Constitucional del Crecimiento y Desarrollo.
4. Por otra parte en los pacientes con déficit de Hormona de Crecimiento en los que la secreción de dicha hormona es claramente deficitaria tras el estímulo hipoglucémico, se acompaña de un aumento en la producción de melatonina. Cabría pensar en la existencia de una relación inversa entre ambas hormonas para estos pacientes, de tal forma que la hormona de crecimiento intervendría en la regulación de la secreción de melatonina fundamentalmente inhibiendo su producción. Esta circunstancia que se podría esperar en estímulos únicos y agudos como son los tests de estímulos, pero no en situaciones más fisiológicas, como ocurre durante el período de sueño nocturno, en el cual se produce un aumento circadiano en la secreción de ambas hormonas.
5. La conclusión anterior nos llevaría, finalmente, a deducir, que para conocer en profundidad cuál es la interrelación entre hormona de crecimiento y melatonina, serían necesarios estudios realizados durante la noche, situación cronobiológicamente mas fisiológica, en la producción de ambas hormonas.

7.- Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

1. González G, Valladolid M (eds). El tercer ojo y los ritmos biológicos de los vertebrados (incluida la especie humana). Gráficas Summa. Madrid, 1994.
2. Descartes R. Description du Corps Humain et passions de l'Ame. En Ouvres, vol. XI. Ch. Y.P. Tannery (Eds.). París, 1709.
3. Gutzeit R. Ein teratom der Zilbedrüse. Königsberg, 1896.
4. Heubner O. Tumor der Glandula Pinealis. Dtsch Med Wschr 1898; 24: 214.
5. Wurtman RJ, Axelrod J. The Pineal Gland. Sci Amer, 1965; 213: 50-60.
6. Reiter RJ. Interaction of photoperiod, pineal and seasonal reproduction as exemplified by findings in the hamsters. Prog. Reprod. Biol. 1978; 4: 169-190.
7. Kappers AJ. Comparative Gross and fine morphology of the mammalian pineal gland. In J Axelrod, F Fraschini, GP Velo, eds: The pineal gland and its endocrine role. Plenum Press, 1983: 37-59.
8. Min KW, Seo IS, Song J. Postnatal evolution of the human pineal gland. An immunohistochemical study. Lab Invest 1987; 57(6): 724-728.
9. González G, Álvarez Uría M. Anatomía macroscópica y microscópica. En: la glándula pineal de los mamíferos. Summa, Oviedo. 1984: 20-32.
10. Reyes PF. Age related histologic changes in the human pineal gland. In Reiter RJ (ed.): The Pineal Gland and its hormones. Alan R Liss, New York, 1982: 253-261.
11. Martínez Soriano F. Glándula Pineal. Estructura y Función. Gregori, Valencia, 1987.
12. Ramírez F. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1998.
13. Hasegawa A, Mori W. Morphometry of the human pineal gland: relationship to the adrenal cortex. Acta Pathol Jpn 1980; 30(3): 407-410.
14. Ramón y Cajal, S. Textura del Sistema Nervioso del hombre y los vertebrados. TUU, 2ª parte. Moya, Madrid, 1904.
15. Vollrath L. Mammalian pinealocytes: ultrastructural aspects and innervation. In Evered D, Clarks S (eds): Photoperiodism, melatonin and pineal gland. Ciba Found Symp 117. Pitman, London, 1985: 9-22.
16. Ritta MN, Cardinali DP. Effect of indomethacin on monoamine metabolism and melatonin synthesis in rat pineal gland. Horm Res 1980; 12: 305-312.
17. Lewin AJ, Wehr TA, Goodwin FK. Light suppresses melatonin secretion in humans. Science 1980; 210: 1267-1269.
18. Smith JA, O'Hara J, Schiff AA. Altered diurnal serum melatonin rhythm in blind men. Lancet, 1981; 24: 293.

19. Cardinali DP, Vacas MJ, Gejman PV. The sympathetic superior cervical ganglia as peripheral neuroendocrine centers. *J Neural Transm.* 1981; 52: 1-21.
20. Olcese J, Reuss S, Steinlechner S. Electrical stimulation of the hypothalamic nucleus paraventricularis mimics the effects of light on pineal melatonin synthesis. *Life Sci.* 1986; 40: 455-459.
21. Mess B, Ruzsas C. Relationship between suprachiasmatic nuclei and rhythmic activity of the pineal gland. In RJ Reiter, M Karassek (eds): *Adv Pineal Res.* Libbey, London, 1986: 149-158.
22. Goldman BD, Darrow JM. The pineal gland and mammalian photoperiodism. *Neuroendocrinology* 1983; 37: 386-396.
23. Sugden D, Klein DC. Adrenergic stimulation of rat pineal hydroxyindol-o-methyl-transferase. *Brain Res* 1983; 256: 348-353.
24. Sugden D, Klein DC. Beta-Adrenergic control of rat pineal hydroxyindol-o-methyl-transferase. *Endocrinology* 1983; 113 (1): 348-353.
25. Sugden D, Klein DC. Regulation of rat pineal hydroxyl-indole-o-methyltransferase in neonatal and adult rats. *J Neurochem* 1983; 40: 1647-1653.
26. Sugden D, Klein DC. Regulation of rat pineal α -adrenoceptors. *J Neurochem* 1985; 44: 63-67.
27. Vollrath VS, Spurkes TL, Anderson GM. Superior cervical ganglinectomy: effect on indolic compounds in rat pineal gland. *J Neural Transm* 1982; 55: 45-52.
28. Sugden D, Klein DC. Activators of protein kinase C act at a postreceptor site to amplify cyclic AMP production in rat pinealocytes. *J Neurochem* 1988; 50: 149-155.
29. Vanecek J, Sugden D, Weller J, Klein DC. Atypical synergistic α -1 and beta-adrenergic regulation of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphates in rat pinealocytes. *Endocrinology* 1985; 116 (6): 2167-2173.
30. Chik C, Ho AK, Klein DC. α -1-adrenergic potentiation of vasoactive intestinal peptide stimulation of rat pinealocyte adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate: Evidence of a role of calcium and protein kinase-C. *Endocrinology* 1988; 122 (2): 702-708.
31. Stankov B, Fraschini F, Reiter RJ. Melatonin binding sites in the central nervous system. *Brain Res Brain Rev* 1991; 16: 245-256.
32. Lee PPN, Pnag SF. Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. *Biol Signals* 1993; 2: 181-183.
33. Yie SM, Niles LP, Younglai EV. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1747-1749.

34. Viswanathan M, Laitinen JT, Saavedra JM. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc Nat Acad Sci USA* 1990; 87: 6200-6203.
35. Brzezinski A. Melatonin in Humans. *N Engl J Med* 1997; 336: 186-195.
36. Ciesla W. Can melatonin regulate the expression of prohormone convertase 1 and 2 genes via monomeric and dimeric forms of RZR/ROR nuclear receptor, and can melatonin influence the processes of embryogenesis or carcinogenesis by disturbing the proportion of cAMP and cGMP concentrations? Theoretic model of controlled apoptosis. *Med Hypotheses*. 2001 Feb;56(2):181-93.
37. Carlberg C. Gene regulation by melatonin. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 917:387-96.
38. Smirnov AN. Nuclear melatonin receptors. *Biochemistry (Mosc)*. 2001; 66(1):19-26.
39. Mor M, Plazzi PV, Spadoni G, Tarzia G. Melatonin. *Curr Med Chem*. 1999;6(6):501-18.
40. Carlberg C, Wiesenberg I. The orphan receptor family RZR/ROR, melatonin and 5-lipoxygenase: an unexpected relationship. *J Pineal Res*. 1995; 18(4):171-8.
41. Schrader M, Danielsson C, Wiesenberg I, Carlberg C. Identification of natural monomeric response elements of the nuclear receptor RZR/ROR. They also bind COUP-TF homodimers. *Biol Chem*. 1996; 271(33):19732-6.
42. Gupta D. The pineal gland in relation to growth and development in children. *J Neural Transm Suppl*. 1986;21:217-32.
43. Cavallo A, Richards GE, Smith ER. Relation between nocturnal melatonin profile and hormonal markers of puberty in humans. *Horm Res*. 1992; 37(4-5):185-9.
44. Muñoz-Hoyos A, Molina-Carballo A, Macias M, Rodriguez-Cabezas T, Martin-Medina E, Narbona-Lopez E, Valenzuela-Ruiz A, Acuna-Castroviejo D. Comparison between tryptophan methoxyindole and kynurenine metabolic pathways in normal and preterm neonates and in neonates with acute fetal distress. *Eur J Endocrinol*. 1998; 139(1):89-95.
45. Jaldo-Alba F, Muñoz-Hoyos A, Molina-Carballo A, Molina-Font JA, Acuna-Castroviejo D. Light deprivation increases plasma levels of melatonin during the first 72 h of life in human infants. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1993; 129(5):442-5.
46. Attanasio A, Rager K, Gupta D. Ontogeny of circadian rhythmicity for melatonin, serotonin, and N-acetylserotonin in humans. *J Pineal Res*. 1986; 3(3):251-6.

47. Vriend J. Evidence for pineal gland modulation of the neuroendocrine-thyroid axis. *Neuroendocrinology*. 1983; 36(1):68-78.
48. Vriend J, Richardson BA, Vaughan MK, Johnson LY, Reiter RJ. Effects of melatonin on thyroid physiology of female hamsters. *Neuroendocrinology*. 1982; 35(2):79-85.
49. Vriend J. The pineal and melatonin in the regulation of pituitary-thyroid axis. *Life Sci*. 1981; 29(19):1929-36.
50. Niles LP, Brown GM, Grotta LJ. Role of the pineal gland in diurnal endocrine secretion and rhythm regulation. *Neuroendocrinology*. 1979; 29(1):14-21.
51. De Prosop ND, Safinski RJ, De Martino LJ, Mc Guinness ET. Melatonin and its precursors' effects on ¹³¹I uptake by the thyroid gland under different photic conditions. *Life Sci*. 1969; 8(15):837-42.
52. De Prosop ND, De Martino LJ, McGuinness ET. Melatonin's effect on ¹³¹I uptake by the thyroid glands in normal and ovariectomized rats. *Life Sci*. 1968; 7(3):183-8.
53. Von Treuer K, Norman TR, Armstrong SM. Overnight human plasma melatonin, cortisol, prolactin, TSH, under conditions of normal sleep, sleep deprivation, and sleep recovery. *J Pineal Res*. 1996; 20(1):7-14.
54. Melis GB, Cagnacci AM, Paoletti R, Soldani m, Orru C. Melatonin administration increase TSH secretion in the follicular but not in the luteal phase of the women menstrual cycle. *J Endocrinol Invest* 1995; 18: 37.
55. Glass JD, Lynch GR. Evidence for a brain site of melatonin action in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. *Neuroendocrinology* 1982, 34: 1-6.
56. Muñoz-Hoyos A, Hubber E, Escames G, Molina-Carballo A, Macías M, Valenzuela-Ruiz A, Fernández-García JM, Acuña-Castroviejo D. Effect of propranolol plus exercise on melatonin and growth hormone levels in children with growth delay. *J Pineal Res* 2001; 30: 75-81.
57. Fernández García, JM. Análisis de interrelaciones hormonales entre epífisis e hipófisis tras un test de estímulo con clonidina. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1993.
58. Wetterberg L. Melatonin and affective disorders. In Evered D, Clark S (eds.): *Photoperiodism, melatonin and the pineal*. Ciba Found Symp. 117. Pitman, London, 1985: 253-265.
59. Werner S, Wetterberg L. Melatonin and corticosteroid response to metyrapone in patients with pituitary disease. In reiter (eds): *The pineal and its hormones*. Alan R Liss, New York, 1982: 283-292.

60. Blaicher W, Imhof MH, Gruber DM, Schneeberger C, Sator MO, Huber JC. Endocrinological disorders. Focusing on melatonin's interactions. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 48: 179-182.
61. Luboshitzky R, Quoti G, Ishay A, Shen-Orr Z, Herer P. Increased urinary 6-sulfatoxymelatonin excretion in women with non-classical steroid 21-hydroxylase deficiency. *Neuroendocrinol Lett* 2001; 22: 332-336.
62. Attanasio A, pager K, Gupta D. Ontogeny of circadian rhythmicity for melatonin, serotonin, and N-acetylserotonin in humans. *J Pineal Res* 196, 3. 251-256.
63. Forest MG, Pituitary gonadotropin and sex steroid secretion during the first two years of life. In grumbach MM, Sizonenko PC (eds.): *Control of the onset of puberty*. Williams & Williams, Baltimore, 1989: 451-478.
64. Bartness TJ, Powers JB, Hastings MH, Bittman EL, Goldman BD. The timed infusion paradigm for melatonin delivery what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control for seasonal responses. *J Pineal Res* 1993; 15: 161-190.
65. Waldhauser F, Boepple PA, Schemper M, Mansfield MJ, Crowley WF. Serum melatonin in central precocious puberty is coger in age-matched prepubertad children. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73: 793-796.
66. Waldhauser F, Weiszenbacher G, frisch H, Zeitlhuber U, Waldhauser M, Wurtamn RJ. Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescente. *Lancet* 1984; 1: 362-365.
67. Argente J. Fundamentos b iológicos de la pubertad. *An Esp pediatri* 1990; 32: 379-388.
68. Axelrod J, Shein HM, Wurtman R. Stimulation of C 14-melatonin synthesis from C 14-tryptophan by noradrenaline in rat pineal in organ culture. *Proc Nat Acad Sci* 1969; 62(2): 492-498.
69. Cardinali DP, Gejman PV, Ritta M, futre evidence of adrenergic control of traslocation intracelular levels of strogen receptors in the rat pineal gland. *Endocrinology* 1983; 112 (2): 492-498.
70. Cardinali DP, Vacas MI, Rosenstein R, Lowenstein PR, Gonzales-Solveyra C, Romeo HE, Keller Sarmiento RI. The pineal gland as a multieffector organ. In RJ reiter, M Karasek (eds.): *Avd Pineal Res 1*. Libbey, London, 1986: 127-138.
71. Cardinali DP, Ritta MN, Vacas MI, Lowenstein PR, Gelman PV, Gonzales Solveyra C, Pereyra E. Molecular aspects of neuroendocrine integrative processes in the pineal gland. In Axerold J, Fraschini F, Velo P: *The pineal gland its endocrine role*. Plenum Press, New York, 1983: 199-220.

72. Sudgen D, Klein DC. Regulation of rat pineal alpha-adrenoceptors. *J Neurochem* 1985; 44: 63-67.
73. Klein DC, Sudgen D, Weller JL. Postsynaptic alpha-adrenergic receptors potentiate the beta-adrenergic stimulation of pineal serotonin N-acetyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 599-603.
74. Brown GM, Grota LJ, Harvey L, Tsui HW, Pang SF. Differential regulation of the 24-hour pattern of serum melatonin N-acetylserotonin. In Axelrod J, Fraschini F, velo P (eds.): *The pineal gland its endocrine role*. Plenum Press, New York 1983: 243-256.
75. Rollag MD, Panje ES, Trakulrungsi WK. Quantification of daily melatonin síntesis in the hamster pineal gland. *Endocrinology* 1980; 106: 231-236.
76. Reiter RJ, Joshi BN, Heinzeller T, Nürnberger F. A single 1- or 5- second light pulse at night inhibits hamster pineal melatonin. *Endocrinology* 1986; 118: 1906-1909.
77. Brainard GC, Richardson BA, King TS, Matthews R, reiter RJ. The suppression of pineal melatonin content N-acetyltransferase activity by differ rent light irradiances in the Syrian hamster: A dose-response relationship. *Endocrinology* 1983; 113 81): 293-296.
78. Lincoln GA, Eblin FJP, Almeida OFX. Generation of melatonin rhythms. In Evered D, Clark, S (eds.): *Photoperiodism, melatonin the pineal*. Ciba Found Symp 117. Pitman, London, 1985: 129-148.
79. Brown G, Grota L, Bubenik G, Niles L, Tsui H. Physiologic regulation of melatonin. In Birau N, Schloot W (eds.): *Melatonin current status perspectives*. Adv Biosciences 29. Pergamon Press, Oxford, 1981: 95-112.
80. Brainard GC, Lewy AJ, Menaker M, Fredrickson RH, Millar LS, Weleber RG, Casone V, Hudson D. Dose-response relationship light irradiance the suppression of plasma melatonin in human volunteers. *Brain Res* 1988; 454: 212-218.
81. Reiter RJ. The pineal its indoleproducts: Basic aspects clinical applications. In MP Cohen PP Foá (eds.): *The brain as an endocrine organ*. *Endocrinol & Metabolism* 3. Springer-Verlag, New York, 1989: 97-149.
82. Cardinali DP, Vacas MI, Rosenstein RE, Etchegoyen GS, Keller Sarmiento MY, Solveyra CG, Pereyra EN. Multifactorial control of pineal melatonin síntesis: an análisis through bimding studies. In Reiter RJ, Fraschini F (eds.): *Adv Pineal Res*. Libbey, London, 1987: 51-67.
83. Webley GE, Leidenberger F. The circadian pattern of melatonin its positive relationship with progesterona in woman. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 323-368.

84. Lynch hJ, Deng MH. Pineal responses to stress. *J Neural Transm* 1986; Suppl 21: 461-474.
85. Murphy PJ, Badía P, Myers BL, Wright KP Jr. Nonsteroidal antiinflammatory drugs affect normal sleep patterns in humans. *Physiol Beh* 1994; 55 (6): 1063-1066.
86. Surrall K, Smith JA, Padwick DJ. Effect of ibuprofen and indomethacin on human plasma melatonin. *J Pharm Pharmacol* 1987; 39: 840-843.
87. Jonson AG, Nguyen TV, Day RO, Do nonsteroidal antiinflammatory drugs affect blood pressure?. *Ann Internal Med* 1994; 12 (4): 289-300.
88. Long JW, Rybacki JJ. *The essential guide to prescription drugs-1995*. Harper Perennial, New York, 1995: 863.
89. Huber E. Análisis de la secreción de hormona de crecimiento y melatonina tras un test de estímulo con propanolol en niños. Tesis Doctoral, Granada 1997.
90. Meyer AC, Nieuwenhuis JJ, Meyer BJ. Dihydropyridine calcium antagonist depress the amplitude of the plasma melatonin cycle in baboons. *Lif Sci* 1986; 39: 1563-1569.
91. Lewy A, Sieber LJ, markey SP. Clonidine reduces plasma melatonin levels. *J Pharmac Pharmacol* 1986; 38: 555-556.
92. McIntyre I, Burrows GD, Norman TR. Supresión of plasma melatonin by a single dose of the benzodiazepine alprozolam in humans. *Biol Psychiat* 1988; 24: 105-108.
93. Monteleone P, Fprziati D, Maj M. Preliminary observations on the suppression of nocturnal plasma melatonin levels by short-term administration of diazepam in humans. *J Pineal Res* 1989; 6: 253-258.
94. Childs PA, Rodin I, Thompson C. Effect of fluoxetine on melatonin in patients with seasonal affective disorders and matched controls. *Br J Psychiatr* 1995; 166: 196-198.
95. Wright KP, Badía P, Myers BL, Hakel M. Effects of caffeine , bright light, and their combination on nigttime melatonin and temperature during two nights of sleep deprivation. *Sleep Res* 1995; 24: 248.
96. Touitou Y, Fevre-Montagne M, Nakache JP. Age and sex-associated modification of plasma melatonin concentrations in man. Relationship to pathology, malignat or not, and autopsy findings. *Acta Endocrinol* 1985; 108: 135-144.
97. Waldelind E, Wetterberg L, Filippi U. Lowered circannual urinary melatonin concentrations in episodic cluster headache. *Cephalagia* 1994; 14: 199-204.
98. Moss HB, Tamarkin L, Majchrowitz E. Pineal function during etanol intoxication, dependence withdrawal. *Lif Sci* 1986; 39: 2209-2214.

99. Ekman AC, Leppalouto J, Vakkuri O. Ethanol inhibits melatonin secretion in healthy volunteers in a dose-dependent randomized double-blind cross-over study. *J Clin Endocrinol Metabol* 1993; 77: 780-783.
100. Kayak G, Huether G, Poeggeler B, Ruther E. The influence of intravenous L-tryptophan on plasma melatonin and sleep in men. *Pharmacopsychiatry* 1991; 24: 17-20.
101. Dakshinamurti K, Paulose CS, Sharma SK. Neurobiology of pyridoxine. *Ann NY Acad Sci* 1990; 585: 128-144.
102. Lissoni P, Resentini M, Fraschini F. Effects of tetrahydrocannabinol on melatonin secretion in man. *Horm Metabol Res* 1986; 18: 77-78.
103. Molina Carballo A. Glándula Lineal y trastornos convulsivos en el niño: interrelaciones neuroendocrinas en función del ritmo circadiano. Tesis Doctoral, Granada, 1989.
104. Wright J, Aldhous C, Franey J, English J, Arendt J. The effects of exogenous melatonin on endocrine function in man. *Clin Endocrinol* 1986; 24: 375-382.
105. Lissoni P, rsentini M, mauri R, De Medici C, Morabito F, Esposti D, Dibella L, Esposti G, Rossi D, Paarraucini L, Legname G, Fraschini F. Effect of an acute injection of melatonin on the basal secretion of hypophyseal hormones in prepuberal and puberal healthy subjects. *Acta Endocrinol* 1986; 11: 305-301.
106. Valcavi R, Diéguez C, Azzarito C, Edwards CA, Dotti C, Page MD. Effect of oral administration of melatonin on GH response to GRF 1-44 in normal subjects. *Clin Endocrinol* 1987; 26: 453-458.
107. Valcavi R, Zini M, Maestroni GJ, Conti A, Portioli I. Melatonin stimulates growth hormona secretion through pathways other than the growth hormone-releasing hormone. *Clin Endocrinol* 1993; 39: 193-199.
108. Vriend J, Sheppard S, Bala M. Melatonin increase insulin-like growth factor-I in male syriam hamster. *Endocrinology* 1988; 122: 2558-2561.
109. Gupta D, Riedel L, Frock HJ, Atanasio A, Ranke MB. Circulating melatonin in children: in relation to puberty, endocrine disorders, functinal tests and racial origin. *Neuroendocrinol Lett* 1983; 5: 63-78.
110. Gupta D. The pineal gland in relation to growth and development in children. *J Neural Transm* 1986; Suppl 21: 217-232.
111. Smythe GA, Lazarus L. Growth hormone regulation by melatonin and serotonin. *Nature* 1974; 244: 230-231.
112. Smythe GA, Lazarus L. Supression of human growth hormone secretion by melatonin and cyproheptadine. *J Clin Invest* 1974; 54: 116-121.

113. Smythe GA, Lazarus L. Growth hormone response to melatonin in man. *Science* 1974; 134: 1373-1374.
114. Koulu M, Lammintausta R. Effect of melatonin on L-tryptophan and apomorphine-stimulated growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49: 70-72.
115. Valcavi R, Zini M, Maestroni GJ, Conti A, Portioli I. Effect of oral administration of melatonin on GH responses to GRF1-44 in normal subjects. *Clin Endocrinol* 1987; 25: 453-458.
116. Valcavi R, Zini M, Maestroni GJ, Conti A, Portioli I. Melatonin stimulates growth hormone secretion through pathways other than the growth hormone-releasing hormone. *Clin Endocrinol* 1993; 39: 193-199.
117. Richardson SB, Hollander CS, Prasad JA, Hirooka Y. Somatostatin release from rat hypothalamus in vitro: effects of melatonin and serotonin. *Endocrinology* 1981; 109: 602-606.
118. Sinisi AA, Pascuali D, Dapuzzo A, Esposito D, Venditto T, Criscuolo T. 24 hour melatonin pattern in acromegaly. Effect of acute octrotide administration. *J Endocrinol Invest* 1997; 20: 128-123.
119. Waldhauser F, Liebermen HR, Lynch HJ, Waldhauser M, Herkner K, Frisco H. A pharmacological dose of melatonin increases PRL levels in males without altering those of GH, LH, FSH, TSH, testosterone or cortisol. *Neuroendocrinology* 1987; 46: 125-130.
120. Grasby PM, Cowen PJ. The effect of clonidine and bright light on plasma melatonin. *Human Psychopharmacol* 1988; 3: 43-46.
121. Palazidou E, Papadopoulos A, Sitsen A, Sthal, Checkley S. Na alpha₂ adrenoceptor antagonist, Org 3770, enhances nocturnal melatonin secretion in man. *Psychopharmacology* 1989; 97: 115-117.
122. García Patterson A, Schwarzstein D, Puig-Domingo M, Webb S. Controversias sobre la modulación pineal del crecimiento y desarrollo. *Endocrinología* 1994; 41: 15-18.
123. Dieguez C, Page MD, Scanlon MF. Growth hormone regulation and its alteration in disease states. *Clin Endocrinol* 1988; 28: 109-143.
124. Röjdmärk S, Berg A, Rössner S, Wetterberg L. Nocturnal melatonin secretion in thyroid disease and in obesity. *Clin Endocrinol* 1991; 35: 61-65.
125. Röjdmärk S, Wetterberg L. Short-term fasting inhibits the nocturnal melatonin secretion in healthy man. *Clin Endocrinol* 1989; 30: 451-457.

126. Tamarkin L, Abastillas P, Chen H-C, McNemar A, Sidbury JB. The daily profile of plasma melatonin in obese and Prader-Willi syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55: 491-495.
127. Cowen PJ, Fraser S, Sammons R, Green AR. Atenolol reduces plasma melatonin concentration in man. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 15: 579-580.
128. Frohman LA, Downs ATR, Chomczynski P. regulation of growth hormone secretion. *Front. Neuroendocrinol.* 1992; 13: 344-405.
129. Müller EE. Neural control of somatotropic function. *Physiol Rev.* 1987; 67: 962-1053.
130. Winer LM, Shaw MD, Baumann G. Basal plasma GH levels in men: new evidence for rhythmicity of growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70: 1678-1686.
131. Veldhuis JD, Johnson MI. Deconvolution analysis of hormone data. *Methods Enzymol* 1992; 210: 539-575.
132. Iranmanesh A, Grisso A, Veldhuis JD. Low basal and persistent pulsatile growth hormone secretion in normal and hyposomatotropic men studied with a new ultrasensitive chemiluminescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; 78: 526-535.
133. Veldhuis JD, Liem AY, South S, Weltman A, Weltman J, Clemmons DA, Abbott R, Mulligan T, et al. Differential impact of age, sex, steroid hormones, and obesity on basal versus pulsatile growth hormone secretion in men is assessed in an ultrasensitive chemiluminescence assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80: 3209-3222.
134. Andrew RD, Dudek FE. Burst discharge in mammalian neuroendocrine cells involves an intrinsic regenerative mechanism. *Science* 1983; 221: 1050-1052.
135. Jaffe CA, Ho P, Demott-Friberg R, Bowers C, Barkan A. Effects of a prolonged growth hormone (GH)-releasing peptide infusion on pulsatile GH secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77: 1641-1647.
136. Hizuka, N., K. Takano, K. Shizume, I. Tanaka, N. Honda, And N. C. Ling. Plasma growth hormone (GH) and somatomedin-C response to continuous growth hormone-releasing factor (GRF) infusion in patients with GH deficiency. *Acta Endocrinol.* 110: 17-23, 1985.
137. Vance, M. L., D. L. Kaiser, W. S. Evans, R. Furlanetto, W. Vale, J. Rivier, And M. O. Thorner. Pulsatile growth hormone secretion in normal men during a continuous 24-h infusion of human growth hormone releasing factor. Evidence for intermittent somatostatin secretion. *J. Clin. Invest.* 75: 1584-1990, 1985.
138. Barkan, A. L., Y. Shenker, R. J. Grekin, W. W. Vale, R. V. Lloyd, And T. F. Beals. Acromegaly due to ectopic growth hormone (GH) releasing-hormone

- production: dynamic studies of GH and ectopic GHRH secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 63: 1057–1064, 1986.
139. Hartman, M. L., A. C. S. Faria, M. L. Vance, M. L. Johnson, M. O. Thorner, J. D. Veldhuis. Temporal structure of in vivo growth hormone secretory events in humans. *Am. J. Physiol.* 260 (Endocrinol. Metab. 23): E101–E110, 1991.
140. Jaffe, C. A., D. A. Turgeon, R. De Mott Friberg, P. B. Watkins, A. L. Barkan. Nocturnal augmentation of growth hormone (GH) secretion is preserved during repetitive bolus administration of (GH)-releasing hormone: potential involvement of endogenous somatostatin. A clinical research center study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80: 3321–3326, 1995.
141. Clark, R. G., I. C. A. F. Robinson. Growth hormone (GH) responses to a multiple injections of a fragment of human GH releasing factor in conscious male and female rats. *J. Endocrinol.* 106: 281–289, 1985.
142. Tatar, P., M. Vigas. Role of α_1 - and α_2 -adrenergic receptors in the growth hormone and prolactin response to insulin-induced hypoglycemia in man. *Neuroendocrinology* 39: 275–280, 1984.
143. Ganzetti, I, V. De Gennaro, M. Redaelli, E. E. Müller, D. Cocchi. Effect of hypophysectomy and growth hormone replacement on hypothalamic GHRH. *Peptides* 7: 1011–1014, 1986.
144. Argente, J., J. A. Chover, P. Zeitler, D. K. Clifton, R. A. Steiner. Sexual dimorphism of growth hormone-releasing hormone and somatostatin gene expression in the hypothalamus of the rat during development. *Endocrinology* 128: 2369–2375, 1991.
145. Maiter, D., J. Koenig, L. M. Kaplan. Sexually dimorphic expression of the growth hormone-releasing hormone gene expression is not mediated by circulating gonadal hormones in the adult rat. *Endocrinology* 128: 1709–1716, 1991.
146. Ono, M., N. Miki, Y. Murata, E. Osaki, K. Tamitsu, T. Ri, M. Yamada, H. Demura. Sexually dimorphic expression of pituitary growth hormone-releasing factor receptor in the rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216: 1060–1066, 1995.
147. Bruni, J. F., J. Meites. Effects of cholinergic drugs on growth hormone release. *Life Sci.* 21: 481–486, 1978.
148. Chapman I, Hartman ML, Straume M, Jhonson ML, Veldhuis JD, Thorner MO. Enhanced sensitivity growth hormone chemiluminescence assay reveals lower postglucose nadir GH concentrations in men than women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; 78: 1312-1319.
149. HO KY, Evans SW, Blizzard RM, Veldhuis JD, Merriam GR, Samojlik E, Furlanetto R, Rogol AD, Kaiser DL, Thorner MO.

150. Van Den Bergh G, Veldhuis JD, Frolich M, Roelfsema F. An amplitude-specific divergence in the pulsatile mode of growth hormone (GH) secretion underlines the gender difference in mean GH concentration in men and premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 2460-2467.
151. Kaplan SL, Grumbach MM, Shepard TK. The ontogenesis of human fetal hormone-releasing factor-like immunoreactivity in human cerebrospinal fluid. *J Clin Invest* 1972; 51: 3080-3090.
152. Delitala G, Maioli M, Pacifico A, Brinada S, Palermo M, Mannelli M. Cholinergic receptor control mechanism for L-Dopa, apomorphine and clonidine-induced growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983; 57: 1145-1149.
153. Loche S, Pintor C, Cappa M, Ghigo E, Puggioni R, Locatelli V, Müller EE. Pyridostigmine counteracts the blunted growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone of obese children. *Acta Endocrinol.* 1980; 120: 624-628.
154. De Gennaro V, Redaelli V, Locatelli S, Cella G, Fumagalli G, Wehrenberg WB, Müller EE. Ontogeny of growth hormone-releasing factor-containing structures in the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 1986; 44: 59-64.
155. Ishikawa K, Katakami H, Jansson JO, Frohman LA. Ontogenesis of growth hormone-releasing neurons in the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 1986; 43: 537-542.
156. Mulchaney JJ, Diblasio AM, Martin MC, Blumenfeld A, Jaffe BR. Hormone production and peptide regulation of the human fetal pituitary gland. *Endocr Rev.* 1987; 8: 407-421.
157. Miller JD, Esparza A, Wright NM, Garimella J, Lal S, Lester SE, Mosier HD. Spontaneous growth hormone release in term infants changes during the first days of life. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76: 1058-1063.
158. Albertsson-Wikland K, Rosberg S. *Frontiers in Pediatric Neuroendocrinology*, edited by MO Savage, JP Bourguignon and AB Grossman. Oxford UK: Blackwell, 1994: 131-137.
159. Link KR, Blizzard RM, Evans WS, Kaiser DL, Parker MW, Rogol AD. The effect of androgens on the pulsatile release and the twenty-four hour mean concentration of growth hormone in peripubertal males. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 62: 159-164.
160. Martha PM, Rogol AD Jr, Veldhuis JD, Kerrigan JR, Goodman DW, Blizzard RM. Alterations in the pulsatile properties of circulating growth hormone concentrations during puberty in boys. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 69: 563-570.

161. Sonntag WER, Steger RW, Forman LJ, Meites J. Decreased pulsatile release growth hormone in old rats. *Endocrinology* 1980; 107: 1875-1879.
162. Veldhuis JD, Metzger DL, Martha PM, Mauras NJr, Kerrigen JR, Kenan B, Rogol AD, Pincus SM. Strogen and testosterone, but no a nonaromatizable androgen, direct network integration of the hypothalamo-somatotrope (growth hormone) insulin-like growth factor I axis in the human: evidence from pubertal pathophysiology and sex-steroid hormone replacement. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 3414-3420.
163. Giustina AT, Sclavini C, Tassi P, Desenzani P, Poiesi C, Wehrenberg WB, Rogol AD, Veldhuis JD. Maturation of the regulation of growth hormone secretion in young males with hypogonadotropic hypogonadism pharmacologically exposed to progressive increments in serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 1210-1219.
164. Hindmarsh PC, Smith PJ, Taylor BJ, Pringle PJ, Brook CGD. Comparison between a physiological and pharmacological stimulus of growth hormone secretion response to stage IV sleep and insulin-induced hypoglycemia. *Lancet* 1985; 1033-1035.
165. Tamaki M, Sato M, Nimi M, Takahara J. resistance of growth hormone secretion to hypoglycemia in the rat. *J Neuroendocrinol* 1995; 7: 371-376.
166. Sassin JF, Parker DC, Johnson LC, Rossman LG, Mace JW, Gottin RW. Effects of slow wave sleep deprivation on human growth hormone release in sleep. *Life Sci* 1969; 8: 1299-1307.
167. Born J, Murth S, Fehm HL. The significance of sleep onset and slow wavr sleep for nocturnal release of growth hormone (GH) and cortisol. *Psychoneuroendocrinology* 1988; 13: 233-243.
168. Steiger A, Guldner J, Hemmeter U, Rothe B, Wiedemann K, Holsboer F. Effects of growth-hormone releasing hormone on sleep EEG and nocturnal hormone secretion in male controls. *Neuroendocrinology* 1992; 56: 566-573.
169. Radomski MW, Buguet A, Dona F, Boui P, Tapie P. Relationship of plasma growth hormone to slow-wave sleep in African sleeping sickness. *Neuroendocrinology* 1996; 63: 393-396.
170. Van Cauter E, Kerkhofs M, Kaufriez A, Von Onderbergen A, Thorner MO, Copinschi G. A quantitative estimation of growth hormone secretion in normal man: reproducibility and relation to sleep and time of day. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74: 1441-1450.
171. Van Cauter E, Caufriez A, Kerkhofs M, Van Onderbergen A, Thorner MO, Copinschi G. Sleep, awakenings, and insulin-like growth factor-I modulate the

- growth hormone (GH) secretory response to GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74: 1451-1459.
172. Gonzales G, Montminy MR. Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine. *Cell* 1989; 33: 675-689.
173. Sheng M, Thompson MA, Greenberg ME, Creb: a C^{2+} -regulated transcription factor phosphorylated by calcium dependent kinases. *Science* 1991; 252: 1427-1430.
174. Lin C, Lin SC, Chang GP, Rosenfeld MG. Pit-1 dependent expression of the receptor for growth hormone releasing factor mediates pituitary cell growth. *Nature* 1992; 360: 765-769.
175. Miller TL, Mayo KE. Glucocorticoids regulate pituitary growth hormone-releasing hormone receptor messenger. *Endocrinology* 1997; 138: 2458-2465.
176. Tannenbaum GS. Growth hormone-releasing factor: direct effects on growth hormone, glucose and behavior via the brain. *Science* 1984; 226: 464-465.
177. Ehlers CL, Redd TK, Henriksen SG. Effects of corticotropin-releasing factor and growth hormone releasing-factor on sleep and activity in rats. *Neuroendocrinology* 1986; 42: 467-472.
178. Nistico G, de Sarro GB, Bagetta G, Müller EE. Behavioral and electrocortical spectrum power effects of growth hormone releasing factor in rats. *Neuropharmacology* 1987; 26: 75-78.
179. Obal FJr, Payne L, Kopacs L, Opp MR, Krueger JM. Inhibition of growth hormone-releasing factor suppresses both sleep and growth hormone secretion in the rat. *Brain* 1991; 557: 149-153.
180. Obal FJr, Payne L, Opp MR, Alfoldi P, Kapas L, Krueger JM. Antibodies to growth hormone-releasing hormone suppresses sleep and prevent enhancement of sleep after sleep deprivation. *Am J Physiol* 1992; 263 (Regulatory Integrative Comp. Physiol): R1078-R1085.
181. Rivier P, Bueno L. Influence of regimen and insulinemia on orexigenic effects of GRF 1-44 in sheep. *Physiol Behav.* 1987; 39: 347-350.
182. Vaccarino FJ, Feifel D, Rivier J, Vale W. Antagonism of central growth hormone-releasing factor activity selectively attenuates dark onset feeding in rats. *J Neurosci* 1991; 11: 3924-3927.
183. Dickson PR, Feifel D, Vaccarino FJ. Blockade of endogenous GRF and darkonset selectively suppresses protein intake. *Peptides* 1995; 16: 7-9.
184. Vaccarino FJ, Kennedy SH, Ralevski E, Black R. The effects of growth hormone-releasing factor on food consumption in anorexia nervosa patients and normals. *Biol Psychiatry* 1994; 35: 446-451.

185. Reichlin S. Somatostatin. In: Brain Peptides, edited by DT Krieger, MO Brownstein and JB Martin, New York Wiley, 1983: 711-742.
186. Fishman MA, Peake GT. Paradoxical growth in a patient with diencephalic syndrome. *Pediatrics* 1970; 45: 973-982.
187. Bertherat J, Bluet-Pajot MT, Eelbaum J. neuroendocrine regulation of growth hormone. *Eur J Endocrinol* 1995; 132: 12-24.
188. Pierotti AR, Harmar J. Multiple forms of somatostatin-like immunoreactivity in the hypothalamus and amygdala of the rat: selective localization of somatostatin-28 in the median eminence *J Endocrinol*. 1985; 105: 383-390.
189. Maeda K, Frohman LA. Release of somatostatin and thyrotropin-releasing hormone from rat hypothalamic fragments in vitro. *Endocrinology* 1980; 106: 1837-1842.
190. Gamse RD, Vaccaro D, Gamse G, Di Pad T, Fox O, Leeman SE. Release immunoreactive somatostatin from hypothalamic cells in culture: inhibition by gamma-aminobutyric acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 5552-5557.
191. Wakabayashi I, Miyazawa Y, Kanda M, Miki N, Demura R, Demura H, Shizume K. Stimulation of immunoreactive somatostatin release from hypothalamic synaptosomes by high (K⁺) and dopamine. *Endocrinol Jpn* 1977; 24: 601-604.
192. Negro-Vilar A, Ojeda SR, Advis JP, McCann SM. Evidence for noradrenergic involvement in episodic prolactin and growth hormone release in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1979; 105: 86-91.
193. Katakami K, Arimura A, Frohman LA. Hypothalamic somatostatin mediates the supresión of growth hormona secretion by centrally administired thyrotropin-releasing hormona in conscious rats. *Endocrinology* 1985; 117: 1139-1144.
194. Cattaneo L, De Gennaro Colonna V, Zoli M, Müller E, Cocchi D. Characterization of the hypothalamopituitary-IGF-I axis in rats made obese by overfeeding. *J Endocrinol* 1996; 148: 347-353.
195. Richardson SB, Hollander CS, D'Eletto R, Greenleaf PW, Thaw C. Acetylcholine inhibits the release of somatostatin from hypothalamus in vitro. *Endocrinology* 1980; 107: 122-129.
196. Patel YC, Greenwood MT, Panetta R, demchyshyn L, Niznik H, Srikant CB. Mini review: the somastotatin receptro family. *Life Ssci* 1995; 57: 1249-1265.
197. Schindler MP, Humphrey PA, Emson PC. Somatostatin receptors in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 1996; 50: 9-47.
198. Schusdziarra V. The physiological role of somatostatin in the regulation of nutrient homeostasis. In: Somatostatin. Basic and Clinical aspects of Neuroscience,

- editd by G Weil, EE Müller and MO Thorner. Berlin: Springer-Verlag, 1992, vol. 4: 43-54.
199. Locatelli V, Torsello A. Growth hormone secretagogues focus on the growth hormone-releasing peptides. *Pharmacol Res.* 1997; 36: 415-423.
200. Leong DA, Pomes A, Veldhuis JD, Clarke IJ. A novel hypophysalamic hormone measured in hypophyseal portal plasma drives rapid bursts GH secretion (Abstract). *Proc Annu Meet Endocr Soc 80th New Orleans LA, 1998*, p OR9-3.
201. Müller EE, Pecile A, Felici M, Cocchi D. Norepinephrine and dopamine injection into lateral brain ventricle of the rat and growth hormone-releasing activity in the hypothalamus and plasma. *Endocrinology* 1970; 86: 1376-1382.
202. Müller EE, Nistico G. Brain messengers and the pituitary. *New York Academy*, 1989.
203. Müller EE, Rolla EM, Ghigo E, Belliti D, Arvrat e, Andreoni A, Torsello A, Locatelli V, Camnni F. Involvement of brain catechalamines and acetylcholine in growth hormone hypersecretory states. *Drugs* 1995; 50: 805-837.
204. Cella SG, Locatelli V, De Gennaro Colonna V, Pellini C, Pintor C, Müller EE. In vivo studies with growth hormone (GH)-releasing factor and clonidine in rat pups: ontogenic development of their effect on GH release and synthesis. *Endocrinology* 1986; 119: 1164-1170.
205. Liposits ZE, Hrabovsky E, Paull WK. Catecholaminergic afferents to growth hormone-releasing hormone (GHRH)- synthesizing neurons of the arcuate nucleus in the rat. *Biomed Res* 1989; 10, Suppl: 57-66.
206. Valle D, De Marinis L, Villa P, Mancini A, Bianchi A, Fulghesu AM, Caruso A, Mancuso S, Lanzone A. Influence of a chronic naltrexone treatment on growth hormone secretion in normal subjects (Abstract). *Proc Annu Meet Endocr Soc 79th. 1997*; 2-200.
207. Devesa J, Arce V, Lis N, Tresguerres AF, Lima L. α_2 -Adrenergic agonism enhances the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone through and inhibition of hypothalamic somatostatin release in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 71: 1581-1588.
208. Cella SG, Picotti GB, Müller EE. α_2 -Adrenergic stimulation enhances growth hormone secretion in the dog: a presynaptic mechanism?. *Lif Sci.* 1983; 32: 2785-2792.
209. Krulich L, Mayfield MA, Steele MK, McMillen BA, McCann SM, Koenig JI. Differentila effects of pharmacological manipulations of central α_1 – and – α_2 -adrenergic receptors on the secretion of thyrotropin and growth hormone in male rats. *Endocrinology* 1982; 110: 796-804.

210. Blackard WG, Heidingsfelder SA. Adrenergic receptor control mechanism for growth hormone secretion. *J Clin Invest.* 1968; 47: 1407-1414.
211. Laakmann G, Zygan K, Schoen HW, Zyan K, Weiss A, Meissner R, Müller OA, Stalla GK. Effect of receptor blockers (methysergide, propranolol, phentolamine, yohimbine and prazosin) on desipramine-induced pituitary hormone stimulation in humans. *Growth Hormone. Psychoneuroendocrinology* 1986; 11: 447-461.
212. Rees L, Butler WP, Cosling C, Besser GM. Adrenergic blockade and the corticosteroid and growth hormone responses to methylamphetamine. *Nature* 1970; 228: 565-566.
213. Massara F, Strumia E. Increase in plasma growth hormone concentration in man after infusion of adrenaline-propranolol. *J Endocrinol* 1970; 17: 95-100.
214. Ghigo EJ, Bellone J, Arvat E, Mazza E, Cella SG, Brambilla F, Müller EE, Camanni F. Effect of alpha and beta adrenergic agonists and antagonists on growth hormone secretion in man. *J Neuroendocrinol.* 1990; 2: 473-480.
215. Martina V, Miola C, Maccario M, Talliano M, Arvat E, Ghigo E, Camanni F. Inhibition by salbutamol of GHRH-induced GH release in type 1-diabetes mellitus. *Horm Metab Res.* 1992; 24: 520-523.
216. Lanes R, Duran Z, Aguirre J, Espina L, Alvarez W, Villaroel O, Zdanovicz M. Short
217. Lanes R, Duran Z, Aguirre JA, Espina L, Alvarez W, Villaroel O, Zdanovicz M. Short and long-term effect of oral salbutamol on growth hormone secretion in prepubertal asthmatic children. *Metabolism* 1995; 44: 149-151.
218. Vance ML, Kaiser DL, Frohman LA, Rivier J, Vale W, Thorner MO. Role of dopamine in the regulation of growth hormone secretion: dopamine and bromocriptine augment growth hormone (GH) releasing hormone stimulated GH secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 61: 1136-1141.
219. Wolf PD, Lantigua R, Lee LA. Dopamine inhibition of stimulated growth hormone secretion: evidence for dopaminergic modulation of insulin and L-dopa induce growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49: 326-329.
220. Kitajima N, Chichara K, Abe K, Okimura Y, Fuji Y, Sato M, Shakutsui S, Watanabe M, Fujita T. Effect of dopamine on immunoreactive growth hormone-releasing hormone and somatostatin secretion from rat hypothalamic slices perfused in vitro. *Endocrinology* 1989; 124: 69-76.
221. Chronin MJ, Hewlett EL, Evans WS, Thorner MO, Rogol A. Human pancreatic tumor growth hormone (GH)-releasing factor and cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate evoke GH release from anterior pituitary cells: the effects of

- pertussis toxin, cholera-toxin, forskolin, and cycloheximide. *Endocrinology* 1984; 114: 904-913.
222. Marcovitz S, Goodyer CG, Guyda H, Gardiner RJ, Hardy J. Comparative study of human fetal, normal adult and somatotropic adenoma pituitary function in tissue culture. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982; 54: 6-16.
223. Vijayan E, Krulich L, McCann S. Stimulation of growth hormone release by intraventricular administration of 5-HT or quipazine in anesthetized male rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1978; 159: 210-212.
224. Smythe GA, Lazarus L. Growth hormone regulation by melatonin and serotonin. *Nature* 1973; 244: 230-231.
225. Cocchi D, Gil I, Paneral AE, Locatelli V, Müller EE. Effect of 5-hydroxytryptophan on prolactin and growth hormone in the infant rat. Evidence for different neurotransmission mediation. *Neuroendocrinology* 1977; 24: 1-13.
226. Di Schullo A, Blue-Pajot MT, Mounier F, Oliver C, Schmidt B, Kordon C. Changes in anterior pituitary hormone levels after serotonin 1A receptor stimulation. *Endocrinology* 1990; 127: 567-572.
227. Aulakh CS, Hill JL, Lesch KP, Murphy DL. Functional subsensitivity of 5-hydroxytryptamine_{1c} or alpha₁ adrenergic heteroreceptors mediating clonidine-induced growth hormone release in the Fawn-Hooded rat strain relative to the Wistar rat strain. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992; 262: 1038-1043.
228. Anderson KN, Anderson LE, Glanz D (Editors), *Mosby's medical Nursing and Allied Health Dictionary* (4 th ed.) St Louis, MO: Mosby Year Book, 1994.
229. Powell GF, Brasel JA, Raiti S, Blizzard RM. Emotional deprivation and growth retardation simulating idiopathic hypopituitarism I. Clinical evaluation of the syndrome. *N Engl J med* 1967; 276: 1271-1278.
230. Kats LM, Nathan L, Khun CM, Schanberg SM. Inhibition of GH maternal separation may be mediated through altered serotonergic activity at 5-HT_{2A} and 5-HT_{2c} receptor. *Psychoneuroendocrinology* 1996; 21: 219-235.
231. Meltzer NY, Lowy MT. The serotonin hypothesis of depression. In: *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*, edited by H.Y. Meltzer, New York Raven 1987, 513-526.
232. Nair NP, Ahmed SK, Kim NM. Biochemistry and pharmacology of reversible inhibitors of MAO-A agents: focus on moclobemide. *J Psychiatr Neurosci* 1993; 18: 214-225.
233. Zimmerman H, Kaplan SL, Ganong WF. Evidence that the effects of 5-hydroxytryptophan on the secretion of ACTH and growth hormone in dogs are not mediated by central release of serotonin. *Neuroendocrinology* 1982; 34: 27-31.

234. Mota A, bento A, Penalva A, Pombo M, Diéguez C. Role of the serotonin receptor subtype 5-HT_{1D} on basal and stimulated growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol metab* 1995; 80: 1973-1977.
235. Cuttica C, Sessarego P, valenti S, Faline MR, Giusti M, Giordiano G. Sumatripan does not stimulated PRL and GH secretion in acromegaly. *Minerva Endocrinol* 1995; 20: 141-144.
236. Prescott RWG, Kendall-Taylor P, Weightman DP, Watson MJ, ratcliffe WA. The effect of ketaserin, a specific serotonin antagonist on the PRL, GH ACTH and cortisol responses to hypoglycemia in normal subjects. *Clin Endocrinol* 1984; 26: 137-142.
237. Vescovi PP, Coiro V. Persistence of defective sertoninerigic and GABergic controls of growth hormone secretion in long-term abstinent alcoholics. *Alcohol Alcoholism* 1997; 32: 85-90.
238. Casanueva FF, Peñalva L, Villanueva L, Vila T, Cabezas J. Depending on the stimulus, central serotoninergic activation by fluferamine blocks or does not alter growth hormone secretion in man. *Neuroendocrinology* 1984; 38: 302.308.
239. Bercu BB, Diamond FB Jr. Growth hormone neurosecretory dysfunction. *Clin Endocrinol Metab.* 1986; 15(3):537-90.
240. Bercu BB, Shulman D, Root AW, Spiliotis BE. Growth hormone (GH) provocative testing frequently does not reflect endogenous GH secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 63(3):709-16.
241. Bercu BB, Root AW, Shulman DI. Preservation of dopaminergic and alpha-adrenergic function in children with growth hormone neurosecretory dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 63(4):968-73.
242. Bercu BB. Growth hormone treatment and the short child: to treat or not to treat?. *J Pediatr.* 1987; 110(6):991-5.
243. Bercu BB, Walker RF. Current topics in GH secretagogue research--introduction. *Endocrine.* 2003; 22(1):1-4.
244. Spiliotis BE, August GP, Hung W, Sonis W, Mendelson W, Bercu BB. Growth hormone neurosecretory dysfunction. A treatable cause of short stature. *JAMA.* 1984; 251(17):2223-30.
245. Kitay JI, Atschule MD. The pineal gland. A review of the physiologic literature. Cambridge Mass, Harvard University Press, 1954.
246. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: British children, 1965. I. *Arch Dis Child.* 1966; 41(219):454-71.

247. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: British children, 1965. II. Arch Dis Child. 1966; 41(220):613-35.
248. Tanner JM, Goldstein H, Whitehouse RH. Standards for children's height at ages 2-9 years allowing for heights of parents. Arch Dis Child. 1970; 45(244):755-62.
249. Tanner JM. A correction to the TW2 RUS-based tables for predicting adult height. J Pediatr. 1978; 93(3):541.
250. Tanner JM. A correction to the TW2 RUS-based tables for predicting adult height. Ann Hum Biol. 1978; 5(5):491-2.
251. Tanner JM, Buckler JM. Revision and update of Tanner-Whitehouse clinical longitudinal charts for height and weight. Eur J Pediatr. 1997;156(3):248-9.
252. McGillvray MH. Disorders of growth and development. In Felig P, Baxter JD, Broands AE, Frohman LA (eds). Endocrinology and metabolism. McGraw-Hill, New York, 1987.
253. Donnadieu M, Evain-Brion D, Tono MC, Vaudry H, Job JC. Variations of plasma growth hormona (GH)-releasingfactors levels during GH stimulation tests in children. J Clin Endocrinol Metab. 1985; 60: 1132-1134.
254. Diéguez C, Valcavi R, Page MD, Zini M, Casoli P, Edwards CA, Portioli I, Scanlon MF. L-Dopa releases GH via GRF dependent mechanism in normal human subjects, whereas arginine, clonidine and adrenaline plus propranolol do not. J Endocrinol Invest 1987; 10 (suppl 3): 37.
255. Jordan V, Diéguez C, Lafaffian I, Rodríguez^oArnao MD, Gómez Pan A, Hall R, Scanlon MF. Influence of dopaminergic, adrenergic and cholinergic blockade and TRH administration on GH responses to GRF 1-29. Clin Endocrinol 1986; 24: 291-298.
256. Awan TM, Sattar A, Khattak IG. High growth hormone levels in clinically short stature children. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2006; 18(2):29-33.
257. Molitch ME, Clemmons DR, Malozowski S, Merriam GR, Shalet SM, Vance ML. Endocrine Society's Clinical Guidelines Subcommittee, Stephens PA. Evaluation and treatment of adult growth hormone deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91(5):1621-34.
258. Fisker S, Jørgensen JO, Orskov H, Christiansen JS. L-arginine and insulin-tolerance tests in the diagnosis of adult growth hormone deficiency: influence of confounding factors. Clin Endocrinol (Oxf). 1998; 48(1):109-15.
259. Thompson DL Jr, Rahmanian MS, DePew CL, Burleigh DW, DeSouza CJ, Colborn DR. Growth hormone in mares and stallions: pulsatile secretion, response

- to growth hormone-releasing hormone, and effects of exercise, sexual stimulation, and pharmacological agents. *J Anim Sci.* 1992; 70(4):1201-7.
260. Lee PD, Wilson DM, Rountree L, Hintz RL, Rosenfeld RG. Efficacy of insulin-like growth factor I levels in predicting the response to provocative growth hormone testing. *Pediatr Res.* 1990; 27(1):45-51.
261. Blum WF, Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Ranke MB. Serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF binding protein 3 reflect spontaneous growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76(6):1610-6.
262. Chanoine JP, Rebuffat E, Kahn A, Bergmann P, Van Vliet G. Glucose, growth hormone, cortisol, and insulin responses to glucagon injection in normal infants, aged 0.5-12 months. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80(10):3032-5.
263. Schmidt H, Dörr HG, Butenandt O, Galli-Tsinopoulou A, Kiess W. Measurement of spontaneous, 12-hour sleep-associated GH secretion in prepubertal children with short stature: clinical relevance and practicability? *Horm Res.* 1996; 46(1):33-7.
264. Juul A, Skakkebaek NE. Prediction of the outcome of growth hormone provocative testing in short children by measurement of serum levels of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3. *J Pediatr.* 1997;130(2):197-204.
265. Koulu M, Lammintausta R. Effect of melatonin on L-Tryptophan an apomorphine-stimulated growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979; 49(81): 70-72.
266. Gupta D. The pineal gland in relation to growth and development in children. *J Neural Transm Suppl.* 1986; 21: 217-232.
267. Lisoni P, Resentini M, Mauri R, De Medici C, Morabito F, Esposito D, Di Bella L, Esposito G, Rossi D, Parravicini L. Effect of an acute injection of melatonin on the basal secretion of hypophyseal hormones in prepubertal and pubertal healthy subjects. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1986; 111(3): 305-311.
268. Strassman RJ, Peake GT, Qualls CR, Lisansky EJ. A model for study of the acute effects of melatonin in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 65(5): 847-842.
269. Muñoz-Hoyos A, Augustin-Morales MC, Ruíz-Cosano C, Molina-Carballo A, Fernández-García JM, Galdó-Munoz G. Institutional childcare and the affective deficiency syndrome: consequences on growth, nutrition and development. *Early Hum Dev.* 2001; 65 Suppl:S145-52.
270. Weller EB, Weller RA. Neuroendocrine changes in affectively ill children and adolescents. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1988; 17(1): 41-54.

271. Lissoni P, Mainini E, Rovelli F, Mazzi C, Ardizzioia A, Gelosa M, Capra M, Rivolta MR. A clinical study of the pineal melatonin in patients with growth hormone or prolactin secreting pituitary tumours. *Eur J Med* 1993; 2(1): 63.
272. Kostoglou-Athanassiou I, Treacher DF, WheelerMJ, Forsling ML. Melatonin administration and pituitary hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998; 48 (1): 31-37.
273. Kostoglou-Athanassiou I, Treacher DF, WheelerMJ, Forsling ML. Bright light exposure and pituitary hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998; 48 (1): 73-79. Forsling ML, Wheeler MJ, Williams AJ. The effect of melatonin administration on pituitary hormone secretion in man. *Clin Endocrinol (oxf)*. 1999; 51(5): 637-642.
274. Karasek M, Stawerska R, Smyczynska J, Lewinski A. Increased melatonin concentrations in children with growth hormone deficiency. *J Pineal Res*. 2007; 42(2): 119-124.

