

Publicat a Annals de Medicina

Volum LXIII - n.º 9 · Novembre 1977 (págs. 1474-1486)

INTERRELACIONES HIDRATOS DE CARBONO Y GRASAS EN DIABETES EXPERIMENTAL Y EFECTO DE AGENTES HIPOGLUCEMIANTES

EMILIO HERRERA

La homeostasis de la glucosa en el organismo se mantiene dentro de unos límites bastante estrechos durante toda la vida del individuo, a pesar de las continuas variaciones en la ingesta, actividad metabólica, ejercicio físico, etc. Esto se pone claramente de manifiesto en la sorprendente constancia de los niveles de glucosa en sangre (de 80 a 110 mg/100 ml) en individuos de distintas edades y sexo, e incluso de distintas especies (hombre, mono, rata, cobaya, etc.).

Como se representa en la figura 1, los niveles de glucosa circulantes se satisfacen en primer lugar por la glucosa derivada de la digestión de los hidratos de carbono en el tracto gastro-intestinal, y que es absorbida por el intestino delgado a la sangre. En condiciones fisiológicas, este flujo de glucosa al espacio de la misma (especialmente plasma sanguíneo y líquido intersticial), es compensado por el continuo consumo de este metabolito por los distintos tejidos (tejido adiposo, corazón, músculo estriado, vísceras, etc.). Si a pesar de este drenaje de glucosa, los niveles de la misma en sangre aumentan ligeramente debido a un exceso de su absorción intestinal, la glucosa es captada por el hígado, que la acumula en forma de glucógeno. En situaciones patológicas, ni el consumo de glucosa por los tejidos extrahepáticos ni la captación hepática llegan a ser suficientes para mantener la normogluceemia. En estas circunstancias aumentan los niveles de glucosa en sangre, existiendo una última válvula de seguridad, el riñón, el cual permite la eliminación del exceso de glucosa en casos de hipergluceemia, o su aprovechamiento, mediante la reabsorción tubular (fig. 1), en casos de hipogluceemia.

El estado estacionario de glucosa en sangre se mantiene incluso en situaciones de ayuno (fig. 2). En estas circunstancias, la falta de absorción intestinal de glucosa es compensada, en primer lugar, por una disminución del consumo de glucosa en la mayoría de los tejidos extrahepáticos, que sustituyen la glucosa por los ácidos grasos libres (FFA)

derivados de la movilización lipolítica de los triglicéridos acumulados en tejido adiposo, como fuente de energía metabólica. Algunos tejidos, como el nervioso, requieren el continuar utilizando la glucosa como principal fuente energética, incluso en ayunas, pero sin embargo, el consumo neto de la misma por el organismo privado de alimento es bastante inferior al del alimentado. Puesto que este ahorro de glucosa no es suficiente para mantener constante los niveles de glucosa en sangre, el hígado aporta glucosa a la sangre durante el ayuno. Por un lado, mediante la degradación del glucógeno en la glucogenolisis, forma glucosa-1-fosfato, que es transformada en glucosa-6-fosfato, y ésta es desfosforilada para salir a la sangre en forma de glucosa libre. Por otro lado, el hígado, al igual que la corteza renal, está capacitado para fabricar glucosa a partir de otros sustratos (gluconeogénesis), en especial los amino-

REGULACION DE LA GLUCEMIA EN EL ESTADO POST-PRANDIAL

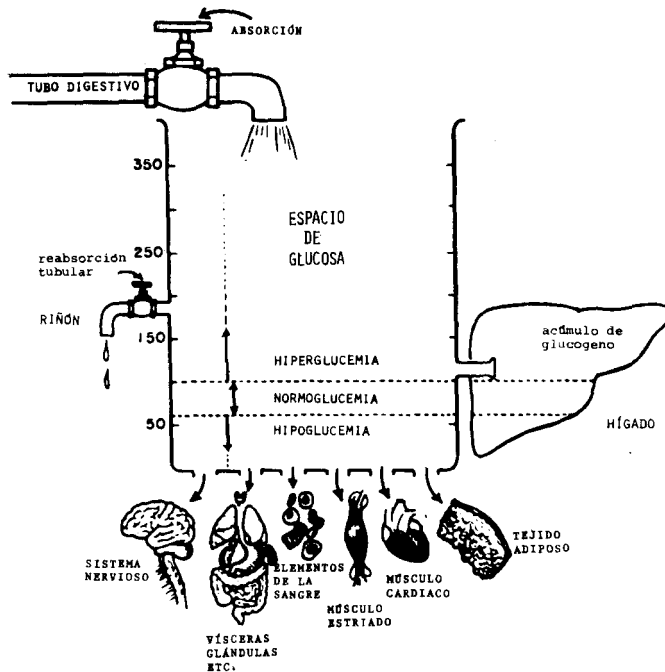


FIG. 1. — Mantenimiento del estado estacionario de la glucosa extracelular (en el espacio de glucosa, formado preferentemente por el plasma y el líquido intersticial), en el individuo alimentado.

REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA EN EL AYUNO

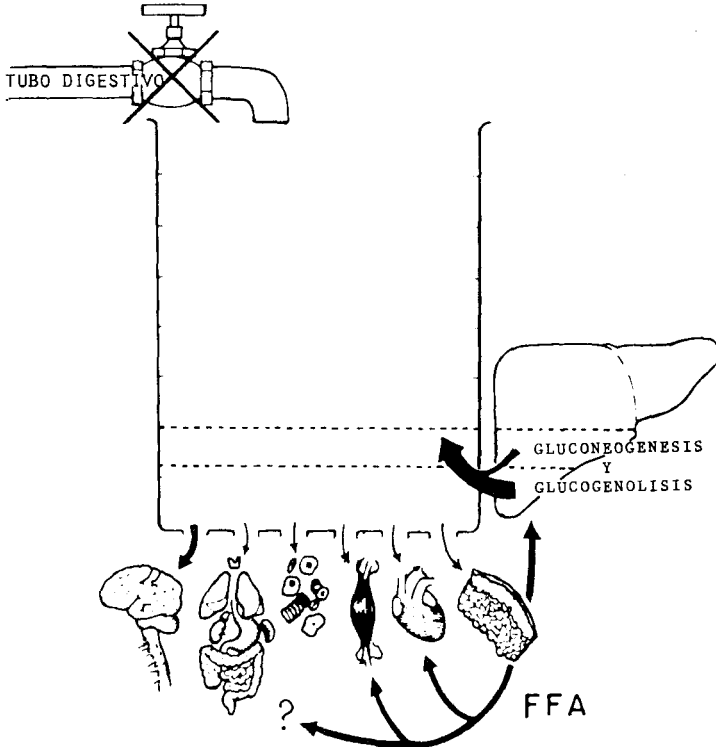


FIG. 2. — Efecto del ayuno sobre los mecanismos de regulación de la glucemia.

ácidos. La gluconeogénesis es más activa en ayunas que en el estado post-pandrial, lo que contribuye activamente al mantenimiento de la normoglucemia, incluso en períodos prolongados de privación de alimento.

Es lógico pensar que las interrelaciones hidratos de carbono y grasas son más complejas que el modelo que acabamos de describir para el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa en el organismo, ya que están constituidas por numerosas vías metabólicas y en ellas participan diversos tejidos de forma considerablemente activa. Como una aproximación a estas interrelaciones en el organismo completo, presentamos la figura 3, en la que se especifican únicamente los metabolitos intermedios que juegan un papel más importante y significativo en las mismas. Es conveniente, sin embargo, hacer notar que muchas de las fle-

chas indicadas en la figura 3 corresponden a vías metabólicas más o menos complejas, en las que participan diversas reacciones acopladas, con sus correspondientes sustratos y productos, enzimas y efectores de los mismos, coenzimas, etc.

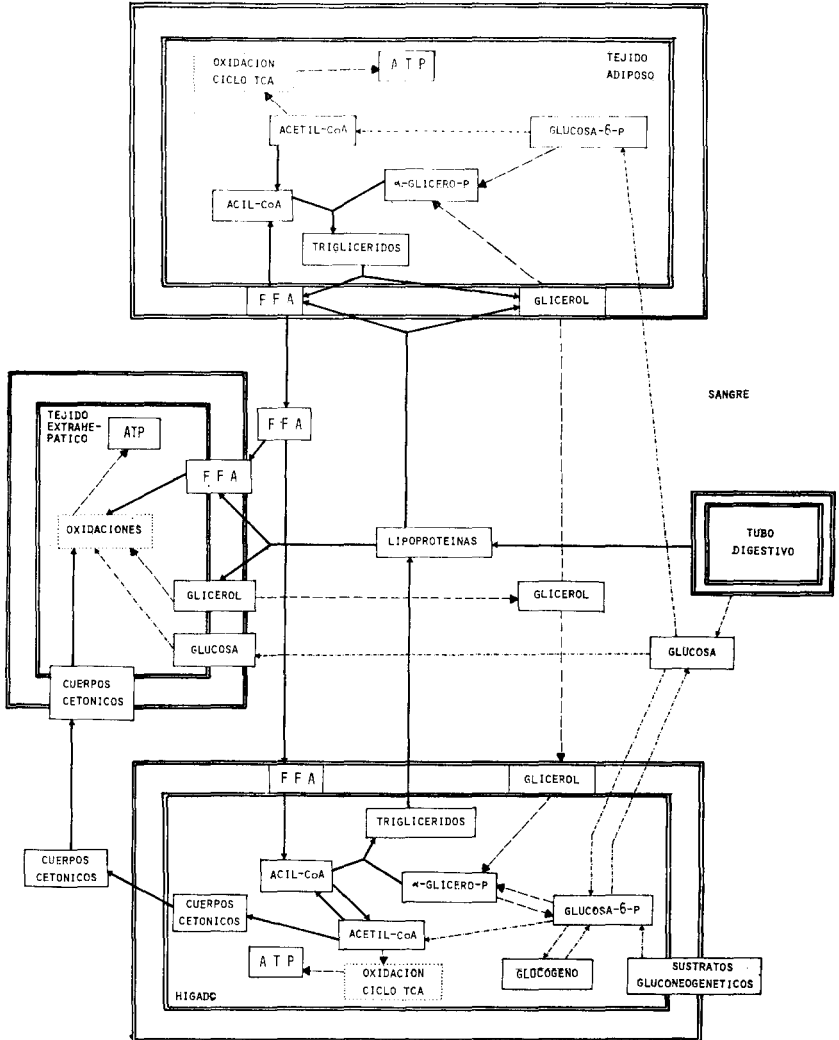


FIG. 3.—Esquema general de las interacciones hidratos de carbono y grasas «in vivo». FFA = ácidos grasos libres. TCA = ciclo de los ácidos tricarboxílicos, del ácido cítrico o de Krebs.

Numerosas hormonas afectan más o menos directamente las interrelaciones hidratos de carbono y grasas. Entre ellas hemos de destacar a la insulina, cuya falta o disminución de sus niveles en sangre provoca el cuadro metabólico de la diabetes, el cual se pone especialmente de manifiesto por un aumento de los niveles de glucosa en sangre, o lo que es igual, una incapacidad del organismo para regular la glucemia, ya que se disminuye la utilización de glucosa por los tejidos extrahepáticos, la captación de glucosa por el hígado y su acúmulo en forma de glucógeno, y hay un aumento de la actividad gluconeogénica. El hígado es de los tejidos más afectados en esta situación. Las alteraciones metabólicas que se presentan en el hígado del diabético se resumen de forma esquemática en la figura 4: junto a una inhibida glucogénesis y glucólisis, hay una activa gluconeogénesis y glucogenolisis, lo que permite que la salida de glucosa del hígado a la sangre aumente, incluso en el indi-

METABOLISMO HEPATICO EN HIPO-INSULINISMO

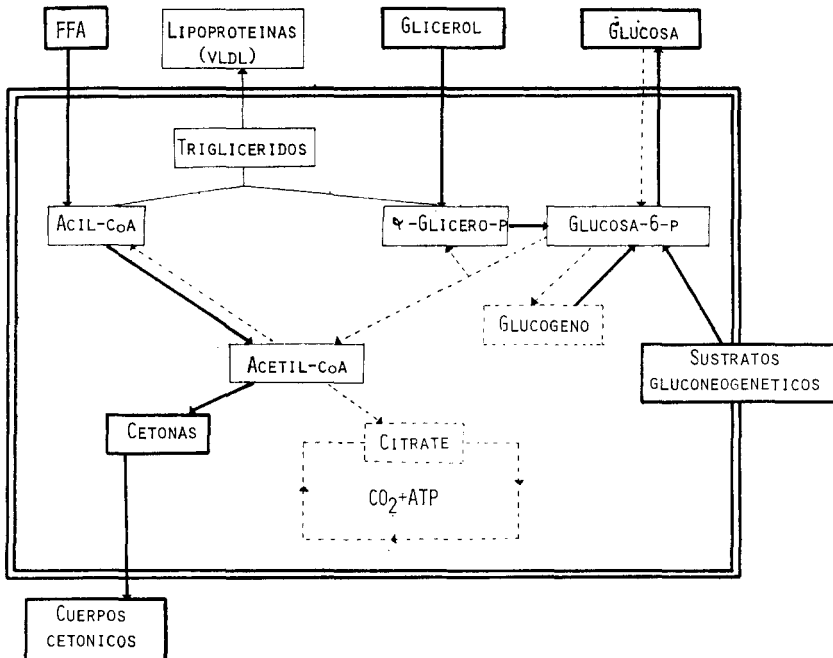


FIG. 4.— Principales cambios metabólicos en el hipoinulinismo primario. Las rayas de trazos corresponden a vías metabólicas inhibidas y las de rasgos más gruesos e intensos, a vías metabólicas activadas.

viduo alimentado. Al mismo tiempo, el diabético presenta una aumentada movilización de lípidos del tejido adiposo, lo que repercute en un aumento de la llegada de glicerol y FFA a las células hepáticas. El glicerol es utilizado para la síntesis de glucosa, participando en la aumentada gluconeogénesis, mientras que los FFA son degradados a través de la β -oxidación hasta acetyl-CoA, que en vez de ser oxidado en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos hasta CO_2 , es preferentemente utilizado como sustrato para la síntesis de cuerpos cetónicos, que salen a la sangre. Esto explica la tendencia a la cetosis en el diabético.

El cuadro metabólico que acabamos de resumir para los casos de hipo-insulinismo puede considerarse como el de una diabetes típica. Sin embargo, es bien conocido que la patogénesis de la diabetes en clínica es muy diversa, así como lo son las alteraciones metabólicas que se presentan en los distintos tipos de diabetes. Con la finalidad de estudiar los mecanismos que participan en estas alteraciones, durante los últimos años nosotros venimos utilizando modelos experimentales que se aproximen a las situaciones que se presentan con mayor frecuencia en clínica, con la finalidad de poder llegar a extrapolar algunos de nuestros resultados al individuo diabético, y de esta forma lograr un mejor conocimiento de la enfermedad y su tratamiento. Como medio del hipo-insulinismo primario, hemos utilizado el tratamiento a ratas con streptozotocín, que es un agente citotóxico específico de las células beta del páncreas.^{1, 2} La diabetes alimenticia la hemos reproducido en el laboratorio con una dieta rica en grasas, en la rata. La predisposición diabética del obeso la hemos estudiado en ratones genéticamente obesos e hiperglicémicos, homocigóticos. Como modelo de prediabetes producida por una insensibilidad a la insulina, hemos estudiado la rata preñada, y como ejemplo de alteraciones endocrinas extrapancreáticas inductoras de la diabetes, hemos utilizado el hipertiroidismo en la rata. Por último, hemos estudiado los cambios metabólicos que produce el tratamiento con agentes antidiabetogénicos, como con las sulfonilureas.

ALTERACIONES METABÓLICAS EN RATAS HECHAS DIABÉTICAS CON STREPTOZOTOCÍN. — El streptozotocín es una N-nitrosurea de la glucosamina, que destruye específicamente las células beta del páncreas. Nosotros hemos inyectado 65 mg/Kg de esta droga a ratas macho de la raza Wistar, estudiándolas a las 72 horas del tratamiento. Los detalles metodológicos y el desglose detallado de los resultados se han publicado anteriormente.³ Esta droga produce una hiperglucemia, hipercetonemia e hipoinsulinemia, que son especialmente aparentes en los animales alimentados ad libitum, ya que aunque tras el ayuno se mantienen los niveles elevados de glucosa en sangre, las concentraciones de cuerpos cetónicos e insulina circulantes aparecen iguales a las de animales controles, no tratados con la droga, debido a que, a diferencia

de lo que ocurre en las ratas normales, las diabéticas no presentan variaciones significativas con el ayuno en esos dos parámetros.

La disminuida respuesta de las ratas diabéticas al ayuno se observa también en los niveles de glucógeno hepático y en parámetros relacionados con el metabolismo lipídico. Así, la concentración de glucógeno en hígado es muy inferior en las ratas tratadas con streptozotocín que en sus controles, cuando alimentadas. El ayuno produce una disminución intensa en la concentración de glucógeno en hígado, en las ratas normales, sin variar este parámetro en las diabéticas. La concentración hepática de acetil-CoA y ácidos grasos es más alta en las ratas diabéticas que en sus controles, cuando alimentadas; el ayuno produce un aumento en estos dos parámetros en las ratas normales, mientras que no los altera en las diabéticas, haciendo que desaparezcan las diferencias entre ambos grupos.

La aumentada movilización y utilización de grasas periféricas en los animales tratados con streptozotocín hace que sus reservas endógenas sean limitadas incluso cuando alimentados, lo que participa en la incapacidad de los mismos para responder al ayuno. Al mismo tiempo, la imposibilidad de aumentar la secreción de insulina en la situación postprandial, debido a la lesión pancreática producida por esta droga, puede contribuir activamente a las alteraciones metabólicas que se observan en este tipo de diabetes experimental.

Los resultados aquí resumidos se discuten ampliamente en anteriores publicaciones.³⁻⁵

FACTORES DIABETÓGENOS DE LA DIETA GRASA. — Con la finalidad de lograr un modelo experimental de diabetes producida por variaciones en la composición de la dieta, mantuvimos a ratas macho, durante dos meses, a una dieta rica en grasas, comparándolos con animales alimentados con la dieta normal del laboratorio. Los datos obtenidos con este estudio se han publicado anteriormente.^{6,7} Entre los resultados más significativos podemos sobresacar el hecho de que este tratamiento con dieta grasa produce una disminución de la secreción pancreática de insulina, puesta de manifiesto por la menor salida de insulina al medio de incubación, en trozos de tejido pancreático incubados «in vitro». La administración de glucosa por vía oral hace que el aumento de insulina en sangre sea más retrasado en las ratas tratadas con dieta grasa que en sus controles respectivos, lo cual confirma la situación diabética de aquellos animales.

En las ratas a dieta grasa, la gluconeogénesis hepática se encuentra aumentada con relación a la actividad en los animales controles. El ayuno produce un aumento de gluconeogénesis en las ratas controles, mientras que en las a dieta grasa no varía, haciendo que desaparezcan las diferencias entre ambos grupos. La disminuida secreción de insulina

pancreática en las ratas a dieta grasa podría ser el inductor de la aumentada gluconeogénesis en estos animales cuando alimentados. La actividad gluconeogénica que logran es de tal grado que ya no es posible una mayor activación con el ayuno.

OBESIDAD Y DIABETES. — Como acabamos de ver, un aumento de las grasas en el organismo es una situación que predispone a la diabetes. Este aumento de grasas puede ser producido por factores exógenos, como la dieta, pero también por factores endógenos, como el incremento de los depósitos grasos que se presenta en la obesidad. De hecho, la obesidad y la diabetes son dos manifestaciones que aparecen con gran frecuencia juntas, tanto en humanos⁸ como en animales experimentales.⁹

Como modelo de obesidad asociada a la diabetes, nosotros hemos utilizado los ratones ob/ob del Jackson Memorial Laboratory, los cuales son homocigóticos, que manifiestan el carácter recesivo de la obesidad y la diabetes. Estos animales los comparamos con ratones heterocigóticos, procedentes de las mismas camadas, los cuales son de peso normal y con niveles circulantes de glucosa del orden de 128 ± 6 mg/100 ml. Los resultados obtenidos con estos animales se han publicado recientemente,¹⁰ habiéndose realizado el estudio en ratones alimentados y tras un ayuno de 6, 15 y 72 horas. En ellos se determinaron la masa hepática, la celularidad y composición intrínseca del hígado, así como su concentración en acetyl-CoA y citrato y los niveles circulantes de glucosa y cuerpos cetónicos. A juzgar por los cambios secuenciales de estos parámetros, la transición del estado alimentado al de ayunas ocurre más lentamente en los ratones obesos que en sus correspondientes controles. Estos resultados pueden ser la consecuencia de la incapacidad que tienen estos animales para movilizar sus reservas grasas con el ayuno, producida no por falta de reservas sino por hipertrofia de los sistemas enzimáticos encargados de la reesterificación de los ácidos grasos en tejido adiposo.

SITUACIÓN PREDIABÉTICA EN EL EMBARAZO. — Se ha propuesto que durante la gestación se presenta una resistencia directa de los tejidos a la acción de la insulina.¹¹⁻¹³ Por consiguiente, el embarazo es una situación de prediabetes, en la que la madre realiza una adaptación metabólica para mantener el continuo crecimiento fetal a expensas de sus propias reservas y de los carburantes metabólicos de la dieta.

Nosotros hemos estudiado ampliamente las variaciones metabólicas que se presentan en la rata durante el embarazo,¹⁴⁻¹⁸ donde hemos encontrado una aumentada resistencia a la insulina «in vivo», y una serie de alteraciones metabólicas, las cuales se presentan especialmente en el ayuno. Así, por ejemplo, mientras que la actividad gluconeogénica es

normal en la rata preñada alimentada, el ayuno le produce una activación de esta vía metabólica muy superior a la que se presenta en las ratas vírgenes. Algo similar ocurre en el metabolismo lipídico, ya que aunque la rata preñada tiene una ligera hiperlipemia y aumentada actividad lipolítica en tejido adiposo cuando alimentada, estos parámetros aumentan mucho más con el ayuno en estos animales que en las ratas controles.

Así pues, a diferencia de las otras situaciones diabetogénicas descritas arriba, en el embarazo el cuadro metabólico de la madre está más alterado en ayunas que cuando alimentada. Esto se debe a que, cuando alimentada, las necesidades del desarrollo fetal son compensadas por la madre mediante un aumento de la ingesta, mientras que tras el ayuno ha de recurrir a una máxima degradación de sus reservas endógenas para mantener inalterado el crecimiento del feto, así como para lograr su propia supervivencia.

MODELO DE ALTERACIÓN ENDOCRINA EXTRAPANCREÁTICA, INDUCTORA DE DIABETES. — Puesto que la utilización de grasas se encuentra aumentada y acelerada en las situaciones de tirotoxicosis, incluso en estados de alimentación,¹⁹ pensamos que el hipertiroidismo en la rata podría permitirnos encontrar una situación diabetogénica producida por factores endocrinos, independientes directamente del páncreas. Por este motivo, estudiamos las variaciones metabólicas que se presentan en ratas tiroidectomizadas y tratadas con distintas dosis de tiroxina exógena. Los resultados obtenidos se han publicado²⁰⁻²⁴ y pueden resumirse brevemente.

Ratas tiroidectomizadas, tratadas con 25 ug de tiroxina/100 g de peso corporal/rata/día, presentan un cuadro diabético, puesto de manifiesto por un aumento de la glucemia, tanto cuando alimentadas como tras un ayuno de 48 horas. Esta hiperglucemia se presenta en presencia de niveles circulantes de insulina elevados, por lo que a pesar de una mayor secreción de insulina por el páncreas, la diabetes de estos animales se debe a una aumentada resistencia a dicha hormona. En parte, esta aumentada resistencia insulínica puede estar potenciada por el más activo metabolismo de grasas que se presenta en estos animales, el cual se pone de manifiesto por la elevada actividad lipolítica del tejido adiposo y por el aumento de las grasas circulantes y en hígado. De nuevo, en esta situación diabetogénica el ayuno produce una disminución del alterado cuadro metabólico, posiblemente como consecuencia de la falta de substratos endógenos para movilizar, ya que aunque haya un aumento de los enzimas lipolíticos en tejido adiposo, no quedan suficientes glicéridos en tejido adiposo para poder ser liberados a la circulación.

EFECTO DE LAS SULFONILUREAS SOBRE LAS INTERRELACIONES HIDRATOS DE CARBONO Y GRASAS EN LA RATA. — Una vez revisadas las

alteraciones metabólicas que se observan en distintas situaciones diabéticas en la rata, nos interesó estudiar los efectos que sobre los mismos parámetros tienen los hipoglucemiantes orales, de amplio uso en clínica. Con esta finalidad, hemos utilizado la Tolbutamida y dos sulfonilureas de alta potencia como hipoglucemiantes, la Glibenclamida y la Glipentida.

Un grupo de ratas se trató con 200 mg de Tolbutamida, otro con 10 mg de Glibenclamida y un tercero con 10 mg de Glipentida en la comida, por 100 g de peso corporal. Otros grupos de animales recibieron las mismas dosis de estas drogas, pero administradas por vía oral (tubo al estómago), en dos tomas al día. Cuando las drogas se administraron en la comida, la glucemia disminuyó hasta los 14 días del tratamiento con sulfonilureas, después de lo cual se observó una recuperación, lográndose valores similares a los de los animales que no recibieron droga, a los 29 días de tratamiento. En las ratas a las que se les administró las drogas en dos tomas diarias, por tubo estomacal, la Tolbutamida produce un aumento significativo en los niveles de glucosa en sangre, cuando se realizan las tomas de sangre a las 16 horas de la última administración de la droga. Las ratas que recibieron Glibenclamida y Glipentida presentaban una hipoglucemia que duró hasta el décimo día de tratamiento, después del cual hay una progresiva recuperación de los niveles de glucosa en sangre, hasta hacerse iguales a los de los animales controles.

Después de 24 días del tratamiento con las drogas por tubo gástrico, se hicieron tomas de sangre a las 3 horas de la administración diaria. En estas circunstancias, los niveles de glucosa en sangre observados en las ratas a Tolbutamida aparecían significativamente por debajo de los de los animales controles, mientras que no se observaban diferencias en los valores obtenidos en los animales tratados con Glibenclamida o con Glipentida.

Hemos completado este estudio con la determinación de las variaciones de glucemia e insulinemia en ratas tratadas agudamente con estas dosis de las drogas, observando que el aumento de los niveles de insulina en plasma siempre precede a la hipoglucemia, la cual se mantiene incluso después de que se hayan normalizado los valores de insulina. Hemos encontrado incluso situaciones, como es la de la administración de Glibenclamida a ratas en ayunas de 48 horas, en las que la hipoglucemia se observa sin que haya en ningún momento un aumento de los niveles de insulina en plasma.

El desfase de los efectos de estas drogas sobre los niveles de glucosa y de insulina circulantes, hace pensar que gran parte de los efectos metabólicos de las mismas se realizan a nivel extrapancreático. Con la finalidad de estudiar esta posibilidad, nosotros hemos analizado los efectos de la presencia, en el medio de incubación, de estas drogas,

sobre el comportamiento metabólico de trozos de tejido adiposo. El tejido se incubó en medio conteniendo glicerol-1-C14, determinándose tanto la actividad lipolítica como la capacidad de metabolización de dicho sustrato para la síntesis de glicerol de glicéridos y para su oxidación completa hasta CO₂. Los detalles experimentales se han publicado recientemente.^{25, 26} Estas drogas disminuyen tanto la producción de glicerol por el tejido adiposo como la remetabolización de este sustrato. El efecto es dependiente de las dosis de las drogas, siendo en todos los casos más activas la Glibenclamida y la Glipentida que la Tolbutamida, aunque las relaciones de sensibilidad son menos acusadas que las observadas «in vivo». El efecto inhibitor de estas drogas sobre el metabolismo del glicerol en tejido adiposo «in vitro» es menor cuando las incubaciones se realizan en presencia de glucosa que en su ausencia, por lo que es posible que la acción de estas drogas se realice disminuyendo la asequibilidad de ATP por el tejido. De hecho, tanto la lipólisis como la utilización del glicerol en tejido adiposo son dependientes de ATP, y hay estudios en la literatura que demuestran que las sulfonilureas pueden actuar como desacopladores de la oxidación fosforilativa en tejido adiposo.²⁷

RESUMEN Y COMENTARIOS FINALES. — En el presente trabajo hemos revisado nuestros resultados sobre los estudios realizados en diversos parámetros metabólicos en distintas situaciones de diabetes experimental. Vemos cómo pueden reproducirse en el laboratorio modelos semejantes a los diferentes cuadros de diabetes que se presenta en humanos, y con ello llegar a un mejor conocimiento de las alteraciones metabólicas que en ellos se presentan. De los cinco tipos de diabetes estudiados, en cuatro de ellos la situación metabólica se mejora o incluso se llega a normalizar con el ayuno, pero las causas de esta normalización varían de unos casos a otros. En las ratas tratadas con streptozotocín, el aumentado catabolismo de los animales cuando alimentados, hace que las reservas de los mismos sean limitadas; al mismo tiempo, el daño causado por esta droga a las células beta del páncreas hace que los niveles circulantes de insulina sean igual de bajos en el animal en ayunas que cuando alimentados. Así pues, la falta de reservas endógenas y la constancia de los niveles circulantes de insulina impiden el que estos animales respondan al ayuno como los animales controles, desapareciendo las diferencias entre ambos grupos. En el caso de las ratas a dieta grasa, la abundancia de lípidos circulantes, procedentes de la dieta, produce tal activación de la gluconeogénesis hepática que ya no puede aumentar más con el ayuno, por lo que también llegan a desaparecer las diferencias con los animales alimentados con la dieta normal del laboratorio. En los ratones obesos e hiperglucémicos la respuesta al ayuno es más lenta que en los controles, lo cual no se debe a una falta de reservas o

causas similares, ya que los depósitos grasos de estos animales son sobreabundantes, sino a una incapacidad enzimática, de origen genético, para movilizar grasas incluso en situaciones de emergencia metabólica, como es el ayuno prolongado. La situación en las ratas hipertiroideas es diferente; estos animales presentan una situación netamente catabólica cuando alimentados, debido a los efectos superpuestos del aumento de hormonas tiroideas en sangre y la diabetes. Esto hace que las reservas grasas en las ratas hipertiroideas sean mínimas, por lo que su capacidad de respuesta al ayuno es limitada.

De forma diferente a los modelos anteriores, el embarazo es una situación diabotogénica en la que las alteraciones metabólicas son más pronunciadas con el ayuno, cuando la madre carece de fuentes nutritivas exógenas y tiene que recurrir a una máxima degradación de sus reservas metabólicas para mantener el desarrollo fetal ininterrumpido, e incluso su propia subsistencia.

Las sulfonilureas son agentes antidiabetogénicos, de acción preferente sobre la secreción insulínica del páncreas, pero algunos de sus efectos sobre el metabolismo se realizan directamente a niveles extrapancreáticos. De hecho, aquí hemos visto cómo en algunas circunstancias puede encontrarse hipoglucemia producida por estas drogas, sin alteración de los niveles plasmáticos de insulina. También hemos demostrado que estas drogas afectan directamente al metabolismo del tejido adiposo, inhibiendo tanto la actividad lipolítica como la capacidad del tejido para metabolizar el glicérol.

Los modelos experimentales aquí presentados sirven para un mejor conocimiento de las disfunciones metabólicas que se presentan en la diabetes, pero también permiten el análisis más profundo de los mecanismos de regulación endocrina de las interrelaciones hidratos de carbono y grasas.

AGRADECIMIENTOS. — Los datos aquí presentados han sido realizados con la colaboración de los doctores Eladio Montoya, Mario Castro, Enrique Blázquez, Robert H. Knopp, Norbert Freinkel, Ana Aranda, Juan Codina y Miguel Angel Lasunción, a los que deseo expresar mi más sincero agradecimiento. También deseo dar las gracias a los demás miembros de la Cátedra de Fisiología General, y en especial al doctor Mariano Alemany, por su ayuda y sugerencias en el desarrollo del presente estudio. Parte de este trabajo se ha realizado con una ayuda de investigación de la Presidencia del Gobierno (Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica), y ayudas de los laboratorios Uriach, S. A. y Hoechst Ibérica, S. A.

BIBLIOGRAFIA

1. PITKIN, R. N., REYNOLDS, W. A.: *Diabetes*, 19, 85, 1970.
2. STAUFFACHER, W., BURR, I., GUTZEIZ, A., BEAVEN, D., VELEMINSKY, J., RENOLD, A. E.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 133, 194, 1970.
3. MONTOYA, E., HERRERA, E.: *Hormone Res.*, 5, 29, 1974.
4. HERRERA, E., MONTOYA, E.: En «*Miscellanea Alcobé*», Ed. Universidad de Barcelona, 1974, pág. 141.
5. MONTOYA, E., HERRERA, E.: *Rev. Esp. Fisiol.*, 30, 151, 1974.
6. BLÁZQUEZ, E., CASTRO, M., HERRERA, E.: *Rev. Esp. Fisiol.*, 27, 297, 1971.
7. BLÁZQUEZ, E., CASTRO, M., HERRERA, E.: *Diabetología Clín.*, 6, 41, 1971.
8. WILLIAMS, R. H.: En «*Textbook of Endocrinology*», ed. por R. H. Williams, W. S. Saunders Co., 1974, pág. 502.
9. CAMERON, D., STAUFFACHER, W., RENOLD, A. E.: En «*Handbook of Physiology, Sect. 7, Endocrinology, vol. I*», ed. por R. O. Greep and E. B. Astwood, American Physiological Soc., 1972, pág. 611.
10. HERRERA, E., SANDLER, R., FREINKEL, N.: *Horm. Metab. Res.*, 7, 70, 1975.
11. KALKHOFF, R., SCHALCH, D. S., WALKER, J. L., BECK, P., KIPNIS, D. M., DAUGHADAY, W. H.: *Trans. Ass. Amer. Physic.*, 27, 270, 1964.
12. BLEICHER, S. J., O'SULLIVAN, J. B., FREINKEL, N.: *New Engl. J. Med.*, 271, 866, 1964.
13. FREINKEL, N.: En «*On the Nature and Treatment of Diabetes*», Leibel, B. S., and Wrenshall, G. A., Eds., *Excerpta Medica*, 1965, pág. 658.
14. HERRERA, E., KNOPP, R. H., FREINKEL, N.: *J. Clin. Invest.*, 48, 2.260, 1969.
15. KNOPP, N., HERRERA, E., FREINKEL, N.: *J. Clin. Invest.*, 49, 1.138, 1970.
16. KNOPP, R. H., RUDER, H., HERRERA, E., FREINKEL, N.: *Acta Endocrinol.*, 65, 352, 1970.
17. HERRERA, E., KNOPP, R. H.: *Experientia*, 28, 646, 1972.
18. HERRERA, E., KNOPP, R. H., FREINKEL, N.: *Endocrinology*, 84, 447, 1969.
19. FREINKEL, N., METZGER, B. E.: En «*The Thyroid*», Eds. Werner, S. C. and Imbarg, S. H., Harper & Row, N. Y., 1971, pág. 574.
20. CASTRO, M., LAMAS, L., HERRERA, E.: *Acta Endocrinol.*, 69, 1, 1972.
21. CASTRO, M., HERRERA, E.: *Hormone Res.*, 4, 357, 1973.
22. CASTRO, M., GARCÍA, M. D., HERRERA, E.: *Steroids Lipids Res.*, 5, 276, 1974.
23. ARANDA, A., MONTOYA, E., HERRERA, E.: *Biochem. J.*, 128, 597, 1972.
24. MONTOYA, E., HERRERA, E.: *Hormone Res.*, 5, 129, 1974.
25. HERRERA, E.: *Acta Diabetol. Latina*, 12, 106, 1975.
26. HERRERA, E.: *Life Sciences*, 16, 645, 1975.
27. CHAN, S. S., FAIN, J. N.: *Molec. Pharmacol.*, 6, 513, 1970.