

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trabajo de Tesis para optar al
Doctorado en Ciencias Veterinarias

**"INFLUENCIA DEL CICLO SEXUAL SOBRE LA DIABETES
MELLITUS ESPONTANEA EN CANINOS."**

"Estudio endócrino - metabólico"

AUTOR: Méd. Vet. Jorge Daniel Scaramal

DIRECTORA: Dra. Aurora Renauld

LUGAR DE TRABAJO: - Cátedra de Clínica Médica y
Quirúrgica de Pequeños Animales,
Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad de Buenos Aires.
Chorroarín 280. Capital Federal.
- Instituto De Fisiología "Profesor
Bernardo Houssay", Facultad de
Medicina, Universidad de Buenos
Aires. Paraguay 2155,7^o Piso Bs.As.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Presidente:	Ing.Luis LIMA
Vicepresidente:	Lic.Angel TELLO
Secretario General:	Abog.Claudio CONTRERAS
Secretario de Asuntos Académicos:	Méd.Vet.Rogelio BRUNIARD
Secretaria Ciencia y Técnica:	Dra.Carlota SEMPE
Secretario Extensión Cultural y Difusión:	Lic.Pedro Garcia Cortina
Secretario de Asuntos Económicos Financieros:	Cdr.Rubén TORRE
Prosecretario General:	Dra.Mercedes MOLTENI
Guardasellos:	Ing. don Andrés RINGUELET

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Decano:	Méd.Vet.Alberto R.DIBBERN
Vice-decano:	Méd.Vet.Eduardo PONS
Secretaria Asuntos Académicos:	Méd.Vet.Alicia ANTONINI
Secretaria Extensión Universitaria:	Bact. Sandra ARAUZ
Secretaria Post-Grado:	Dra. Maria ETCHEVERRIGARAY
Secretaria Ciencia y Técnica:	Dr. Carlos PERFUMO
Secretario Supervisión Administrativa:	Cdr. Eduardo SILVERA

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Presidente:	Ing.Luis LIMA
Vicepresidente:	Lic.Angel TELLO
Secretario General:	Abog.Claudio CONTRERAS
Secretario de Asuntos Académicos:	Méd.Vet.Rogelio BRUNIARD
Secretaria Ciencia y Técnica:	Dra.Carlota SEMPE
Secretario Extensión Cultural y Difusión:	Lic.Pedro Garcia Cortina
Secretario de Asuntos Económicos Financieros:	Cdr.Rubén TORRE
Prosecretario General:	Dra.Mercedes MOLTENI
Guardasellos:	Ing. don Andrés RINGUELET

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Decano:	Méd.Vet.Alberto R.DIBBERN
Vice-decano:	Méd.Vet.Eduardo PONS
Secretaria Asuntos Académicos:	Méd.Vet.Alicia ANTONINI
Secretaria Extensión Universitaria:	Bact. Sandra ARAUZ
Secretaria Post-Grado:	Dra. Maria ETCHEVERRIGARAY
Secretaria Ciencia y Técnica:	Dr. Carlos PERFUMO
Secretario Supervisión Administrativa:	Cdr. Eduardo SILVERA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS:

NOMINA DE PROFESORES TITULARES Y ADJUNTOS:

ANATOMIA DESCRIPTIVA Y T.: Dra. Cristina ALONSO-Prof.Tit.

HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA: Felix MORENO-Prof.Tit.

INTRODUCCION A LA BIOFISICA: Jesús Carroza-Prof.Tit.
Miguel NOIA-Prof.Adj.

BIOQUIMICA: Angel CATALA-Prof.Tit.

ANATOMIA COMPARADA: Cristina ALONSO-Prof.Tit.

PATOLOGIA GENERAL VETERINARIA: Eduardo GIMENO-Prof.Adj.

FISIOLOGIA: Eduardo ZACCARDI-Prof.Tit.
Eduardo DESMARAS-Prof.Adj.

MICROBIOLOGIA: N.O. STANCHI-Prof Adj.
G.R. LINZITTO-Prof.Adj.

GENETICA Y BIOMETRIA: Fernando DULOT-Prof.Tit.
Horacio GARCIA VALENTI-Prof.Adj

SEMIOLOGIA Y PROPEDEUTICA: Jorge ANDREATA-Prof.Tit.
César ORTEGA-Prof.Adj.

ANATOMIA Y FISIOLOGIA PATOLOGICA: Julio IDIART-Prof.Tit.
Jorge RUAGER-Prof.Asoc.
Carlos PERFUMO-Prof.Asoc.
Eduardo GIMENO-Prof.Adj.

FARMACOLOGIA, FARMACOTECNIA
Y TERAPEUTICA: Jorge ERRECALDE-Prof.Tit.
Miguel NOVARINI-Prof.Adj.

MEDICINA OPERATORIA: Pablo VIDELA-Prof.Tit.
I. MONTESINO RAMOS-Prof.Adj.

PARASITOLOGIA Y ENF.PARASITARIAS: Lucia M.VENTURINI-Prof.Tit.
Eugenio BRANDETTI-Prof.Adj.

ZOOTECNIA GENERAL Y AGROSTOLOGIA: Liliana LAGRECA-Prof.Tit.

ZOOTECNIA ESPECIAL I PARTE:(ovinos, suinos y caprinos)
Eduardo MAROTA-Prof.Tit.

ZOOTECNIA ESPECIAL II PARTE:(bovinos y equinos)
Benjamin RODRIGUEZ-Prof.Tit.

ZOOTECNIA ESPECIAL III PARTE (aves y pilíferos)
Virginia GRILLO-Prof.Adj.
Celina BUSCAGLIA-Prof.Adj.

ECONOMIA AGRARIA: Gustavo de la ARENA-Prof.Tit
T. BRAVO BARDALES-Prof.Adj.

ENFERMEDADES INFECCIOSAS: Carlos AMASINO-Prof.Adj.

PATOLOGIA MEDICA: Fortunato ISEAS-Prof.Tit.

PATOLOGIA QUIRURGICA Y PODOLOGIA: Francisco BOCCIA-Prof.Tit.
Raúl MASSO-Prof.Adj.

PATOLOGIA DE AVES Y PILIFEROS: Néstor MENENDEZ-Prof.Tit.
Eugenio BRANDETTI-Prof.Adj.

TECNOLOGIA Y SANIDAD DE LOS
ALIMENTOS: Jorge LASTA-Prof.Tit.
Héctor PETTINATO-Prof.Adj.

HIGIENE, EPIDEMIOLOGIA Y SALUD
PUBLICA: Emilio Gimeno-Prof.Tit.
Florestan MALIANDI-Prof.Adj.

MEDICINA OPERATORIA: Pablo VIDELA-Prof.Tit.
I. MONTESINO RAMOS-Prof.Adj.

PARASITOLOGIA Y ENF.PARASITARIAS: Lucia M.VENTURINI-Prof.Tit.
Eugenio BRANDETTI-Prof.Adj.

ZOOTECNIA GENERAL Y AGROSTOLOGIA: Liliana LAGRECA-Prof.Tit.

ZOOTECNIA ESPECIAL I PARTE:(ovinos, suinos y caprinos)
Eduardo MAROTA-Prof.Tit.

ZOOTECNIA ESPECIAL II PARTE:(bovinos y equinos)
Benjamin RODRIGUEZ-Prof.Tit.

ZOOTECNIA ESPECIAL III PARTE (aves y pilíferos)
Virginia GRILLO-Prof.Adj.
Celina BUSCAGLIA-Prof.Adj.

ECONOMIA AGRARIA: Gustavo de la ARENA-Prof.Tit
T. BRAVO BARDALES-Prof.Adj.

ENFERMEDADES INFECCIOSAS: Carlos AMASINO-Prof.Adj.

PATOLOGIA MEDICA: Fortunato ISEAS-Prof.Tit.

PATOLOGIA QUIRURGICA Y PODOLOGIA: Francisco BOCCIA-Prof.Tit.
Raúl MASSO-Prof.Adj.

PATOLOGIA DE AVES Y PILIFEROS: Néstor MENENDEZ-Prof.Tit.
Eugenio BRANDETTI-Prof.Adj.

TECNOLOGIA Y SANIDAD DE LOS
ALIMENTOS: Jorge LASTA-Prof.Tit.
Héctor PETTINATO-Prof.Adj.

HIGIENE, EPIDEMIOLOGIA Y SALUD
PUBLICA: Emilio Gimeno-Prof.Tit.
Florestan MALIANDI-Prof.Adj.

INMUNOLOGIA VETERINARIA:	Enrique PENNIMPEDE-Prof.Tit. Carlos GOMEZ-Prof.Adj.
REPRODUCCION ANIMAL:	Angel RUSSO-Prof.Adj.
CLINICA DE PEQUEÑOS ANIMALES:	Lydia PRACCA-Prof.Tit. Francisco BOCCIA-Prof.Adj.
CLINICA DE GRANDES ANIMALES:	Juan E. RENER-Prof.Tit. Héctor BASCHAR-Prof.Adj.
FISICA Y QUIMICA APLICADA:	Jesús CARROZA-Prof.Tit.
MICOLOGIA MEDICA E INDUSTRIAL:	Enso REINOSO-Prof.Adj.
MICROBIOLOGIA ESPECIAL:	Marta TOBIA-Prof.Adj.
MICROBIOLOGIA APLICADA:	Marta TOBIA-Prof.Adj.
PARASITOLOGIA APLICADA:	Raquel FELDMAN-Prof.Tit.
SALUD PUBLICA:	Florestan MALIANDI-Prof.Tit.
VIROLOGIA:	María ECHEVERRIGARAY-Prof.Tit. Graciela OLIVA-Prof.Adj. Edgardo NOCETTO-Prof.Tit.
BIOESTADISTICA:	Alicia JENSEN-Prof.Tit.
GENETICA MICROBIANA:	María M. LOJO-Prof.Adj.
ANIMALES DE LABORATORIO:	Cecilia CARBONE-Prof.Adj.
INMUNOLOGIA I PARTE:	Enrique PENNIMPEDE-Prof.Tit.
INMUNOLOGIA II PARTE:	Carlos GOMEZ-Prof.Adj.
ANALISIS CLINICO I:	Nelson ARGERI-Prof.Tit. Marta VILLAR-Prof.Adj.
ANALISIS CLINICO II:	Nelson ARGERI-Prof.Tit. Marta VILLAR-Prof.Adj.

SERVICIO DE CARDIOLOGIA: Eduardo ZACCARDI-Prof.Adj.

CEDIVE: Fortunato ISEAS-Prof.Tit.

Jorge ROMERO-Prof.Adj.

SERVICIO DE RADIOLOGIA: Eduardo PONS-Prof.Adj.

x-x-x-x-x-x-x-x-x-x-x-x

A mi esposa

A mi madre

A mis hijos

AGRADECIMIENTOS:

- Prof. Ernesto Hutter Ex Prof.Titular, Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Pequeños Animales, Fac.Cs.Veterinarias, UBA.

- Prof. Ricardo Rodríguez Prof.Titular, Cátedra de Fisiología "Instituto de Fisiología Profesor Bernardo Houssay", Fac.de Medicina, UBA.

- Prof. Delia Garrido Prof.Adj., Cátedra de Físico-Matemática, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

- Dr. Virgilio Foglia Director del Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME).

- Med.Vet. María M. Wanke Docente de la Cátedra de Teriogenología, Facultad de Cs.Veterinarias, UBA.

- Sra. María Di Vietro Biblioteca IBYME.

- Sra. María L. Pisano Biblioteca IBYME.

INDICE GENERAL:

	Página
PALABRAS CLAVE	(a)
ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO	(b)
RESUMEN	(c)
SUMMARY	(d)
INTRODUCCION	1
- Regulación de la glucemia. (3)	
- Acción de las principales hormonas pancreáticas sobre el metabolismo intermedio y regulación de la glucemia. (7)	
* Insulina. (7)	
* Glucagon. (9)	
- Hormonas extrapancreáticas que afectan la acción de la insulina. (11)	
* Glucocorticoides. (11)	
* Catecolaminas. (13)	
* Hormona de desarrollo. (14)	
* Prolactina. (18)	
* Hormonas tiroideas. (19)	
* Estrógenos y progesterona. (20)	
- Fisiopatología de la diabetes mellitus. (24)	
* Metabolismo de los hidratos de carbono. (24)	
* Metabolismo lipídico. (26)	
* Metabolismo proteico. (40)	

MATERIALES Y METODOS	41
- Generalidades. (41)	
- Materiales utilizados. (42)	
- Hormonas usadas. (46)	
- Prueba de tolerancia a la glucosa. (47)	
- Prueba de sensibilidad a la insulina. (49)	
- Determinación de la glucemia. (50)	
- Determinación de la insulinemia. (51)	
- Determinación de la trigliceridemia. (51)	
- Determinación de la glicerolemia. (51)	
- Determinación de la colesterolemia. (52)	
- Determinación de los ácidos grasos libres séricos. (52)	
- Determinación de la lipemia. (52)	
- Citología vaginal exfoliativa. (52)	
- Animales usados. (53)	
- Estudio estadístico. (54)	
RESULTADOS	55
- Glucemia. (55)	
- Insulina sérica inmunorreactiva. (69)	
- Ácidos grasos no esterificados séricos. (85)	
- Glicerol sérico. (93)	
- Triglicéridos séricos. (102)	
- Colesterol sérico. (112)	
- Lípidos totales séricos. (114)	

	Página
DISCUSION	116
- Glucemia. (116)	
- Insulinemia. (121)	
- Acidos grasos no esterificados séricos. (127)	
- Glicerol sérico. (143)	
- Triglicéridos séricos. (147)	
- Colesterol sérico. (166)	
- Lípidos totales séricos. (168)	
CONCLUSIONES	173
BIBLIOGRAFIA	176
OTRA BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	217

(a)

PALABRAS CLAVE:

Metabolism - Lipids - Diabetes Mellitus - Estrus - Glucose -
Insulin

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO:

ADN: ácido desoxirribonucleico.	AGNE: ácidos grasos no esterificados séricos.
AMP: adenosín monofosfato.	ANOVA: análisis de variancia.
ATP: adenosín trifosfato.	CM: cuadrados medios.
CoA: coenzima A.	col.: colaboradores.
dl: decilitro.	DM: diabetes mellitus.
E: epinefrina.	Eq/l: equivalente por litro.
F: fase.	FSH: hormona folículo estimulante.
G: grupo.	GH: hormona de desarrollo.
GH-RH: factor liberador de la GH.	GHR: hormona liberadora de la GH.
g.l.: grados de libertad.	HDL: lipoproteína de alta densidad.
IDL: lipoproteína de densidad intermedia.	IGFs: factores de crecimiento tipo insulina.
IRI: insulina inmunorreactiva.	I 125: iodo radioactivo.
k: tasa de desaparición de la glucosa.	LCTA: lecitín-colesterol acil-transferasa.
LDL: lipoproteína de baja densidad.	LH: hormona luteinizante.
Ln: logaritmo natural.	mEq/l: miliequivalente por litro.
mg: miligramo.	ml: mililitro.
NADP: nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato	NE: norepinefrina.
ng: nanogramos.	P: probabilidad.
pg: picogramo.	S.C.: suma de cuadrados.
t 1/2: tiempo de media vida de glucosa en circulación.	TG: triglicéridos.
U.I.: unidades internacionales.	VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

RESUMEN:

En el presente trabajo se estudiaron, en perras en ayuno, los efectos de la diabetes mellitus espontánea y/o del ciclo sexual sobre el comportamiento de los niveles de glucemia, insulinemia, glicerolemia, trigliceridemia y ácidos grasos no esterificados séricos, basalmente y durante las pruebas endovenosas de glucosa e insulina. También se estudiaron la coles-terolemia y la concentración de lípidos totales séricos, en esos animales. Dichas variables no se afectaron por el ciclo y hubo hiperlipemia e hipercolesterolemia en las diabéticas. En las perras normales, durante la prueba de glucosa, la hiper-glucemia fue apenas mayor en el anestro; no se observó hiper-insulinemia en dicha fase, pero sí durante el ciclo, siendo más intensa en la fase estrogénica; en el anestro hubo un descenso en el nivel de ácidos grasos no esterificados séricos que no se modificó con el ciclo; se observó hipertrigliceride-mia e hiperglicerolemia durante la prueba en las tres condi-ciones sexuales. Durante la prueba de insulina la hipogluce-mia e hiperinsulinemia fue similar en las tres fases no hubo cambios en el nivel de ácidos grasos no esterificados y sí una moderada hiperglicerolemia durante el ciclo sexual; en el anestro se detectó hipertrigliceridemia e hiperglicerolemia durante la prueba, que se mantuvieron en el ciclo. En las per-ras diabéticas todas las variables se agravaron, basalmente o en el curso de las pruebas mencionadas, en distinto grado y con empeoramiento de los signos clínicos especialmente durante el ciclo.

SUMMARY:

The action of spontaneous Diabetes Mellitus and/or estrous cycle on glycemia, insulinemia, triglyceridemia, glycerolemia and plasma nonesterified fatty acid levels, in the course of intravenous glucose and insuline tests, in normal and diabetic bitches was studied. Both basal cholesterolemia and plasma lipid concentrations in the normal and diabetic female dogs were evaluated. Both variables were not affected by the cycle, but increased in diabetes. Normal bitches during intravenous glucose tolerance test showed a higher glycemia in anestrus than the cycle (estrogenic and luteal phases). There was not hyperinsulinemia in anestrus, but there was during the cycle, more intense during the estrogenic phase. Plasma nonesterified fatty acid levels were decreased. Hypertriglyceridemia and hiperglycerolemia were present in every aspect of the cycle. In every phase during insulin test showed that hypoglycemia and hyperinsulinemia were similar. There was no change in plasma nonsterified fatty acid levels and a moderated hyperglycerolemia during the cycle was detected. During anestrus hypertriglyceridemia was observed which continued throughout the whole estrous cycle. In diabetic dogs all the measurements changed to a variable extent showing deterioration of the clinical signs, particularly during the estrous cycle.

INTRODUCCION:

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad endócrina caracterizada principalmente por intolerancia a los hidratos de carbono. Se manifiesta clínicamente por hiperglucemia en ayunas y se acompaña de alteración del metabolismo lipídico y proteico. El mecanismo responsable es la falta absoluta o relativa de insulina (ver fisiopatología).

Su incidencia es más frecuente en razas pequeñas (especialmente Daschund y Caniche), aunque todas pueden ser afectadas (Chin H. y col. 1981; Marmor M. y col. 1982). La edad promedio de presentación oscila entre los 8 a 9 años (Cottard J. 1985), con una mayor frecuencia en hembras enteras, que en castradas o machos (Krook L. y col. 1960).

La diabetes juvenil, aunque de rara presentación, ha sido descrita en diferentes razas (Atkins C. 1983; Kramer J. 1980) en edades comprendidas entre los 2 meses y el año de edad. La diabetes juvenil de los perros Keeshound, se produce por una atrofia hereditaria de las células B pancreáticas (origen hereditario), mientras que las células A no presentan alteración alguna.

La incidencia de la enfermedad es variable si se toma como referencia a la bibliografía, así se informan incidencias de 1:170 a 1:1200 (Wilkinson J. 1960; Dixon J. y Sanford J. 1962). Los valores obtenidos según la casuística del autor dan un promedio de 1:250 (Observación no publicada).

La enfermedad afecta a los caninos en relación a sus alteraciones bioquímicas y clínicas, en forma semejante a como lo hace en los seres humanos (Marre M. 1985). Por ello se toma a esta especie como modelo para el estudio de la diabetes en el hombre (Karl R. 1975; Engermann R. y Kramer J. 1982).

La etiología responde también en general a las características de la especie humana. Se transcriben a continuación los grupos etiológicos más importantes:

- 1^o) Genética.
- 2^o) Insuficiencia pancreática.
- 3^o) Agotamiento de las células B (inducido por hormonas).
- 4^o) Insensibilidad de los tejidos blanco.

De éstos, el tercer grupo representa, para la especie canina, uno de los más sobresalientes (observación personal no publicada), destacándose la DM inducida por la acción de glucocorticoides, hormonas tiroideas, hormona de desarrollo (GH) y hormonas sexuales femeninas (principalmente la progesterona).

El fundamento del presente trabajo, se basó en el hecho de haber comprobado que gran cantidad de los caninos presentados a consulta con DM, correspondían al sexo hembra. Estas fueron detectadas ciclando o bien habían concluido el estro recientemente y no más allá de los 2 meses. Se observó además que muchas de ellas después de iniciar el tratamiento insulínico, al ser ovariectomizadas evidenciaban cuadros de hipoglucemia a las pocas semanas, motivando la reducción en la dosis de insulina diaria o bien a su supresión.

Esta investigación se sustenta en la acción que desempeñan las hormonas sexuales, sobre los diferentes parámetros metabólicos hidrocarbonados y lipídicos, en caninos hembra con DM espontánea. En el desarrollo de este trabajo, se ha tenido en cuenta no sólo la acción de hormonas sexuales sobre ellos, sino también la de las hormonas contrainsulínicas, que contribuyen al deterioro endócrino-metabólico en estos pacientes. Debido a ello, se describen a continuación las principales acciones de las hormonas involucradas en la regulación de la glucemia y del metabolismo de los lípidos, las cuales servirán de base para realizar la discusión de los resultados obtenidos en la presente experiencia.

REGULACION DE LA GLUCEMIA:

En condiciones de ayuno, la glucemia se haya regulada por el hígado y el páncreas. El primero de ellos se comporta como órgano amortiguador, por actuar como única fuente de glucosa, mientras que el páncreas, a través de la secreción de insulina y glucagon, regula la producción de glucosa hepática. Al producirse un déficit de insulina, comienza una lenta aunque inmediata, liberación de glucosa, lo cual lleva a la hiperglucemia (Andre F. 1985). Cuando el nivel de glucagon desciende, inmediatamente disminuye la liberación de glucosa hepática y, paralelamente, su concentración plasmática (Lilfenquist J. y col. 1974; Kraus-Friedmann N. 1984).

Las variaciones en la secreción pancreática de insulina y glucagon son las encargadas de mantener los niveles de glucosa plasmática en valores normales durante el ayuno (Parrilla R. y col. 1974), así como en el período de postabsorción (Cherrington A. y col. 1976). Por ejemplo, al aumentar la utilización periférica de glucosa, su valor plasmático desciende, haciendo lo propio el nivel de insulina y consecuentemente aumenta el del glucagon, lo que lleva a que se libere glucosa hepática y retorne el tenor de la glucemia a valores normales (Gerich J. y col. 1976; Del Prato S. y col. 1987), (ver Figura N°1).

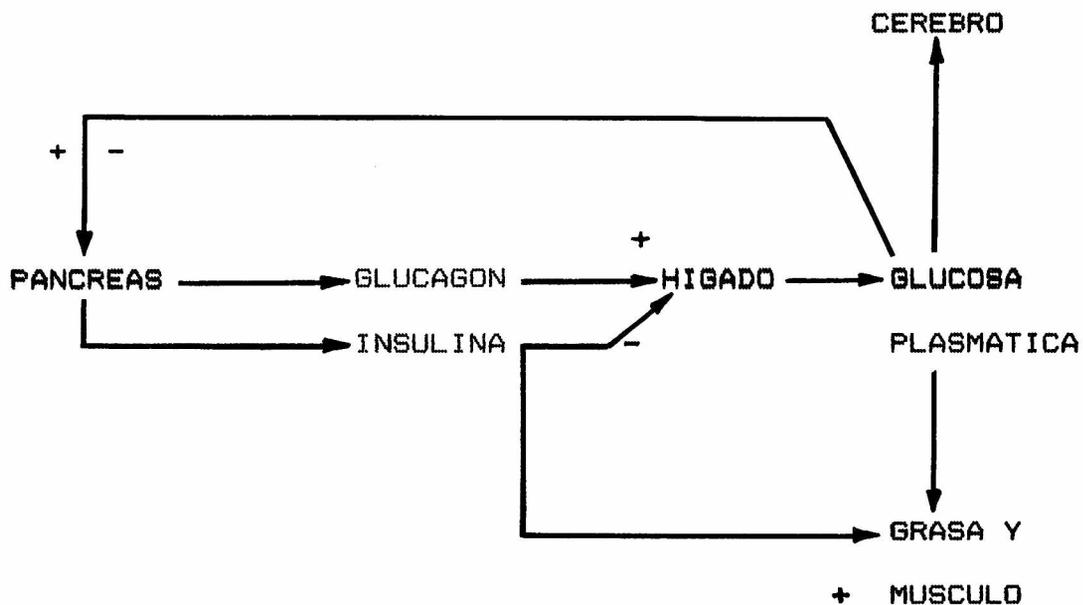


FIGURA Nro 1- Mecanismo de contrarregulación de la glucemia. (Tomado de Porte D. y Holter J., Tratado de Endocrinología. 5ta Edición. Willian R.H. Editorial Interamericana Bs.As.1984)

Este sistema de control, de contrarregulación, se halla influenciado por otras hormonas, tales como el cortisol, tiroxina, catecolaminas y hormona de desarrollo (GH) (Gerich J. 1988; Smith U. 1988). Las mencionadas hormonas ejercen un potente efecto antagónico de la insulina, aumentando la formación y liberación de glucosa hepática (Gerich J. y col. 1980; Gerich J. 1988), (ver Figura N^o2).

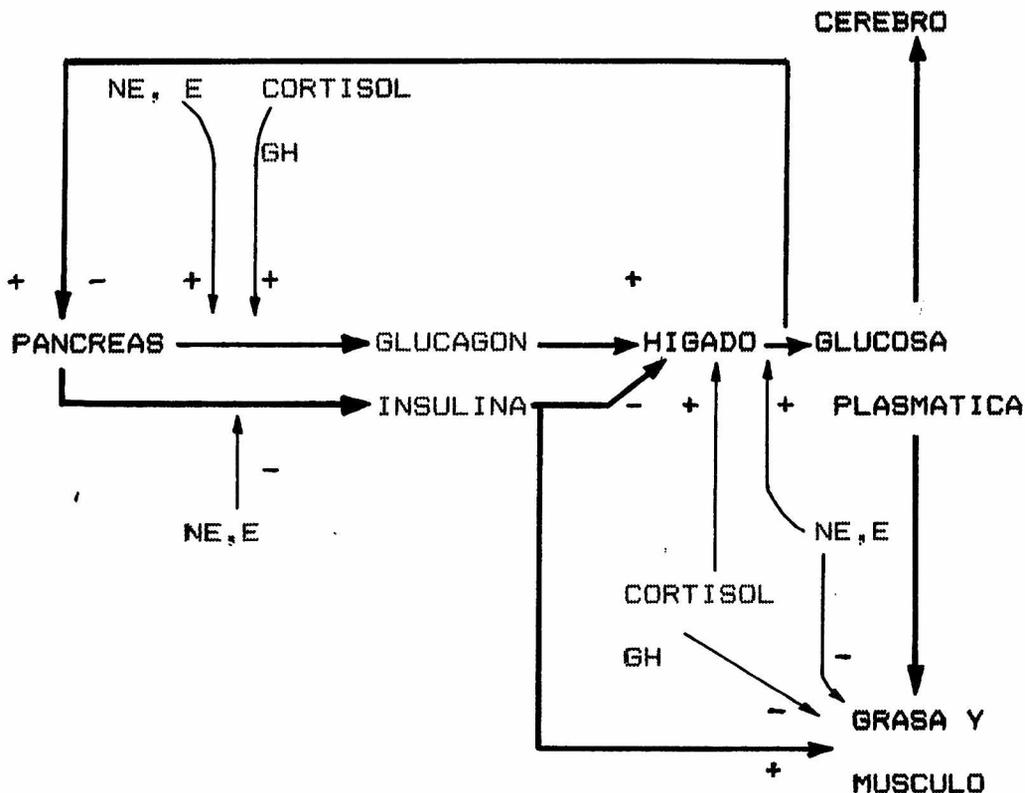


FIGURA Nro 2- Modulación del sistema de contrarregulación de la glucemia por las hormonas contrarregulatorias (Tomado de Porte D. y Holter J.B., Tratado de Endocrinología. 5ta Edición Willian R.H. Editorial Interamericana Bs.As.1984). (GH: hormona de desarrollo, E: epinefrina, NE: norepinefrina).

Estas hormonas, que participan en contrarrestar la hipoglucemia, se hallan más estudiadas que las que actúan en la hiperglucemia. Ello se debe, a que en hipoglucemias severa el riesgo de muerte del individuo es mayor o bien pueden producirse lesiones irreversibles del sistema nervioso central.

Una vez presentada la hipoglucemia, se activan los sistemas contrarregulatorios antagónicos de la insulina, que presentan una jerarquía variada en cuanto a su acción (Gerber A. y col. 1976; Bratusch-Marrain P. 1983; Unger R. 1983; Clutter W. y col. 1988; Mc Mahon M. y col. 1988; Smith U. y Lager I. 1989).

La importancia y rapidez de acción de estas hormonas en forma individual son diferentes. Aparentemente el glucagon y las catecolaminas son las hormonas que median la regulación de una hipoglucemia aguda y severa (valor menor de 60 mg por dl) y eventualmente el cortisol se suma a las acciones contrarregulatorias en el período post-hipoglucémico (Bratusch-Marrain P. 1983; McMahon M. y col. 1988; Smith U. y Lager I. 1989). En el hombre y en el perro, la epinefrina, el glucagon y el cortisol ejercen una acción sinérgica en la contrarregulación de la hipoglucemia (Clutter W. y col. 1988). La máxima categoría autorregulatoria, la tiene la desaparición de la insulina circulante, que es bastante rápida. En orden de importancia le siguen luego la acción del glucagon y la epinefrina.

La autorregulación de la glucemia, por la glucosa misma y el papel de la GH son menos importantes (Clutter W. y col. 1988), pues aumentan sus niveles, sólo en cuadros sostenidos

(Gerich J.1988).

Resulta importante destacar, que después de una hipoglucemia severa se ponen en marcha mecanismos contrarregulatorios, que pueden llegar a producir una hiperglucemia, ésto es denominado "Fenómeno Somoyi" (Somoyi M. 1959; Feldman E. 1982) en él participan la GH, glucocorticoides y catecolaminas (Gerber A. 1976).

En consecuencia, el estado de equilibrio alcanzado cuando la glucemia se halla en valores normales, resulta de la sumatoria de acciones de las diferentes hormonas involucradas y del papel desempeñado por el hígado (Balli G. y col. 1985) y por los tejidos periféricos.

ACCION DE LAS PRINCIPALES HORMONAS PANCREATICAS SOBRE EL METABOLISMO INTERMEDIO Y LA REGULACION DE LA GLUCEMIA:

INSULINA:

La insulina es una hormona que actuando en forma directa o indirecta, afecta la estructura y función de casi todos los órganos del cuerpo. Si bien los tejidos más estudiados sobre los que ejerce su acción, son el hepático, adiposo y muscular, también se ha observado su acción sobre leucocitos, glándulas mamarias, fibroblastos, músculo liso, piel, cristalino, pituitaria, nervios periféricos, etc.

Acción sobre el hígado: los hepatocitos, así como los glóbulos rojos y el cerebro poseen libre permeabilidad para la glucosa

(Rico A. y col. 1985). Al entrar ésta en las células se produce su fosforilación y consiguiente formación de glucosa-6-fosfato. Esta reacción es catalizada por dos enzimas: la hexoquinasa y la glucoquinasa (Kaneko J. 1980). La insulina actúa sobre ésta última induciendo su formación, así como sobre la glucógeno-sintetasa, de importancia en la biosíntesis del glucógeno (Larner J. y Charlosttesville D. 1972).

Cuando la glucemia aumenta y excede los valores normales en un animal sano (120 mg/dl), se produce una reducción en la salida de glucosa hepática, debido a la disminución de la gluconeogénesis (Levine R. 1972,a) y al aumento en la biosíntesis de glucógeno. La insulina también actúa aumentando la síntesis de proteínas (Jefferson L. 1980; Kraus-Friedmann N. 1984).

En cuanto a los ácidos grasos libres, éstos son captados por el hígado para ser metabolizados hasta anhídrido carbónico a nivel muscular o esterificados con glicerol-fosfato para formar triglicéridos (Levine R. 1972, b). Estos últimos, una vez sintetizados, son liberados al plasma en forma de lipoproteínas de baja densidad.

Acción sobre el tejido adiposo: en este tejido se encuentra el mayor depósito de energía del organismo.

La insulina actúa sobre el tejido adiposo promoviendo el depósito de nutrientes y previniendo la lipólisis (Fain J. y col. 1966; Fain J. y Rosenmerg L. 1972; Smith U. 1988).

De esta forma, la glucosa que penetra en el adipocito es convertida a grasa y allí almacenada. Esto se cumple, al menos en gran parte, mediante tres mecanismos: 1) aumento de la sín-

tesis de ácidos grasos a partir de la glucosa, 2) aumento de la captación de glucosa (Kaneko J. 1980, a), 3) antagonismo de la acción de varias hormonas lipolíticas (Smith U. 1988).

Acción sobre el músculo: aquí la insulina actúa a semejanza de lo que ocurre en el tejido adiposo, en forma anabólica, aunque en éste existe una mayor síntesis de proteínas (Manchester K. y Kalhoff R. 1972; Abumrad N. y col. 1989), nucleótidos y glucógeno, siendo la síntesis de triglicéridos menor que en dicho tejido. La insulina es esencial para la vida, no sólo por su importancia en el metabolismo hidrocarbonado, sino por su efecto anabólico general, (Jefferson L. 1980). También actúa en este tejido aumentando la oxidación de la glucosa y del piruvato. El músculo es la principal fuente de alanina, glutamina, piruvato y lactato, los cuales serán luego utilizados en el proceso de gluconeogénesis (Exton J. 1972).

Glucagon:

El glucagon es un importante regulador del metabolismo de los hidratos de carbono. Posee en general acciones biológicamente opuestas a la insulina no sólo sobre el metabolismo hidrocarbonado sino también sobre el lipídico y proteico, fundamentalmente sobre el hígado (Unger R. 1981; 1985). Sus propiedades metabólicas demuestran, potenciales efectos diabetógenos "in vitro" (Lefevre P. y Luyckx A. 1979) e "in vivo" por su acción exclusiva sobre el hígado (Gerich J. 1988). Un tenor

elevado de glucagon, con respecto a la insulina, lleva a procesos catabólicos caracterizados por glucogenolisis, gluconeogénesis, cetogénesis y proteólisis (Parrilla R. y col. 1974). En el hígado actúa incrementando la producción de glucosa mediante la degradación del glucógeno (Del Prato S. y col. 1987; Smith U. y Lager I. 1989) y la disminución del sistema glucógeno-sintetasa (Exton J. 1972). También estimula la gluconeogénesis a partir de los precursores: glicerol, lactato y aminoácidos (Sherwin R. y col. 1976). Con respecto al metabolismo proteico, si bien la insulina posee un neto efecto anabólico estimulando la síntesis proteica muscular y, muy probablemente, inhibiendo la degradación (Cahill G. 1971), la función del glucagon, en este sentido es poco conocida, aunque sí se sabe de su potente acción estimuladora de la gluconeogénesis en el hígado. Esta acción puede ejercerse mediante la extracción de aminoácidos por el hígado en el sujeto normal (Borden G. y col. 1980).

El glucagon también produce lipólisis (Gerich J.E. y col. 1976, a), proporcionando una fuente directa de ácidos grasos libres para su oxidación (Lilfenquist J. y col. 1974). Además, posee un pronunciado efecto cetogénico hepático a partir de los ácidos grasos libres (Parrilla R. y col. 1974). Esta acción se lleva a cabo durante el ayuno, en el sujeto normal y se exacerba en el diabético, lo que produce una cetogénesis acelerada y, con el tiempo, desencadena una acidosis metabólica (Alberti K.G.M.M. 1975; Gerich J. 1975).

HORMONAS EXTRAPANCREATICAS QUE AFECTAN LA ACCION DE LA

INSULINA:

El metabolismo de los carbohidratos no es modificado sólo por la acción de la insulina y el glucagon, sino también por otras hormonas, las que actuando en forma antagónica o impidiendo la acción de la primera de ellas, contribuyen a producir intolerancia a los hidratos de carbono. Estas hormonas son los glucocorticoides, catecolaminas, GH, prolactina, hormonas tiroideas, estrógenos y progesterona, de las cuales se describirán los mecanismos que interfieren la acción de la insulina (Fechereau D. 1985).

Glucocorticoides:

Los glucocorticoides ejercen importantes efectos sobre el metabolismo de los hidratos de carbono. Actúan estimulando la gluconeogénesis en forma directa e indirecta y aumentando la disponibilidad de sustratos gluconeogénicos. Esta última acción se produce fundamentalmente en el hígado y da como resultado un incremento en el almacenamiento de glucógeno hepático. Los glucocorticoides producen gluconeogénesis a través de los siguientes mecanismos:

- 1) aumento de la actividad de enzimas gluconeogénicas.
- 2) aumento de la producción y utilización de sustratos gluconeogénicos.
- 3) Potenciación en la respuesta de otras hormonas gluconeogénicas tales como: epinefrina y glucagon (Issekutz B. y Borkow

I. 1973; Wise J. y col. 1973). Se observa que su aumento inhibe la acción gluconeogénica o glucolítica de estas hormonas.

Los glucocorticoides también disminuyen la eficiencia en la utilización de la glucosa (Shamoon H. y col. 1981). En los individuos normales esta alteración es corregida mediante el incremento en la secreción de insulina (Beard J. y col. 1984).

Sobre el metabolismo lipídico, se caracterizan por incrementar la lipólisis, proceso que lleva a la liberación de ácidos grasos y glicerol. Además refuerzan la acción lipolítica de la epinefrina.

En cuanto al metabolismo proteico, producen: 1) aumento del catabolismo, 2) elevación en el nivel de aminoácidos plasmáticos, 3) mayor entrada de aminoácidos al hígado, 4) aumento de la gluconeogénesis, 5) balance nitrogenado negativo, 6) inhibición del desarrollo y 7) atrofia de muchos tejidos, principalmente el muscular y dérmico (Liddle G.W. 1984).

En resumen, el exceso de glucocorticoides se asocia con aumento del contenido hepático de lípidos y glucógeno, acompañado de hiperglucagonemia e intolerancia a los hidratos de carbono (Amatruda J. y col. 1985; Mc Mahon M. y col. 1988).

Si bien los diferentes mecanismos sobre la acción hiperglucemiante de los glucocorticoides, mencionados en párrafos anteriores, explican esta propiedad se ha comprobado, que la intolerancia a los carbohidratos, se debe, en mayor medida a la poca utilización periférica de glucosa, más que a un aumento de su producción (Pagano G. y col. 1983). Esta insulino-

resistencia es debida, fundamentalmente a dos mecanismos: 1) alteración del receptor de insulina y 2) alteración de los procesos post-receptor (Grunfeld C. y col. 1981; Keigo Yasuda y col. 1982; Rizza R. y col. 1982; Mc Mahon M. y col. 1988). Se suma a esto el efecto inhibitor que poseen los glucocorticoides sobre ambas fases de la inducción de la secreción de insulina por la glucosa y la arginina (Basseghian G. y col. 1982).

Catecolaminas: Si bien el potente efecto que ejercen las catecolaminas, sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, se conoce desde hace más de 50 años, solo recientemente se han comenzado a esclarecer sus mecanismos fisiológicos y fisiopatológicos. En forma sucinta, puede decirse que la epinefrina y norepinefrina estimulan la glucogenolisis, lipólisis, proteólisis y gluconeogénesis (Steiner K. y col. 1985).

Las catecolaminas elevan la glucemia y, juntamente con el glucagon, representan las hormonas de emergencia que actúan en casos de hipoglucemia aguda severa (Clutter W. 1988). Este efecto de antagonismo insulínico es, en parte, debido a un efecto estimulante sobre la producción hepática de glucosa y a una inhibición en la utilización periférica de ésta (Smith U. 1989). La adrenalina disminuye la sensibilidad y respuesta del organismo a la insulina (Sacca L. y col. 1980; Hamburg S. y col. 1980). También se comprobó que el efecto antagónico de la adrenalina sobre la insulina, es más acentuado que su capacidad de producción de glucosa y que inhibe el aclaramiento per-

riférico de la misma en el perro normal independientemente del glucagon circulante (Gray D. y col. 1980).

Los mecanismos responsables de producción de hiperglucemia por la epinefrina son complejos, pudiéndose dividir, para su mejor entendimiento en los que actúan en forma directa e indirecta (Clutter W. y col. 1988). Las acciones directas se basan en un efecto prolongado de restricción en la utilización de la glucosa y uno pasajero, en el que se estimula su producción (Altszuler N. 1967). Las acciones indirectas se hallan mediadas a través del sistema alfa-adrenérgico, el cual se encarga de limitar la secreción de insulina (Bratusch-Marrain P. 1983) Esta disminución de la secreción de insulina trae aparejada una menor utilización de la glucosa y una estimulación en la producción de ésta, los que llevan a una sostenida hiperglucemia. Se suma a este efecto la estimulación en la secreción de glucagon a través de los mediadores beta adrenérgicos.

En el perro, la glucogenolisis hepática ocurre mediante efectos alfa y beta adrenérgicos (Fain J. 1967). Los receptores beta-2-adrenérgicos pancreáticos al ser estimulados producen la secreción de insulina. Sobre el metabolismo lipídico, se caracterizan por producir liberación de ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos (lipólisis). Los estados de estrés sufridos por pacientes diabéticos pueden llevar a un cuadro de cetoacidosis (Christensen N. 1979).

Hormona de desarrollo:

Su efecto biológico se ejerce en forma directa e indirecta

En el hombre la GH es diabetógena, pero en el perro genera una diabetes insulino-resistente con tendencia a la cetosis (Recopilación de Press M. 1988).

- **Acciones indirectas:** estas acciones son mediadas por un grupo de péptidos denominados somatomedinas o factores de sulfatación (Salmon W. y Danghaday W. 1957). No hace muchos años, cuando se conoció que sus estructuras eran semejantes a la proinsulina y sus acciones parecidas a la insulina, se los llamó "factores de crecimiento tipo insulina" (IGFs), aunque hoy se sigue utilizando el nombre de somatomedinas.

Las somatomedinas son producidas en el hígado bajo el estímulo de la GH (Danghaday W. y col. 1976; Schimpff R. y col. 1976) y liberadas al torrente sanguíneo, para ejercer acciones sobre el desarrollo, tales como estimulación de la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN), incorporación de sulfatos a los proteoglicanos del cartílago, formación de la matriz de éste y estimulación de la reproducción y crecimiento celular en el cartílago y en otros tejidos. Además posee ciertos efectos tipo insulina (Phillips L.S. y Vassilopoulou-Sellin R. 1980), caracterizados por producir aumento del transporte de glucosa y de su oxidación, inhibir la lipólisis y estimular la síntesis de glucógeno, grasa y proteínas (Press M. 1988). No obstante, su potencia de acción es mucho menor que el de la insulina y no se les ha comprobado efecto hipoglucemiante (Gordon P. y col. 1981).

- **Acciones directas:** éstas a su vez pueden clasificarse en efectos tipo insulina y antiinsulina. También pueden dividirse

según el momento de aparición de los mismos, en agudos y crónicos.

A) Efectos agudos se relacionan fundamentalmente con el metabolismo de las proteínas, lípidos y carbohidratos (Merimee T. y Rabin D. 1973; Fineberg S. y Merimee T. 1974). Así, se ha observado que la administración de GH estimula la captación de aminoácidos por los músculos, captación de glucosa en el tejido adiposo e inhibición de la lipólisis (Goodman H. 1970; Fineberg S. y Merimee T. 1974; Birnbaum R. y Goodman H. 1979) a los 30 minutos de aplicada. Estos efectos se revierten a las 3 horas y media (Goodman H. 1970). También se comprobó "in vivo" e "in vitro" un breve período de estimulación de la síntesis de ácidos grasos libres, después del suministro de dosis farmacológicas de GH (Goodman H. 1970).

B) Efectos crónicos: se asocian con el estímulo del desarrollo de muchos de los tejidos corporales. Para llevar a cabo esta acción, estimulan la síntesis y utilización de las proteínas (Danghaday W.H. 1984).

Los efectos crónicos de la GH también se relacionan con el metabolismo lipídico y de los carbohidratos. Sobre el primero actúa promoviendo la lipólisis (Metcalf P. y col. 1981), lo que se acompaña con un aumento de los ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos (Gerich J.E. 1976,a; Schade D.S. 1978). Esta acción lipolítica es rápidamente suprimida en presencia de insulina (Gerich J.E. y col. 1976, a).

En el metabolismo hidrocarbonado, la GH actúa disminuyendo la utilización periférica de glucosa y estimulando su produc-

ción en el hígado (Levine R. y Luft R. 1964; Luft R. y Cerasi E.; 1967; Press M.; y col. 1986). Estas alteraciones van asociadas con una considerable elevación de los niveles séricos de insulina (Campbell J. y Krishna Sudha R. 1966, a; Pierluissi J. y Campbell L. 1980) y un estado de insulino-resistencia (Abrams R. y col. 1971; Renauld A. y col. 1971) ocasionados por una disminución de la afinidad de ésta al receptor y posiblemente, también por defectos post-receptor, que contribuyen a empeorar el estado de intolerancia a la glucosa (Bratusch-Marrain P.R. y col. 1982; Rizza R.A. y col. 1982). Si bien el aumento de la insulinemia se debe, en parte, a un mecanismo compensador de la mayor producción hepática de glucosa se ha comprobado que ocurre también por estímulo directo de la GH sobre los islotes pancreáticos en los cuales produce un aumento de la síntesis y liberación de insulina (Pierluissi J. y col. 1980; Nielsen J. 1982).

El estado de insulino-resistencia causado por la GH, puede llevar, con el tiempo, a producir diabetes, tal como se comprobó en los caninos, en forma espontánea (Groen J. y col. 1964) o por la administración de esta hormona de origen bovino (Campbell J. y Krishna Sudha Rastagi 1966,a).

Los cambios pancreáticos, que presentan los caninos diabéticos por la administración crónica de GH, van desde la proliferación metabólica de las células B, en un primer momento, (como mecanismo compensador de un mayor requerimiento de insulina), hasta la degeneración hidrópica y degranulación en un estadio intermedio. Por último, estas alteraciones llevan a la

hialinización de los islotes y a la irreversibilidad de la diabetes (Volk B. y Lazarus S. 1962; Press M. 1988).

Prolactina:

Desde los trabajos de Houssay B. y col. (1955) se conoce la acción diabetógena de la prolactina en perros y gatos.

Esta hormona, así como otras de la misma familia (GH y somatomamotrofina) actúa modulando la función de las células B del páncreas (Malaisse W. y col. 1969; Landgrof R. y col. 1977; Sorenson R. y col. 1987) y, fundamentalmente, estimulando la síntesis de insulina (Nielsen J. 1982).

Las concentraciones elevadas de prolactina en sangre pueden, de este modo, contribuir al desarrollo de hiperinsulinemia (Gustafson A. y col. 1980; Johnston D. y col. 1980; Brelfe T. y col. 1989). Esta hiperinsulinemia está asociada con un estado de insulino-resistencia, al parecer causada, al menos en parte, por una baja regulación de los receptores de insulina (Schernthoner G. y col. 1985). Algunos autores tales como Renauld A. y col. (1973,a); Adler R. y Sokel H. (1982), concuerdan en que la prolactina no afecta los valores basales de insulina inmunorreactiva (IRI) sérica, ni la respuesta insulínica a la sobrecarga de glucosa en tratamientos crónicos con la hormona. Esta aparente diferencia de efectos quizás pueda atribuirse al uso de hormonas heterólogas (Brelfe T.C. y col. 1989).

Hormonas tiroideas:

Estas ejercen un efecto metabólico contrario a la producida por la insulina. Sus acciones pueden resumirse en los siguientes puntos:

(a) Metabolismo hidrocarbonado: aumento de la glucólisis, glucogenolisis y de la absorción de carbohidratos desde el intestino. (b) Metabolismo proteico: aumento en la síntesis y degradación de las proteínas. A dosis elevadas son catabólicas, mientras que, en el rango fisiológico son anabólicas. (c) Metabolismo lipídico: aumento en la síntesis y excreción biliar de colesterol. Al actuar juntamente con la norepinefrina aumenta la lipólisis y consecuentemente se eleva el nivel sérico de ácidos grasos.

Se ha observado que la administración de triyodotironina o tiroxina pueden alterar un cuadro compensado de diabetes o bien llevar al desencadenamiento de la misma en caninos con lesión parcial del páncreas (Lenzen S. y Bailey C. 1984). Esto fue comprobado en la misma especie por el hallazgo de moderada hiperglucemia al administrar altas dosis de hormonas tiroideas (Renauld A. y col. 1975; Pechereau D. 1985).

En cuanto a la insulinemia, se hallaron en caninos valores bajos (Renauld A. y col. 1980) o normales (Orsetti A. y col. 1970). Lenzen S. y Bailey C. (1984) sugieren una disminución tanto de la capacidad, en la secreción de insulina, como en la sensibilidad del páncreas a la glucosa. Asociado con estas alteraciones se halla también un estado de insulino-resistencia (Dimitriadis G. y col. 1985).

Estrógenos y progesterona:

En los animales de experimentación (rata, perro y mono) se ha observado, a semejanza de lo que ocurre en la mujer, que las hormonas sexuales femeninas ejercen una gran influencia en la aparición de la DM. Así por ejemplo, en estudios realizados por Foglia V. y col. (1947) sobre ratas parcialmente pancreatectomizadas aloxonizadas o tratadas con estreptozotocina, mostraron una más rápida aparición de los signos de DM en machos que en hembras. La ovariectomía produce deterioro en la condición de tolerancia a la glucosa (Houssay B. y col. 1951, 1954; Lenzen S. y Bailey C. 1984).

De estos hallazgos se desprende que el ovario ejerce una acción protectora sobre el desarrollo de la DM experimental. El reemplazo con estrógenos a animales diabéticos experimentales ovariectomizados, ha demostrado que esta hormona es la responsable de la mencionada acción protectora, tal como fue observado por Rodríguez R. (1950) en ratas machos y hembras diabéticas por pancreatectomía subtotal (Houssay B. y col. 1946, 1954; DeBodo R. y Altszuler N. 1958). El mecanismo responsable de esta acción es atribuido al mejoramiento del metabolismo hidrocarbonado, tal como se observó en ratas hembras y en monos (Lenzen S. y Bailey C. 1984). Se reconoce un efecto estimulador directo de los estrógenos sobre las células B pancreáticas (Sutter-Dub M. 1976).

Se ha observado gran variabilidad, en cuanto a la influencia de los estrógenos gonadales, sobre el metabolismo de la glucosa en diferentes especies. Esta depende de la dosis, pe-

ríodo de tratamiento, vía de administración y presencia o no de esteroides gonadales propios, especialmente en ratas (Lenzen S., y Bailey C. 1984). De este modo, si bien los estrógenos mejoran la tolerancia a la glucosa en ratas (Bailey S. y Matty A. 1971, 1972), conejos (Taloot M. y col. 1965) y en perros (DeBodo R. y Altszuler N. 1958), se ha comprobado también que se comportan como diabetógenos (Renauld A. y col. 1983).

Los mecanismos más importantes que explican el mejoramiento en la tolerancia a la glucosa por efecto estrogénico se debe a que aumentan la insulinemia y disminuyen la gluconeogénesis hepática. También se ha comprobado que aumentan el depósito de glucógeno hepático y muscular (Matute M. 1973).

Por otro lado, sus acciones diabetógenas se hallarían mediadas por la elevación del nivel de la GH y corticoides como se mencionó en párrafos anteriores y por elevación de la prolactina (Hirashi Nigasawa y col. 1973; Jones G. y Boyns A. 1976; Vician L. y col. 1979; Shupnik A. y col. 1979). La elevación de los niveles de prolactina se hallarían relacionados con la elevación de aquellos de la GH, debido a que ambas están asociadas filogenéticamente a una molécula ancestral común en el perro (Eigenmann J. y Eigenmann R. 1981).

En cuanto a la progesterona, se ha observado que su administración produce elevación de los niveles de IRI sérica en respuesta a la sobrecarga de glucosa en el hombre (Kalhoff R. y Jacobson M. 1970; Spellacy W. y col. 1974; Tuttle S. y Turkington V. 1974); en monos (Beck P. 1969); perro (Sloan J. y

col. 1975); ratas (Sutter-Dub M. y col. 1973; Ashby J. y col. 1978, 1981) y conejo (Hamburger A. y col. 1975).

El aumento de IRI sérica se produce a consecuencia de su acción antiinsulina "in vitro" (Sutter-Dub M. y col. 1981, 1982) e "in vivo" (Sutter-Dub M. y col. 1973), en este último caso, sobre los tejidos periféricos (Ashby J. y col. 1978), por disminución de la concentración de receptores de insulina (Olefsky J. y col. 1975; Olefsky J. 1976; Krauth M. y Schillinger E. 1977).

La administración prolongada de progesterona, a animales normales, produjo además de la alteración de la IRI sérica, modificaciones en la curva de tolerancia a la glucosa en un primer momento (Yang M. 1970; Schillinger E. y col. 1974; Tuttle S. y Turkington V. 1974; Eigenmann J. y Rinjberk A. 1981; Eigenmann J. 1986) y posteriormente manifestaciones propias de la DM en caninos y felinos (Sloan J. y col. 1975; Peterson M. 1987). Su administración produjo deterioro del cuadro diabético en animales (Yang M. y Kok S. 1974) y en el hombre (Tuttle S. y Turkington V. 1974). También se observó que los progestágenos producen un efecto antagónico a la insulina inyectada en forma endovenosa en ratas normales (Sutter-Dub M. y col. 1981).

Junto con la mencionada acción de insulino-resistencia, otros autores han hallado, que la administración de medroxiprogesterona produce aumento en los niveles de GH, el cual llevaría a un estado de intolerancia a los hidratos de carbono en el hombre (Gershberg H. y col. 1969) y en caninos (Rinjberk y

col. 1980; Eigenmann J. 1981 a, b; Mc Cann J. y col. 1987). En estos últimos se ha comprobado que el uso prolongado de medroxiprogesterona produce además de la elevación en el nivel de la GH sérica un cuadro de acromegalia, el que es revertido al suspender el progestágeno (Eigenmann J. 1983). Asimismo se observó en forma espontánea la coexistencia de DM con niveles elevados de GH y signos evidentes de acromegalia (Groen J. y col. 1964). La elevación de los niveles séricos de GH mediada por la acción de la progesterona puede explicarse porque inhibe las gonadotrofinas hipofisiarias y por sus propiedades en la estimulación de la secreción de corticoides. No obstante, se ha afirmado que la medroxiprogesterona es un supresor no específico (Sheldon S. y col. 1967).

Es destacable la diferencia de respuesta observada en los hombres y en los caninos que reciben progestágenos. En el primero se comprobó una mayor elevación de la prolactina que de la GH (Bohnet H. y col 1978), mientras que en los últimos la prolactina se mantuvo sin alteraciones y la GH se elevó (Concannon P y col. 1980). La medroxiprogesterona en forma de implantes en la "pars distalis" hipofisiaria de ratas, produjo hipertrofia de las células que elaboran la GH, sin modificar aquellas encargadas de producir prolactina, o bien les disminuye el tamaño (Baker B. y col. 1973). Esta relación progestágeno-GH y consiguiente alteración del metabolismo hidrocarbonado observado en perros en forma experimental, también se comprobó en forma espontánea en hembras adultas en el período de metaestro, las cuales mostraron altos niveles de progester-

rona y falta de capacidad inhibitoria de la GH por la hiperglucemia (Smith M. y McDonald L. 1974; Eigenmann J. 1981,a).

La administración de estrógenos y progesterona en combinación, produce un efecto mejorador igual o menor de tolerancia a la glucosa que el observado en sus acciones por separado. Estas hormonas suprimen la gluconeogénesis hepática, promoviendo el depósito en dicho órgano, esta acción depende de la proporción empleada de ambas (Matute M. 1973).

Sumado a los efectos mencionados producidos por estrógenos y progesterona, las hormonas sexuales juegan un importante papel en el mantenimiento funcional de las células B pancreáticas "in vivo" (Haist R. 1965). Esto se comprobó al observar que la ovariectomía en ratas producía disminución del número de células B y del contenido de insulina pancreática (Bailey M.1980), mientras que en los perros llevaba a la hipertrofia de los islotes de Langerhans y degranulación de las células B, pero sin producir la vacuolización de su citoplasma (Renauld A. y col. 1987).

Estas características son revertidas con la administración de estrógenos y progesterona en perras normales (Renauld A. y col. 1983).

Fisiopatología de la diabetes mellitus:

Metabolismo de los hidratos de carbono:

La DM se caracteriza por hiperglucemia en ayunas. Esta alteración resulta de la disminución de la captación de glucosa

por parte de los tejidos periféricos (Levine R. 1966), entre ellos los músculos (Hoft D. y col. 1953) y el tejido adiposo (Crafford D. y col. 1956), y por disminución de la glucogénesis hepática (Hoft D. 1953; Crafford D. y Renold A. 1956; Levine R. 1966; Insel P. y Lilfernuist J. 1975).

La insulina actúa sobre el tejido muscular y adiposo aumentando su permeabilidad a la glucosa. Una vez en la célula muscular, ésta es fosforilada a glucosa-6-fosfato y luego pasa a glucógeno. Si bien en estos tejidos la presencia de insulina es imprescindible para que la glucosa atraviese la membrana celular, en otros tales como hígado y sistema nervioso, su ausencia no provoca modificaciones de importancia en la permeabilidad.

La glucogenolisis hepática tiene un paso limitante de la velocidad de reacción: aquél que implica la acción de la fosforilasa, controlado por el AMP cíclico. En el hígado, éste último produce inactivación de la glucógeno-sintetasa por fosforilación. Por ello el AMP cíclico es hipergluceante en el perro (Sutherland E. y Robinson G. 1966).

En la DM se suma a la incapacidad de penetración de la glucosa en los tejidos periféricos, la del sistema enzimático que cataliza la conversión de glucosa a glucógeno, esto acentúa la hiperglucemia de los pacientes diabéticos. En ausencia de insulina existe también una elevada conversión de proteínas a glucosa. Este proceso se lleva a cabo en el hígado y deja como resultado un notable aumento en la producción de urea y catión amonio.

Metabolismo lipídico:

Los pacientes con DM se caracterizan por presentar hiperlipemia producida por hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia moderada, la que también contribuye a dicha alteración (Rogers W. 1977; Abrams J. y col. 1982; Kostner G. y Kavadi I. 1988).

En el ser humano y en los caninos con diabetes, la síntesis de lipoproteína-lipasa se halla anulada por falta de insulina. Debido a que esta enzima se encarga de la hidrólisis de los triglicéridos y es responsable del aclaramiento sérico de los mismos, su ausencia motiva el aumento de los triglicéridos séricos, quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, (VLDL), que transportan triglicéridos. También se presenta hipertrigliceridemia como resultado del aumento en las concentraciones de VLDL, que ocurre a consecuencia de la aumentada síntesis de VLDLs (triglicéridos endógenos) por el hígado (Zerbe C. 1986).

En estos pacientes las altas concentraciones de ácidos grasos contribuyen a la producción de hiperglucemia por antagonizar el efecto de la insulina sobre el metabolismo hidrocarbonado (Randle P. y col. 1963). Asimismo, los animales que presentan DM sin control insulínico, muestran un marcado aumento de cuerpos cetónicos, debido a la incapacidad del hígado y músculo para incorporar la acetil-CoA (proveniente de la oxidación de los ácidos grasos) al oxalacetato, formar citrato y entrar en el ciclo de Krebs (Iglesias Cano F. 1980).

La administración de glucosa endovenosa ocasiona principalmente una reducción del nivel de ácidos grasos séricos, pues produce una inhibición de la liberación de los mismos hacia la sangre desde los tejidos. La glucosa actúa promoviendo la reesterificación de los ácidos grasos libres séricos en el tejido adiposo, más que inhibiendo la lipólisis (Havel R. y Carlson L. 1963).

La insulina afecta el metabolismo con una finalidad esencialmente anabólica (Smith U. y Lager I. 1989), promoviendo la formación de triglicéridos en el hígado, músculo y tejido adiposo. Por otro lado, las hormonas contrarregulatorias transforman el metabolismo de una forma anabólica en una catabólica (Smith U. y Lager I. 1989).

Otra variable relativa al metabolismo lipídico que se evalúa en esta tesis es el glicerol. Esta sustancia se consideró, durante las tres últimas décadas, prácticamente inerte dentro del organismo, desempeñando un papel de estructura química básica para la unión de los ácidos grasos no esterificados. Actualmente se coincide en el importante papel metabólico como factor biomecánico, que participa en la biosíntesis de las grasas y en la gluconeogénesis. Se ha observado que el metabolismo del glicerol aporta el 10% de las calorías que consume el organismo diariamente.

Al igual que en el hombre, en el perro el tejido adiposo parece ser una fuente importante de glicerol libre (Carlson L. y Oro I. 1963), pero no la única, pues puede provenir de los músculos o de los triglicéridos plasmáticos por acción de la

lipoproteína-lipasa (Felts L. 1963). Si bien en el tejido adiposo se liberan conjuntamente el glicerol libre y los ácidos grasos no esterificados, es el glicerol quien da la magnitud de la lipólisis (no puede ser metabolizado porque el tejido adiposo carece de glicero-quinasa, enzima que lo activa), no así los ácidos grasos que pueden ser reesterificados (Shaw W. y col. 1975).

La velocidad de recambio del glicerol está relativamente poco estudiada; existen pocos estudios en el hombre y en el perro diabético (Havel R. y Carlson L. 1963; Havel R. 1965). No obstante, se sabe que la concentración sérica en el hombre y en varias especies animales (Britton H. 1962; Hagen J. 1962; Sim A. y col. 1964; Winkler B. y col. 1967) es sumamente baja, aumentando en el ayuno y en la DM.

Lípidos totales del plasma: hasta 1975 se sabía muy poco sobre la significación, distribución o composición de las lipoproteínas en enfermedades caninas, asociadas con hiperlipemia (Rogers W y col. 1975). Actualmente se sabe que en el perro, lo mismo que en otras especies de mamíferos, los lípidos totales del suero están constituidos por fosfolípidos, triglicéridos, colesterol y ésteres de colesterol (Rogers W. 1977). Dichos lípidos, componentes básicos del plasma sanguíneo, circulan en ese medio formando parte de las lipoproteínas. El transporte de triglicéridos es el más importante, ya que aporta combustibles a los tejidos. El colesterol y los fosfolípidos son componentes estructurales de las lipoproteínas (Rogers W. y col. 1975).

Los ácidos grasos son el mayor sustrato hepático para la biosíntesis de las lipoproteínas plasmáticas. Esto constituye el mecanismo de aclaramiento de ácidos grasos séricos no esterificados y su transporte a los tejidos para su uso. Si este mecanismo falla, ocurre el desarrollo de hígado graso (Rogers W. y col. 1975), como sucede en la DM (Scaramal J. y col. 1986).

En la especie canina, los lípidos principales circulan en forma de lipoproteínas, constituidas por quilomicrones, VLDL, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL), ésta última existe en dos formas HDL1 y HDL2 (Rogers W. y col. 1975). La HDL y la LDL son cuantitativamente las mayores fracciones en el perro (Rogers W. y col. 1975).

La composición lipídica de estas lipoproteínas en los caninos se distribuye de la siguiente manera: los quilomicrones son transportadores importantes de triglicéridos alimenticios hacia los tejidos, las LDL provienen del catabolismo de las VLDL y transportan triglicéridos y colesterol y las HDL son de origen hepático e intestinal (Rogers W. 1977) o se forman por catabolismo de los quilomicrones y las VLDL que pierden triglicéridos. Las HDL contienen más fosfolípidos y menos colesterol o triglicéridos que las restantes lipoproteínas séricas (Rogers W. y col. 1975). De estas últimas, la más importante es la HDL1, que transporta colesterol y sus ésteres (Rogers W. 1977).

En el perro normal, en ayunas, el nivel sérico medio de colesterol es de 110 mg por dl, de triglicéridos 70 mg por dl y de glicerol libre de 0,1 a 0,3 mg por dl, valores éstos tomados como referencia en el presente trabajo. Aparentemente no existe diferencia sexual en lo que se refiere al nivel sérico de estas variables (Rogers W. y col. 1975).

En el ser humano, así como en el perro, la DM causa un aumento de la concentración de lípidos totales en sangre, considerándola como una hiperlipemia secundaria a la deficiencia absoluta o relativa de insulina (Havel R. 1969; Koppers L. y Palumbo P. 1972; Rogers W. y col. 1975).

En el canino con DM, el nivel de triglicéridos séricos promedio fue 4240 mg por dl y el de colesterol de 236 mg por dl (Rogers W. 1977).

El desarrollo de una intensa hiperlipoproteinemia en perros diabéticos, similar a la hiperlipemia del humano diabético, sugiere un modelo para el estudio comparativo de este fenómeno (Rogers W. y col. 1975).

Existe una influencia bastante importante del sexo y de las hormonas sexuales sobre los lípidos totales séricos o de algunos de sus componentes totales, transportados como lipoproteínas. Las investigaciones relacionadas con el tema se han realizado por las modificaciones de los lípidos totales séricos, que surgen en la mujer durante la supresión fisiológica de la actividad ovárica por menopausia o durante la contracepción oral (Demaker P. y col. 1982; Ahumada Hermer H. y col. 1985). No se han encontrado estudios sobre el tema efectuados

en caninos u otras especies de animales.

La administración de estrógenos influencia los niveles de lípidos y lipoproteínas plasmáticas (Krauss R. y col. 1977; Schaefer E. y col. 1983).

Triglicéridos séricos: todos los tejidos, excepto el nervioso, pueden acumular grasa neutra, la que les sirve como sustrato para la combustión inmediata y como material de reserva (Ganong W. 1979; Best J. 1986). Los triglicéridos depositados se encuentran en equilibrio dinámico con ácidos grasos no esterificados (AGNE), lo que es particularmente importante en el tejido adiposo. Este equilibrio se desplaza en el sentido de la producción de AGNE, por la acción de la lipasa sensible a hormonas, la que siendo una enzima única hidroliza triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y ésteres de colesterol. En el tejido adiposo, su acción se complementa con la de la enzima monoglicérido-hidrolasa (Best J. 1986). Las hormonas que activan esta lipasa son: las catecolaminas (Ganong W. 1979) y el glucagon (Best J. 1986). En cambio, el equilibrio triglicéridos-AGNE se desplaza en el sentido de generar triglicéridos por acción de la glucosa. La insulina actúa en igual sentido, no sólo favoreciendo la disponibilidad endocelular de glucosa, sino también por inhibición de la lipólisis, debido a la inactivación de la lipasa sensible a hormonas (Best J. 1986).

La capacidad hepática para producir triglicéridos es inhibida por la acción de la VLDL, ricos en ellos. Este sería un proceso fisiológico que actúa no solo en sujetos normales,

sino también diabéticos (Murthy V. y Shipp J. 1977, 1979, 1981). El hígado sintetiza VLDL activamente, vehiculizando así los triglicéridos hacia la sangre. Esta síntesis aumenta con el suministro de carbohidratos y está bajo control hormonal (Ganda O. y col. 1985).

En el perro, la mayoría de los triglicéridos se transportan como quilomicrones, VLDL y especialmente LDL (Rogers W. y col. 1977). Los quilomicrones, ricos en triglicéridos pueden en parte perderlos, por acción de la lipoproteína-lipasa circulante, generada en el endotelio capilar de los tejidos. De esta forma, se producen AGNE partiendo de los triglicéridos, los cuales unidos a la albúmina se dirigen al tejido adiposo y al hígado para su reesterificación y depósito. El resto del quilomicroión se dirige al hígado para su ulterior metabolismo (Ganong W. 1979). En cuanto a las VLDL, éstas suelen perder parte de sus triglicéridos de igual modo que los quilomicrones, quedando un poco empobrecidas en proteínas y enriquecidas en colesterol, se generan así lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) (Ganda O. y col. 1985). La IDL se transforma en LDL en sangre, la que es captada por los tejidos y sus lípidos utilizados (Best J. 1986).

Los triglicéridos de la VLDL o quilomicrones son tomados por los tejidos por acción de la lipoproteína-lipasa, la que genera AGNE, glicerol y monoglicéridos. Estos últimos sufren a su vez una isomerización parcial originando glicerol y AGNE (Best J. 1986). Los AGNE circulantes son tomados ávidamente por el hígado donde siguen los siguientes caminos metabólicos:

(1) oxidación total a anhídrido carbónico y agua; (2) oxidación parcial a cuerpos cetónicos, los cuales serán llevados a los tejidos periféricos para su utilización; (3) esterificación y transformación en triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol, que son retenidos en el hígado o salen a la circulación sanguínea con las VLDL para ser metabolizados, como se vió anteriormente en el tejido adiposo.

Cuando la movilización en los tejidos (especialmente el adiposo) es rápida y excesiva, sobrepasando la capacidad metabólica hepática, tal como se presenta en la DM, ocurre: (1) depósito de gran cantidad de triglicéridos en el hígado, con posibilidad de producir infiltración grasa del órgano, (2) aumento en la velocidad de formación de cuerpos cetónicos, que lleva a la cetoacidosis, (3) producción de triglicéridos en hígado en gran cantidad que, transportados como VLDL, salen del mismo y causan hipertrigliceridemia, (4) inhibición en la captación de glucosa por los tejidos (Efecto Randle) y (5) desacople de la fosforilación oxidativa mitocondrial aumentando el consumo de oxígeno (Best J. 1986).

El metabolismo de los triglicéridos y su transporte en sangre está regulado no sólo por la insulina a través de la lipoproteína-lipasa, a la cual estimula, sino también por las hormonas antiinsulínicas. El glucagon, en dosis farmacológicas, es hipertrigliceridemiante en sujetos normales (Ganda O. y col. 1985). La GH estimula la síntesis y secreción de triglicéridos en el hígado de la rata (Ganda O. y col. 1985). Las catecolaminas aumentan la lipólisis, tal es así que una perfu-

sión continua y prolongada de norepinefrina provoca hígado graso (Steinerg D. 1966).

La anomalía lipídica más común en la DM espontánea, tanto en la especie canina (Rogers W. y col. 1975; Rogers W. 1977) como en la humana (Albrink M. y col. 1963; Bagdade J. y col. 1968; Nikkila E. y Kekki M. 1973; Albrink M. 1974; Sosenko J. y col. 1980; Ganda O. y col. 1985) es la hipertrigliceridemia. En el perro, ésta es intensa y se acompaña o no de hipercolesterolemia moderada (Rogers W. y col. 1975), poniéndose en evidencia por el enturbiamiento del suero sanguíneo o por la presencia de una capa cremosa al observarlo en el tubo (quilomicrones), luego de su centrifugación. Esta particularidad desaparece con el tratamiento insulínico del paciente en cuestión, debido a que normaliza la concentración de triglicéridos y glicerol libre (Rogers W. y col. 1975).

La hipertrigliceridemia de los pacientes diabéticos puede ser debida a : (1) aumento en la producción exógena de triglicéridos y lipoproteínas que los transportan, en mamíferos de diversas especies (Woodside W. y Heinberg M. 1972; Kaufmann R. y col. 1975; Steiner G. y Murase T. 1975; Greenfield M. y col. 1980) incluido el perro (Balasse E. y col. 1972; Steiner G. y col. 1975), (2) remoción defectuosa de triglicéridos circulantes en varios mamíferos (Lewis B. y col. 1972; Brunzell J. y col. 1979; Dunn F. y col. 1980); extendiéndose dicha remoción, también a los quilomicrones (Abrams J. y col. 1982) y (3) ambos factores en grados variables.

En los tres casos, la presencia o no de insulina juega un papel crítico, ya que esta hormona es lipogénica y antilipolítica en el tejido adiposo así como también en otros y es también estimulante de la lipoproteína-lipasa, enzima limitante de la velocidad de aclaramiento plasmático de quilomicrones y triglicéridos transportados como lipoproteínas.

Dentro de lo que se sabe, la influencia del sexo y de las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico sobre el metabolismo y transporte en sangre de los triglicéridos, en el curso de pruebas de hiperglucemia provocada y de hipoglucemia insulínica, no han sido estudiadas en los caninos normales y menos aún en los diabéticos. No obstante, ciertos aspectos de esa influencia se han investigado en otras especies. Algunos resultados, se consignan a continuación porque servirán en la discusión de esta Tesis. En la especie humana, se ha comprobado que existe una diferencia sexual en el desarrollo de hipertrigliceridemia (Nikkila E. y Kekki M. 1971; Olefsky J. y col. 1974). Asimismo se demostró que el metabolismo de los AGNE se halla influenciado por el sexo (Elam M. y col. 1988); la velocidad de esterificación, para generar triglicéridos, diglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol, es mayor en las mujeres que en los hombres. En las primeras, mayores cantidades de AGNE generan triglicéridos (Soler-Arcilaga V. y Heimberg M. 1976) y mayores cantidades de éstos son volcados al torrente sanguíneo (Patch W. y col. 1980).

En la rata macho, la castración aumenta la producción hepática-

tica de triglicéridos (Elam M. y col. 1986); por eso, la diferencia sexual en dicha producción (que requiere la presencia de la hipófisis) se atribuyó a una acción inhibitoria de los andrógenos (Gustafson J. y Stenberg A. 1976). También se culpó por eso al menor nivel de GH circulante existente en los machos (Edem S. 1970).

La relación del ciclo menstrual con la concentración de lípidos en la mujer está siendo estudiada desde hace más de cuatro décadas (Oliver M. y Boyd C. 1953; Barclay M. y col. 1965), hallándose al principio resultados inconsistentes y contradictorios (De Mendoza S. y col. 1979). Demaker P. y col. (1982) demostraron que el nivel de triglicéridos totales séricos se mantiene constante durante las fases estrogénica y luteal. De Mendoza S. y col. (1979) hallaron que los triglicéridos totales plasmáticos son más elevados en la fase estrogénica que en la luteal. Según Woods M. y col. (1987), la concentración de triglicéridos plasmáticos totales o transportados como VLDL, aumentan en la fase ovulatoria, siendo semejantes en la fase estrogénica y luteal. Los niveles de otras lipoproteínas plasmáticas (LDL y HDL) no varían durante el ciclo. El aumento de triglicéridos y VLDL, que se observa en la fase ovulatoria se supone debido a que en ese momento se alcanzan niveles máximos de estrógenos circulantes. Estos pueden afectar las lipoproteínas ricas en triglicéridos de corta vida media en circulación (Woods M. y col. 1987). Según estos últimos, los primeros trabajos sobre el tema (Oliver M. y Boyd C. 1953; Barclay M. y col. 1965) no resultan concluyen-

tes, pues no respetan el control dietético. Otros investigadores hallaron que el nivel de triglicéridos en el suero total o sus fracciones lipoproteicas (LDH y HDL) no varía durante el ciclo menstrual; la concentración de triglicéridos como la fracción VLDL sí lo hace, alcanzando un nivel máximo durante la fase luteal inicial (días 15 al 19 del ciclo), lo que implica una asociación con el nivel de estradiol circulante medido en ese momento y llegando a un mínimo durante la fase luteal tardía (días 25 al 28 del ciclo) relacionado con el nivel de progesterona medido simultáneamente. Asimismo, existe alguna conexión sexo-diabetes en la regulación de la triglicéridemia en la especie humana.

Por la acción de la diabetes, el nivel de triglicéridos totales aumenta tanto en las mujeres como en los varones, pero el mayor aumento se presenta en las primeras (Walden C. y col. 1984).

Colesterol sérico: el metabolismo y transporte del colesterol en el organismo ha sido bastante estudiado en diversas especies de animales y especialmente en el hombre.

Se acepta hoy en día que el colesterol en el organismo tiene dos orígenes: exógeno y endógeno. El colesterol exógeno se absorbe junto con los triglicéridos en el intestino. El colesterol endógeno se sintetiza en casi todos los tejidos, especialmente en el hepático; allí se generan las HDL que lo contienen, luego pasan a circulación y desde ésta actúan en la remoción del colesterol tisular. En el hígado se generan también las VLDL, que contienen triglicéridos y gran proporción

de colesterol. Por la acción de la lipoproteína-lipasa ellos pierden parte de sus triglicéridos constitutivos generando LDL que poseen gran proporción del colesterol que es transportado en el plasma.

En las células de los tejidos, no sólo se sintetiza colesterol, sino que reciben el transportado por las LDL. Cuando en el interior de las células se acumula un exceso de éste, sale de las mismas y se une a las HDL que lo llevarán al hígado. Este órgano contribuye a eliminar colesterol del organismo, dejándolo escapar por bilis una vez transformado en ácidos biliares (Ganong W. 1979; Marble A. y col. 1985). En el perro las fracciones lipoproteicas que transportan la mayor parte del colesterol plasmático son la LDL y HDL₁ (Rogers W. y col. 1975).

La DM no tratada en caninos, ocasiona un aumento del nivel de colesterol de leve a moderado, así como de las fracciones lipoproteicas plasmáticas que lo transportan (Rogers W. 1977). No se ha encontrado más información bibliográfica al respecto.

En los seres humanos diabéticos el colesterol sérico tiende a elevarse, no obstante la velocidad de biosíntesis del mismo está deprimida en esas condiciones (Frier B. y Saudek C. 1979) y se normaliza con la insulino-terapia (Frier B. y Saudek C. 1979).

No se han encontrado, en la bibliografía, estudios sobre la influencia del sexo o de las hormonas sexuales en la regulación de la colesterolemia en caninos. En cambio existen muchas publicaciones sobre el tema en otras especies, particu-

larmente la humana. La síntesis "in vivo" de colesterol es muy activa en la rata macho, lo que se aprecia en los tejidos extrapancreáticos y extraintestinales, especialmente en la piel (Feingold K. y col. 1983). Dicha particularidad es debida a la acción de las hormonas gonadales, porque la administración de testosterona a ratas hembra castradas, les aumenta la síntesis de colesterol, mientras que el tratamiento con estrógenos a ratas macho castradas les reduce la misma (Feingold K. y col. 1983).

También existe una diferencia sexual en cuanto al nivel de HDL-colesterol circulante en sangre. En la mujer, cualquiera sea su edad, ese nivel es mayor que en el hombre (Anderson D. y col. 1978), debido a una mayor concentración de estrógenos circulantes en ese medio (Nichol A. 1967; Anderson D. y col. 1978; Heiss G. y col. 1980).

Los primeros estudios sobre la posible influencia del ciclo menstrual espontáneo en la mujer, fueron conflictivos (Oliver M. y Boyd C. 1953; Barclay M. y col. 1965; De Mendoza S. y col. 1979; Kim H.; Kalhoff R. 1979) y arrojaron resultados contradictorios (Demacker P. y col. 1982; Woods M. y col. 1987). Woods M. y col. (1987) consideran también que es imposible la ocurrencia de variaciones del nivel de HDL-colesterol durante la fase ovulatoria, porque esa porción plasmática tiene una prolongada vida media en circulación, no llegando a ser afectada por el corto pico de estrógenos que se produce en esa fase.

En la especie canina no existen, dentro de la bibliografía consultada, estudios sobre interacción diabetes-condición sexual, en la regulación del metabolismo y/o transporte del colesterol del plasma. Existe una diferencia sexual, en lo que se refiere a alteraciones de los lípidos transportados por la corriente sanguínea, debidos a la diabetes. Las mujeres diabéticas presentan una mayor disminución en las HDL plasmática frente a sus controles normales, que la de los hombres diabéticos respecto, a sus controles no diabéticos (Gordon T. y col. 1977; Ganda O. y col. 1979; Beach K. y col. 1979).

Metabolismo proteico:

En los mamíferos los aminoácidos que penetran al organismo pueden ser empleados en la biosíntesis de proteínas y si son glucogénicos pueden desaminarse y generar glucosa en ciertos tejidos (Rico A. y col. 1985). La ausencia de insulina lleva al paciente diabético a un estado catabólico, que se demuestra por aumento en la excreción de nitrógeno y de la concentración sanguínea de aminoácidos. En estos pacientes predomina la degradación sobre la síntesis. Los sitios principales donde se llevan a cabo estos mecanismos son el músculo esquelético y el hígado. En el primero de ellos, la falta de insulina produce disminución en el número de ribosomas y su capacidad de síntesis de proteínas específicas para ser eliminadas hacia la sangre, muy especialmente de la albúmina, afectándose las proteínas estructurales (Jefferson L. 1980). Se destaca que este tema no fue tratado en extenso pues no integra esta investigación.

MATERIALES Y METODOS:

Generalidades:

En este trabajo se emplearon caninos hembras, con DM espontánea y normales (no diabéticas). En ambos grupos se evaluaron las siguientes variables: glucemia, insulinemia, lípidos totales séricos, colesterol sérico, triglicéridos séricos, ácidos grasos no esterificados séricos y glicerol sérico, durante los diferentes estadios del ciclo sexual (anestro, fase estrogénica y luteal).

Cabe aclarar, que se ha agrupado en la fase estrogénica, conjuntamente al proestro y estro del ciclo sexual, pues existen en ellas un predominio de estrógenos circulantes. En el comienzo de esta fase los estrógenos ascienden hasta que la hormona luteinizante (LH) hace su pico máximo o sea en el momento de la primera aceptación del macho (estro) y desciende a valores basales (2-10 pg/ml), 5-8 días después (Concanonn P. y col. 1975). La fase luteal (diestro), en la cual predomina la progesterona comprende el período que va desde el primer día en que la hembra rechaza al macho (final del estro) y se continúa durante el tiempo de secreción de la progesterona por el cuerpo lúteo. Esta hormona comienza su ascenso, ya desde los últimos días del estro, hasta el día 15 al 21 del diestro. Una vez alcanzado su nivel máximo se mantiene en forma de meseta 1-2 semanas, para caer en las siguientes 5-6 semanas gradualmente (Smith M. y Mc Donald L. 1974). En la fase de anestro se observa un estado de quietud o descanso del aparato

reproductor, no existe en este período, predominio de estrógenos ni de progesterona.

La identificación de los mencionados estadios se efectuó a través de la citología vaginal exfoliativa.

Materiales utilizados:

Se formaron dos grupos:

- 1) Grupo de animales enfermos, integrado por cinco caninos de diferentes razas y un peso corporal aproximado de 15 kilogramos, que presentaban DM espontánea.

Estos pacientes fueron seleccionados en los consultorios externos del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

- 2) Grupo testigo normal, integrado por cinco caninos adultos hembra, raza indefinida y un peso corporal aproximado de 15 kilogramos. Estos animales fueron mantenidos en caniles de 4,5 metros cuadrados de superficie, con agua "ad libitum" y alimentados con productos balanceados para caninos, suministrados una vez al día. Cabe aclarar que dichos caniles presentaban una parte techada y una libre, esto permitía un contacto directo de los animales con el medio ambiente. Este hecho es de importancia para el desencadenamiento en forma espontánea del ciclo ovulatorio.

Ambos grupos de animales fueron examinados clínicamente se les realizaron estudios rutinarios de laboratorio (hemograma, bioquímica, etc) y también fueron desparasitados. Esto permitió descartar aquellos caninos que presentaban afecciones com-

plicantes, las cuales interferirían con la experiencia.

La determinación de las diferentes fases del ciclo sexual se realizó por medio del estudio de la citología vaginal exfoliativa (ver apartado correspondiente).

Con respecto a la alimentación se optó por indicar alimento balanceado seco a todos los animales, debido a las diferencias encontradas en la curva de tolerancia a la glucosa y de sensibilidad a la insulina cuando se les daba alimentación variada (Holste L. y col. 1989).

Es importante destacar además, que la conformación del grupo de animales enfermos resultó de la selección de un gran número de pacientes, descartándose aquellos que se presentaban en la primer consulta con un franco deterioro de su condición física, ya sea por la alteración de su medio interno o bien por un mayor grado de compromiso general, tal el caso de los cuadros de cetoacidosis. Así pudo comprobarse la presencia de diferentes afecciones complicantes tales como: lipidosis hepática, insuficiencia renal, cataratas, infecciones de variada localización, etc, a semejanza de lo descrito en los trabajos sobre el tema (Ricketts H. y col. 1953, 1959; Dixon J. 1962; Berkow J. y Ricketts R. 1965; Cotton R. y col. 1971; Pages J. y Trouillet J. 1985; Scaramal y col. 1986) que en muchos de ellos comprometían su vida (Wood P. 1981).

La presencia o no de afecciones complicantes fue descartada mediante un prolijo examen clínico y pruebas de laboratorio (hemograma completo, uremia, creatininemia, hepatograma completo, urocultivo, urianálisis, calemia, natremia, reserva al-

calina, etc), pues éstas en su mayoría llevan a severos cuadros cetoacidóticos secundarios a insulino-resistencia (Barret M. y col. 1984; Wolfsheimer K. 1989).

Los pacientes sin afecciones complicantes serias, previa estabilización de su cuadro clínico fueron seleccionados para conformar los grupos de estudio. También se tuvo en cuenta de no utilizar animales con un tratamiento previo y prolongado con insulina, para evitar de este modo aquellos que posiblemente presentaran anticuerpos contra dicha hormona.

El reemplazo hormonal se realizó con insulina neutra protamina de Hagerdorn (NPH), altamente purificada, a una concentración de 40 UI por mililitro, administrada en dosis de 1 UI por kilogramo de peso corporal, vía subcutánea cada 24 horas y ajuste de la dosis diaria mediante control de la glucosuria (Ling G. y col. 1977; Feldman E. 1980; Church D. 1983; Chastain C. 1984; Pechereau D. 1985; Nelson R. y Feldman E. 1986). Asimismo, se indicó conjuntamente una dieta reducida en lípidos, con una base proteica normal e hidratos de carbono de lenta digestión (Bantle J. 1963; Paragon B. y Grandfean D. 1985; Feldman E. y Nelson R. 1987; Nelson R. 1989). Esta se distribuyó una tercera parte por la mañana después de administrar la insulina y los restantes dos terceras partes 8 horas posteriores (o sea 1 a 2 horas antes del mayor efecto hipoglucemiante de la insulina (NPH) (Church D. 1981).

Los animales con diabetes cetoacidótica se presentaron a consulta deshidratados, débiles, deprimidos y con respiración acidótica, no fue raro también, comprobar la presencia de vó-

mitos y diarrea. Estos pacientes mostraron una glucosuria y cetonuria intensa (Felig P. 1974; Cano Iglesias F. 1980; Morgan R. 1982; Hoening M. 1986).

Es importante destacar que algunos de los animales sólo mostraban cetonuria, en ausencia de signos clínicos propios de la acidosis o sea presentaban un cuadro de cetosis, que por ser incipiente, no había llegado a alterar el equilibrio ácido-base. Es por ello que estos pacientes no requirieron un tratamiento insulínico e hidroelectrolítico prolongado para su compensación, pudiendo recibir insulina neutra protamina de Hagerdorn (NPH) casi desde un primer momento.

A los que presentaron un compromiso mayor, se les realizó tratamiento de acuerdo con el siguiente esquema:

- (a) Administración de adecuada cantidad de insulina para normalizar el metabolismo intermedio.
- (b) Restauración de las pérdidas de agua y electrolitos.
- (c) Corrección de la acidosis metabólica.
- (d) Identificación de los factores precipitantes de esta afección.

En referencia al punto (a) los pacientes recibieron insulina corriente neutra en dosis de 1 a 2 UI por kilogramo de peso corporal cada 4 horas, una tercera parte endovenoso y las restantes intramuscular, también se empleó en otros animales el método de las minidosas de insulina (0,1 UI por Kg de peso corporal, intramuscular, cada hora, hasta la corrección del cuadro de cetoacidosis), (Feldman E. 1980; Chastain C. 1981; Hoening M. 1986; Feldman E. 1987). A todos los pacientes se

les colocó una sonda uretral en forma permanente durante el tratamiento. Esto permitió vaciar la vejiga cada 30 minutos con el fin de comprobar la diuresis, glucosuria y cetonuria presente.

Debido a que estos pacientes generalmente se presentaban con una deshidratación de moderada a severa a consecuencia de la poliuria y al arrastre secundario de agua y sodio se indicó inicialmente la administración de una solución fisiológica de cloruro de sodio. En aquellos, en que se comprobó un aumento notable de la osmolaridad sérica se prefirió la administración de la solución de cloruro de sodio a la mitad de la concentración fisiológica, durante la primer hora de tratamiento. Posteriormente se pasó a la concentración fisiológica, lo cual fue útil para mantener una vía permeable.

La corrección del equilibrio ácido-base se realizó de acuerdo con los hallazgos obtenidos en los estudios de laboratorio (Pages J. y Trouillet J. 1985; Feldman E. y Nelson R. 1987).

Una vez corregido el cuadro de cetoacidosis, se cambió a la administración de insulina neutra protamina de Hagerdorn (NPH), la cual fue administrada como se indicó en párrafos anteriores.

HORMONAS USADAS:

Las hormonas usadas fueron las endógenas de cada animal, debido a que se estudiaron las diferentes fases del ciclo sexual.

La única hormona exógena que se utilizó fue aquella que se les inyectó a los animales durante la prueba de tolerancia a la insulina. El preparado fue insulina corriente neutra purificada por cromatografía, de origen bovino y en una concentración de 40 UI/ml, elaborada por el laboratorio Lilly, de Argentina.

La muestra de insulina usada como testigo para la determinación de insulina sérica inmunorreactiva, fue la de origen porcino o bovino de los preparados radioinmunológicos para esa determinación, de laboratorio Hoescht o bien de la Comisión Nacional de Energía Atómica (C.N.E.A.).

MÉTODOS:

Prueba de tolerancia a la glucosa por vía endovenosa:

Esta prueba se basa en provocar una hiperglucemia, por medio de la administración de una determinada cantidad de glucosa por vía endovenosa y observar la respuesta glucémica del organismo frente a ella (Torben G. y Anderson N. 1973).

Para su realización en un animal en tratamiento, debe suspenderse la administración de insulina NPH, 3 días antes, continuándose con insulina cristalina cada 8 horas hasta 24 horas previas a la prueba. Esta precaución previene interferencias con la insulina remanente del tratamiento.

Técnica: Se realizó en perros despiertos, evitando las posibles causas de estrés ya que la descarga de adrenalina interfiere con la correcta evaluación de la prueba. Pasos a seguir:

- (1) Determinar la glucemia en ayunas (el ayuno no debe ser inferior a 16 horas.
- (2) Administrar en vena cefálica del antebrazo 1 gramo de glucosa al 50% por kilogramo de peso corporal, en forma lenta durante 2 a 3 minutos.
- (3) Extraer las muestras sucesivas de sangre de la vena yugular en los siguientes tiempos: 5, 15, 25, 45, 60 minutos respecto a la sobrecarga de glucosa.

Las muestras se conservaron incoaguladas con fluoruro de sodio y se diluyeron en agua destilada, en una proporción de 0,2 ml de sangre y 3,8 ml de agua.

Todas las muestras se procesaron mediante Autoanalizador Technicon de 1 canal, con la modificación de la técnica original por Renault A. y col. (1975).

Los resultados obtenidos se volcaron en coordenadas semi-logarítmicas (logaritmo simple), donde el tiempo de media vida de glucosa en circulación ($t_{1/2}$), es aquel requerido para que la concentración de glucosa en sangre caiga a la mitad. Este se calculó entre los 15 a 45 minutos post-infusión.

La tasa de desaparición de la glucosa o valor K de la glucosa o simplemente K glucosa, puede ser calculada por la siguiente fórmula:

$$K \text{ \%/minutos} = \frac{0,693}{t_{1/2}} \times 100$$

El $t_{1/2}$ normal es de 25 ± 8 minutos; valor K es $2,75 \pm 0,91$ % por minuto. (Kaneko J. y col. 1977).

Fundamento: en las perras normales, el pico máximo de glucemia se obtiene inmediatamente post-infusión y retorna a su nivel basal entre los 60 y 90 minutos.

En los pacientes diabéticos, el descenso de la glucemia a los valores basales se ve prolongado, permaneciendo al cabo de los 90 minutos superior a éste.

Con respecto al $t_{1/2}$ en estos animales, aumentó y el valor K disminuyó (este criterio también fué utilizado en el caso de la prueba de tolerancia a la glucosa por vía endovenosa).

Prueba de sensibilidad a la insulina:

Esta prueba se recomienda en el comienzo del tratamiento de los pacientes diabéticos y permite diferenciar, a aquellos insulino-sensibles de los insulino-resistentes a la acción de esta hormona (Pages J. 1983)

En el caso de ser requerido, una vez que el tratamiento insulínico haya comenzado, la hormona (insulina neutra protamina de Hagerdorn) debe suspenderse 3 días antes de su realización y continuarse con insulina corriente neutra hasta 24 horas antes; esta precaución evita la interferencia con la insulina remanente del tratamiento.

Técnica: Se determina la glucemia en ayunas (no menor de 16 horas), seguida de la administración endovenosa de 0,25 UI/kg de peso corporal, de insulina corriente neutra.

Las glucemias sucesivas se evalúan en los siguientes tiempos de extracción: 15, 20, 25, 35 y 40 minutos (el período

que va desde la sobrecarga de insulina y la primera toma de sangre, se considera necesario para la mezcla y distribución de la hormona inyectada).

Las muestras de sangre se conservaron incoagulables con fluoruro de sodio y se diluyeron en agua destilada, en una proporción de 0,2 ml de sangre y 3,8 ml de agua destilada. Todas las muestras fueron procesadas mediante Autoanalizador Technicon como se especifica en la prueba anterior.

Fundamento: En los perros normales la hipoglucemia se observa en los primeros 15 a 30 minutos, que siguen a la aplicación, con un descenso del orden de los 50% o hasta el 70% a 80% en alguno de ellos.

En los pacientes diabéticos insulino-sensibles, el descenso de la glucemia no es tan pronunciado y el retorno a los valores normales es más lento.

Por el contrario en los pacientes diabéticos insulino-resistentes, la acción hipoglucemiante es insignificante.

Determinación de la glucemia: (Andrade L. y col. 1973)

Las muestras de sangre a valorar fueron extraídas de los animales en estudio durante la prueba de tolerancia a la glucosa endovenosa y la prueba de sensibilidad a la insulina. Inmediatamente después, se le agregó fluoruro de sodio en polvo, aproximadamente 3 mg/ml, como anticoagulante y antiglucofítico, diluyéndoselas al 5% en agua destilada. De esta forma pudieron ser conservadas a -30°C hasta 1 semana, antes de su determinación.

La glucemia se valoró con un Autoanalizador Technicon de un canal, provisto del módulo II para la toma de muestra.

Determinación de la insulinemia:

Fundamento: esta prueba radioinmunológica para la determinación de la insulina sérica se basa en la competición entre un antígeno y su forma radioisotópicamente marcada (trazador) por los sitios de unión de un anticuerpo altamente específico (ver figura Nro 3). Su determinación se llevó a cabo utilizando el equipo comercializado por la Comisión Nacional de Energía Atómica (C.N.E.A.).

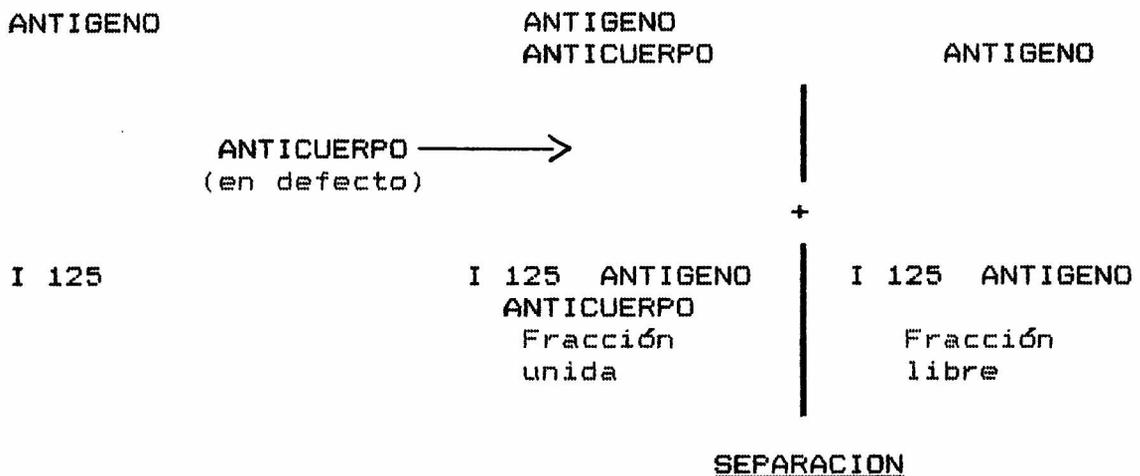


FIGURA Nro 3- Esquema de la reacción inmunológica en que se basa la determinación de la insulinemia.

Determinación de la trigliceridemia:

Para la determinación de los triglicéridos séricos se empleó el equipo comercial del Laboratorio Wiener.

Determinación de la glicerolemia:

Para la determinación de esta variable se empleó la técnica adaptada por Renauld A. y Gómez N. (1990).

Determinación de la colesterolemia:

En la determinación de esta variable se empleó el equipo comercial del Laboratorio Wiener (método enzimático).

Determinación de la concentración de ácidos grasos libres séricos:

Para la determinación de esta variable se empleó la técnica de Itaya K. y Ui M. (1965).

Determinación de la lipemia:

Para la determinación de esta variable se empleó el equipo comercial del Laboratorio Wiener.

Citología vaginal exfoliativa en caninos:

Esta permite determinar con aproximación los cambios celulares que ocurren en la mucosa vaginal de los caninos, debido a la acción predominante de cada una de las hormonas sexuales. Para ello se siguieron las técnicas de Olson P. y col. (1984).

ANIMALES USADOS:

Los grupos 1 y 2 estuvieron integrados por cinco caninos cada uno.

Se determinó en ellos la fase del ciclo estral en que se hallaban (fase estrogénica, luteal y anestro), por medio del estudio de la citología vaginal.

En cada una de ellas y en cada animal se efectuaron las siguientes pruebas:

- (a) Prueba de tolerancia a la glucosa endovenosa.
- (b) Prueba de sensibilidad a la insulina.

A su vez en cada una de estas pruebas se tomaron muestras de sangre en los tiempos establecidos (ver descripción de las mismas), efectuandose con ellas las siguientes determinaciones:

- 1.- Insulinemia.
- 2.- Glucemia.
- 3.- Acidos grasos no esterificados séricos.
- 4.- Trigliceridemia.
- 5.- Glicerolemia.

Además con las muestras obtenidas en tiempo cero (basales) se determinaron lípidos totales séricos y colesterolemia. Se calculó el espacio de distribución de la insulina y la media vida de la misma para ambos grupos y en las tres fases del ciclo sexual.

ESTUDIO ESTADISTICO: (Lison L. 1976; Bancroft H. 1979)

Este consistió en análisis de variancia de tres entradas (fase, grupo, tiempo), con interacciones dobles y triples, por computación (Steel R. y Torrie J. 1985; Winer B. 1971).

En la prueba de tolerancia a la glucosa se calculó la siguiente recta de regresión: logaritmo natural (ln) glucemia = $A - K \times t$. Esta se calculó en cada perra refiriéndose luego a cada grupo en cada fase.

Durante la prueba de insulina se calculó la siguiente ecuación: ln insulina sérica inmunorreactiva = $A' - K' \times t$ donde A' es una constante y K' es la pendiente de la recta respectiva.

Sobre la base de estas ecuaciones se calculó en cada perro el espacio de distribución de la glucosa y de la insulina y el tiempo de media vida ($t_{1/2}$: tiempo de desaparición del 50 % de la insulina de la circulación sanguínea), hallándose los valores de los grupos en cada fase.

El espacio de distribución de glucosa e insulina expresan la dilución de ambas sustancias en el cuerpo, considerando al animal como 100 % de volumen volumen líquido.

RESULTADOS:

GLUCEMIA:

Los resultados de la medición de los niveles de glucemia, hallados durante la prueba de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y fase luteal de su ciclo sexual, se muestran en el Gráfico I y en la Tabla I.

En la Tabla II se muestran los resultados del análisis de variancia (ANOVA), de los logaritmos de dichas observaciones. Hay un efecto significativo del tiempo, grupo y fase ($P < 0,01$) ejercido sobre esta variable. Su interacción Grupo x Fase es significativa ($P < 0,05$), lo cual quiere decir que el efecto de la fase es distinta en los grupos de perras normales y diabéticas, o sea que se comportan de diferente modo. La interacción Grupo x Tiempo es significativa ($P < 0,01$), lo cual indica que a lo largo del tiempo, las perras normales y diabéticas se comportan de diferente modo. La interacción Fase x Tiempo es no significativa ($P > 0,05$), lo cual quiere decir que las curvas de glucemia en función del tiempo para las diferentes fases son paralelas; no son iguales porque existe un efecto significativo de la fase ($P < 0,01$).

Se analizó la acción del tiempo sobre la glucemia en perras de los dos grupos separadamente, utilizando la prueba de Dunnet (Winer B. 1971).

Se demostró que: 1) en las perras normales, las glucemias medias hasta los 45 minutos son significativamente mayores que la basal ($P < 0,01$), no habiendo diferencia significativa ($P > 0,05$) entre la glucemia media a los 60 minutos y la basal; 2) en las perras diabéticas, las glucemias medias en todos los tiempos (5 a 60 min.) son significativamente mayores que la basal ($P < 0,01$). Analizando la influencia de la fase en cada grupo de perras se halló que: 1) en las normales la curva de glucemia en anestro difiere de la observada en la fase estrogénica y en la luteal ($P < 0,01$), los cuales difieren entre sí y 2) en las diabéticas espontáneas, la fase luteal difiere de la fase estrogénica ($P < 0,05$), no encontrándose otras diferencias significativas.

En el Gráfico II se encuentran los resultados medios del cálculo del espacio de distribución de glucosa, en las perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y fase luteal de su ciclo estral. El análisis estadístico correspondiente, previa transformación logarítmica, figura en la Tabla III. Se ve que, el espacio de distribución de glucosa en las perras normales y diabéticas difiere ($P < 0,01$), existiendo una diferencia significativa ($P < 0,01$) entre las fases. La interacción Grupo-Fase (G x F) fue significativa ($P < 0,01$). Por lo tanto se estudió el espacio de distribución de glucosa en normales y diabéticas por separado y en cada fase. En las perras normales se halló que el espacio de distribución de la glucosa observado en anestro difiere

luteal, que a su vez no difieren entre sí ($P > 0,05$). Según se indica el Gráfico II, en momentos del ciclo estral, este espacio está agrandado respecto de lo que se observa en el anestro. En el grupo de perras diabéticas, no se hallaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los espacios de distribución de la glucosa de las perras en anestro y de las perras ciclantes (ambas fases). Sin embargo, se llegó a detectar una diferencia en el espacio de distribución de glucosa, en las perras en fase estrogénica y en las que estaban en fase luteal, pequeña y en el borde de la significación estadística ($P < 0,05$).

GRAFICO I- Niveles de glucemia durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro fase estrogénica y luteal del ciclo sexual.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. La glucemia se midió en vena periférica con Autoanализador Technicon. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

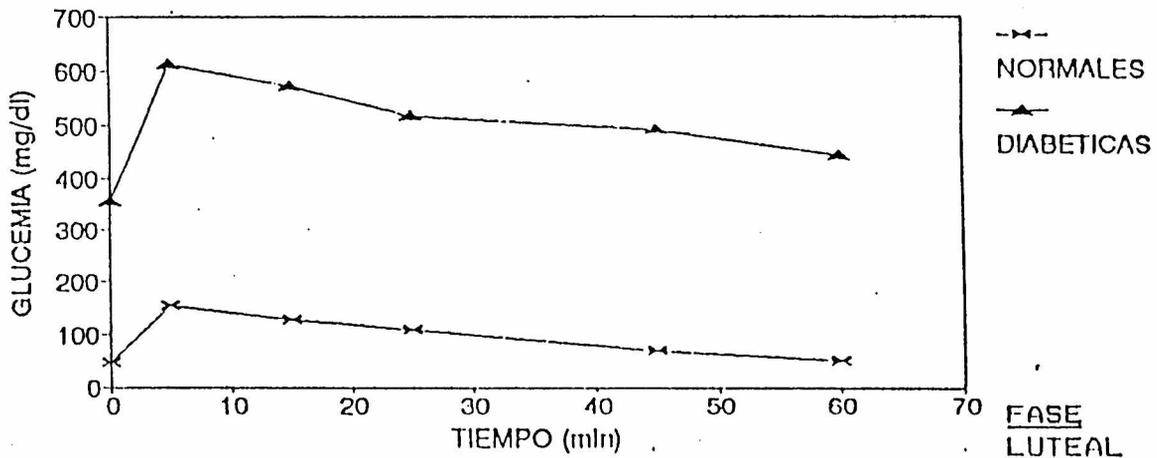
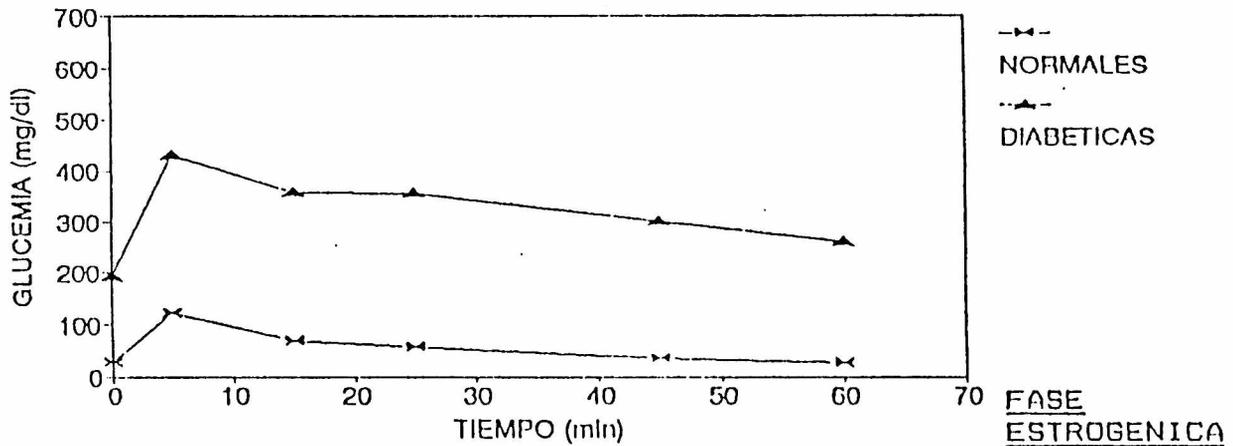
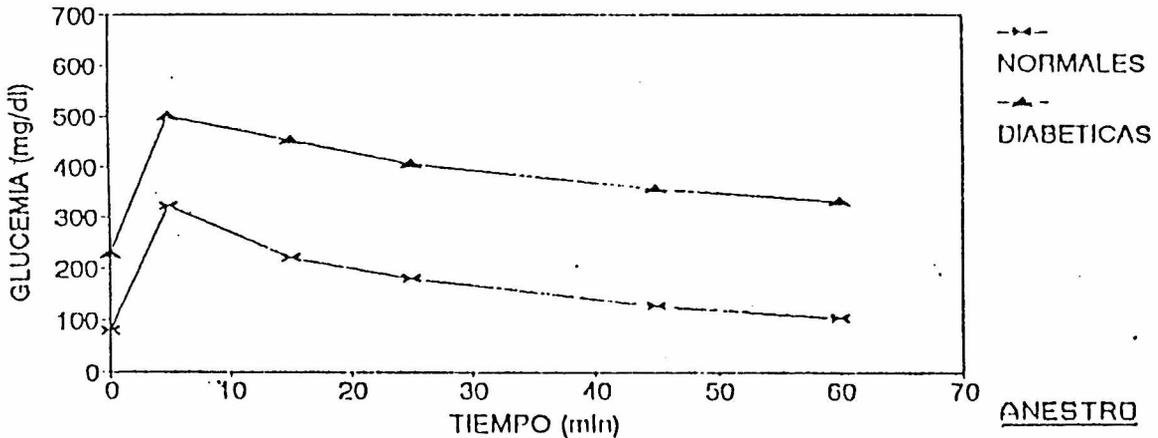


TABLA I- Niveles medios de glucemia durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero) en vena periférica. La glucemia se midió en vena periférica con Autoanalizador Technicon. Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican las medias aritméticas.

GLUCEMIA - PRUEBA ENDOVENOSA DE GLUCOSA

NORMALES	Tiempos (minutos)					
	0	5	15	25	45	60
Anestro	80	322	219	179	127	105
Fase estrogénica	28	121	68,8	56,6	35	26
Fase luteal	47	154	128	108	68	51

DIABETICAS	Tiempos (minutos)					
	0	5	15	25	45	60
Anestro	227	501	450	406	357	331
Fase estrogénica	191	430	358	356	300	259
Fase luteal	355	612	571	516	492	443

TABLA II- Análisis de variancia de los resultados de las glucemias durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro y en fase estrogénica y luteal de su ciclo estral (fase).

Los datos originales figuran en la Tabla I y Gráfico I. En este análisis se utilizó la transformación logarítmica.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
<u>Entre sujetos</u>	25,477	29		
GRUPO	18,075	1	18,075	167,49 ++
FASE	3,385	2	1,693	15,68 ++
GRUPO x FASE	1,426	2	0,713	6,61 ++
SUJETOS ENTRE GRUPOS	2,590	24	0,108	
<u>Dentro de sujetos</u>	6,248	150		
TIEMPO	4,465	5	0,893	107,20 ++
GRUPO x TIEMPO	0,635	5	0,127	15,24 ++
FASE x TIEMPO	0,110	10	0,011	1,32
GRUPO x FASE x TIEMPO	0,039	10	0,004	0,46
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	0,100	120	0,008	
TOTAL	31,725	179		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad.

CM: cuadrados medios.

F: Fischer.

Suj.: sujetos.

TABLA III- Análisis de variancia sobre el espacio de distribución de la glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y fase luteal del ciclo sexual.

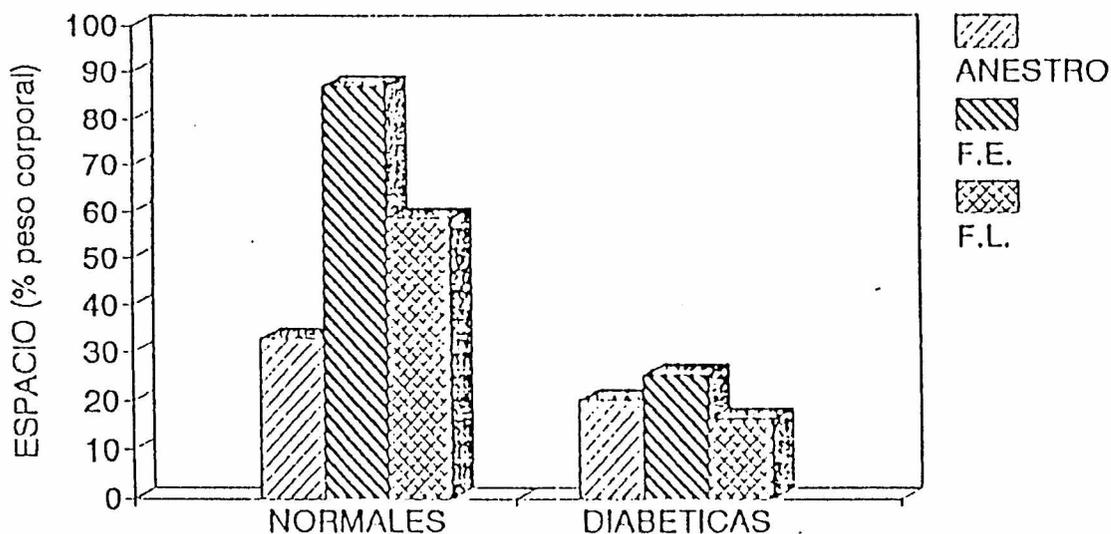
Datos obtenidos durante una prueba endovenosa de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, transformación logarítmica. Se calculó la recta de desaparición de la glucosa en sangre en función del tiempo transcurrido desde la administración de glucosa. E (Espacio de glucosa) = $10000/a$, en porcentaje de peso corporal; a = lugar del eje "y" de ordenadas interceptado por la recta. Análisis de variancia (ANOVA) de 2 factores (grupo, fase) con 5 observaciones por casilla; G x F: interacción Grupo x Fase.

	SC	g.l	CM	F
Entre Grupos	74401,2	1	74401,2	105,96 ++
Entre Fases	19137,9	2	9568,9	13,62 ++
G x F	9850,4	2	4925,2	7,01 ++
Error	16852,4	24	702,18	

+, ++ Niveles de probabilidad de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

GRAFICO II- Espacio de distribución de la glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica (F.E.) y fase luteal (F.L.) del ciclo sexual.

Datos obtenidos durante la prueba endovenosa de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, transformación logarítmica. Se calculó la recta de desaparición de la glucosa sanguínea en función del tiempo transcurrido desde la administración de glucosa, E (espacio de glucosa) = $10.000/a$, en porcentaje de peso corporal; a =intersección del eje de ordenadas medio del grupo. Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican valores medios del grupo.



Los resultados de la medición de los niveles de glucemia hallados durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y fase luteal de su ciclo sexual, se muestran en la Tabla IV, V y en el Gráfico III.

En la Tabla V se muestran los resultados del análisis de variancia de los logaritmos de las observaciones individuales. Como se puede ver hubo un efecto significativo del grupo ($P < 0,01$) y del tiempo ($P < 0,01$), pero no de las fases ($P > 0,05$), lo mismo que la de Grupo x Tiempo, no así la Fase x Tiempo ($P > 0,05$).

Analizando la acción del Grupo x Tiempo en cada grupo, se observó:

1) en las perras normales, las glucemias medias en todos los tiempos (15 a 40 minutos) son significativamente menores que la basal ($P < 0,01$), mientras que 2) en las perras diabéticas espontáneas, las glucemias medias sólo a partir de los 25 minutos son menores que la basal ($P < 0,05$); las glucemias medias observadas a los 15 y 20 minutos no difieren significativamente de la basal.

Analizando la acción del grupo en cada fase, se apreció que la glucemia media en las diabéticas difiere de la observada en las normales en las 3 fases ($P < 0,01$).

TABLA IV- Niveles glucémicos durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero) en vena periférica. Determinaciones en Autoanalizador Technicon sobre muestras tomadas en vena periférica. Se dan los valores medios. Número de animales por grupo: 5 (Cinco).

GLUCEMIA - PRUEBA ENDOVENOSA DE INSULINA

NORMALES	Tiempos (minutos)						
	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	80	34	35	48	45	41	47
Fase estrog.	34	22	20	26	22	21	23
Fase luteal	50	31	25	24	17	25	26

DIABETICAS	Tiempos (minutos)						
	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	240	245	205	202	184	169	167
Fase estrog.	286	269	273	268	273	253	252
Fase luteal	206	192	147	151	141	118	133

GRAFICO III- Niveles de glucemia durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero) en vena periférica. La glucemia se midió en vena periférica con Autoanalizador Technicon. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

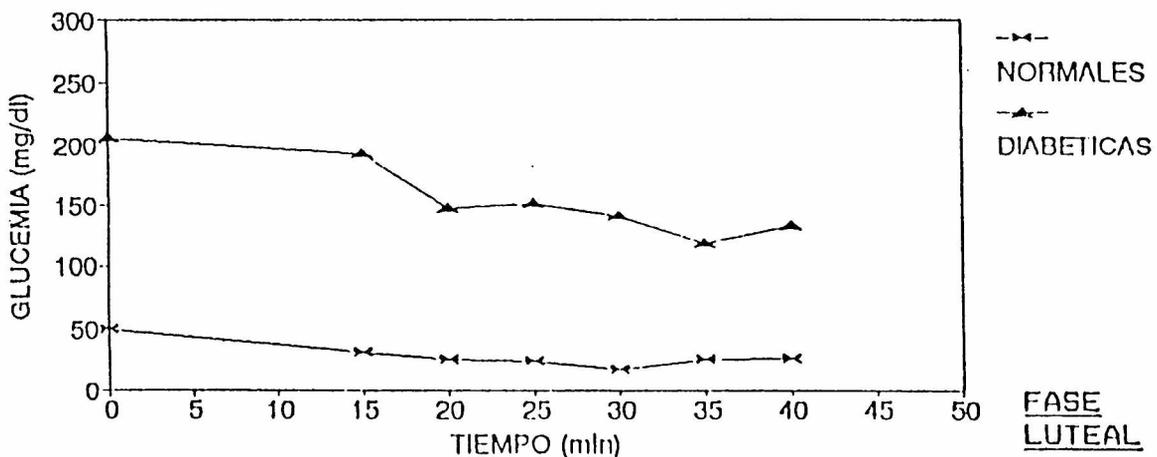
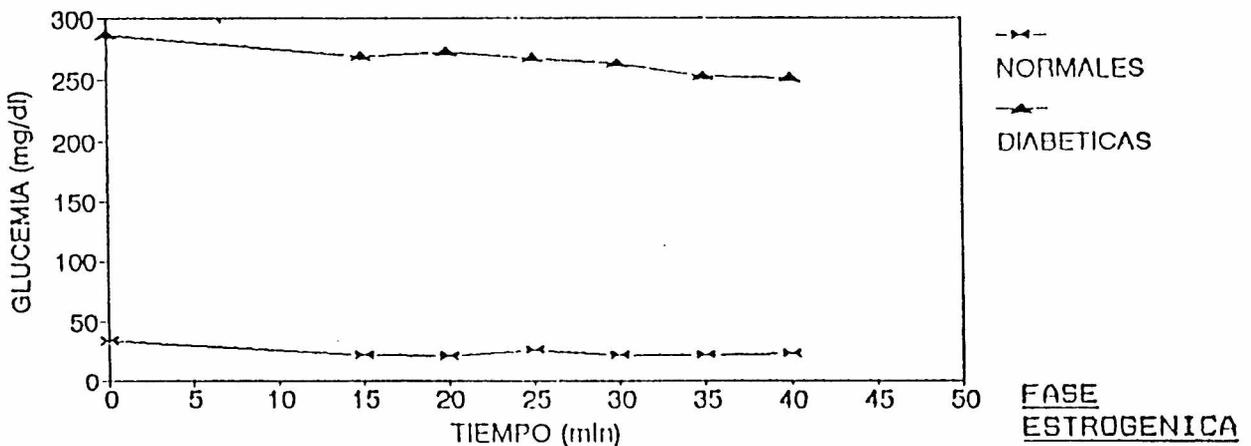
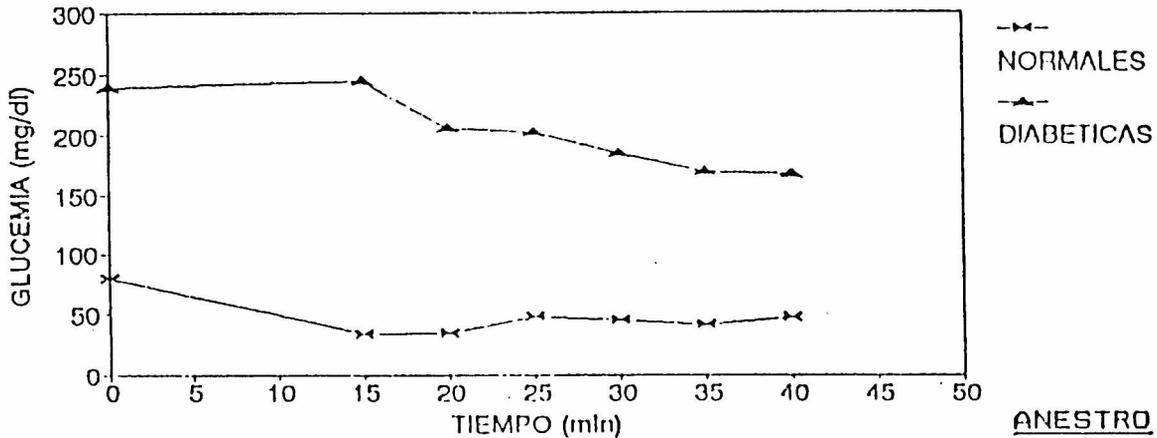


TABLA V- Análisis de variancia de los resultados de la glucemia durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo estral (fase).

Los datos usados en este análisis sufrieron transformación logarítmica para homogeneizar las variancias; se usaron pruebas conservativas. Los datos faltantes se estimaron según Steel R. y Torrie J. (1985).

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
ENTRE SUJETOS	41,087	29		
GRUPO	33,407	1	33,407	151,93 ++
FASE	1,237	2	0,618	2,81
GRUPO x FASE	1,607	2	0,803	3,65 +
SUJ. DENTRO GRUPOS	4,838	22	0,220	
DENTRO DE SUJETOS	3,57	180		
TIEMPO	1,058	6	0,176	16,86 ++
GRUPO x TIEMPO	0,327	6	0,055	5,21 +
FASE x TIEMPO	0,295	12	0,024	2,35
GRUPO x FASE x TIEMPO	0,153	12	0,013	1,22
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	1,423	136	0,010	
TOTAL	44,344	209		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

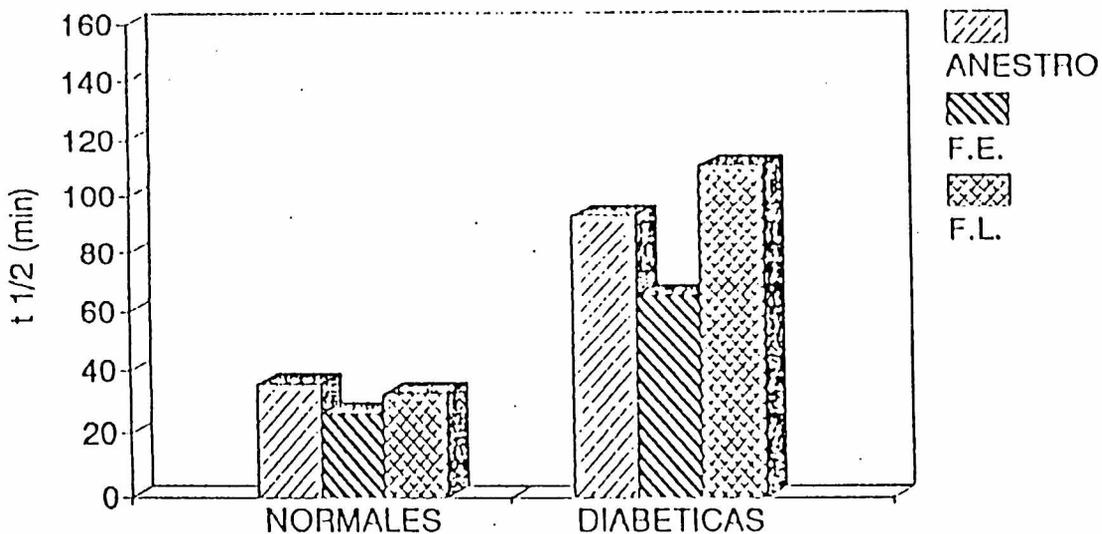
CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

GRAFICO IV- Media vida ($t_{1/2}$) de la glucosa en circulación de perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en fase estrogénica (F.E.) y luteal (F.L.) del ciclo estral.

Datos obtenidos durante la prueba endovenosa de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, previa transformación inversa, empleando como variable $K \times 1000$. Se calculó la recta de desaparición de la glucosa en sangre en función del tiempo transcurrido desde la administración de glucosa, $t_{1/2} = 0,96/k$, en minutos; k pendiente de la recta calculada como media del grupo. Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican los valores medios del grupo.



En el Gráfico IV se encuentran los resultados medios del cálculo de la media vida ($t_{1/2}$) de la glucosa en circulación de las perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y

fase estrogénica y luteal de su ciclo estral. El análisis estadístico correspondiente, previa transformación inversa figura en la Tabla VI. Se ve que la $t_{1/2}$ en los animales normales y diabéticos difiere ($P < 0,01$) lo mismo que en anestro, fase estrogénica y luteal ($P < 0,05$). Sin embargo, analizando las diferencias entre las fases, tanto para normales como diabéticas, por la prueba de Tukey (Winer B. 1971) se observó que no difieren significativamente.

TABLA VI- Datos estadísticos sobre el tiempo de media vida de la glucosa en sangre de perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en fase estrogénica y luteal del ciclo estral.

Datos obtenidos durante la prueba endovenosa de glucosa:

1 g/kg de peso corporal. Transformación inversa, tomando como variable $K \times 1000$. Se calculó la recta de desaparición de la glucosa en sangre en función del tiempo transcurrido desde la administración de glucosa $t_{1/2} = 0,96/k$, en minutos, k = dependiente de la recta. Análisis de variancia de 2 factores (Grupo, Fase), $G \times F$ interacción Grupo-Fase, con 5 observaciones por casilla.

	SC	g.l.	CM	F
Entre Grupos	15222,56	1	15222,56	69,20 ++
Entre Fases	1548,26	2	774,13	3,52 +
G x F	177,92	2	88,96	0,40
Error	5279,8	24	219,90	

INSULINA SERICA INMUNOREACTIVA:

Los resultados de la medición de la insulina inmunorreactiva (IRI) sérica hallados durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y fase luteal de su ciclo estral, correspondientes a los valores de glucemia presentados en el punto "Glucemia", se muestran en el Gráfico V y en la Tabla VII.

En la Tabla VIII, se muestran los resultados del análisis de variancia (ANOVA) de los logaritmos de las observaciones individuales de IRI sérica en ambos grupos de perros. Hay un efecto significativo del grupo ($P < 0,05$), fase ($P < 0,01$) y tiempo ($P < 0,01$). La interacción Grupo-Fase no es significativa, lo cual significa que el efecto de la fase es igual en perras normales y diabéticas. La interacción Grupo-Tiempo es significativa ($P < 0,05$), lo cual indica que a lo largo del tiempo las perras normales y diabéticas se comportan de diferente modo. La interacción Fase x Tiempo no es significativa lo cual quiere decir que las curvas de IRI sérica en función del tiempo para cada fase son paralelas; no son iguales porque existe un efecto significativo de la fase ($P < 0,01$). La interacción triple G x F x T (Grupo x Fase x Tiempo) resultó significativa ($P < 0,05$).

Se estudió separadamente cada curva de IRI sérica, comparándose las respuestas de IRI sérica en cada grupo de animales con el valor basal por la prueba de Dunnet (Winer B. 1971). Así, 1) en las perras normales, en anestro, la curva de IRI sérica resultó plana, porque no se encontró efecto del

tiempo; 2) en las perras normales, en fase estrogénica, la IRI sérica media hallada a los 5, 15, 25 y 45 minutos fue significativamente mayor que la basal ($P < 0,05$); no hubo diferencia significativa entre las respuestas a 0 y 60 minutos ($P < 0,05$); 3) en perras normales, en la fase luteal la respuesta de IRI sérica media a los 45 minutos es significativamente mayor que la basal ($P < 0,05$); 4) en las perras diabéticas, en anestro la respuesta a los 5 y 15 minutos es significativamente mayor que la basal ($P < 0,01$); en los restantes tiempos no hubo diferencias significativas con la línea de base ($P > 0,05$); 5) en las perras diabéticas, en fase estrogénica o en fase luteal, no existió efecto significativo del tiempo ($P > 0,05$), observándose curvas planas, equivalentes a ausencia de respuesta a la hiperglucemia.

GRAFICO V- Niveles de IRI sérica durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo sexual.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero), en vena periférica por radioinmunoensayo. Se indican las medias aritméticas, de los datos estimados debido a datos faltantes. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

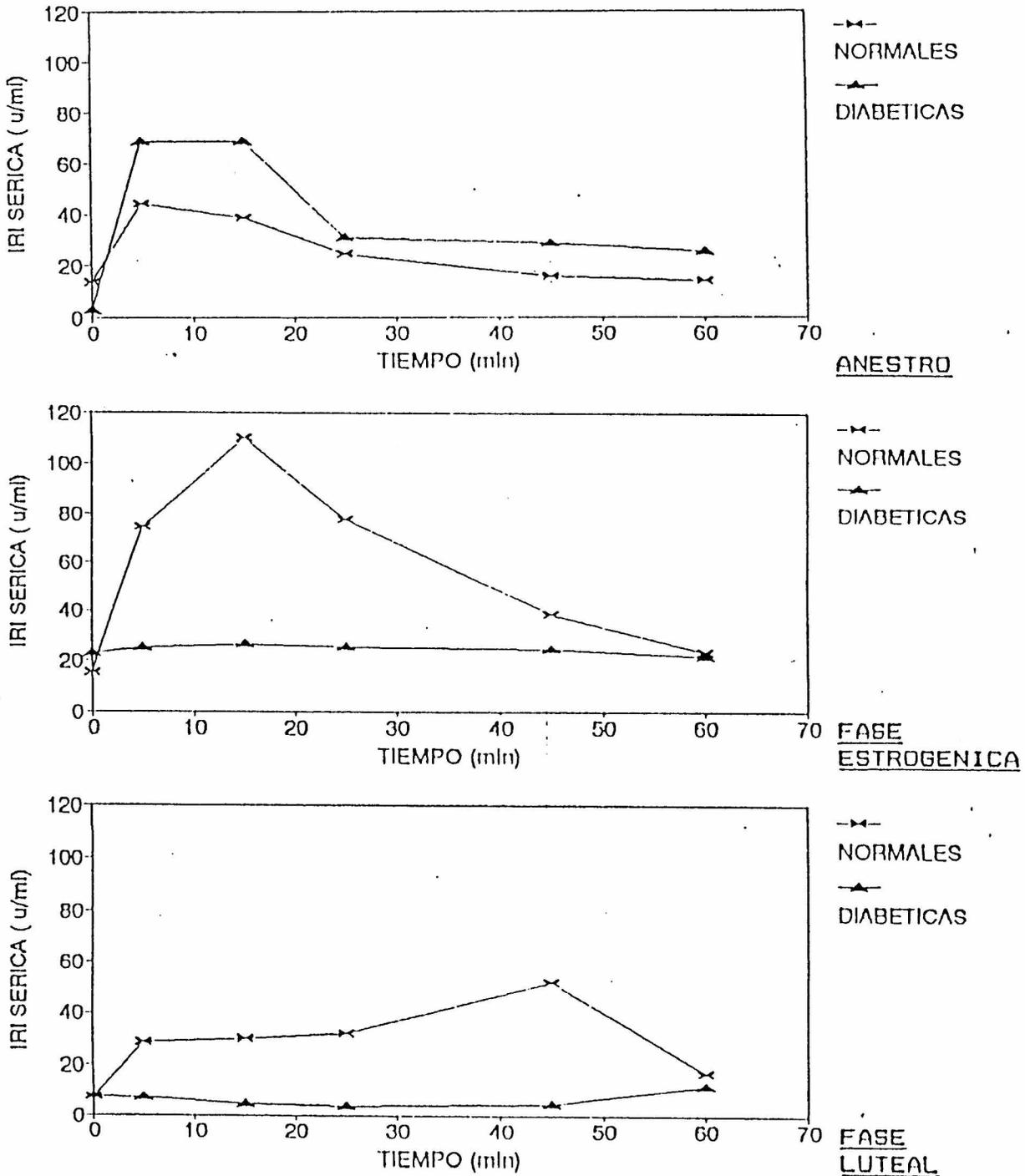


TABLA VII- Niveles medios de IRI sérica durante la prueba de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero) en vena periférica. La IRI sérica se midió por radioinmunoensayo. Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican las medias aritméticas de datos estimados con programa de datos faltantes

INSULINEMIA - PRUEBA ENDOVENOSA DE GLUCOSA

NORMALES	Tiempos (minutos)					
	0	5	15	25	45	60
Anestro	14	44	39	24	16	14
Fase estrogénica	15	74	110	78	39	24
Fase luteal	7	29	30	32	52	17

DIABETICAS	Tiempos (minutos)					
	0	5	15	25	45	60
Anestro	3	69	68	31	29	25
Fase estrogénica	23	25	27	26	25	22
Fase luteal	8	7	5	4	5	12

TABLA VIII= Análisis de variancia de los resultados de la medición de IRI sérica durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro y en fase estrogénica y luteal (fase).

Las medias de los datos originales figuran en el Gráfico V y Tabla VII. Se utilizó transformación logarítmica, datos estimados con programas de datos faltantes.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
ENTRE SUJETOS	42,557	29		
GRUPO	7,147	1	7,147	7,38 +
FASE	11,180	2	5,590	5,78 ++
GRUPO x FASE	1,004	2	0,502	0,52
SUJETOS DENTRO GRUPOS	23,230	24	0,968	
DENTRO DE SUJETOS	27,730	150	0,968	
TIEMPO	4,404	5	0,881	6,45 ++
GRUPO x TIEMPO	1,664	5	0,333	2,43 +
FASE x TIEMPO	2,609	10	0,261	1,91
GRUPO x FASE x TIEMPO	2,649	10	0,265	1,94 +
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	16,399	120	0,137	
TOTAL	70,282	179		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

Los resultados de la medición de la IRI sérica durante la prueba de insulina en las perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y fase luteal de su ciclo estral se muestran en el Gráfico VI y en la Tabla IX.

En la Tabla X, se muestran los resultados del ANOVA del estudio de datos individuales de IRI sérica durante la prueba de insulina, previa transformación logarítmica. Se realizó un análisis de variancia (ANOVA) de 3 factores con medidas repetidas.

Los datos perdidos se estimaron con el procedimiento indicativo para bloques (Steel R. y Torrie J. 1985). Hubo efecto significativo de los grupos ($P < 0,01$), de las fases ($P < 0,05$) y de los tiempos ($P < 0,01$), no hubo interacción significativa para Grupo x Fase, ni para Grupo x Tiempo, pero sí en la interacción Fase x Tiempo. La interacción triple Grupo x Fase x Tiempo fue muy significativa ($P < 0,01$), por lo que se estudió el efecto individual de cada variable.

Analizados los efectos simples se obtuvo que: 1) en las perras normales, para las 3 fases, la IRI sérica observada en todos los tiempos es significativamente ($P < 0,01$) mayor que la basal; su interacción Fase x Tiempo no fue significativa, 2) en las perras diabéticas, la interacción F x T fue significativa ($P < 0,01$), lo que significa que la curva de IRI sérica en las distintas fases difiere. Por eso se estudió separadamente la curva de cada grupo, utilizándose la prueba de Dunnet (Winer B. 1971). Se observó que en las perras:

(1) **Diabéticas en anestro** las respuestas medias en todos los

tiempos son significativamente ($P < 0,05$) mayores que la basal;

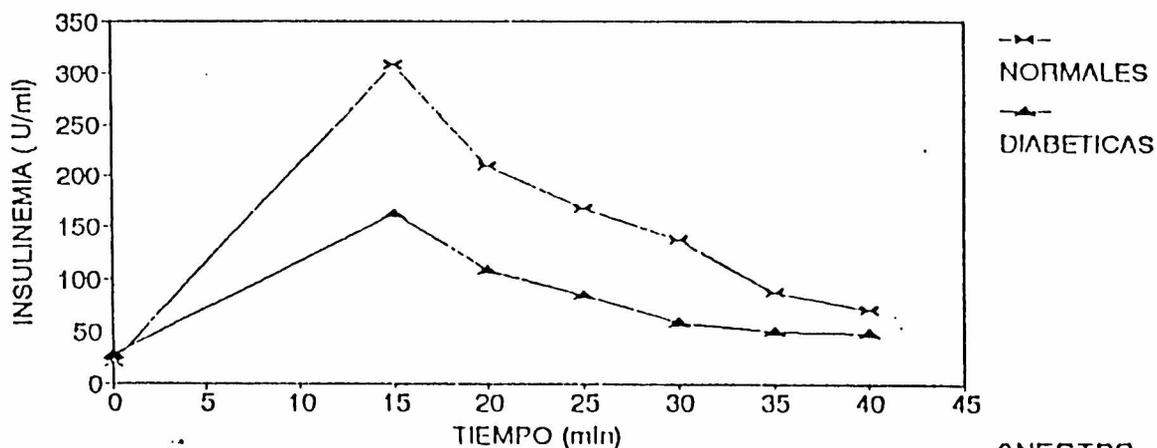
2) Diabéticas en fase estrogénica, las respuestas medias entre los 15 y 35 minutos, inclusive, son más elevadas que el valor basal, pero a los 40 minutos no difieren de él;

3) Diabéticas en fase luteal, las respuestas medias de todos los tiempos no difieren del valor basal (curva aproximadamente plana).

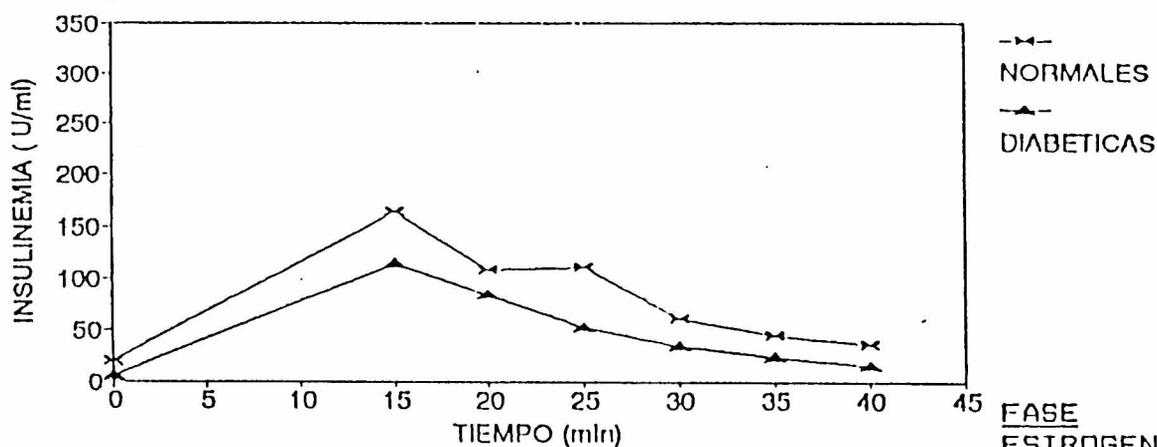
GRAFICO VI- Niveles de IRI sérica durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero), en vena periférica. Se indican las medias aritméticas.

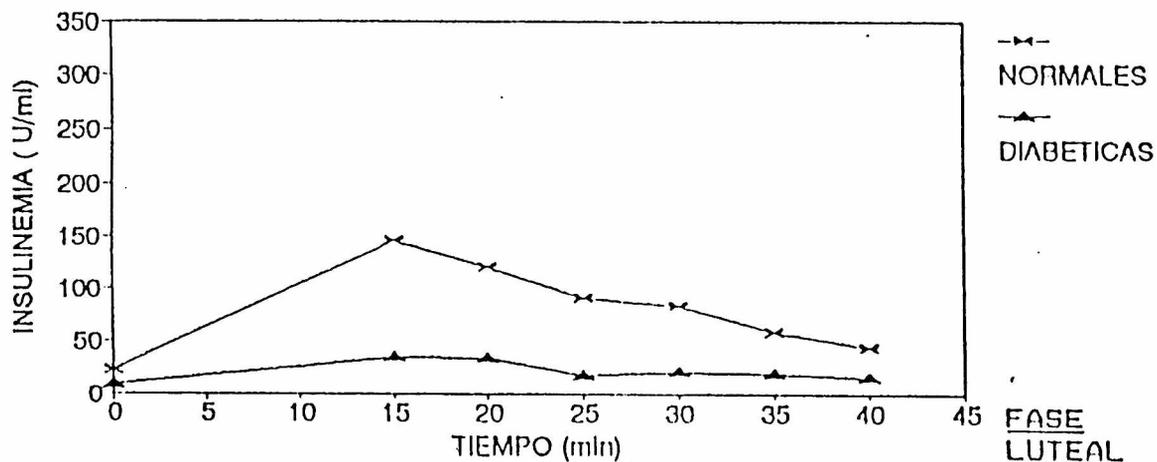
Número de animales por grupo: 5 (cinco).



ANESTRO



FASE ESTROGENICA



FASE LUTEAL

TABLA IX- Niveles de IRI sérica durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, en vena periféricas. La IRI sérica se midió por radioinmunoensayo. Se dan valores medios de datos estimados por datos faltantes. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

INSULINEMIA - PRUEBA ENDOVENOSA DE INSULINA

NORMALES	Tiempo (minutos)						
	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	20	308	209	166	136	87	70
Fase estrog.	21	164	108	111	61	45	37
Fase luteal	23	146	120	90	82	58	43

DIABETICAS	Tiempo (minutos)						
	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	28	162	109	85	59	50	48
Fase estrog.	6	114	84	52	34	24	16
Fase luteal	9	35	33	18	22	19	16

TABLA X- Análisis de variancia de los resultados de la medición de IRI sérica durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo estral.

Los datos usados en éste análisis sufrieron la transformación logarítmica para homogeneizar las variancias. Los datos se estimaron según metodología de bloques (Steel R. y Torrie J. 1985).

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
ENTRE SUJETOS	50,448	29		
GRUPO	10,223	1	10,223	8,36 ++
FASE	10,710	2	5,355	4,38 +
GRUPO x FASE	2,608	2	1,304	1,07
SUJETOS DENTRO GRUPOS	26,907	22	1,223	
DENTRO DE SUJETOS	25,218	180		
TIEMPO	16,025	6	2,671	62,64 ++
GRUPO x TIEMPO	0,212	6	0,035	0,83
FASE x TIEMPO	1,758	12	0,146	3,44 ++
GRUPO x FASE x TIEMPO	1,211	12	0,101	2,37 ++
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	6,012	141	0,043	
TOTAL	75,666	209		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$) respectivamente)

SC: Suma de cuadrados

g.l: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

El Gráfico VII muestra el espacio de distribución de la insulina, en perras normales diabéticas en anestro, fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

El estudio estadístico correspondiente se presenta en la Tabla XI. El análisis de variancia, realizado después de la transformación logarítmica de los datos del espacio de distribución de insulina, condujo a los resultados que se detallan a continuación. Hay diferencia significativa en el valor de esta variable entre los 2 grupos ($P < 0,05$); hay efecto significativo de las fases; la interacción Fase x Grupo (FxG) es significativa ($P < 0,05$).

Se estudió entonces el efecto de la fase en perras normales y diabéticas por separado, hallándose que: 1) en el grupo normal no hay efecto significativo de la fase sobre el espacio de distribución de la insulina, mientras que en las perras diabéticas sí lo hubo ($P < 0,01$). Este último grupo se analizó por la prueba de Tukey (Winer B. 1971), observándose que dicho espacio es similar en el anestro y en la fase estrogénica pero difiere respecto de estas fases durante la fase luteal.

En el Gráfico VIII se encuentran los resultados del cálculo del tiempo de media vida ($t_{1/2}$) de la insulina circulante en sangre de perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de su ciclo estral. El análisis estadístico correspondiente figura en la Tabla XII. Se realizó un análisis de variancia de 2 factores con 5 observaciones por casilla sobre la variable $K \times 1000$.

Se ve que la $t_{1/2}$ de insulina circulante no difiere en perras normales y diabéticas ($P > 0,05$). Existe una diferencia significativa por las fases ($P < 0,01$) y la interacción $G \times F$ no tiene efecto significativo. Se estudió el efecto de la fase en normales y diabéticas por separado y se obtuvo que: 1) en normales no hubo efecto significativo ($P > 0,05$) de la fase sobre el $t_{1/2}$ de insulina circulante; 2) en diabéticas sí lo hay ($P < 0,01$).

GRAFICO VII- Espacio de distribución de la insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica (F.E.) y luteal (F.L.) del ciclo sexual.

Datos obtenidos durante la prueba endovenosa de insulina, 0,25 UI/kg de peso corporal, en vena periférica. Se usó transformación logarítmica. Se calculó la recta de desaparición de la insulina del suero en función del tiempo transcurrido desde su administración. Espacio de distribución de insulina = $10000/a$ en porcentaje del peso corporal; a: interacción del eje de ordenadas medio del grupo.

Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican valores medios del grupo.

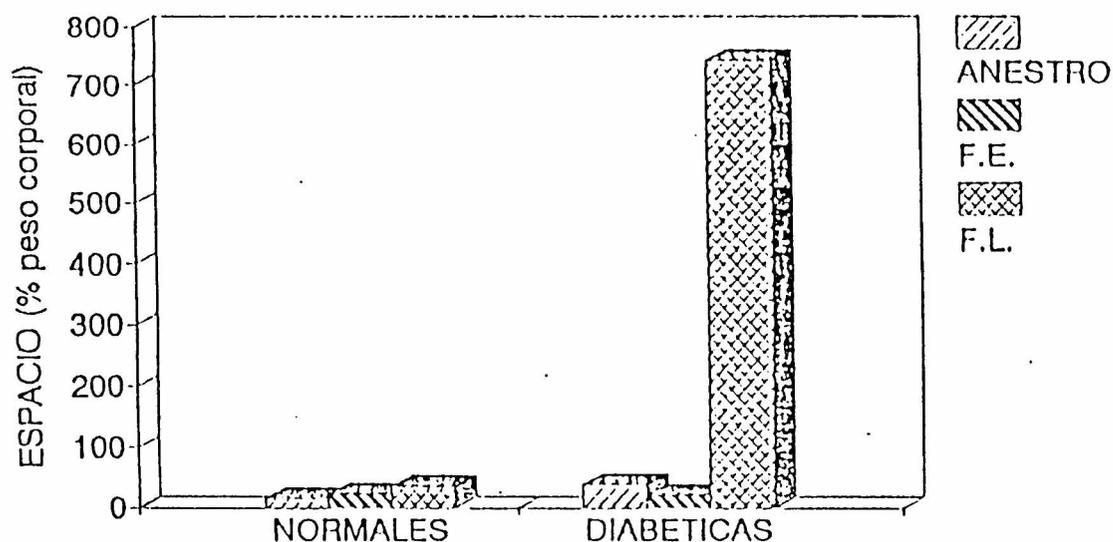


TABLA XI- Datos estadísticos correspondientes al estudio del análisis de variancia sobre el espacio de distribución de la insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y fase estrogénica y luteal del ciclo estral.

Datos originales, fueron obtenidos durante una prueba endovenosa de insulina, 0,25 UI/kg de peso corporal, previa transformación logarítmica. Se calculó la recta de desaparición de la insulina del suero en función del tiempo transcurrido desde la administración de la insulina exógena. Espacio de distribución de insulina, en porcentaje del peso corporal = $10000/a$; a = lugar del eje "y" interceptado por la recta. Estudio estadístico del análisis de variancia; interacción Grupo (G) Fase (F).

	SC	g.l.	CM	F
Entre Grupos	1241,63	1	1241,63	7,42 +
Entre Fases	2570,87	2	1285,43	7,68 ++
G x F	1251,66	2	625,83	3,74 +
Error	4014,80	24	167,28	

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

GRAFICO VIII- Tiempo de media vida ($t_{1/2}$) de la insulina en circulación de perras normales y diabéticas en anestro y fase estrogénica (F.E.) y luteal (F.L.) del ciclo estral.

Datos obtenidos durante la prueba endovenosa de insulina, 0,25 UI/kg de peso corporal, previa transformación inversa, usando como variable $k \times 1000$. Se calculó la recta de desaparición de la insulina en sangre en función del tiempo transcurrido desde la administración de insulina exógena. $t_{1/2} = 0,69/k$, en minutos. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

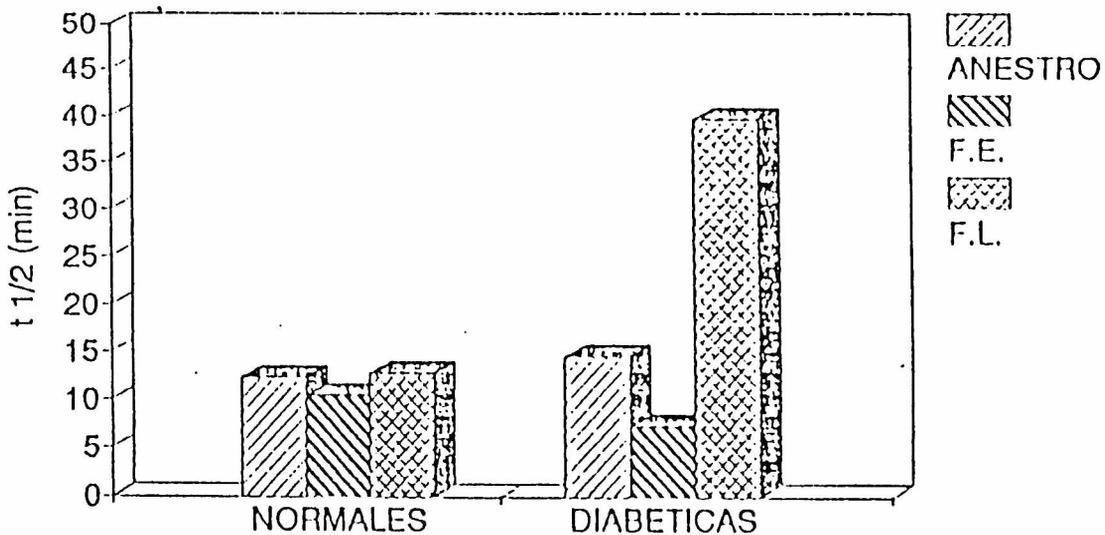


TABLA XII- Datos estadísticos correspondientes al estudio sobre el tiempo de media vida ($t_{1/2}$) de insulina en circulación de perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo estral.

Datos obtenidos durante la prueba endovenosa de insulina, 0,25 UI/kg de peso corporal, previa transformación inversa, usando como variable $k \times 1000$. Se calculó la recta de desaparición de la insulina en sangre en función del tiempo transcurrido desde la administración de insulina exógena. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

	SC	g.l.	CM	F
Entre Grupos	270,00	1	270,00	0,30
Entre Fases	10357,6	2	5178,5	5,83 ++
G x F	5343,2	2	2671,6	3,01
Error	21301,20	24	887,55	

++ Nivel de significación de F ($P < 0,01$)

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

ACIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS SERICOS:

Los resultados de la medición de estos ácidos, durante la prueba endovenosa de glucosa, en las perras normales y diabéticas en anestro, en fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales, se muestran en el Gráfico IX y Tabla XIII.

En la Tabla XIV se encuentra el estudio de la variancia de estos resultados. Allí se observa la respuesta de los animales diabéticos y normales es distinta, es decir, que existe un efecto significativo del Grupo ($P < 0,01$); no existe un efecto significativo de la Fase ($P > 0,05$), pero sí del Tiempo ($P < 0,01$). Analizados los efectos simples y aplicándose la prueba de Dunnet (Winer B. 1971), se obtuvieron los siguientes resultados: 1) en las perras normales, los AGNE son significativamente más bajos que a tiempo cero, entre los 25 y 60 minutos inclusive; 2) en las perras diabéticas, los AGNE, en todos los tiempos de la prueba (5-60 min.) fueron menores que el nivel basal ($P < 0,01$).

Los resultados de la medición de estos ácidos durante la prueba de insulina en las perras normales y diabéticas en anestro, en fase estrogénica y en fase luteal de su ciclo sexual se encuentran en el Gráfico X y en la Tabla XV. El estudio estadístico, por análisis de variancia de 3 factores con medias aritméticas, (ver Tabla XVI), considera la variable en mEq/l de resultados según dato/1000, la interacción triple Grupo x Fase x Tiempo, fue significativa ($P < 0,01$). Se estudiaron entonces por separado los resultados de las perras

normales y diabéticas. Se halló que, en las normales no hay efecto significativo en el Tiempo, ni en la Fase; esto significa que las curvas de los AGNE resultan planas y similares en las 3 fases al estudiarlas en función del tiempo. En las diabéticas, la interacción Fase x Tiempo fue significativa ($P < 0,01$); se ve en el Gráfico X que el perfil de estos ácidos es descendente en este grupo. En cambio, ni en la fase estrogénica ni en la luteal existieron efectos significativos del tiempo, lo que significa que las curvas de ácidos grasos en perras diabéticas en estas fases (Gráfico X) son prácticamente planas. Utilizando el método de Tukey (Winer B. 1971), se comprobó que en las perras diabéticas en anestro, los niveles de AGNE durante toda la prueba difirieron significativamente del valor basal ($P < 0,01$) pero no difirieron entre sí.

GRAFICO IX- Niveles de ácidos grasos no esterificados séricos durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo sexual.

Datos de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. El nivel de ácidos grasos no esterificados séricos se midió en vena periférica, por el método espectrofotométrico de Itaya K. y Ui M. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

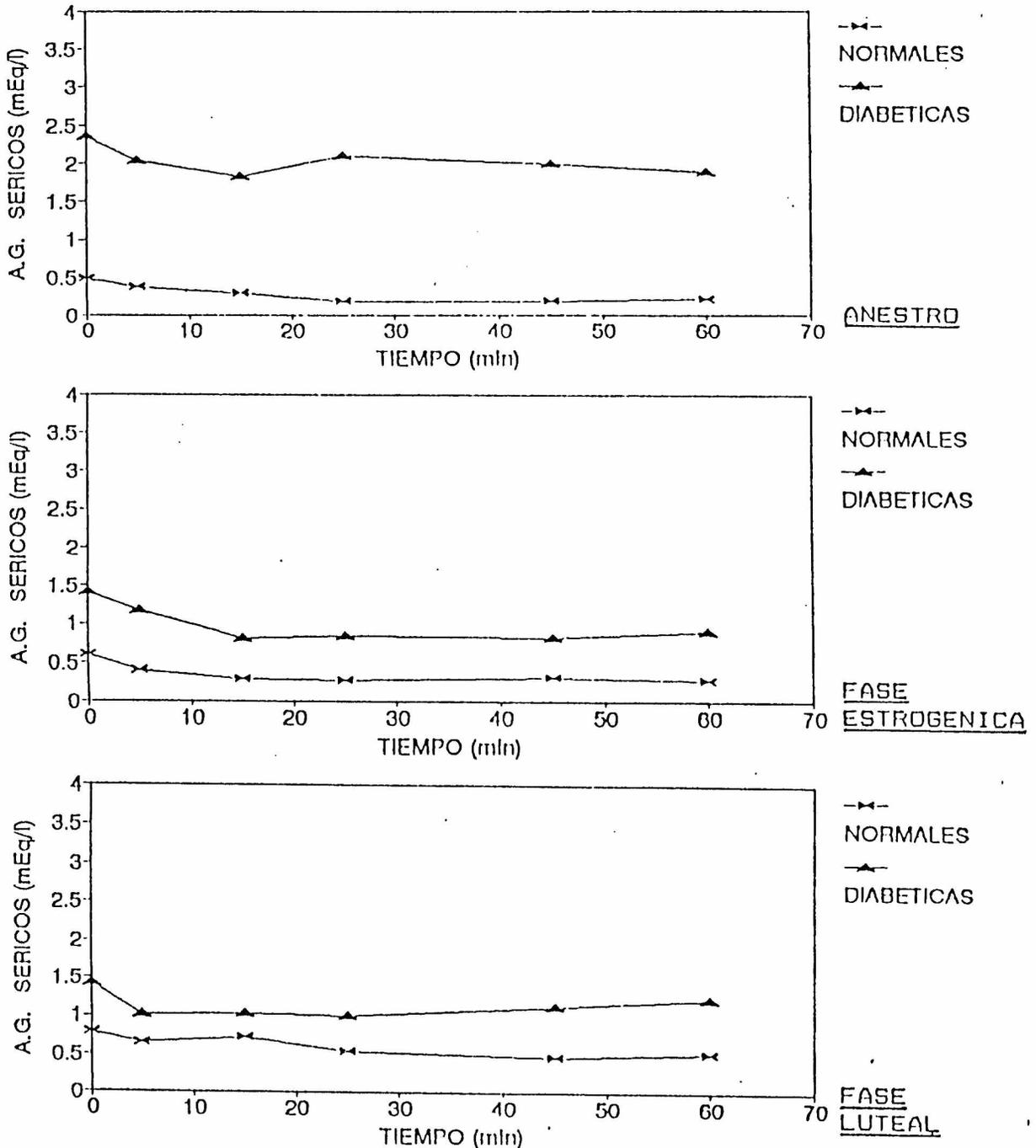


TABLA XIII- Niveles de ácidos grasos no esterificados séricos durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero) en vena periférica. El nivel de AGNE se determinó por el método de Itaya K. y Ui M. (1965). Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican las medias aritméticas.

AGNE - PRUEBA ENDOVENOSA DE GLUCOSA

NORMALES	Tiempos (minutos)					
	0	5	15	25	45	60
Anestro	0,492	0,374	0,294	0,186	0,186	0,210
Fase estrog.	0,608	0,408	0,294	0,267	0,307	0,264
Fase luteal	0,792	0,654	0,726	0,540	0,464	0,510

DIABETICAS	Tiempos (minutos)					
	0	5	15	25	45	60
Anestro	2,346	2,040	1,812	2,094	0,976	1,878
Fase estrog.	1,412	1,176	0,810	0,846	0,822	0,900
Fase luteal	1,422	1,020	1,124	0,996	1,116	1,206

TABLA XIV- Análisis de variancia de los resultados de los ácidos grasos no esterificados séricos durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro, fase estrogénica y fase luteal del ciclo estral (fase).

Las medias de los datos originales se encuentran en el Gráfico IX y Tabla XIII. Los resultados de esta tabla corresponden a la variable en Eq/l.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
ENTRE SUJETOS				
GRUPO	41,664	1	41,664	19,22 ++
FASE	7,023	2	3,511	1,62
GRUPO x FASE	13,509	2	6,754	3,12
SUJETO DENTRO DE GRUPOS	52,035	24	2,268	
DENTRO DE SUJETOS				
TIEMPO	3,125	5	0,625	0,50
GRUPO x TIEMPO	0,414	5	0,082	1,13
FASE x TIEMPO	0,383	10	0,038	0,52
GRUPO x FASE x TIEMPO	0,382	10	0,038	0,52
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	8,829	120	0,073	
TOTAL	127,364	179		

++ Nivel de significación estadística de F ($P < 0,01$)

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

GRAFICO X- Niveles de ácidos grasos no esterificados séricos durante la prueba de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal del ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero) en vena periférica. El nivel de AGNE se determinó por el método de Itaya K. y Ui M. (1965), en sangre de vena periférica. Se indican las medias aritméticas; transformación de resultados (mEq/l): datos/1000. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

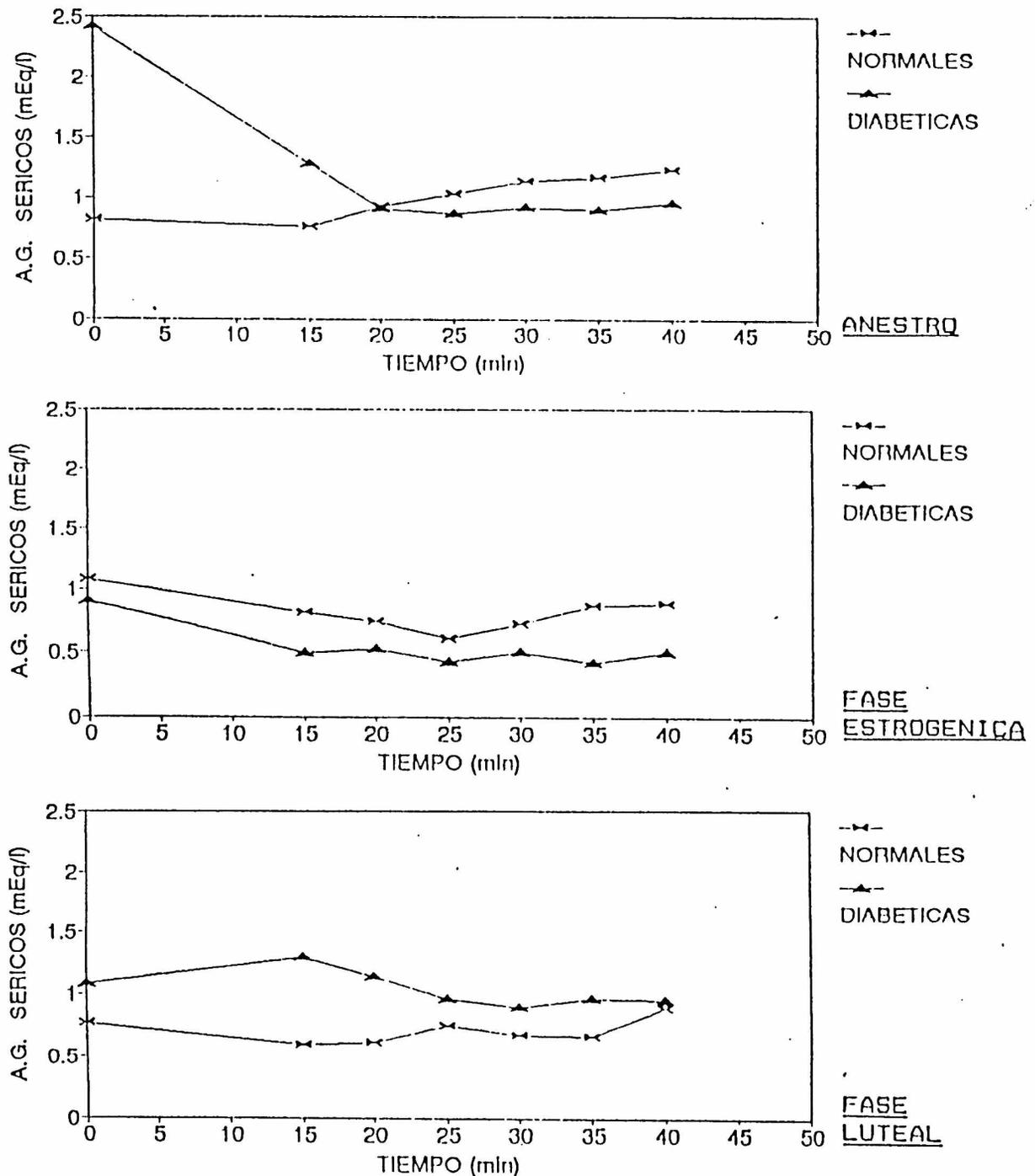


TABLA XV- Niveles de ácidos no esterificados séricos durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero) en vena periférica. Determinaciones de ácidos grasos no esterificados séricos por el método de Itaya K. y Ui M. (1965) en sangre periférica. Se dan los valores medios. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

AGNE - PRUEBA ENDOVENOSA DE INSULINA

NORMALES

Tiempos (minutos)

	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	0,82	0,77	0,94	1,03	1,14	1,17	1,23
Fase estrog.	1,08	0,81	0,74	0,60	0,72	0,87	0,88
Fase luteal	0,77	0,59	0,61	0,75	0,67	0,66	0,89

DIABETICAS

Tiempos (minutos)

	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	2,42	1,28	0,91	0,88	0,92	0,91	0,96
Fase estrog.	0,91	0,50	0,53	0,43	0,50	0,43	0,50
Fase luteal	1,08	1,30	1,14	0,96	0,89	0,96	0,95

TABLA XVI- Análisis de variancia de los ácidos grasos no esterificados séricos durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro y en fase estrogénica y luteal del ciclo sexual (fase).

Los datos de esta Tabla resultan de considerar la variable en mEq/l. Análisis de variancia de 3 factores con medidas repetidas sobre un factor (tiempo).

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
GRUPO	0,304	1	0,309	0,33
FASE x GRUPO	6,220	2	3,110	3,32
SUJ.DENTRO DE GRUPOS	3,438	2	1,719	1,83
DENTRO DE SUJETOS	22,515	24	0,938	
TIEMPO	3,418	6	0,569	6,44 ++
GRUPO x TIEMPO	3,418	6	0,569	6,44 ++
FASE x TIEMPO	1,501	12	0,125	1,41
GRUPO x FASE x TIEMPO	4,530	12	0,377	4,27 ++
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	12,739	144	0,884	
TOTAL		209		

++ Nivel de significación de F ($P < 0,01$)

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

GLICEROL SERICO:

Los resultados medios de la determinación de esta variable durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en la fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales se muestran en el Gráfico XI y en la Tabla XVII.

En la Tabla XVIII se muestra el análisis de variancia de los resultados originales correspondientes. Se empleó para 3 factores (Grupo, Fase, Tiempo) con medidas repetidas sobre uno de ellos (Tiempo). Se observaron los resultados que se indican a continuación. Hubo efectos significativos del grupo, fase y tiempo con alta significación estadística para los 3 ($P < 0,01$).

El efecto significativo del grupo indica que, considerada globalmente la gliceroemia de las perras diabéticas difiere significativamente de aquellas normales. El efecto global de las fases se analizó utilizando la mínima diferencia significativa. Se obtuvo que, la gliceroemia de las perras en anestro difiere de aquellas en la fase luteal, no encontrándose significación en las diferencias para las restantes comparaciones. Finalmente, como la interacción Grupo x Tiempo resultó significativa ($P < 0,01$), ver Tabla XVIII, se estudió separadamente en cada grupo. Se obtuvo que, en las perras normales, en todas y en cada una de las fases, la gliceroemia media en todos los tiempos es mayor que la basal ($P < 0,01$). En las diabéticas, en todas y cada una de ellas, no hubo efecto significativo del tiempo sobre esta variable, lo cual significa que las curvas de gliceroemia son planas, ver Gráfico XI.

En el Gráfico XII y en la Tabla XIX se muestran los resultados de la medición de la misma variable durante pruebas de insulina en las perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en la fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales. Los resultados del análisis estadístico de los datos originales no promediados se muestran en la Tabla XX. Se empleó un análisis de variancia de 3 factores con medidas repetidas sobre uno de ellos. Los efectos del grupo y tiempo fueron significativos ($P < 0,01$). Las interacciones Grupo x Tiempo fueron significativas ($P < 0,01$). Las interacciones Grupo x Fase ($P < 0,05$) y Grupo x Tiempo ($P < 0,01$) fueron significativas, pero Fase x Tiempo no ($P < 0,05$).

Se estudiaron los correspondientes efectos simples. Así, en las perras normales no hubo diferencias significativas entre las fases ($P > 0,05$). En las diabéticas sí las hubo ($P < 0,05$). Por el método de Tukey se obtuvo que no hay diferencias significativas entre las glicerolemias del anestro y fase estrogénica y luteal ($P > 0,05$), pero sí la hubo entre la fase estrogénica y la luteal ($P < 0,05$).

Estudiando los efectos del tiempo en cada grupo por el método de Dunnet se obtuvo que 1) en las perras normales, la respuesta glicerolélica media a los 15 y 20 minutos es significativamente mayor que la basal ($P < 0,01$), la respuesta a los tiempos 25, 30 y 35 minutos no difiere significativamente de la basal ($P < 0,05$); 2) en las perras diabéticas, la respuesta media a los 35 minutos es significativamente menor que la basal ($P < 0,01$), pero las respuestas medias en todos los otros

tiempos (15, 20, 25 y 30 minutos) no difieren del basal significativamente ($P > 0,05$).

Como no hubo interacción significativa Fase x Tiempo, no se estudiaron los efectos individuales de las distintas fases a lo largo del tiempo.

GRAFICO XI- Niveles de glicerol sérico durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en la fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. El nivel de glicerol sérico se midió en muestras de sangre periférica también empleando el equipo del laboratorio Wiener, suprimiendo la etapa de transesterificación. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

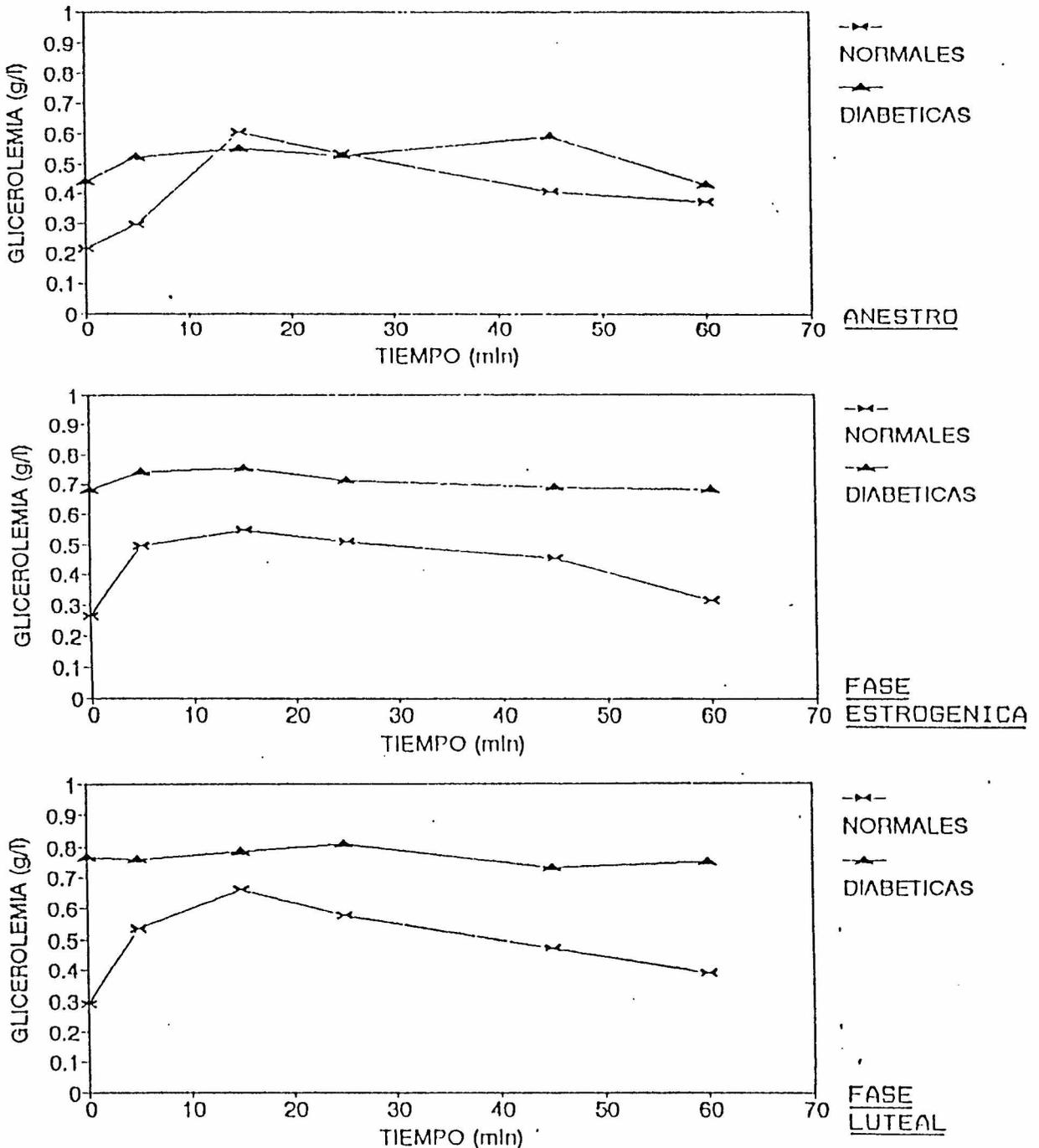


TABLA XVII- Niveles medios de glicerol sérico durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas en anestro y en fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal a tiempo 0 (cero), en vena periférica. El glicerol sérico se midió en muestras de sangre periférica con el equipo de laboratorio Wiener suprimiendo la etapa de transesterificación. Número de animales por grupo: 5 (cinco). Se indican las medias aritméticas, expresadas en g/l.

GLICEROL SERICO - PRUEBA ENDOVENOSA DE GLUCOSA

NORMALES

Tiempo (minutos)

	0	5	15	25	45	60
Anestro	0,216	0,296	0,604	0,534	0,406	0,372
Fase estrog.	0,264	0,496	0,546	0,510	0,452	0,314
Fase luteal	0,292	0,536	0,662	0,578	0,470	0,388

DIABETICAS

Tiempo (minutos)

	0	5	15	25	45	60
Anestro	0,442	0,524	0,552	0,528	0,592	0,432
Fase estrog.	0,680	0,740	0,754	0,710	0,688	0,680
Fase luteal	0,766	0,760	0,784	0,808	0,732	0,750

TABLA XVIII- Análisis de variancia de los resultados de las determinaciones de glicerol sérico durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro y en fase estrogénica y luteal (fase) de sus ciclos sexuales.

Las medias de los datos originales respectivos se muestran en el Gráfico XI y en la Tabla XVII.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
<u>ENTRE SUJETOS</u>	4,920	29		
GRUPO	2,207	1	2,207	34,54 ++
FASE	0,886	2	0,443	6,93 ++
GRUPO x FASE	0,295	2	0,147	2,31
SUJETOS DENTRO GRUPOS	1,533	24	0,064	
<u>DENTRO DE SUJETOS</u>	1,934	150		
TIEMPO	0,870	5	0,174	42,45 ++
GRUPO x TIEMPO	0,356	5	0,071	17,40 ++
FASE x TIEMPO	0,074	10	0,009	2,30
GRUPO x FASE x TIEMPO	0,122	10	0,012	2,97 ++
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	0,491	120	0,004	
TOTAL	6,854	179		

++ Niveles de significación de F ($P < 0,01$)

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

GRAFICO XII- Niveles de glicerol sérico durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. El nivel de glicerol sérico se midió en muestras de sangre periférica, empleando el equipo del laboratorio Wiener, suprimiendo la etapa de transesterificación. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

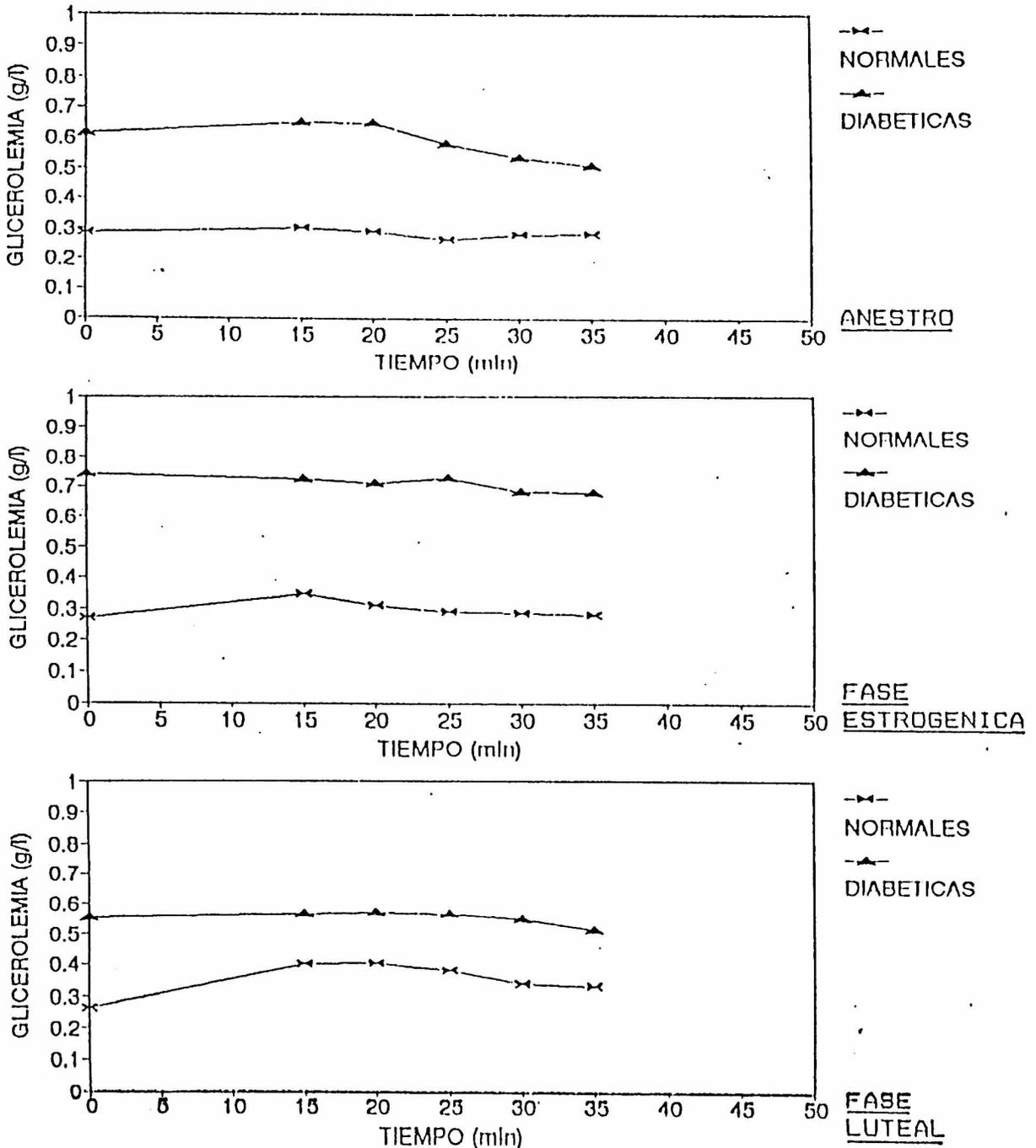


TABLA XIX- Niveles de glicerol sérico durante una prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en la fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero) en vena periférica. Se dan los valores medios expresados en mg/100 ml. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

GLICEROL SERICO - PRUEBA ENDOVENOSA DE INSULINA

NORMALES	Tiempo (minutos)					
	0	15	20	25	30	35
Anestro	0,25	0,30	0,29	0,26	0,28	0,28
Fase estrog.	0,21	0,35	0,31	0,29	0,29	0,28
Fase luteal	0,26	0,40	0,40	0,38	0,34	0,33

DIABETICAS	Tiempo (minutos)					
	0	15	20	25	30	35
Anestro	0,61	0,65	0,65	0,58	0,54	0,51
Fase estrog.	0,74	0,71	0,71	0,73	0,68	0,68
Fase luteal	0,55	0,57	0,57	0,57	0,55	0,51

TABLA XX- Análisis de variancia de los resultados de la medición del glicerol sérico durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro y en la fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual (fase).

Los datos de esta Tabla resultan de considerar la variable TRANSFORMADA. Técnica estadística: ANOVA de 3 factores con medias repetidas en uno de ellos. Las medias de los datos originales se dan en el Gráfico XII y TABLA XIX.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
<u>ENTRE SUJETOS</u>	5,615	29		
GRUPO	4,220	1	4,220	111,04 ++
FASE	0,142	2	0,071	1,97
GRUPO x FASE	0,341	2	0,071	4,49 +
SUJETOS DENTRO DE G.	0,912	24	0,038	
<u>DENTRO SE SUJETOS</u>	0,466	150		
TIEMPO	0,097	5	0,019	9,17 ++
GRUPO x TIEMPO	0,040	5	0,008	3,77 ++
FASE x TIEMPO	0,034	10	0,003	1,62
GRUPO x FASE x TIEMPO	0,039	10	0,004	1,85
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	0,255	120	0,002	
TOTAL	6,080	179		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente)

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

TRIGLICERIDOS SERICOS:

Los resultados de la medición de esta variable, durante la prueba de glucosa, en perras normales y diabéticas espontáneas, en anestro y en la fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales se muestran en el Gráfico XIII y en la Tabla XXI

En la Tabla XXII se muestra el estudio de esos resultados por análisis de variancia. Se empleó la técnica para 3 factores, con medidas repetidas sobre uno de ellos. Se observaron efectos significativos del Grupo ($P < 0,01$), Fase ($P < 0,05$) y Tiempo ($P < 0,01$), lo mismo que la Grupo x Fase ($P < 0,01$), la Grupo x Tiempo ($P < 0,01$) y la triple Grupo x Fase x Tiempo ($P < 0,01$), que fueron significativas.

Para obtener mayor información de la interacción Grupo x Fase se hizo el siguiente análisis: se estudió el efecto del Grupo en cada Fase, obteniéndose que en las 3 fases, la trigliceridemia de las perras diabéticas difiere significativamente de las normales ($P < 0,01$).

Sobre la base del resultado logrado con la interacción triple, se analizó separadamente los efectos del Tiempo y luego se aplicó la prueba de Dunnet. Se obtuvo que: 1) en las perras normales en anestro, los valores de trigliceridemia, observados durante toda la prueba, son significativamente mayores que el basal ($P < 0,01$); 2) en las perras normales en fase estrogénica y luteal se halló que no existe efecto significativo del tiempo sobre esa variable, obteniéndose por lo tanto curvas casi planas (Gráfico XIII); 3) en las perras diabéticas en anestro, el nivel de trigliceridemia observado a los 5 mi-

nutos de la administración de glucosa no difiere del valor basal, pero sí significativamente ($P < 0,01$) desde los 15 minutos hasta el final de la prueba; 4) en las perras diabéticas en fase estrogénica la trigliceridemia durante la prueba no difirió del valor basal, excepto a los 60 minutos en que fue menor y en el límite de la significación ($P < 0,05$); 5) en las perras diabéticas en fase luteal la trigliceridemia durante la prueba de glucosa, en cada uno de los tiempos, no difirió significativamente ($P < 0,05$) de la observada en la condición basal, correspondiente a tiempo 0 (cero).

GRAFICO XIII- Niveles de triglicéridos séricos durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro y en la fase estrogénica y luteal de su ciclo sexual.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. El nivel de triglicéridos séricos se midió en muestras de sangre periférica por el método del equipo comercial del laboratorio Wiener. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

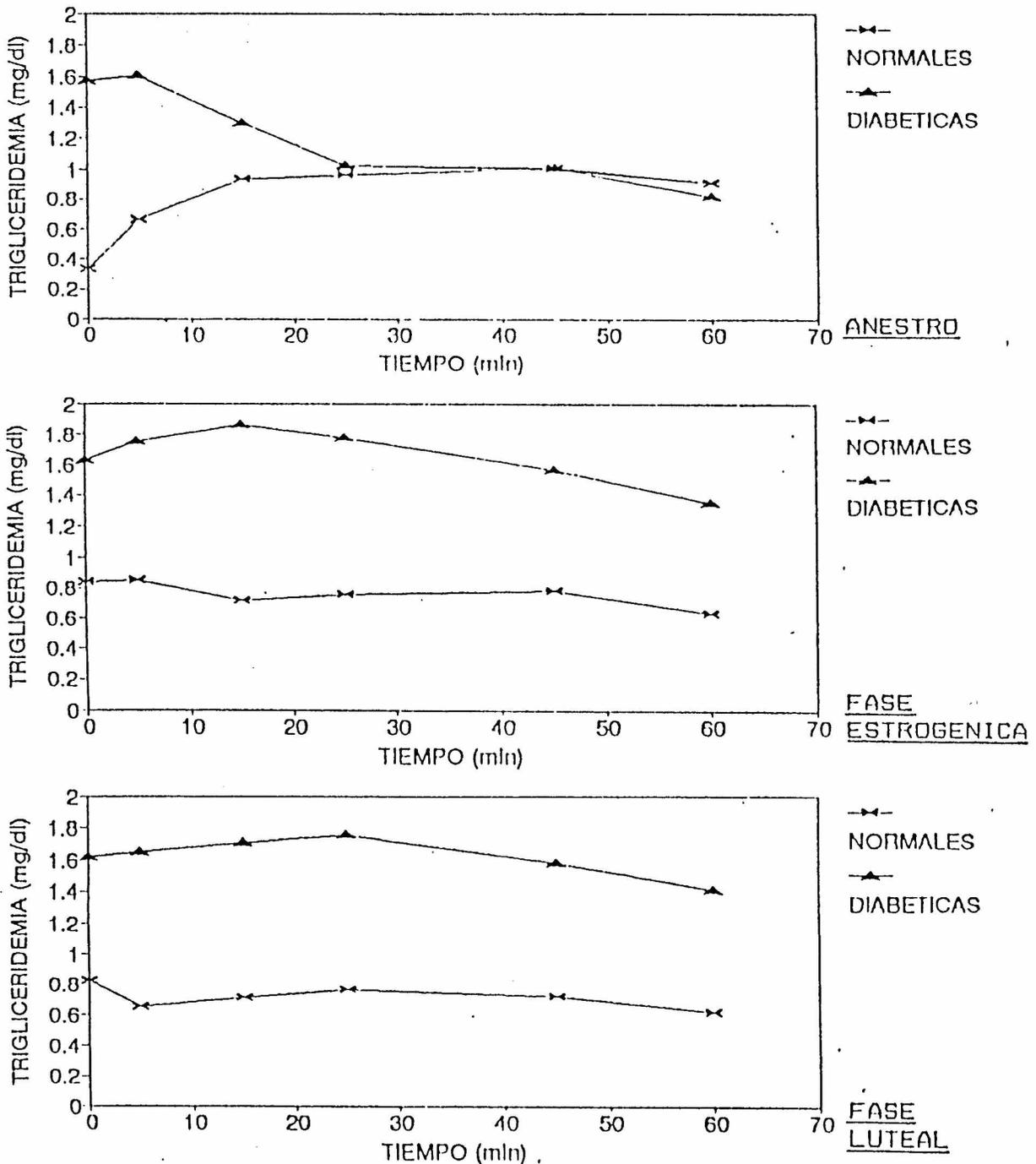


TABLA XXI- Niveles medios de triglicéridos séricos durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de glucosa: 1 g/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. Los triglicéridos séricos se midieron en muestras de sangre periférica por el equipo comercial del laboratorio Wiener. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

TRIGLICERIDOS SERICOS - PRUEBA ENDOVENOSA DE GLUCOSA

NORMALES

Tiempos (minutos)

	0	5	15	25	45	60
Anestro	0,336	0,666	0,936	0,962	1,008	0,908
Fase estrog.	0,840	0,852	0,720	0,754	0,780	0,626
Fase luteal	0,824	0,652	0,708	0,762	0,714	0,614

DIABETICAS

Tiempos (minutos)

	0	5	15	25	45	60
Anestro	1,568	1,602	1,300	1,026	1,006	0,818
Fase estrog.	1,626	1,752	1,862	1,774	1,564	1,350
Fase luteal	1,620	1,652	1,708	1,760	1,578	1,408

TABLA XXII- Análisis de variancia de las determinaciones de triglicéridos séricos durante la prueba endovenosa de glucosa en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales (fase).

Las medias de los datos originales figuran en el Gráfico XIII y en la Tabla XXI.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
ENTRE SUJETOS	32,324	29		
GRUPO	24,612	1	24,612	144,81 ++
FASE	1,293	2	0,647	3,91 +
GRUPO x FASE	2,338	2	1,169	6,88 ++
SUJETOS ENTRE GRUPOS	4,079	24	0,170	
DENTRO DE SUJETOS	9,093	150		
TIEMPO	1,302	5	0,260	9,46 ++
GRUPO x TIEMPO	1,492	5	0,298	10,84 ++
FASE x TIEMPO	0,298	10	0,023	1,08
GRUPO x FASE x TIEMPO	2,699	10	0,270	9,81 ++
TIEMPO x SUJ.DENTRO G.	3,303	120	0,028	
TOTAL	41,41633	179		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

En el Gráfico XIV y en la Tabla XXIII, se encuentran los resultados de la medición de la misma variable, durante las pruebas endovenosas de insulina, en perras normales y diabéticas espontáneas (grupo), en el anestro y en la fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales. Los resultados del análisis estadístico de los datos originales no promediados, se muestran en la Tabla XXIV. Como se puede ver, los efectos del Grupo ($P < 0,05$), de la Fase ($P < 0,05$) y del Tiempo ($P < 0,01$).

Las interacciones dobles Grupo x Fase, Grupo x Tiempo, Fase x Tiempo y la triple Grupo x Fase x Tiempo, fueron todas muy significativas ($P < 0,05$). Utilizando el método de los efectos simples, se estudió por separado la curva de cada lote experimental. Se encontró que, en todas estas curvas (6 en total) hubo efecto significativo del tiempo ($P < 0,01$). Usando la prueba de Dunnet, para comparar los valores en cada punto de las curvas con el valor basal respectivo, se obtuvieron los resultados que se detallan a continuación:

1) en las perras normales en anestro las respuestas medias durante la prueba de insulina fueron significativamente mayores que el valor basal ($P < 0,01$) a partir de los 20 minutos hasta el final de la prueba; 2) en las perras normales en fase estrogénica, esas respuestas fueron significativamente mayores que el nivel basal ($P < 0,01$) desde los 25 minutos hasta el fin de la prueba; 3) en las perras normales en fase luteal se obtuvieron valores de esta variable mayores que en el basal respectivo entre los 25 y 35 minutos ($P < 0,01$); no hubo diferencia entre los niveles de los tiempos restantes y la línea

de base ($P > 0,05$); 4) en las perras diabéticas en anestro, las respuestas entre los 15 y los 35 minutos de la prueba fueron significativamente mayores que la basal ($P < 0,01$); 5) en las diabéticas en fase estrogénica, sólo la respuesta a los 30 minutos es significativamente mayor que la basal, no así en las restantes y 6) en las diabéticas en fase luteal las respuestas medias halladas a los 35 y 40 minutos de la prueba de insulina, fueron más bajas que la línea basal ($P < 0,05$).

También se estudió, por el método de los efectos simples (Winer B. 1971), la existencia de alguna diferencia significativa en la respuesta a la insulina de los triglicéridos séricos, dentro de cada grupo de animales (normales y diabéticos), por acción de la fase. Se observó que en el grupo normal no existía diferencia entre las distintas fases ($P > 0,05$). En cambio, en los diabéticos se halló una diferencia significativa en el comportamiento de esta variable entre las perras en anestro y en ambas fases del ciclo espontáneo ($P < 0,01$), que no difirieron entre sí ($P > 0,05$). Por otro lado, en cada fase se estudió si existían diferencias significativas causadas por el grupo (normales, diabéticas), con un nivel de significación de $P < 0,01$; $P < 0,05$ y $P < 0,01$ en el anestro, fase estrogénica y luteal respectivamente.

GRAFICO XIV- Niveles de triglicéridos durante la prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, en fase estrogénica y luteal del ciclo sexual.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. Los triglicéridos séricos fueron medidos en muestras de sangre de vena periférica por el equipo comercial del laboratorio Wiener. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

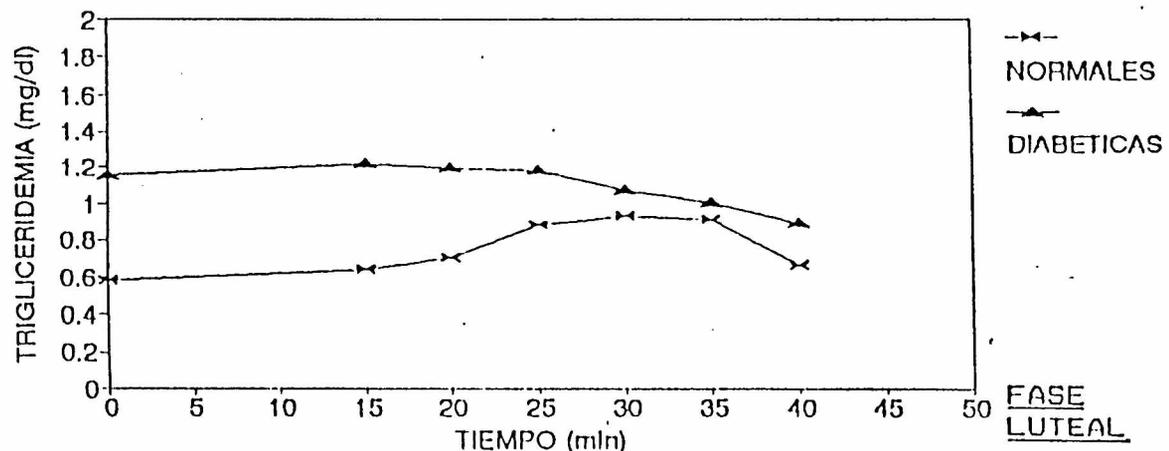
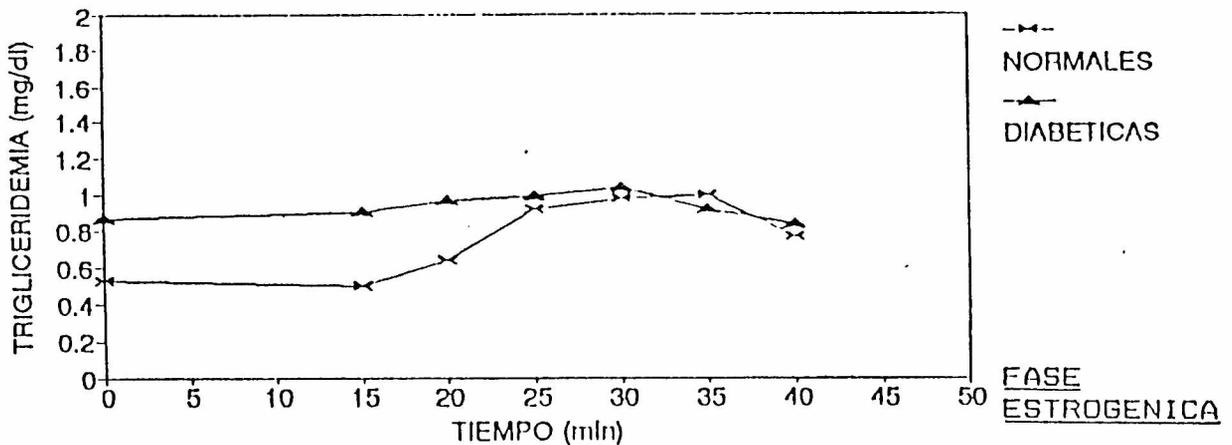
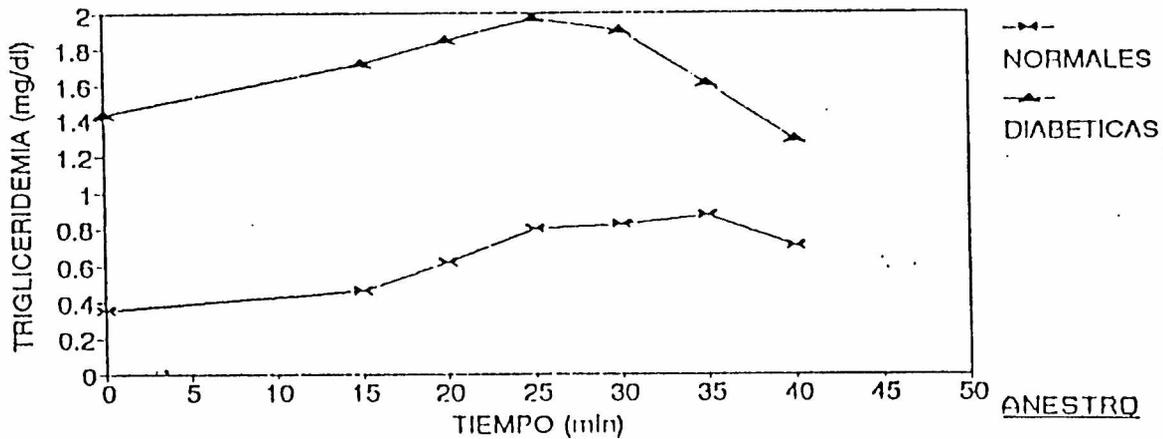


TABLA XXIII- Niveles de triglicéridos séricos durante una prueba endovenosa de insulina en perras normales y diabéticas espontáneas en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Dosis de insulina: 0,25 UI/kg de peso corporal, a tiempo 0 (cero), en vena periférica. Determinaciones de triglicéridos séricos por el método del equipo comercial del laboratorio Wiener, en muestras de sangre periférica. Se dan valores medios en mg/100 ml. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

TRIGLICERIDOS SERICOS - PRUEBA ENDOVENOSA DE INSULINA

NORMALES

Tiempo (minutos)

	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	0,36	0,46	0,62	0,80	0,82	0,87	0,71
Fase estrog.	0,53	0,50	0,64	0,92	0,97	0,99	0,76
Fase luteal	0,58	0,64	0,70	0,88	0,93	0,91	0,66

DIABETICAS

Tiempo (minutos)

	0	15	20	25	30	35	40
Anestro	1,44	1,72	1,85	1,97	1,90	1,61	1,29
Fase estrog.	0,87	0,90	0,96	0,98	1,03	0,92	0,83
Fase luteal	1,16	1,21	1,19	1,17	1,07	1,00	0,89

TABLA XXIV- Análisis de variancia de la medición de triglicéridos séricos durante la prueba endovenosa de insulina en perros normales y diabéticas espontáneas (grupo) en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales (fase).

Técnica estadística: análisis de variancia de 3 factores con medias repetidas.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
<u>ENTRE SUJETOS</u>	27,152	29		
GRUPO	13,152	1	13,691	143,91 ++
FASE	4,691	2	2,036	21,41 +
GRUPO x FASE	7,104	2	3,552	37,34 ++
<u>SUJETOS DENTRO GRUPOS</u>	2,283	2	0,095	
<u>DENTRO DE SUJETOS</u>	6,680	180		
TIEMPO	2,710	6	0,452	56,14 ++
GRUPO x TIEMPO	1,714	6	0,285	35,51 +
FASE x TIEMPO	0,684	12	0,057	7,08 ++
GRUPO x FASE x TIEMPO	0,413	12	0,034	4,28 ++
<u>TIEMPO x SUJ.DENTRO G.</u>	1,159	144	0,008	
TOTAL	33,831	209		

+, ++ Niveles de significación de F ($P < 0,05$ y $0,01$ respectivamente).

SC: suma de cuadrados

g.l.: grados de libertad

CM: cuadrados medios

F: Fischer

Suj.: sujetos

COLESTEROL SERICO:

Los resultados medios de la determinación de esta variable en las perras, en ayunas, normales y diabéticas espontáneas, en anestro y en la fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales, se muestran en el Gráfico XV. Los datos individuales correspondientes fueron analizados por el análisis de variancia de 2 factores (Grupo, Fase) con 5 observaciones por casilla. Los resultados de este análisis, que se indican en el párrafo siguiente, se muestran en la Tabla XXV.

La concentración de colesterol sérico fue significativamente mayor en el grupo diabético respecto del normal. En cambio, no existieron diferencias significativas entre las distintas fases del ciclo sexual en lo que se refiere a esta variable ($P < 0,05$), por lo que allí se dió por terminado el análisis correspondiente.

GRAFICO XV- Niveles de colesterol total sérico en perras en ayunas, normales y diabéticas espontáneas en anestro (ANES), fase estrogénica (F.E.) y luteal (F.L.) de sus ciclos sexuales.

Toma de sangre en vena periférica. Método de determinación del colesterol total sérico, mediante el equipo comercial del laboratorio Wiener. Se indican las medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco).

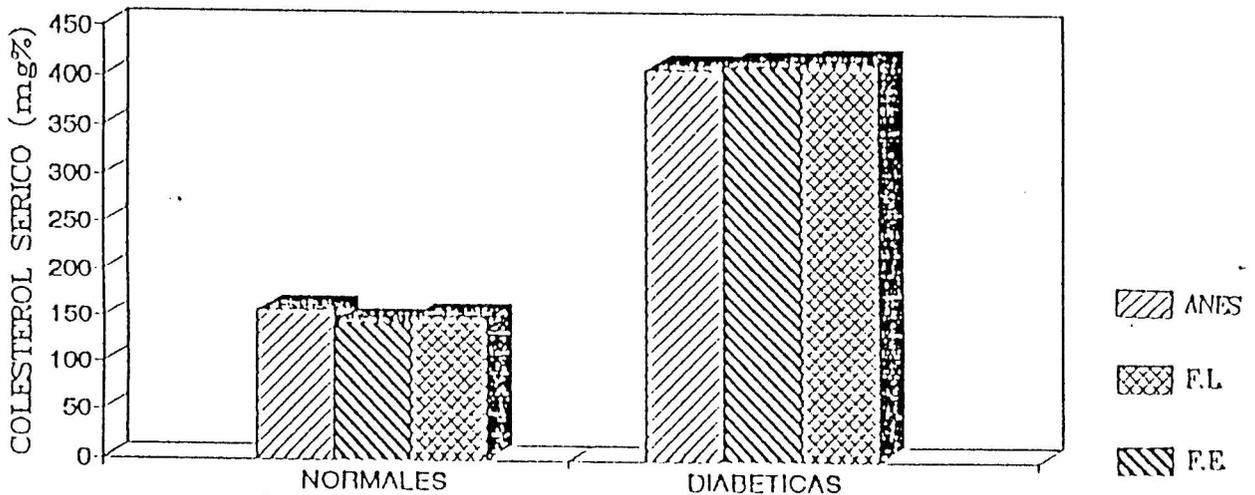


TABLA XXV- Análisis de variancia de los resultados de la medición de colesterol sérico en perras normales y diabéticas en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Método análisis de dos factores (Grupo, Fase) con 5 observaciones por casilla. Número de casos por grupo: 5 (cinco).

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
GRUPO	512736,13	1	512736,13	153,25 ++
FASE	141,26	2	70,63	0,02
G x F	33,26	2	166,63	0,05
Error	80297,2	24	3375,72	

LIPIDOS TOTALES SERICOS:

Los resultados medios de la determinación de lípidos totales séricos en perras en ayunas, normales y diabéticas espontáneas en anestro, en la fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales se muestran en el Gráfico XVI. Los datos originales correspondientes, se estudiaron estadísticamente por el análisis de variancia de 2 factores (Grupo, Fase), con 5 observaciones por casilla. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla XXVI. Como se puede ver, hubo efectos significativos del grupo ($P < 0,01$), de la fase ($P < 0,01$) y de la interacción Grupo - Fase ($G \times F$, $P < 0,05$).

Debido a que la interacción $G \times F$ resultó significativa, se estudiaron por separado los dos grupos de perras (normales y diabéticas) en lo que respecta a su efecto sobre las distintas fases (anestro, fase estrogénica, fase luteal). Se aplicó para eso el método de Tukey (Winer B. 1971), observándose los siguientes resultados:

- 1) Hay diferencia entre la concentración de lípidos totales séricos medios de las perras normales y diabéticas.
- 2) En las perras normales no hubo diferencias significativas para esta variable en las distintas fases del ciclo estral ($P < 0,05$).
- 3) En las perras diabéticas hubo diferencias significativas para esta variable en las distintas fases. La concentración de lípidos totales séricos de las perras en la fase estrogénica, no difirió de la observada en aquellas que estaban en fase luteal.

GRAFICO XVI- Niveles de lípidos totales séricos en perras en ayunas, normales y diabéticas espontáneas, en anestro, fase estrogénica (F.E.) y luteal (F.L.) de sus ciclos sexuales.

Extracción de sangre en la vena periférica. Método de medición en suero: equipo comercial laboratorio Wiener. Se indican medias aritméticas. Número de animales por grupo: 5 (cinco)

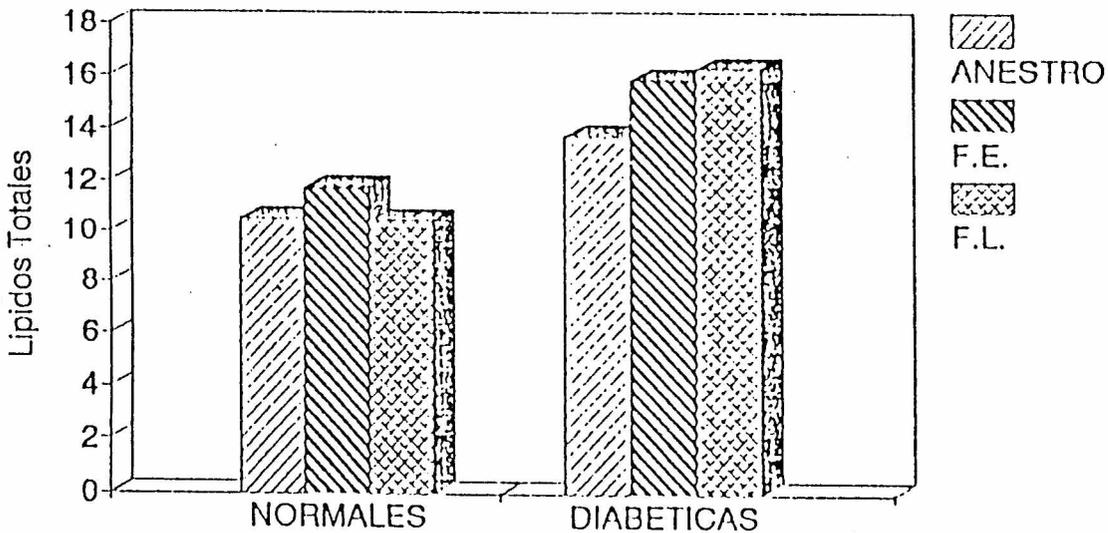


TABLA XXVI- Análisis de variancia de los resultados de la medición de lípidos totales séricos en perras en ayunas en anestro, fase estrogénica y luteal de sus ciclos sexuales.

Se estudiaron los datos originales por análisis de variancia de 2 factores (Grupo, Fase) con 5 (cinco) casilleros por grupo. Se dan las medias en el Gráfico XVI.

Fuente de variación	SC	g.l.	CM	F
GRUPO	145,20	1	145,20	117,4 ++
FASE	14,90	2	7,45	6,02 ++
G x F	8,74	2	4,37	3,53 +
Error	29,7	24	1,24	

DISCUSION:

Glucemia:

En los mamíferos normales, la homeostasis del nivel glucémico depende de: (1) el débito hepático de glucosa, dependiente de la glucogenolisis y glucólisis y (2) la penetración de la glucosa proveniente de la sangre a las células de diversos tejidos. Estos dos mecanismos son regulados por el nivel de glucemia y por la acción del glucagon (Rico A. y col. 1985). En el hígado, músculo esquelético y tejido adiposo la penetración de la glucosa es insulino-dependiente.

En las perras estudiadas aquí (normales y diabéticas), se ha alterado el nivel glucémico basal por la administración endovenosa de insulina y glucosa, causándose en ellos hipo e hiperglucemias respectivamente. Se sabe que cuando la glucemia basal es alterada en el organismo se ponen en marcha mecanismos compensatorios de diversa índole (Gerich J. 1988). Así al desencadenarse una hipoglucemia marcada se evocan acciones contrarregulatorias endógenas rápidas (acción del glucagon y catecolaminas) y también respuestas más tardías mediadas por los glucocorticoides y GH. Por otro lado, en las pruebas endovenosas de glucosa realizadas en este trabajo, se observó hiperglucemia en todos los animales normales, en reposo sexual.

Se sabe que en ayunas, la secreción de glucagon y la de insulina no se encuentran particularmente influenciadas (Gerich J. 1976), o sea que un aumento mínimo del nivel

glucémico inhibe directamente la secreción del glucagon, en relación directa al valor de glucemia alcanzada. Este mecanismo es de mayor importancia que aquél que produce estimulación en la secreción de insulina y consiguiente inhibición en la de glucagon (Gerich J. y col. 1976; Unger R. 1981; 1985).

Pero en un sistema autolimitante como el de las perras inyectadas con glucosa, el estímulo es mucho mayor, lo que origina una respuesta insulínica bifásica (segunda parte de la prueba endovenosa de glucosa) (Press M. 1988). En la segunda parte de la curva de glucosa se produce un aumento de las hormonas contrarregulatorias en circulación, (glucagon, adrenalina, GH y cortisol) que son antagonistas de la insulina (Smith U. y Lager I. 1989) y actúan liberando glucosa hepática y aumentando su formación (Bratusch-Marrain P. y col. 1983).

En los animales diabéticos monogástricos, la DM genera las siguientes alteraciones: hiperglucemia, glucosuria, cetonuria (a veces) y acidosis, con eventual coma. En esas condiciones, la diabetes es una enfermedad bioquímica, que perturba profundamente los sustratos energéticos celulares, ya que afecta el metabolismo hidrocarbonado, lipídico y proteico en grado variable (Rico A. y col. 1985).

Algunas de las perras diabéticas de este estudio presentaron una respuesta insulinémica normal e incluso mayor que lo normal, pero en otras esta variable respondió en forma mínima. Dicha particularidad insulínica no es única. El glucagon parece ser importante en la iniciación del daño metabólico ocasionado por la DM (Bratusch-Marrain P. 1983). En la diabetes, du-

rante una hipoglucemia se produce una debilitada respuesta glucémica mediada por el glucagon, a la que se suma además una escasa capacidad inhibitoria del glucagon circulante por la hiperglucemia (Gerich J. y col. 1976, b). Tal es así que Gerich J. (1976 a,b) propone una teoría que dice que la DM, en el hombre, puede ser originalmente debida a una anormal sensibilidad de las células A y B pancreáticas al nivel glucémico, las que no responden ni a la hipo ni a la hiperglucemia. La principal y primera deficiencia contrarregulatoria observada es la disminución o anulación de la respuesta a la acción hiperglucemiante del glucagon, por lo que pese a existir en estos individuos un aumento de la biosíntesis de catecolaminas, la recuperación de la hipoglucemia es deficiente (Gerber A. y col. 1976; Bratusch-Marrain P. 1983; Clutter W. y col. 1988). Luego de esta primera deficiencia sobreviene la de la GH y cortisol, que hasta ese momento eran normales. También a largo plazo se reduce la acción de la adrenalina.

Según los resultados obtenidos en el presente trabajo, se demuestra que, tanto durante la prueba de glucosa, como en la de insulina, los niveles glucémicos son más elevados en las perras diabéticas espontáneas que en las hembras normales tomadas como control. Según lo mencionado anteriormente, con toda probabilidad, esta deficiencia se debe a un desequilibrio regulatorio-contrarregulatorio ejercido por la insulina y las hormonas antagonistas de la insulina.

Experimentos anteriores (Renauld A. y col. 1982) demuestran que, en el curso de las pruebas endovenosas de glucosa, existe una moderada intolerancia a dicha sustancia en las perras normales, durante su ciclo estral (proestro, estro y metaestro). Sin embargo la velocidad de aclaramiento de la glucosa circulante, en las diversas fases del ciclo, no fue alterado. Es de destacar que estos animales fueron mantenidos durante la experiencia en cautiverio (bajo techo, en jaulas individuales). Las perras estudiadas en esta Tesis, que se encontraban en semilibertad en caniles, condujeron a resultados algo diferentes, en cuanto a la tolerancia a la glucosa, durante el ciclo estral. Por ello, también se utilizaron, en este trabajo, controles en condiciones similares.

Las curvas glucémicas observadas durante la prueba de glucosa, en las perras normales en anestro, difirieron de las halladas en perras ciclantes (fase estrogénica, fase luteal), las cuales fueron algo más bajas y no difirieron entre sí. Las mismas alteraciones ocurrieron en sus respectivos espacios de distribución de la glucosa. No hubo cambios en la $t_{1/2}$ de glucosa en circulación, la que no se modificó durante el ciclo. En la prueba de insulina no se observó ningún efecto de las fases en las perras normales o diabéticas.

Es evidente que las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal deben haber ejercido, en forma directa o indirecta, sus acciones en las perras en ciclo estral, ya que están ausentes en aquellas en anestro.

Si se estudian los trabajos realizados a nivel experimental, sobre las acciones endócrinas y metabólicas de estas hormonas en forma individual, se verá que no parecen explicar las variaciones del perfil glucémico durante el ciclo estral. El estradiol administrado en dosis farmacológicas a perras normales en anestro, les provoca la aparición de un estro intenso acompañado de moderada intolerancia a la glucosa (Renauld A. y col. 1983), mientras que en dosis bajas dentro del rango fisiológico, les induce una fase estrogénica totalmente desprovista de acción sobre la tolerancia a la glucosa (Renauld A. y col. 1991). La administración de progesterona, en una aplicación única de 5 mg totales en animales de 15 kilogramos de peso corporal, causa severa intolerancia a la sobrecarga de glucosa en perras en anestro (Renauld A. y col. 1989).

En experimentos en donde las perras ciclan sexualmente por administración secuencial de estrógenos y progesterona se observa una tolerancia elevada a la glucosa, tanto en la fase estrogénica como en la luteal de dichos ciclos (Renauld A. y col. 1990). No se han hallado trabajos que relacionen el resto de las hormonas intervinientes en el ciclo sexual (factores liberadores de gonadotrofinas, FSH y LH) con este tema.

En el presente estudio, se observó que las perras, en fase estrogénica y luteal, presentan una tolerancia a la glucosa algo elevada. Esto puede explicarse, por la acción secuencial de estrógenos y progesterona en la perra en anestro, que modifican la capacidad diabetógena de la progesterona sola, lo

que permite al animal presentar una excelente tolerancia a la glucosa con niveles de insulina sérica relativamente bajos (Renauld A. y col. 1990).

En las perras diabéticas estudiadas, los perfiles glucémicos y el espacio de distribución de la glucosa, durante la prueba de glucosa, observados en el anestro, no difirieron de los hallados en las fases estrogénicas y luteal. De estas dos fases, el pico más elevado de la curva de glucemia y el mínimo espacio de glucosa corresponden a la fase luteal.

Es muy escaso lo que aporta la bibliografía sobre la relación diabetes-ciclo estral, por lo que es particularmente difícil discutir este punto. Solo se puede destacar al respecto, que como los pacientes diabéticos son muy sensibles a la estimulación de la secreción de GH, parece lógico que la fase luteal del ciclo estral esté vinculada con intolerancia a la glucosa, causada quizás por la acción estimulante de la progesterona sobre la mencionada hormona, tal como sugieren Eigenmann J. y Peterson M. (1984).

INSULINEMIA:

En el ser humano la glucosa es el mayor estímulo fisiológico de la secreción de insulina (Gerich J. 1976, b; Fujimoto N. y Metz A. 1984). En los animales estudiados se ha observado que en los controles normales en anestro, la respuesta insulínica a la hiperglucemia existe, pero es sumamente baja, no alcanzando significación estadística. Esto concuerda con otras investigaciones realizadas en condiciones experimentales

(Renauld A. y col. 1982; 1989; 1990; 1991).

En cambio, las perras diabéticas controles en anestro respondieron a la hiperglucemia con un aumento de la insulina sérica inmunorreactiva, algo mayor que lo normal. Esta elevación del perfil de IRI no se debe ni al espacio de distribución de insulina, ni al tiempo de media vida ($t_{1/2}$) de dicha hormona (que son prácticamente similares en las perras en anestro, normales y diabéticas, sino que, con toda probabilidad está vinculado con un aumento de la secreción de la hormona.

Las perras normales durante el ciclo estral, mostraron una respuesta insulínica aumentada a la hiperglucemia, que fue mayor en la fase estrogénica que en la luteal. En cambio, las perras diabéticas no respondieron a la hiperglucemia con hiperinsulinemia cuando ciclaron sexualmente (fase estrogénica o luteal). En los animales normales, ni la fase estrogénica ni la luteal afectaron el espacio de distribución de la insulina, así como tampoco la $t_{1/2}$ de dicha hormona en la circulación. Por eso se puede sugerir que los aumentos del perfil de IRI sérica, operando en ambas fases del ciclo estral, se deben muy probablemente a un aumento de la secreción de insulina, particularmente en la fase estrogénica. En las perras diabéticas en fase estrogénica, no se afectaron ni el espacio de distribución de la insulina, ni la $t_{1/2}$ de dicha hormona en sangre. La ausencia de cambios en estos factores extrapancreáticos indica que la anulación de la respuesta insulínica a la hiperglucemia en esos animales se debe a un total impedi-

mento de la secreción de insulina. La interpretación de la anulación de la respuesta insulínica a la hiperglucemia, en las perras diabéticas en fase luteal, parece más complicado de analizar. Para empezar, no se conocen con exactitud los niveles de las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal que acompañan los cambios en la insulinemia y glucemia en esta fase durante la diabetes. Su estudio parece indispensable, porque las perras diabéticas presentan una cierta dificultad para iniciar sus ciclos y particularmente para completarlos. Es probable, que las perras diabéticas en fase luteal presenten una inhibición de la secreción de insulina, como surge de la degranulación de islotes observada en estos animales por Eigenmann J. y Peterson M. (1984). Esto explicaría el perfil plano de IRI sérica durante la prueba de glucosa, a lo que se opone apenas una mínima reducción del aclaramiento de insulina circulante que se observó en este trabajo. Pero, lo que parece indiscutiblemente capaz de aplanarlo en estos animales, es un enorme agrandamiento (2200 % aproximadamente) del espacio de insulina (mecanismo extrapancreático), que aquí se presenta.

Es evidente que la presencia de las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, en las perras normales ciclantes, han provocado las variaciones del perfil insulinémico, durante el ciclo estral lo que no ocurrió en los controles en anestro. La influencia de las hormonas del mencionado eje en la regulación del perfil insulinémico ha sido analizada por Renauld A. y col. (1983) en caninos en anestro mediante la administración de esas hormonas, en forma separada o secuencial. Así, se

observó, que la administración de estrógenos en dosis farmacológicas no afecta la respuesta insulinémica a la hipoglucemia y ocurre moderada intolerancia a la glucosa (Renauld A. y col. 1983). En cambio, administrando benzoato de 17-beta-estradiol a nivel fisiológico (útil para desencadenar la fase estrogénica de ciclos sexuales endometriales anovulatorios), la respuesta insulinémica resultó no significativa y las curvas de glucemia mostraron una tolerancia a la glucosa similar a la hallada en el anestro (Renauld A. y col. 1990). Por otro lado, si se administraba FSH y LH secuencialmente y se estudiaban las perras durante la fase estrogénica resultante (proestro), se hallaba un intenso aumento de los niveles de IRI sérica durante la prueba de glucosa (2 veces el valor normal), con intolerancia a este azúcar similar al anestro (Renauld A. y col. observación no publicada 1991). La progesterona, administrada en dosis fisiológica a perras en anestro, les aumenta sensiblemente el perfil de insulinemia y produce una intolerancia a la glucosa bastante marcada (Renauld A. y col. 1989, 1990). Como complemento de investigaciones anteriores, Renauld A. y col. (1990) han realizado estudios pareados en perras en anestro recibiendo: 1) la secuencia estradiol-progesterona, o 2) la secuencia estradiol-vehículo de la progesterona. En ambos tratamientos, se desencadena inicialmente la fase estrogénica de su ciclo estral que continúa hasta su fase luteal sólo en el grupo 1; en el grupo 2, después del estro se pasa por estadios indefinidos con frotis vaginales atípicos, retornándose a continuación al anestro.

En estas circunstancias, en el grupo 1 durante el metadiestro temprano, se detectó una respuesta insulinémica de intensidad similar a la observada en el anestro y tolerancia a la glucosa también similar. En tiempo pareado con dicho metadiestro, en el grupo 2 se observaron algunas variaciones endócrino-metabólicas residuales después de pasado el estro. Se piensa que éstas son acciones endócrino-metabólicas residuales las que interaccionan con las de la progesterona en momentos del metadiestro, en el grupo 1, suprimiendo la desmedida respuesta insulinémica y la tolerancia a la glucosa. Estas se hubieran producido si se hubiese administrado sólo la progesterona, cuya acción se indica más arriba en este párrafo.

En el presente trabajo se halló que, en las perras normales, existe una apenas mejorada tolerancia a la glucosa durante todo el ciclo sexual, (ambas fases) junto con una aumentada respuesta insulínica a la sobrecarga de glucosa. Esto indica que existe en estos animales una moderada insulino-resistencia compensada, con la posibilidad de aumento de la secreción de insulina. No sucede así durante experimentos de inducción del ciclo sexual artificial, en perras en anestro, por la administración de la secuencia de estrógenos y progesterona a nivel fisiológico (Renauld A. y col. 1990). Por ello no puede descartarse la participación de las hormonas ováricas en la producción de insulino-resistencia y aumento de la secreción de insulina, durante el ciclo espontáneo, que se muestra aquí. Parece mucho más probable plantearse que la regulación del nivel glucémico e insulinémico resultaría de la acción de

la FSH, LH y hormona liberadora de gonadotrofinas en la fase estrogénica y luteal. No se puede disponer de datos sobre esa acción de la FSH y LH, porque dentro de lo que se conoce hasta ahora, ellas desencadenan la fase estrogénica, llegando sólo al proestro y muestran dificultades para llegar a las restantes fases del ciclo, si no se completa el tratamiento con la administración de estrógenos y gonadotrofina coriónica. Por lo tanto, la administración de estas últimas (hormonas de preñez) interferirían en el estudio individual de la acción de la FSH y LH, sobre la glucemia e insulinemia en la perra no preñada.

Existen trabajos de Eigenmann J. y Peterson M. (1984) que enfatizan el hecho de que las perras diabéticas caen fácilmente en hiperglucemia grave, coma y muerte, durante la fase luteal de sus ciclos sexuales, debido a una intensa acción antagonista de la insulina, ejercida por la progesterona circulante, presente en altos niveles en ese momento. Sería una acción indirecta de esta hormona por un aumento del nivel de GH circulante. Según Eigenmann J. y Peterson M. (1984), en las perras diabéticas existe una reducida capacidad de inhibición de la GH sérica por la hiperglucemia, durante la sobreestimulación por la progesterona. Según la opinión del autor este hecho no sería privativo de la fase luteal (sí puede exacerbarlo), sino que caracteriza el estado diabético mismo, tal vez desde el anestro. Es posible que Eigenmann J. y col. hayan propuesto una interpretación lógica, pero no excluyente de otras. Es visible en el estudio presentado aquí, que en las

perras diabéticas en ciclo estral no existe una respuesta insulínica, no sólo en la fase luteal, sino también en la estrogénica. Durante la primera de ellas ocurriría en las perras diabéticas una diabetes somatotrofica desencadenada por la progesterona, con agotamiento de los islotes pancreáticos y alteraciones histológicas caracterizadas por lesión de los mismos y degranulación de las células B (Eigenmann J. y Peterson M. 1984). Similares alteraciones se hallaron en los caninos por la administración de GH. Habría que aclarar que la participación de la progesterona durante la fase luteal en el desencadenamiento de la descarga de la GH parece poco correcto, porque en las perras normales durante el ciclo artificial desencadenado por la administración en secuencia de estrógenos y progesterona, no produce insulino-resistencia y mayor respuesta insulinémica que en la estrogénica (Renauld A. y col. 1990). El estudio de Eigenmann J. y su grupo se basa en la acción diabetógena de los progestágenos sintéticos a nivel farmacológico en la perra, lo que es aceptado porque la progesterona sola, incluso a nivel fisiológico también la posee, tal como se demuestra más arriba. Pero hay que aclarar que, en secuencia con los estrógenos (Renauld A. y col. 1990), la progesterona a un nivel sérico fisiológico no es diabetógena en absoluto.

ACIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS SERICOS:

En todo este trabajo se prefiere el uso del término de "ácidos grasos no esterificados" en vez de "ácidos grasos li-

bres" ya que los ácidos grasos no unidos al glicerol (no esterificados) no circulan libremente en el suero, sino unidos a la albúmina (Ganong W.1979). La relación ácidos grasos no esterificados - albúmina del medio tienen una gran importancia, ya que la lipólisis disminuye al aumentar esa relación, tanto "in vitro" (Fain J. y Shephard R. 1975; Burns T. y col. 1978) como "in vivo", en el perro (Madsen J. y col. 1986).

Asimismo, se desea aclarar que la palabra lipólisis "in vivo" equivale a la velocidad de aparición simultánea de ácidos grasos no esterificados y glicerol en circulación (Wolfe R. y col. 1990).

Elevados niveles de AGNE circulantes, cuando tienen 3, 4, 5, 8, 16 carbonos y el oleato no saturado, son capaces, lo mismo que los cuerpos cetónicos, de promover la secreción de insulina e inhibir la de glucagón, según fuera recopilado por Czech M. (1981).

Como indica la teoría de Randle P. y col. (1963), los AGNE tienen capacidad de interferir la captación de la glucosa por los tejidos, en el hombre normal. Se observa esta acción durante la prueba de glucosa (Schalch P. y Kipnis D. 1965; Ferrannini E. y col. 1983) o después de la ingestión de glucosa (Felber J. y Vannotti A. 1964; Roussel E. y col. 1982).

Las perras normales en estudio han sido consideradas globalmente, sin tener en cuenta las fase del ciclo estral en que estaban, ya que el estudio estadístico indica que no existe acción especial de ninguna de las fases sobre dichos ácidos, durante la totalidad de la prueba de glucosa. Por lo tanto,

todas ellas son muestra de un mismo universo.

En el hombre, se sabe que el nivel de AGNE séricos disminuye después de la administración oral de glucosa (Dole V. 1956). En los caninos normales, se ha demostrado (Havel R. y Carlson L. 1963) que la administración endovenosa de glucosa produce inhibición de la liberación de dichos ácidos hacia la sangre desde los tejidos. Se considera que, el principal efecto de la glucosa en los tejidos, a éste respecto, consiste en promover la reesterificación de AGNE en el tejido adiposo, más que inhibir la lipólisis. Un estudio más reciente demuestra que, en el perro la infusión de glucosa produce también la inhibición de la lipólisis, siendo por lo tanto probable que dicho hidrato de carbono actúe según estos dos mecanismos propuestos, tal como ocurre en el hombre (Wolfe R. y col. 1987). En la prueba de glucosa en perras normales se encuentra que el descenso de los AGNE está evidentemente conectado con la hiperglucemia e hiperinsulinemia, observados simultáneamente. La insulina afecta el metabolismo por una acción esencialmente anabólica (Smith U. y Lager I. 1989), promoviendo la formación (entre otras cosas) de triglicéridos en el hígado, músculo y tejido adiposo. La base bioquímica de la acción de esta hormona sobre los tejidos no se conoce completamente. Se ha descrito que la concentración de AGNE circulantes es muy sensible a la acción de dicha hormona (De Feo P. y col. 1986); aquélla tiende a descender cuando la concentración sanguínea de ésta se eleva, según una recopilación de Scheurik A. y col

(1988). En los mamíferos, la insulina inhibe la movilización de AGNE hacia la sangre por: 1) aumento de la reesterificación endocelular de dichos ácidos y aumento de la disponibilidad de alfa-glicerofosfato (proveniente del metabolismo de la glucosa) (Steinberg D. y Vaughan M. 1965) y 2) inhibición de la lipólisis (Loten E. y Sneid J. 1970). En el tejido adiposo la insulina es antilipolítica, lipogénica y estimulante de la lipoproteína-lipasa, con lo que el tejido adiposo, aumenta el nivel endocelular de AGNE a expensas de los triglicéridos de las lipoproteínas de la sangre. En el hígado, la insulina aumenta la biosíntesis de AGNE y triglicéridos.

Durante la segunda parte de la prueba endovenosa de glucosa efectuada en este estudio, el nivel glucémico baja y la hiperinsulinemia se disipa. Como se describió anteriormente, el descenso rápido del nivel glucémico evoca la secreción de hormonas contrarregulatorias antagonistas de la insulina para impedir la hipoglucemia ocasionada por ésta (Fress M. 1988), transformando el metabolismo de una forma anabólica en una catabólica (Smith U. y Lager I. 1989). Las hormonas contrarregulatorias involucradas son: la adrenalina, glucagon, GH y cortisol, que suelen tener acciones lipolíticas especialmente cuando se presentan bajas concentraciones de insulina sérica. Estas conducen a una elevación tardía del nivel de los AGNE, en el que interviene en forma importante la hipófisis (recopilación de Goodman H. y Knobil E. 1961), lo cual no se llega a

observar en las perras normales controles usadas en este estudio, porque probablemente los experimentos se cortaron antes de que ocurriera dicha elevación.

La falta del aumento en los AGNE, en dichas condiciones no llamó la atención ya que, se ha observado en un estudio previo que existe una definida diferencia sexual en los caninos respecto a este punto. Las oscilaciones de estos ácidos durante la prueba de glucosa, fueron mucho más intensos en los machos que en las hembras, incluyendo una elevación tardía, 60 minutos después de la administración de la glucosa (Renauld A. y col. 1973). Un pico apenas mayor de hiperglucemia podría explicar, al menos en parte, las más intensas oscilaciones en los primeros. Por otro lado, hay una diferencia sexual en la hiperinsulinemia, la que es mayor en los machos como resultado de la administración de glucosa, esto permite interpretar la diferencia macho-hembra en el comportamiento de los AGNE (Renauld A. y Sverdlik R. 1975). La ausencia de esa elevación en los ácidos grasos en las perras puede deberse a: 1) una menor secreción de una o varias de las hormonas contrarregulatorias del nivel glucémico, que son lipolíticas, o 2) una menor sensibilidad de estos animales a esta acción lipolítica respecto de los machos. Esto queda por ser determinado, además no existe bibliografía vinculada con el tema. También es posible que en los machos el nivel de testosterona circulante haya jugado un papel lipolítico importante en la ocurrencia del aumento final en el nivel de AGNE (Renauld A. y col.1975).

En las perras en anestro, aquí estudiadas, no existió influencia, por acción las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico, sobre el rebote tardío de esos ácidos ya que estaban ausentes o circulaban a niveles bajísimos, en los animales en esta fase del ciclo estral. Sin embargo, el inicio del ciclo sexual, con el involucro hormonal correspondiente, no afectó la ocurrencia del aumento tardío. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en otro grupo de perras normales durante el ciclo sexual espontáneo (Renauld A. y col. 1982) o inducido artificialmente por la administración secuencial de beta-estradiol y progesterona, en dosis fisiológica (Renauld A. y col. 1991). Sin embargo se ha demostrado que tanto el estradiol (Renauld A. y col. 1983), como la progesterona sola (Renauld A. y col. 1989) afectan las oscilaciones de los AGNE durante la prueba de glucosa, pero la secuencia de ambos modifica su acción sobre esta variable en las perras. La ovariectomía, cuatro meses después de efectuada, hace que los AGNE respondan a la glucosa con descenso significativo y recuperación subsiguiente (Renauld A. y col. 1987). Tanto el descenso inicial, como el aumento ulterior son más intensos diez meses después de la ovariectomía (Renauld A. y col. 1991), pese a que las gonadotrofinas parecen tener poco efecto sobre esta variable, durante dicha prueba (Renauld A. y col. observación no publicada).

En lo que se refiere al comportamiento de los AGNE, existe mucha bibliografía sobre el tema en varias especies animales,

pero no en caninos. La mayor parte de las veces, en ella no se especifica a qué sexo corresponden los animales en estudio, obteniéndose en esas condiciones los resultados que se recopilan a continuación. La administración endovenosa de insulina a seres humanos les reduce el nivel sérico de AGNE (Dole V. 1956). En los mamíferos, la insulina inhibe la movilización de AGNE hacia el plasma, según dos mecanismos: 1) inhibición de la lipólisis (Loten E. y Sneyd J. 1970) y 2) aumento de la reesterificación de estos ácidos por aumento de la disponibilidad endocelular de alfa glicerofosfato (Steinberg D. y Vaughan M. 1965). Según la recopilación de Rico A. y col. (1985), en los mamíferos monogástricos la penetración de la glucosa en las células adiposas (la que se empleará a través de sus productos metabólicos, en la reesterificación de los ácidos grasos no esterificados) es insulino-dependiente. Se ha determinado, acerca del nivel de AGNE, que la acción de la insulina administrada es bifásica. Así, existe primero una disminución del nivel de ácidos grasos, por su reesterificación en el tejido adiposo (Fredrikson D. y Gordon R. 1958), seguido de un aumento de los mismos, en respuesta a la hipoglucemia inducida por la insulina y particularmente, por las hormonas contrarregulatorias, que se elevan por dicha hipoglucemia (recopilación de Armstrong D. y col. 1961).

Si vamos más al detalle de las acciones de la administración de insulina sobre el nivel de AGNE, recientes estudios (De Feo P. y col. 1986) han demostrado que durante la hipoglu-

cemia insulínica existe aumento de la captación de glucosa en los tejidos, por acción de esta hormona, mientras que, durante una hipoglucemia de otro origen, se produce una disminución de esa captación. Experimentos actuales en el perro demuestran que una infusión continua de insulina provoca un aumento de la captación de glucosa por los tejidos, rápida hipoglucemia, aumento de la producción hepática de glucosa y consiguiente disminución de estos AGNE por lipogénesis consecutiva. Si la infusión insulínica es de gran magnitud, como para ocasionar el descenso glucémico a menos de 50 mg por 100 ml, dicha hipoglucemia induce una descarga simpática que hace elevar el nivel de AGNE. Esto no implica que la captación de dichos ácidos en el tejido adiposo se detiene, el proceso continúa; es sólo una respuesta a la acción lipolítica de las catecolaminas, la que produce un aumento de los mismos, que pueden llegar a sobrepasar el valor basal, junto con la ocurrencia de hiperglucemia (Armstrong D. y col. 1961). En el hombre se ha determinado que, durante la infusión prolongada de insulina, al principio aumenta la utilización oxidativa de la glucosa, momento en el que el nivel de AGNE disminuye, lo mismo que la oxidación de los lípidos. Posteriormente y por acción beta-adrenérgica, bloqueable con propanolol, el nivel de estos ácidos aumenta en sangre y la oxidación de la glucosa retorna al nivel basal. Esto quiere decir que la hiperinsulinemia aumenta la captación de glucosa "in vivo", lo que va, fundamentalmente, a estimular el mecanismo oxidativo de la glucosa; ocurre indirectamente una disminución de los AGNE en

la circulación, por inhibición de la lipólisis (Caprio S. y col. 1989). Estos experimentos en el hombre no hacen sino confirmar resultados previos obtenidos en los caninos (Wolfe R. y Shaw J. 1984). Así, se ha observado en la especie humana, que la hipoglucemia autorregula el nivel glucémico directamente por acción sobre la liberación de glucosa hepática (Ganda D. 1985), pero cuando la concentración de insulina llega a ser 10-100 veces el valor basal se comienza a apreciar la acción lipolítica de las hormonas contrarregulatorias de la hipoglucemia (recopilación Cryer P. y Gerich J. 1985).

De los estudios recopilados más arriba surge que, durante los primeros momentos de la prueba de insulina en el perro, en que existe hipoglucemia progresiva y muy elevados niveles de insulinemia, los AGNE deberían descender un poco o no descender, en tanto que en la segunda parte de la prueba ellos tendrían que aumentar por la acción de los factores contrarregulatorios de la hipoglucemia. Nada de esto ocurrió en las perras normales controles estudiadas aquí; en ellas no se observó aumento ulterior ninguno, sino más bien una continuación muy moderada del descenso inicial.

La insulina circulante interacciona con la secreción o acción de diversas hormonas. Así, después de la administración de insulina, cuando el nivel glucémico llega a ser 50-55 mg por 100 ml, se inhibe la secreción de insulina endógena en el ser humano normal, sin tener en cuenta el tiempo que se tardó en lograrlo; si esa hipoglucemia provoca aumento de AGNE, es-

tos inhiben la respuesta de la GH a la hipoglucemia por bloqueo de la respuesta de la GRH a nivel pituitario (Imaky T. y col. 1985; recopilación Press M. 1988).

Es imprescindible recordar, en esta parte de la Discusión, que tal como se mencionó anteriormente para la prueba de glucosa, en la de insulina también se ha considerado globalmente a todas las perras normales controles, sin tener en cuenta en qué fase del ciclo estral se encontraban, ya que el estudio estadístico correspondiente indicó que esta variable no fue afectada por el ciclo estral.

Se sabe que existe una diferencia sexual importante en el comportamiento de los AGNE al fin de la prueba de insulina en caninos machos (semejante a lo que ocurre en la prueba de glucosa), caracterizada por un intenso aumento de esta variable en machos, en momentos de predominio de la acción lipolítica de las hormonas contrarregulatorias de la hipoglucemia, lo cual no ocurre en hembras (Renauld A. y col. observaciones no publicadas, 1991). No existen datos en la bibliografía hasta el presente que permitan explicar totalmente estas observaciones. Según Renauld A. y col. (observaciones no publicadas, 1991), la presencia de elevados niveles de insulina circulante, hallada durante la totalidad de la prueba de insulina en las perras normales, en contraposición a valores más bajos en los machos parece ser un factor cuya acción lipogénica y anti-lipolítica sobrepasa incluso tardíamente el efecto lipolítico de las hormonas contrarregulatorias de la hipoglucemia y también explica al menos parcialmente, la ausencia de aumento del

nivel de AGNE al final de la prueba. Aparentemente la presencia de testosterona en los machos se suma o bien sinergiza la acción lipolítica que promueve la elevación de dichos ácidos "in vivo" (Renauld A. y col. 1986). Las perras en anestro, en las que se observó esa diferencia sexual, en el comportamiento de esa variable, durante la prueba de insulina (Renauld A. y col. observaciones no publicadas 1991) carecen o presentan niveles extremadamente bajos de hormonas sexuales circulantes, por tener el eje hipotálamo-hipófiso-ovárico en reposo, según la bibliografía, con lo que ninguna de estas hormonas, aparece como responsable de la reducida respuesta lipolítica a la hipoglucemia en estos animales. En el presente estudio se comprobó que el ciclo sexual no tuvo influencia alguna sobre los AGNE durante la prueba de insulina, a semejanza de lo observado en otro grupo de perras estudiadas por Renauld A. y col. (1982), durante el ciclo sexual espontáneo y artificial, éste último inducido por la administración secuencial de estrógenos y progesterona a dosis fisiológica (Renauld A. y col. 1990). La administración a hembras caninas en anestro de benzoato de estradiol (Renauld A. y col. 1983) o de progesterona (Renauld A. y col. 1989) solas les produce aumento de la concentración de dichos ácidos durante la hipoglucemia insulínica, pero esta característica se pierde por su administración secuencial (Renauld A. y col. 1990).

La acción de la DM sobre la regulación del nivel de AGNE

ha sido sumamente estudiada en el hombre, tanto desde el punto de vista experimental como clínico. En el perro, en cambio, no se ha estudiado hasta el presente, esta variable en la DM espontánea, aunque existen muchas investigaciones realizadas a nivel experimental, en esta especie.

Se sabe que en los mamíferos monogástricos, la DM perturba los sustratos energéticos celulares, ya que afecta no sólo el metabolismo hidrocarbonado y proteico, sino también el lipídico. En esos animales, durante la diabetes espontánea no se sintetizan prácticamente ácidos grasos no esterificados, por carencia de ATP y NADP⁺, predominando la degradación de lípidos (recopilación de Rico A. y col. 1985).

Para la interpretación de los resultados obtenidos en este trabajo, también se deben considerar las variaciones hormonales inducidas por la diabetes. En ella existe una deficiencia absoluta o relativa de insulina (recopilación de Felig P. y col. 1976; Kahn S. y Porte D. 1988); las células B pancreáticas de los diabéticos son normalmente sensibles a la estimulación por la hipoglucemia, pero segregan insulina deficientemente (Kahn S. y Porte D. 1988). Esta deficiencia es en parte compensada por un aumento del nivel glucémico de base, el cual es un mecanismo estimulante de la captación de glucosa por los tejidos (Kahn S. y Porte D. 1988). Además en la DM existen alteraciones en la secreción de hormonas contrarregulatorias de la hipoglucemia, de naturaleza lipolítica (recopilación de Bratusch-Marrain P. 1983).

Del mismo modo que en las normales, las perras diabéticas, durante las pruebas de glucosa e insulina, se consideraron globalmente, dado que el estudio estadístico indicó que no se produjeron cambios de esta variable en las diferentes fases del ciclo estral.

Resultó evidente que, durante dichas pruebas, los AGNE de las perras diabéticas no se elevaron en ningún momento por encima de los controles correspondientes a perras no diabéticas. Esto, se encuentra aparentemente en abierto desacuerdo, con el predominio de la acción de las hormonas contrarregulatorias sobre el metabolismo lipídico, como fuera recopilado más arriba. Sin embargo resulta importante aclarar, que las perras diabéticas en anestro estudiadas, se encontraban en un período de aparente compensación de su descontrol metabólico, mediante el aumento del nivel glucémico durante la prueba de glucosa y elevación de la respuesta insulinémica. Según los resultados que se muestran aquí, la falla en la lipogénesis y lipólisis aún no se ha presentado en estos animales y/o están aún ocultas por la compensación de las variables mencionadas. Así la acción lipogénica y antilipolítica de la glucosa, que ha sido descrita en detalle al principio de la discusión de esta variable, es un mecanismo que opera en función de la glucosa circulante, independientemente de la presencia de insulina y otras hormonas. También ha sido descrita allí en detalle la acción lipogénica y antilipolítica de la insulina. Durante la prueba de insulina realizada en perras normales, los AGNE, no respondieron a las acciones lipogénica y antilipolítica de

esta hormona y no hubo aumento ulterior; se obtuvieron curvas de estos ácidos, absolutamente planas durante esta prueba. No se conoce por ahora el nivel de las hormonas contrarreguladoras de la hipoglucemia, que justifique la falta de cambios en esta variable en los perros y menos aún los hallados durante el ciclo sexual y la diabetes. Un estudio previo realizado por Renauld A. (observación no publicada 1991) permite afirmar que esa falta se manifestaba solo en las hembras que conformaban los grupos en estudio en aquel trabajo. Así, en la perra normal en anestro los AGNE aumentaron apenas 15-20 minutos después de la administración de insulina, retornando inmediatamente al nivel basal; en los machos, en cambio, el aumento fue mucho mayor. También se observó en el ciclo sexual, espontáneo (Renauld y col. 1982) o inducido experimentalmente, ya sea por estrógenos y progesterona administrados secuencialmente a dosis fisiológicas (Renauld A. y col. 1990) o por gonadotrofinas hipofisiarias (FSH y LH) (Renauld A. y col. observaciones no publicadas, 1991) que la falta de importantes oscilaciones se mantiene. Las hormonas sexuales femeninas, aparentemente, tendrían poca acción en la regulación de los AGNE durante la hipoglucemia insulínica, ya que ella no se afecta, por la ovariectomía, en esta especie, a corto o largo plazo (Renauld A y col. 1987; 1991). Sin embargo, dentro de lo que se sabe por ahora es la secuencia de las hormonas ováricas que ocurren durante el ciclo estral la que inhibe la oscilación de los AGNE durante dicha hipoglucemia. Tanto el benzoato de 17-beta-estradiol como la progesterona (Renauld A. y col.

1987) administrados individualmente a perras en anestro, les provocan un intenso aumento de dichos ácidos al fin de la prueba de insulina.

En las perras diabéticas en anestro durante la prueba de insulina, sí hubo una respuesta negativa de los AGNE inmediatamente después de la administración de insulina y ninguna evidencia de aumento ulterior. Esa respuesta negativa desapareció durante el ciclo sexual, al ponerse en marcha el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico, probablemente por la vía de las hormonas ováricas, como se discutió en el párrafo anterior. En las presentes condiciones experimentales, los AGNE de las perras diabéticas presentaron insensibilidad a la insulina. El hecho de que la respuesta negativa de esta variable, haya desaparecido en las perras diabéticas en anestro, no estaría ligado a una insensibilidad a la insulina en este período, sino más bien relacionado con niveles progresivamente menores de insulinemia alcanzados en las perras en el ciclo respecto del anestro, especialmente las diabéticas.

La ausencia de aumento de los AGNE al fin de la prueba de insulina, como en la de glucosa en las perras diabéticas o normales estudiadas, no puede ser explicada con fundamento por ahora, desde el punto de vista de las hormonas contrarregulatorias del nivel glucémico, porque ellas no han sido medidas en hembras caninas, separadamente de los machos, durante el ciclo estral. Existe sólo una serie de estudios (Krook L. y col. 1960; Wilkinson J. 1960; Tischler S. 1974; Siegel E. y col. 1977; Eigenmann J. 1981), que indican que las hembras ca-

ninas son más sensibles a la diabetes que los machos. Ellas tienen mayores requerimientos de insulina o se les manifiesta la enfermedad principalmente durante la fase luteal del ciclo estral, momento en que suelen presentar cuadros cetoacidóticos muy graves (Wilkinson J. 1960; Eigenmann J. y Peterson M. 1984). Muchos otros investigadores indican que la manifestación o agravamiento del estado diabético en ciertos pacientes caninos se deben al aumento del nivel de GH circulante en sangre y a la falta de capacidad inhibitoria de esta hormona por la hiperglucemia, alteraciones secundarias a la elevada y sostenida concentración de progesterona, que caracteriza a la larga fase luteal en esta especie (Eigenmann J. y Peterson M. 1984). Este cuadro puede ser revertido por ovariectomía (Eigenmann J. y Peterson M. 1984). Tal como se mencionó anteriormente, no se ha medido hasta el presente la GH en sangre en las diversas fases del ciclo sexual de la perra, normal o diabética, separadamente de la de los machos, como para avalar estos resultados, los que por otro lado son bastante convincentes. Pero aún así, se puede afirmar desde ya que en la perra normal o diabética, no se observa ningún aumento de los AGNE al fin de la prueba de glucosa o insulina. Por ello la excesiva producción de estos ácidos no es evidentemente el origen de las crisis cetoacidóticas graves, que caracterizan la fase luteal del ciclo estral en la perra diabética. Además el hecho de que no se vea el aumento de los AGNE al fin de estas pruebas, no quiere decir que no esté presente, sino que es más tardío que en los machos. Esta explica-

ción se debería buscar a nivel de otra de las variables vinculadas con el metabolismo lipídico, de las que aquí se han estudiado.

GLICEROL SÉRICO:

El estudio de las perras, presentado en esta Tesis, demuestra claramente que, durante la prueba de glucosa, en el momento de hiperglucemia e hiperinsulinemia, la concentración de glicerol sérico aumenta en todos los tiempos respecto al valor basal, en los animales normales en anestro. Teóricamente, esto podría implicar un aumento en la producción de glicerol en el hígado o en el tejido adiposo, resultante del aumentado metabolismo de la glucosa en esas condiciones. Es importante señalar que los animales en esta prueba se hallan en plena etapa anabólica, lo que produce un descenso o valores mínimos en el nivel de AGNE circulantes. Ese aumentado tenor de glicerol sérico es inmediatamente esterificado por los AGNE, en el hígado o tejido adiposo, generando triglicéridos en diferentes tejidos. Además de éste mecanismo, se puede presumir como muy probable, que ocurra también una aumentada lipólisis. Si tenemos en cuenta que la lipólisis en el organismo está ligada a dos tipos de lipasa: la lipoproteín-lipasa y la lipasa sensible a hormonas (Banong W. 1979) y que esta última es insípida por la hiperinsulinemia presente en las condiciones experimentales que se discuten tanto es probable que la lipoproteín-lipasa sea la responsable del aumento del glicerol. Los AGNE no se detectaron aumentados, porque

transportados por la albúmina son probablemente reesterificados por el glicerol activado del metabolismo de la glucosa o generado por la gliceroquinasa. Esta interpretación parece tener sentido pues en las perras normales en anestro, durante la prueba de insulina, la hiperinsulinemia producida fue también acompañada por un aumento del glicerol sérico, que en este caso es pasajero, ya que la disponibilidad de glucosa para aportar glicerol en la esterificación de los AGNE, es mínima.

Se sabe que la diabetes altera el metabolismo del glicerol en diversas especies de mamíferos, incluido el perro (Havel R. y col. 1963; Havel R. 1965).

Tomando globalmente a todos los animales estudiados en anestro, se demuestra que existe una definida influencia de la DM sobre las concentraciones de glicerol sérico, durante las pruebas de glucosa e insulina. Así, al realizar la prueba de glucosa, en perras diabéticas en anestro, se eliminó la respuesta del glicerol sérico, contrariamente a lo visto en los animales normales. No se debe olvidar, que al descender el nivel glucémico durante la prueba de glucosa o al ocurrir la hipoglucemia durante la de insulina, se segregan hormonas antiinsulina contrarregulatorias del nivel glucémico, según se mencionó con anterioridad. De éstas, las primeras en actuar son las catecolaminas y el glucagon y posteriormente la GH y los corticoides (todas hormonas lipolíticas). Con respecto a la acción lipolítica de las catecolaminas, existe mucha bibliografía (Vanghan M. 1961; Persson B. y col.1971; Shaw W. y

col. 1975; Ganong W. 1979; Blom J. y col. 1982; Fain J. y Garcia Sainz A. 1983), que demuestra que la concentración plasmática de glicerol libre (Brenner K. y Guntler H. 1981) o bien de glicerol libre y AGNE, aumenta después de la administración de noradrenalina (Hagen J. y Hagen P. 1962; Bergman P. 1968).

En el perro normal, que nos interesa en este estudio en particular, la adrenalina aumenta el intercambio de glicerol en los tejidos, existiendo una correlación directamente proporcional a su concentración en el plasma (Shaw W. y col.1975).

Existen algunas otras hormonas antiinsulínicas que se comportan como lipolíticas al actuar sobre las células adiposas de rata normal. Entre ellas se encuentra la GH, que junto con la dexametasona, aumenta la liberación de glicerol (Fain J. y Shephard R. 1975).

Sin embargo, resulta interesante señalar que en los experimentos cuyos resultados se muestran aquí, en las perras en anestro normales o diabéticas durante la prueba de glucosa o insulina, el nivel sérico de glicerol no ascendió al final de las mismas. En páginas anteriores, se señaló que el descenso del nivel glucémico durante la prueba de glucosa o la de insulina exógena en cantidades aproximadamente fisiológicas, produce rápida secreción de catecolaminas en animales normales y diabéticos y de glucagon sólo en los primeros; la acción de GH y glucocorticoides es posterior. Se indicó más arriba que estas hormonas antiinsulínicas, contrarregulatorias del nivel glucémico, son lipolíticas. En las perras normales o

diabéticas en anestro durante ambas pruebas, queda por determinar si ocurrió secreción de estas hormonas lipolíticas. Es probable que ésto haya ocurrido después de la terminación de los experimentos, pues ni siquiera en condiciones de máxima estimulación de dichas hormonas (hipoglucemia insulínica) se aprecian elevaciones del nivel de glicerol sérico y de la concentración de las otras variables estudiadas en esta Tesis, en las perras en anestro, ya sean éstas normales o diabéticas. Teniendo en cuenta la experiencia al respecto, se puede decir que es muy posible que la carencia de elevación final de estas variables en las condiciones de este estudio, se deban simplemente a una característica sexual. Así, en trabajos previos se ha demostrado que en los perros machos normales se aprecia un intenso aumento de la concentración de AGNE, al final de la prueba de glucosa (Renauld A. y Sverdlik R. 1975) y especialmente en la prueba de insulina (Renauld A. y col. observación no publicada). Esta explicación vertida aquí, es pertinente ya que, como se recopiló al principio, los niveles de glicerol libre y AGNE varían normalmente, en forma correlacionada.

Los resultados que se presentan en esta Tesis indican claramente que los niveles de glicerol libre circulante, observados en las perras normales o diabéticas, en respuesta a la sobrecarga de glucosa o de insulina varían poco en el transcurso del ciclo estral espontáneo. En ambos grupos de animales se halló sólo un pequeño aumento de esta variable, durante la fase luteal, en ambas pruebas de sobrecarga. Este aumento po-

dría estar relacionado con un aumento de la lipólisis inducido por la GH, en presencia de glucocorticoides (hormonas fuertemente lipolíticas). Se ha descrito, que el nivel en sangre de esta hormona se eleva durante dicha fase, en la especie canina secundariamente a la acción de la progesterona (Eigenmann J. y Peterson M. 1984).

Resulta importante señalar que es complejo discutir las oscilaciones de esta variable en el ciclo estral y temas relacionados, debido a la absoluta carencia de bibliografía sobre el tema, no sólo en caninos sino en cualquier especie animal.

TRIGLICERIDOS SERICOS:

Según se observó en las perras normales en anestro, la prueba de glucosa provocó una respuesta hipertrigliceridemiante, que se presentó en un momento de hiperglucemia e hiperinsulinemia moderados, no estuvo vinculada con ninguna variación en el nivel de AGNE circulante, pero sí con una hiperglicerolemia. Esto parece sugerir que, en esas condiciones, hubo aumento en la producción hepática de triglicéridos y su secreción hacia la sangre, vinculada con la hiperglucemia e hiperinsulinemia, lo que coincide con las observaciones de Durrington P. y col.(1982) efectuados en ratas. Según estudios realizados en otras especies, no aún en el perro, esa producción de triglicéridos está bajo el control hormonal (Wolfe R. y Shaw J. 1987) y de sustrato (Miyoshi P. y col. 1988). La insulina favorece la disponibilidad endocelular de glucosa e

inhibe la acción de la lipasa sensible a hormonas (Best J. 1986). En esas condiciones, debe haberse producido un aumento de los depósitos de triglicéridos en el tejido adiposo, por estimulación de la lipogénesis y disminución de la movilización grasa, como ya se halló en el humano normal tratado con glucosa (Wolfe R. y col. 1987). En el presente experimento, la trigliceridemia aumenta durante la prueba de glucosa hasta llegar a una meseta, momento de balance de la síntesis e inhibición de la producción de triglicéridos totales o en fracciones lipoproteicas séricas ricas en ellas (Murthy V. y Shipp J. 1977; 1981). Por otro lado, un aumento progresivo de la gliceroemia se instaló en perras normales en anestro en el curso de la prueba de glucosa, según se muestra en esta Tesis. Esto implica que en las perras, como en otras especies de animales hubo secreción de hormonas contrainsulínicas, durante el descenso glucémico después del pico máximo causado por la sobrecarga de glucosa, posteriormente a un período de mezcla. El nivel de AGNE no aumenta acompañado al de glicerol libre, en las condiciones experimentales de este trabajo. Esto no es incongruente, ya que se sabe que los AGNE, resultan poco confiables como indicadores de la lipólisis "in vivo", y además está sujeto a reciclaje celular por acción de la hiperglucemia e hiperinsulinemia, típicamente lipogénicas.

Parece importante indicar que, tanto basalmente como durante la prueba de glucosa, las perras diabéticas en anestro estudiadas aquí, presentaron hipertrigliceridemia respecto de las controles normales en la misma condición sexual. La hiper-

trigliceridemia es la anomalía lipídica más común de los pacientes diabéticos humanos (Ganda D. 1985). Se sabe que la diabetes, en los caninos también provoca una hiperlipidemia, constituida básicamente por intensa hipertrigliceridemia, secundaria a la deficiencia insulínica (Rogers W. y col. 1975; Rogers W. 1977). Ella se manifiesta por aumento plasmático del nivel de quilomicrones y de la fracción LDL, junto con aumento de la banda electroforética correspondiente a las beta-lipoproteínas. Estas alteraciones se normalizan por la insulino-terapia (Rogers W. y col. 1975; Rogers W. 1977). Se ha demostrado, que en el perro, la hipertrigliceridemia causada por una diabetes experimental se debe a un aumento de la biosíntesis de triglicéridos (Balasse E. y col. 1972; Steiner G. y Murase T. 1975). Otros investigadores indican que se debe a una dificultad en la remoción de los triglicéridos circulantes (Basso R. y Havel R. 1970). En perros diabéticos con deficiencia insulínica severa, la producción hepática de triglicéridos se reduce en parte, en cuyo caso la disminuida eliminación de los mismos del plasma sanguíneo, realizada por los tejidos corporales adquiere también importancia para explicar su hipertrigliceridemia (Basso R. y Havel R. 1970). En las perras diabéticas en anestro, basalmente y durante la prueba de glucosa, la hiperglucemia y el más elevado nivel de AGNE son sustratos que favorecen una mayor biosíntesis de triglicéridos, en ambas oportunidades, como se ha descripto en otras especies de mamíferos (Greenfield M. y col. 1980; Weiland D. y col. 1980). También la hipertrigliceridemia en las perras

diabéticas en anestro puede estar vinculada con fallas en el sistema hormonal de la regulación de la trigliceridemia. Desde ya, ellas presentan una hiperinsulinemia mayor que lo normal en momentos de gran disponibilidad de glucosa, como se muestra en esta Tesis. Pero también parece probable que la secreción de hormonas contrarregulatorias antiinsulínicas estuviera también alterada en la diabetes canina, así como ocurre en la especie humana, aunque ésto queda por ser demostrado.

Contrariamente a lo que ocurrió en las perras normales en anestro, en las diabéticas en igual condición sexual, la trigliceridemia descendió después de la sobrecarga de glucosa, como se demostró en este trabajo. Es evidente que la biosíntesis de triglicéridos a partir de los AGNE ocurrió intensamente en el lote diabético, a juzgar por el más acelerado descenso de esos ácidos, observado en dicho grupo, bajo la acción de la hiperglucemia, (más intensas que lo normal en esas condiciones); la acción lipogénica de la glucosa intensificada por la insulina es bien conocida. Parece también claro que, en las perras diabéticas en anestro, la lipólisis debe haber estado muy inhibida durante la prueba de glucosa, porque su índice, el nivel sérico de glicerol libre, no cambió en el transcurso de la misma, según resultados también presentados aquí. Teniendo en cuenta todos esos hallazgos, se puede sugerir que es muy probable que el descenso de la trigliceridemia en las perras diabéticas en anestro, durante la prueba de glucosa resulta del predominio de la acción insulínica estimulante de la lipoproteín-lipasa que se sabe funciona en caninos (Rogers

W. y col. 1975; Rogers W. 1977), particularmente teniendo en cuenta que la hiperinsulinemia alcanzada en ellos en el transcurso de la misma es más elevada que lo normal.

En este estudio, la concentración de triglicéridos séricos en las perras normales y diabéticas, en anestro, basalmente y durante la prueba endovenosa de insulina, demuestran que dicha variable se encuentra más elevada en el lote diabético que en el grupo normal. Caben aquí las mismas consideraciones generales sobre este hecho que en el caso de la prueba de glucosa.

Durante la prueba de insulina, según los presentes resultados, las perras controles en anestro no respondieron a la acción de dicha hormona con rápidos cambios en el nivel de triglicéridos séricos; hubo en ellos un aumento del mismo, recién 20 minutos después de la administración de insulina, que se mantuvo hasta el fin de la prueba. Al principio de la misma y pese a la intensa hiperinsulinemia existente, no hubo hipertrigliceridemia en este grupo, posiblemente debido a la hipoglucemia concomitante. Tampoco hubo entonces aumento alguno del nivel de AGNE o de glicerol sérico, lo que hace pensar en una lipólisis inhibida por la elevada insulinemia a través de la acción antilipolítica directa de esta hormona (Ganong W. 1979; Best J. 1986). Es muy probable que, posteriormente la hipoglucemia insulínica haya provocado la secreción de hormonas antiinsulínicas, siendo las catecolaminas las de secreción y acción más rápida. La GH y el cortisol son de acción más lenta, ya que el tiempo requerido para la inducción enzimática que necesitan para actuar, sobrepasa el tiempo de

duración de estos experimentos, por lo que no serán tenidos en cuenta. No se conoce la acción del glucagon en la regulación del nivel de triglicéridos séricos en el perro; sólo se ha demostrado que lleva a la hipertrigliceridemia en el ser humano normal cuando se los administra en dosis elevadas (Ganda O. 1985).

Las catecolaminas, que son inhibidoras de la lipoproteína lipasa e hipertrigliceridemia (Best J. 1986), son rápidamente segregadas durante la hipoglucemia insulínica evocada, como se describe aquí y según se demostró en el perro macho (Reyes Toso C. y col. 1991). Son ellas y tal vez también el glucagon, aparentemente responsables de la hipertrigliceridemia observada en las perras normales controles en anestro, al fin de la prueba de insulina. Parece probable que las catecolaminas y el glucagon también causaron una moderada lipólisis, a juzgar por el aumento del nivel de glicerol libre sérico observado simultáneamente. Sin embargo no hubo aumento paralelo de la concentración de AGNE que lo confirme. Esto reafirma el hecho que los AGNE no son indicadores fidedignos de lipólisis, debido a su posibilidad de reciclaje a nivel tisular.

En el grupo diabético en anestro (comparado con el lote normal en la misma condición sexual), durante la prueba de insulina, hubo apenas una mayor pero más precoz y pasajera hipertrigliceridemia, lo cual coincidió con el retardo en la aparición de AGNE que se mantuvo durante toda la prueba, según se detalla en la presente Tesis. También se apreció un leve descenso en el nivel de glicerol libre al fin de la misma. En

estas perras diabéticas en anestro, frente a niveles similares de insulinemia, la mayor disponibilidad de glucosa y AGNE en circulación, ambos factores de sustrato que promueven la biosíntesis de triglicéridos (Greenfield M. y col. 1980; Wieland D. y col. 1980), aumentan la trigliceridemia rápidamente. Participan posiblemente en esta acción otros mecanismos que se detallan en la discusión de la prueba de glucosa (Murthy V. Y Shipp J. 1981; Wada C. y col. 1983). La hiperinsulinemia, alcanzada en las perras diabéticas en anestro, no parece haber tenido una influencia especial sobre el comportamiento de las variables mencionadas más arriba en ese párrafo, porque la magnitud de la misma es similar a la observada en el lote normal en idéntica condición sexual, tomado como referencia. Por otro lado, si bien es evidente que las perras normales controles en anestro respondieron a las hormonas antiinsulínicas regulatorias del nivel glucémico, segregadas durante la hipoglucemia insulínica, es evidente que esa contrarregulación no funcionó normalmente en el lote diabético en anestro. En estos animales hubo un progresivo descenso en el nivel de glicerol libre y posiblemente, empleo de dicho glicerol circulante en la gluconeogénesis hepática.

Es probable que los altos niveles de insulina alcanzados en las perras en anestro normales o diabéticas, durante la prueba de insulina, hayan afectado de algún modo la secreción o acción de las hormonas antiinsulínicas contrarregulatorias, (Boyle M. y col. 1991; Davis M. y col. 1991; Liu D. y col. 1991) predisponiendo al lote diabético a las alteraciones en

la contrarregulación que le son propias.

Según los resultados presentados, el ciclo estral de las perras normales y diabéticas durante la prueba de glucosa, inhibió la respuesta de los triglicéridos séricos totales, con matices en cada caso en particular. En el grupo normal, el aumento de la trigliceridemia que se observó como respuesta a la glucosa durante el anestro estuvo totalmente inhibido durante el ciclo, no existiendo diferencias significativas, entre la fase estrogénica y la fase luteal. En las perras diabéticas, hubo hipertrigliceridemia respecto de las normales durante esta prueba, tanto en anestro como en cualquiera de las fases de su ciclo sexual. El descenso en esta variable, observado después de la sobrecarga de glucosa, en las perras diabéticas, se demoró y redujo durante la fase estrogénica, llegando a inhibirse totalmente en la fase luteal.

Parece importante señalar el comportamiento de las otras variables endócrinas y metabólicas bajo la influencia de la sobrecarga de glucosa, comparándola con los triglicéridos séricos, durante el ciclo estral, según se estudió en esta Tesis. Así, en las perras normales, durante la fase estrogénica, comparada con el anestro, la hiperglucemia alcanzada fué más baja, acompañándose de una intensa hiperinsulinemia, no afectándose el descenso del nivel de AGNE, ni la hipercolesterolemia, pero sí hubo inhibición total de la trigliceridemia. Es como si el intenso aumento del nivel de insulina circulante correspondiente a la fase estrogénica hubiese actuado fuertemente, disminuyendo el nivel glucémico (por inhibición de la

glucogenolisis y gluconeogénesis) y trigliceridemia (activando la lipoproteína-lipasa). Es evidente que durante esa fase ocurrieron: lipólisis y biosíntesis de triglicéridos de igual magnitud que en el anestro, a juzgar por la hiperglicerolemia y el descenso en la concentración de AGNE, de intensidad similar a los observados en esta fase. En las perras normales, en fase estrogénica del ciclo estral, durante la prueba de insulina, la hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipercolesterolemia, como así también la ausencia de cambios en el nivel de AGNE, fueron similares a los hallados en las perras normales controles en anestro.

Resulta entonces, que en las perras normales, si la disponibilidad de insulina circulante es fija (prueba de insulina), el comportamiento de ésta y de las hormonas antiinsulínicas contrarregulatorias sobre las variables metabólicas estudiadas aquí, no es afectado por el ciclo estral, en su fase estrogénica. En cambio, si la disponibilidad de insulina circulante aumenta durante la misma fase respecto del reposo sexual (prueba de glucosa), ésto repercute en la remoción de glucosa y triglicéridos, que aumenta respecto del anestro, no ocurriendo cambios en la velocidad de recambio de AGNE circulantes, por ausencia de cambio en la lipólisis y en la remoción de dichos ácidos en la corriente sanguínea.

En las perras normales en la fase luteal de su ciclo, durante la prueba de glucosa, se obtuvieron los siguientes resultados: 1) la hiperglucemia alcanzada fué mayor que en el anestro (Menor que en la fase estrogénica), 2) la hiperinsuli-

nemia alcanzada fué mayor (menor que en la fase estrogénica), 3) el descenso de los AGNE no se afectó por el ciclo, 4) la hiperglicerolemia fue apenas más elevada que en el anestro y que en la fase estrogénica y 5) la trigliceridemia no varió (como en la fase estrogénica, inhibiéndose totalmente el aumento observado en el anestro). La mayor hiperinsulinemia alcanzada, respecto del anestro, produjo un mayor efecto regulador del nivel glucémico que en éste. En esas condiciones la hiperglucemia alcanzada fué igual que la lograda en la fase estrogénica, con menor hiperinsulinemia, lo que indica que durante la fase luteal, la contrarregulación de la glucemia fue menor que en la fase estrogénica de la perra normal. Durante la fase luteal, se observan dos cambios fundamentales: 1) un descenso del nivel de AGNE semejante al del anestro y fase estrogénica, el cual debería producir triglicéridos con igual nivel al de las otras dos fases, 2) la lipólisis fue apenas más elevada que en el anestro y fase estrogénica (a juzgar por los cambios en la glicerolemia). A consecuencia de estos cambios, en el sustrato de la biosíntesis hepática de triglicéridos, en la fase luteal debería surgir que, en la perra normal, se produzca una reducción en la trigliceridemia respecto de la observación en el anestro y en la fase estrogénica, pero esto no sucede. La trigliceridemia resulta igual en ambos casos, según los resultados presentados aquí. Una explicación para esta circunstancia podría basarse en parte en que, en la fase estrogénica existe una mayor capacidad de remoción de triglicéridos circulantes (vía lipoproteín-lipása del teji-

do adiposo) compensando así la menor lipólisis. Esta sugerencia deja por supuesto, abierta la posibilidad de mediación de otros mecanismos.

En la perra normal, en fase luteal, durante la prueba de insulina, la hipoglucemia e hiperglicerolemia, fueron iguales a los hallados durante el anestro, como se muestra aquí. El nivel de AGNE no varió y la hipertrigliceridemia fue similar en dichas fases, como también se demostró.

Todas estas observaciones realizadas en la perra normal, en la fase luteal, en primera instancia, sugieren que si la disponibilidad de insulina es similar (prueba de insulina), todas las variables metabólicas oscilan de igual modo que en el anestro, frente a un efecto y antagonismo insulínico de igual magnitud que en el anestro y en la fase estrogénica. Si la disponibilidad de insulina es variable (prueba de glucosa), la regulación de las variables estudiadas depende básicamente de la concentración de insulina circulante, observándose aparentemente un menor grado de antagonismo a las acciones insulínicas: hipoglucemiante, lipogénica y estimulante de la lipoproteína-lipasa del tejido adiposo que en la fase estrogénica.

No existe bibliografía sobre estimulación de la trigliceridemia durante el ciclo sexual. Los primeros estudios realizados en la mujer sólo en la condición basal (De Mendoza S. y col. 1979; Kim H. y Kalkhoff R. 1979) no concuerdan con los presentes resultados, posiblemente porque una investigación de este tipo implica un estricto control dietético, que estos autores no tuvieron en cuenta (Woods M. y col. 1987), lo que se

ha hecho en este experimento. Los resultados obtenidos en la perra normal coinciden con estimaciones aisladas realizadas en la mujer normal, durante el ciclo menstrual (Demacker P. y col. 1982; Woods M. y col. 1987; Heiling V. y Jensen M. 1991). Así, Demacker P. y col. (1982) observaron que el nivel sérico basal de triglicéridos totales, LDL y HDL es igual en la fase estrogénica y luteal de dicho ciclo, aumentando en la fase anovulatoria los niveles séricos basales de triglicéridos totales y VLDL.

Es importante señalar que la mujer cicla continuamente durante un período de su vida, no existiendo entre esos ciclos sucesivos períodos de anestro. En la perras, en cambio, entre los ciclos estrales se intercalan períodos de anestro, caracterizados por reposo sexual, quiescencia ovárica y bajos niveles de hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. Estos períodos son interesantes para estudiar los cambios endócrino-metabólicos que acompañan a la inducción y mantenimiento del ciclo a través de la secreción de hormonas de dicho eje. Los cambios en las hormonas ováricas o hipofisarias, que ocurren durante el ciclo estral en la perra son complejos, pero han sido estudiados bastante bien. Así la concentración de los estrógenos, que se eleva progresivamente en la fase estrogénica, llega a un máximo en el momento de la ovulación (estro), se mantienen así unas dos semanas, descendiendo luego lentamente (Concannon P. y col. 1975; Edquist L. y col. 1975; Nett T. y col. 1975). El nivel de progesterona comienza a elevarse desde antes de la ovulación, llega a un nivel máximo algunos días

después y se mantiene así hasta el fin del metaestro (Concannon P. y col. 1975; Edquist L. y col. 1975; Nett T. y col. 1975). La hormona luteinizante, a baja concentración en sangre en la fase estrogénica y luteal (algo mayor en la primera), hace un pico elevado en el momento de la ovulación (Concannon P. y col. 1975; Nett T. y col. 1976).

En base a la existencia del período de anestro, en los caninos que se mencionan en el párrafo anterior, los resultados que se presentan aquí, permiten afirmar que el ciclo estral inhibe en grado variable las oscilaciones de la trigliceridemia, que ocurren en la perra normal o diabética, en el transcurso de las pruebas de glucosa e insulina. Dentro de los límites del diseño de esta Tesis, no es posible indicar cuál/es de las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico es la/s causante/s, directa o indirectamente, de esta inhibición y no existen por ahora estudios en los caninos que lo expliquen.

Hay trabajos relacionados con el efecto de algunas de las hormonas de este eje, sobre el nivel de la trigliceridemia, que fueron realizados en la mujer normal, sólo en la condición basal y empleando dosis farmacológicas de las mismas. Estos demuestran que la estrogenización aumenta la concentración de triglicéridos y de la VLDL circulantes por aumento de la producción hepática, pero sin afectar la velocidad de aclaramiento de los mismos (Knopp R. y col. 1981; Schaefer E. y col. 1983). En cambio, la administración de progesterona no afecta la producción de triglicéridos en hígado, pero disminuye su concentración en sangre por aumento del aclaramiento plasmáti-

co de los mismos (Kissebach A. y col. 1976). Los estudios mencionados se efectuaron desde el punto de vista farmacológico, por lo que no se pueden relacionar con las presentes investigaciones sobre ciclo espontáneo, en que las hormonas del eje actúan a un nivel sérico fisiológico y en forma secuencial. Por eso, se considera poco apropiado aplicar estos conocimientos a la discusión de los resultados de la medición de los triglicéridos considerados aquí.

A continuación se analizan los resultados acerca de la influencia del ciclo sexual sobre la trigliceridemia, en la perra diabética durante la prueba de glucosa. Ya se indicó que, en la perra diabética en anestro, la concentración sérica de triglicéridos totales disminuye, en esas condiciones. Esta disminución se atenúa y retarda sensiblemente en las perras diabéticas durante la fase estrogénica del ciclo estral. La administración de glucosa causó hiperglucemia intensa y sostenida (igual que en el anestro). Esto no logró evocar ninguna respuesta insulínica, pese a ello, el nivel de ácidos grasos descendió (igual que en el anestro), se obtuvo un perfil de glicerolemia igual que en el anestro y una curva de trigliceridemia en descenso progresivo, que alcanza significación a los 60 minutos (descenso menos intenso que en el anestro).

La observación más llamativa, de las obtenidas durante la prueba de glucosa, en las perras diabéticas en fase estrogénica, fue la inhibición total de la respuesta insulínica, habiéndose observado en el lote diabético en anestro la máxima respuesta del grupo, cuando se tiene en cuenta la condición

sexual. La biosíntesis de triglicéridos estuvo muy probablemente inhibida en estas perras severamente diabéticas (Basso R. y Havel R. 1970) por deficiencia absoluta de insulina, como se demostró. También se observó que el nivel de AGNE descendió un poco en ese lote de animales, siendo muy posiblemente metabolizados en forma preferencial a cuerpos cetónicos en el hígado. Estos pasan posteriormente a circulación y encuentran dificultades para su oxidación final en tejidos periféricos, según demostraron Basso R. y Havel R. (1970) en la diabetes canina. La lipólisis estuvo inhibida durante la prueba, a juzgar por la falta de cambios en la glicerolemia. Es obvio que la carencia de insulina endógena no estimuló convenientemente la lipoproteín-lipasa. De cualquier modo, la remoción de triglicéridos de la circulación predominó un poco sobre su producción y liberación hacia la corriente sanguínea, con lo que la trigliceridemia descendió algo y sólo en forma muy tardía durante esta prueba, en el grupo de perras diabéticas en fase estrogénica. En estos animales, se observó que: 1) la ausencia de cambios en el perfil glucémico y en el de AGNE respecto del anestro, 2) la posible falta de inhibición profunda de la lipoproteín-lipasa (ejercida normalmente por las catecolaminas y 3) la ausencia de lipólisis, aún en ausencia de hiperinsulinemia durante esta prueba sugieren, con insistencia que el antagonismo insulínico es bastante bajo en la fase estrogénica respecto al anestro, lo cual no ha sido nunca descrito.

En la perra diabética en fase estrogénica, hubo una peque-

ña respuesta hipertriglicéridémica durante la prueba de insulina, que consistió en un pequeño pico tardío observable sólo a los 30 minutos. Es evidente que esta respuesta está muy inhibida respecto de la observada en las perras diabéticas en anestro, en que por su duración e intensidad fué similar a la de las perras normales en idéntica condición sexual.

A continuación se verá como se modifican en forma concomitante las otras variables estudiadas, en las perras diabéticas en fase estrogénica. La administración de insulina exógena causó, hipoglucemia (similar a la observada en las perras diabéticas en anestro), hiperinsulinemia (casi igual a la hallada en el anestro, con 5 minutos menos de duración), ausencia de cambios en el nivel de AGNE (que descendían en el anestro) y de glicerol libre sérico (como en el anestro). La concentración de glicerol basalmente, fue igual a la hallada en el anestro, pero mayor que la correspondiente a la fase luteal, siendo máxima en las condiciones sexuales estudiadas. Por lo tanto, mientras que la perra diabética en fase estrogénica dispuso de una cantidad de insulina exógena predeterminada (prueba de insulina) la hipoglucemia y la ausencia de lipólisis se mantuvieron como en el anestro, no así las otras variables. Los AGNE no disminuyeron visiblemente en respuesta a la insulina. Estos generaron mínimas cantidades de triglicéridos, por la condición diabética, con lo que la hipertriglicéridemia apenas subió al fin de la prueba. Evidentemente, esto también resulta de la estimulación de la lipoproteína-lipasa del tejido adiposo, por el relativamente elevado nivel de in-

sulinemia alcanzado durante la prueba de insulina. La ausencia de lipólisis y de elevación final de AGNE, durante la prueba de insulina, como así también la muy probable falta de inactivación lipoproteinlipásica (normalmente ejercida por las catecolaminas circulantes) son evidencias a favor de la idea de que, en la perra diabética en fase estrogénica, el antagonismo insulínico está disminuido, respecto de la condición de anestro. Esto confirma la observación hecha durante la prueba de glucosa.

Se ha demostrado aquí que, en las perras diabéticas en fase luteal durante la prueba de glucosa, el nivel de triglicéridos séricos no cambió en absoluto. Para interpretarlo, es necesario hacer referencia a los otros cambios metabólicos ocurridos, en forma concomitante en esos animales. Así, la hiperglucemia evocada por la administración de glucosa, fué más elevada que las ocurridas en las perras en anestro o fase estrogénica. Pese a ello no se indujo ninguna respuesta hiperinsulinémica, con lo que esta anomalía resultó ser peor que la hallada en la fase estrogénica. Sin embargo, hubo un rápido descenso en el nivel de AGNE, como el hallado en las perras en anestro o en la fase estrogénica; la gliceroemia y la trigliceridemia no respondieron en absoluto durante la prueba.

Aparentemente, durante la prueba de glucosa, el hecho más llamativo observado en el grupo de perras diabéticas, en fase luteal, es la ausencia total de respuesta insulínica a la hiperglucemia, con lo que se determinó una mayor intolerancia a la glucosa que en las perras diabéticas estudiadas en otra

condición sexual. Parece que la captación de AGNE por los tejidos, fue poco afectada por esas circunstancias, ocurriendo de manera similar que en el período de anestro, en el que se disponen de niveles elevados de insulinemia durante la prueba de glucosa. Según Basso R. y Havel R. (1970), durante la deficiencia insulínica severa no se modifica cuali y cuantitativamente el metabolismo hepático de AGNE, no se generan grandes cantidades de triglicéridos ni anhídrido carbónico, diversificándose hacia la producción de cuerpos cetónicos. Estos pasan a la sangre, aumentando progresivamente su nivel por ausencia de su oxidación periférica, de origen diabético (Basso R. y Havel R. 1970). Siendo esto tal vez, lo que ocurre en las perras diabéticas en fase luteal. La deficiencia absoluta de insulina en estos animales, anula la actividad lipoproteín-lipásica causando dificultades en la remoción de los triglicéridos séricos. Según lo estudiado en las perras diabéticas en fase luteal que fueron evaluadas, la falta de cambios en la trigliceridemia durante la prueba de glucosa, sería resultante de una intensa disminución de la producción y secreción de triglicéridos hepáticos y una dificultad en la remoción de los triglicéridos circulantes. La ausencia de estos cambios durante la fase luteal, en comparación con la del anestro indicaría que durante la prueba de glucosa, en las primeras, el antagonismo insulínico es bastante bajo o por lo menos de igual magnitud que aquél de las diabéticas en fase estrogénica. Sin embargo, en las diabéticas en fase luteal, la tolerancia a la glucosa está más alterada que en las de fase

estrogénica, lo que sugeriría un grado o un tipo de antagonismo diferente en ambas fases del ciclo estral.

En las perras diabéticas en fase luteal, durante la prueba de insulina, la trigliceridemia no varió al principio y descendió al final de la prueba produciéndose un muy moderado descenso. Parece interesante comentar esta observación respecto de las modificaciones en las otras variables estudiadas simultáneamente, lo que también fue tratado en capítulos anteriores. La administración endovenosa rápida de insulina produjo hipoglucemia en este grupo, la que no difirió de la observada en condiciones similares, en las restantes perras diabéticas estudiadas, sea en el anestro o en la fase estrogénica de sus ciclos estrales. No obstante, no produjo hiperinsulinemia detectable en las condiciones experimentales, lo que sí ocurrió en las perras diabéticas de los dos grupos restantes. Como en la fase estrogénica, no hubo cambios en el nivel de AGNE (frente al descenso observado en el anestro) y no se produjo modificación alguna en la glicerolemia (que se mantuvo en el rango del anestro, por debajo de la observada en la fase estrogénica).

En opinión del autor, lo más importante de las observaciones del párrafo anterior, radica en que la perra diabética, en fase luteal, tiene una enorme capacidad para remover la insulina de la circulación. Esto resulta evidente en la prueba de insulina, en que se le introdujeron en la corriente sanguínea, cantidades conocidas de esta hormona, entre otras cosas, para estudiar su cinética de desaparición. Según se mostró en

otra parte de esta Tesis, aunque el tiempo de media vida de la insulina se triplica casi en las perras diabéticas en fase luteal, el espacio de distribución de la insulina inyectada está enormemente aumentado (14 veces aproximadamente), lo que las diferencia de las perras normales, ciclantes o no, y de las perras diabéticas en anestro o en fase estrogénica. Sin descartar otras posibilidades, este hecho permite explicar por sí mismo la falta de hiperinsulinemia, en respuesta a la prueba de glucosa en este grupo de animales, sin adentrarse en disquisiciones sobre la secreción de insulina en estas condiciones, la que no fue medida en el presente estudio. Los resultados presentados aquí, indican que en las perras diabéticas en fase luteal, durante la prueba de insulina, el antagonismo insulínico es aparentemente bajo, como se manifestó en el descenso glucémico, que es similar al hallado en perras diabéticas en anestro o en la fase estrogénica. La ausencia de hiperglicerolemia en el grupo de perras diabéticas, con valores de glicerol mínimos en este estudio, indica inhibición total de la lipólisis aún en la carencia absoluta de insulina, lo que reafirma la evidencia de una débil acción contrarregulatoria insulínica durante esta fase.

COLESTEROL SERICO:

Los resultados que se presentan en este trabajo muestran que, en la perra, ciclante o en reposo sexual, el nivel de colesterol total sérico basal aumenta moderadamente debido al estado diabético espontáneo.

Esta observación coincide con resultados previos presentados por Rogers W. y col. (1975) y Rogers W, (1977), quienes describieron que los niveles séricos de colesterol, total o transportado por fracciones lipoproteicas, está normal o moderadamente elevado en la condición diabética en hembras caninas. En pacientes humanos con DM espontánea, el nivel sérico de colesterol tiende a aumentar, como una manifestación del daño metabólico causado por la deficiencia absoluta o relativa de insulina (Bennion L. y Gundy S. 1977).

También se demuestra en esta Tesis que el nivel basal sérico de colesterol en las perras, normales o diabéticas espontáneas, no es afectado por el ciclo estral. Esta observación, está en claro acuerdo con los resultados de estudios similares efectuados en la mujer normal, durante el ciclo menstrual (Demacker P. y col. 1982; Woods M. y col. 1987). Es importante señalar que las perras de este estudio se encontraban bajo estricto control nutricional, como se hallaban las mujeres empleadas por Woods M. y col. (1987). Esta condición parece ser la clave (Woods M. y col. 1987) que elimina discordancias con estudios similares realizados por muchos otros investigadores que no lo tuvieron en cuenta (Pliver M. y Boyd C. 1953; Barclay M. y col. 1965; Kim H. y Kalhoff R. 1979; Ahumada Hemer H. y col. 1985). La variable estudiada se afecta poco o nada por la acción de las diferentes hormonas involucradas durante el ciclo estral de la perra, el cual es similar al de la mujer, pero mucho más prolongado. La observación del autor sobre dicha variable, es que ésta parece ser poco influenciada

por los esteroides gonadales en la condición fisiológica. Resulta indudable que la influencia de éstos, administrados separadamente o en secuencia, a la mujer (Knopp R. y col. 1981) o a la mona Rhesus (Schleicher R. y col. 1987), sobre la variable se debería al uso de dosis farmacológicas. Además, esto sugiere que en el estudio presentado aquí, el funcionamiento de la totalidad del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal en condiciones fisiológicas no afecta el nivel sérico de colesterol total en las perras normales y diabéticas.

LIPIDOS TOTALES SERICOS:

Según el presente estudio el valor medio basal de lípidos totales séricos en las perras en anestro es de 10 mg por dl. No se han encontrado publicaciones de otros autores sobre el tema. Solo Rogers W. y col. (1975) en su completo trabajo presentado en perros consignan valores de trigliceridemia, colesterolemia y glicerolemia pero no de lípidos totales.

En esta Tesis se demuestra también un efecto de la DM espontánea sobre el nivel de lípidos totales séricos en la perra sin tener en cuenta, en este caso, en qué fase del ciclo sexual se encuentra. Se detecta así que la DM aumenta moderadamente el nivel de esta variable en las perras estudiadas. Esto confirma los resultados de otros investigadores, quienes consideran que dicho aumento consiste en una hiperlipidemia secundaria a la deficiencia absoluta o relativa de insulina (Havel R. 1969; Rogers W. y col. 1975; Rogers W. 1977). Se sabe que en el perro esa hiperlipidemia es fundamentalmente una

hipertrigliceridemia, acompañada o no de una muy moderada hipercolesterolemia (Rogers W. 1977). El autor confirma esta observación según lo siguiente: en la perra diabética hay una intensa hipertrigliceridemia acompañada de una muy moderada hipercolesterolemia, lo que se detalla en los apartados correspondientes. El desarrollo de la hiperlipemia (sinónimo de hiperlipoproteinemia) en el perro diabético, es similar a la del humano diabético, por lo cual Rogers W. y col. (1975) han sugerido un modelo para el estudio comparativo de este fenómeno, en esas especies. Esto resulta particularmente importante pues no se ha hallado bibliografía referente a este tema en los caninos. Se considera que, en el hombre la hiperlipemia del diabético consiste en una hipertrigliceridemia que ocurre fundamentalmente por disminución de la actividad lipoproteín-lipásica, que es insulino-dependiente (Havel R. 1969). La hipertrigliceridemia del diabético no se debe a un aumento de la producción hepática de triglicéridos la VLDL; esto no ocurre pese a presentar aumentada disponibilidad de AGNE en el hígado, posiblemente también debido a la deficiencia insulínica (Rogers W. y col. 1975).

El ciclo sexual no afecta el nivel medio basal de lípidos totales séricos en la perra normal, según se demuestra en esta Tesis. Este resultado está de acuerdo con el obtenido por Demacker P. y col. (1982), quienes indicaron que las lipoproteínas séricas no varían durante el ciclo menstrual de la mujer. En cambio, no estaría de acuerdo con las publicaciones de Oliver M. y Boyd C. (1953) y de Kim H. y Kalhoff R. (1979),

quienes observaron, que no sólo los lípidos totales sino también las lipoproteínas séricas varían durante el ciclo sexual de la mujer.

Los resultados de este experimento acerca de la ausencia de cambios en el nivel medio de lípidos totales séricos, durante el ciclo estral de la perra, no deben en modo alguno compararse con las acciones que las hormonas ováricas o los contraceptivos orales (mezclas de estrógenos y progestágenos) ejercen sobre dicha variable (Krauss y col. 1979; Demacker P. 1982; Schaefer E. y col. 1983). Las razones por lo que esto no debe hacerse son varias. Para empezar, las acciones de las hormonas ováricas y contraceptivos orales se han estudiado usando, en general, dosis bajas, muy distantes de los cambios causados fisiológicamente por las hormonas gonadales durante el ciclo espontáneo, que se estudiaron aquí. Además, en dicho ciclo espontáneo ocurren no solamente cambios en las hormonas ováricas sino en la totalidad de las hormonas del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico, las que podrían influir sobre la variable en discusión. Esto parece importante porque en la mujer menopaúsica aumentan los niveles de triglicéridos y colesterol circulantes, por disminución de las hormonas ováricas y por elevación de gonadotrofinas hipofisiarias, respecto de la mujer en edad reproductiva, con un eje completo y funcionando (Hallberg L. y col. 1966).

En las perras diabéticas estudiadas en este trabajo, el nivel basal de lípidos totales séricos aumento durante el ciclo estral, sin mostrar diferencia entre la fase estrogénica y

luteal, respecto del hallado en la condición de anestro. Esta es una de las manifestaciones del dismetabolismo lipídico diabético, exacerbado por el ciclo sexual, que se aprecia en esa especie (Tischler S. 1974; Eigenmann J. 1984). También coincide con el aumento del requerimiento de insulina por la perra diabética durante el ciclo (Eigenmann J. y Peterson M. 1984). El hecho de que la variable en discusión aumente durante el ciclo sexual, en las perras diabéticas y que no lo haga en los normales controles es difícil de interpretar, con los conocimientos actuales sobre el tema. No existe motivo para culpar a las hormonas circulantes por el aumento de los lípidos totales séricos en la perra diabética, porque si bien las oscilaciones en su concentración en plasma durante el ciclo sexual en la perra normal han sido estudiados intensamente (Jones G. y col. 1973; Concannon P. y col. 1975, Edquist L. y col. 1975; Mellin T. y col. 1976), no se han analizado por ahora en las diabéticas. Sin embargo, es bastante probable que su nivel en sangre esté alterado por la diabetes y así produzca la exacerbación de la dislipemia diabética en el ciclo.

Tampoco se conoce en la perra el nivel de antagonistas de la insulina, durante el ciclo estral, que puedan exacerbar la dislipemia diabética. Han sido estudiados recientemente, en la mujer normal, durante el ciclo menstrual, observándose un aumento en los niveles de GH y glucocorticoides. Estas hormonas podrían, durante la diabetes, agregarse a la deficiencia de insulina, movilizandó lípidos tisulares y aumentando

su transporte en sangre y su acumulación en el hígado, generando hígado graso. Según Eigenmann J. (1983) en la perra diabética, las elevadas concentraciones de progesterona circulantes, durante el prolongado metadiestro (2 meses) del ciclo estral canino, evoca durante la fase luteal una intensa secreción de GH, la que produciría una reducción de la acción inhibitoria por la hiperglucemia. Sin embargo, según los experimentos presentados en esta Tesis, el aumento de la concentración basal de lípidos totales séricos no ocurre exclusivamente durante la fase luteal sino también y con igual intensidad en la fase estrogénica. Esto sugeriría que ya desde la fase folicular debería estar funcionando algún/os factor/es que influyen el nivel de lípidos totales circulantes, exacerbando la dislipemia de las perras diabéticas.

CONCLUSIONES:

Se ha estudiado la influencia del ciclo estral, en las perras normales y diabéticas, comparando el comportamiento en conjunto de algunas variables metabólicas: glucemia, insulí-nemia, trigliceridemia, glicerolemia y nivel de AGNE, en el curso de las pruebas de glucosa e insulina endovenosa.

En las perras normales en anestro existió una respuesta insulínica a la estimulación mínima y no significativa, que sí fue registrada durante el ciclo; los resultados sugieren la existencia de antagonismo insulínico, el que determina el comportamiento de las variables en estudio.

En las perras diabéticas, aparece el cuadro endócrino-metabólico típico, llegándose, durante todo el ciclo estral, especialmente en la fase luteal, a situaciones metabólicas comprometidas, de gran intolerancia a la glucosa y alteración del metabolismo lipídico, que explican la cetoacidosis y muerte descriptas en la bibliografía.

La observación más llamativa, hecha en perras diabéticas que ciclan, es la inhibición total de la respuesta insulinémica a la estimulación. Esta, en la fase estrogénica, se debe exclusivamente a la secreción disminuida de insulina; mientras que en la fase luteal, puede explicarse en gran parte por un enorme agrandamiento del espacio de distribución de la insulina (2200 %).

Según los resultados aquí presentados, que a juzgar por las oscilaciones de las variables metabólicas estudiadas, es

posible que en las perras diabéticas exista un bajo grado de antagonismo insulínico, lo que evita que la situación metabólica causada por la deficiencia absoluta de insulina empeore aún más. Sin embargo, es probable que el grupo heterogéneo de hormonas de contrarregulación provoque cambios de algún modo desconocido, durante el ciclo sexual en los caninos normales y diabéticos, lo que ha sido hallado recientemente en otras especies de mamíferos. En las perras diabéticas, se encontró que el nivel basal de GH circulante aumenta y la capacidad inhibitoria por la hiperglucemia disminuye, durante la larga fase luteal que caracteriza el ciclo estral de los caninos, mediada por los prolongados y elevados niveles de progesterona circulantes alcanzados entonces. También es posible concluir que la remoción de los ácidos grasos no esterificados de la corriente sanguínea no se modifique en las perras diabéticas por la ocurrencia del ciclo estral, pese a que en ese momento no se aprecia hiperinsulinemia después de la estimulación con glucosa. Se sabe que en el perro diabético, el metabolismo hepático de esos ácidos es derivado hacia la formación preferencial de cuerpos cetónicos (los que encuentran dificultades para su oxidación total a anhídrido carbónico y principalmente a su transformación en triglicéridos). Es probable que en las perras diabéticas estudiadas aquí, la deficiencia de insulina en forma absoluta, existente durante el ciclo (ambas fases), cause una incapacidad para la activación lipoproteína-lipásica, dificultando así la remoción de triglicéridos circulantes, lo mismo que en el tejido adiposo.

Es evidente que las alteraciones en las variables estudiadas, durante el ciclo estral de la perra diabética, dependen primariamente de la depresión en la secreción de insulina. En concordancia con ésto y con los resultados que se presentan, es posible afirmar que el estado de intolerancia a los hidratos de carbono en las perras enfermas, es malo ya desde el anestro, en el que se aprecia una notable insulino-resistencia compensada con aumento de la secreción de insulina. Este cuadro empeora en la fase estrogénica y en la fase luteal por un desmesurado aumento inicial de insulina. Esto, probablemente, se acompaña con disminución de la secreción de la misma a causa del agotamiento pancreático funcional (degranulación de los islotes, según fuese descrito por otros investigadores) secundario a una hipersomatotrofinemia. Esta se debe a la gran elevación de la progesteronemia durante la larga fase luteal de la perra y durante los ciclos estrales que se continúan durante toda su vida. De acuerdo con otras experiencias paralelas realizadas, no sería aparentemente la hiperprogesteronemia la causa de la hipersomatotrofinemia en las perras diabéticas en la fase luteal, sino que estaría inducida, con toda probabilidad, por niveles más altos que el ovárico en el eje hipófiso-hipotálamo-ovárico.

El trabajo presentado aquí es una contribución al conocimiento de la fisiopatología de la DM de la perra y del severo empeoramiento que ocurre durante su ciclo sexual, particularmente en la fase luteal, observado en la clínica médica veterinaria.

BIBLIOGRAFIA:

ABRAMS R.L.; GRUMBACH M.M.; KAPLAN S.L.- The Effect of Administration of Human Growth Hormone on Plasma Growth Hormone, Cortisol, Glucose and Free Fatty Acid Response to Insulin: Evidence for Growth Hormone Autorregulation in Man. J.Clin.Invest. 50: 940-948, 1971.

ABRAMS J.J.; GINSBERG H.; GRUNDY S.M.- Metabolism of Cholesterol and Plasma Triglycerides in Non-ketotic Diabetes Mellitus. Diabetes 31: 903-910, 1982.

ABUMRAD N.M.; WILLIAMS P.; FREXES-STUD M.; GEER R.- Interorgan Metabolism of Aminoacid in Vivo. Diabetes/Metabolism Reviews 5:213-226, 1989.

ADLER R.A.; SOKEL H.W.- Glucose Tolerance in Rats with Elevated Circulating Prolactin Levels. Horm.Metab.Res. 14: 307-316,1982.

AHUMADA HERMER H.; VALLES DE BOURGES V.; JUAREZ AYALA J.; DIAZ SANCHEZ V.; BRITO G.; GARZA FLORES J.- Variations in Serum Lipids and Lipoproteins through the Menstrual Cycle. Fertil.Steril 44:80-84, 1985.

ALBERTI K.G.M.M.- Role of Glucagon and others Hormones in Development of Diabetes Ketoacidosis. Lancet June 14: 334-342, 1975.

ALBRINK M.J.; LAVIETES P.H.; MAN E.B.- Vascular Disease and Serum Lipids in Diabetes Mellitus: Observations over Thirty Years (1931-1961). Ann.Intern.Med. 58:305-323, 1963.

- ALBRINK M.J.- Dietary and Drug Treatment of Hyperlipidemia in Diabetes. *Diabetes* 23:913-918, 1974.
- ALTSZULER N.; STEELE R.; RATHGEB I.; DEBODO R.C.- Glucose Metabolism and Plasma Insulin Levels During Epinephrine Infusions in the Dog. *Am.J.Physiol.* 212:677-682, 1967.
- AMATRUDA J.M.; LIVINGSTON J.N.; LOOKWOOD D.H.- Cellular Mechanism in Selected States of Insulin Resistance Human Obesity, Glucocorticoid Excess and Chronic Renal Failure. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1:293-317, 1985.
- ANDERSON D.W.; NICHOL A.V.; PAN S.S.; LINDGREN F.T.- High Density Lipoprotein Distribution. Reduction and Determination of Three Major Components in a Normal Population Sample. *Atherosclerosis* 29:161-168, 1978.
- ANDRADE L.L.; LINDENTAL D.M.; RENAULD A.- Automatización para la medición de la glucemia en el perro. *Rev.Asoc.Bioq.Arg.* 38: 207-211, 1973.
- ANDRE F.- Biochimie des Hormones. *Practique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie.* 20 (Suppl.4):349-352, 1985.
- ARMSTRONG D.T.; STEELE R.; ALTSZULER N.; DUNN A.; BIRSHOP J.S.; DEBODO R.C.- Fovena Free Fatty Acid Turn Over During Insulin-induced Hypoglycemia. *Am.J.Physiol.* 201:535-539, 1961.
- ASHBY J.P.; SHIRLING D.; BAIRD J.D.- Effect of Progesterone on Insulin Secretion in the Rat. *J.Endocr.(London)* 76:479-486, 1978.
- ATKINS C.E.- Disorders of Glucose Homeostasis in Neonatal and Juvenile Dogs: Hyperglycemia. *Continuing Education* 5:851,857,

1983.

BAGDADE J.D.; PORTE D. Jr.; BIERMAN E.L.- Acute Insulin Withdrawal and the Regulation of Plasma Triglyceride Removal in Diabetic Subjects. *Diabetes* 17:127-132, 1968.

BAILEY C.J.; MATTY A.J.- The Effects of Sex Hormones on Plasma Insulin and Glucose Tolerance in the Female Rat. *J.Endocr.(London)* 51:21-33, 1971.

BAILEY C.J.; MATTY A.J.- Glucose Tolerance and Plasma Insulin of the Rat in Relation of the Oestrous Cycle and Sex Hormones. *Horm.Metab.Res.* 4:266-270, 1972.

BAILEY C.J.; AHME-SOROUR H.- Role of Ovarian Hormones in Long-Term Control of Glucose Homeostasis. Effects on Insulin Secretion. *Diabetologia* 19:475-481, 1980.

BAKER B.; ESKIN T.; LAWRENCE A.- Direct Actions of Synthetic Progestins. *Endocrinology* 92: 965-970, 1973.

BALASSE E.O.; BIER D.M.; HAVEL R.J.- Early Effects of Anti-insulin on Hepatic Metabolism of Plasma Free Fatty Acids in Dogs. *Diabetes* 21:280-288, 1972.

BALLI G.; FED P.; PERRIELLO G.; DE COSMO S.; VENTURA M.- Role of Hepatic Autorregulation in Defence Against Hypoglycemia in Humans. *J.Clin.Invest.* 75:1623-1631, 1985.

BANCROFT H.- *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Décima Edición. Bs.As. 1979.

BANTLE J.P.- Post-prandial Glucose and Insulin Responses to Meals Containing Different Carbohydrates in Normal and Diabetic Subjects. *New Engl.J.Med.* 309:456-462, 1963.

BARCLAY M. BARCLAY R.K.; SKIPSKI V.P.S.; TEREBUSKEKISH D.;

- MUELLER C.H.; SHAH E.; ELKING W.L.- Fluctuation in Human Serum Lipoproteins During the Normal Menstrual Cycle. *Biochem.J.* 96:205-209, 1965.
- BARRET M.J.; SCHWARTZ R.G.; FRANCIS C.F.; ZARET B.L.- Regulation of Insulin of Miocardial Glucose and Fatty Acid Metabolism in the Conscious Dog. *J.Clin.Invest.* 74:1973-1979, 1984.
- BASSEGHIAN G.; LEVINE R.; EPPS P.- Direct Effect of Cortisol and Cortisone on Insulin and Glucagon Secretion. *Endocrinology* 111:1648-1653, 1982.
- BASSO R.V.; HAVEL R.J.- Hepatic Metabolism of Free Fatty Acids in Normal and Diabetic Dogs. *J.Clin.Invest.* 49:537-547, 1970.
- BEACH K.W.; BRENZELL J.D.; CONQUEST L.; STRANDNESS D.E.- The Correlation of Arteriosclerosis Obliterans with Lipoproteins in Insulin-dependent and Non-insulin-dependent Diabetes. *Diabetes* 28:836-840, 1979.
- BEARD J.; MALTER J.; BEST J.; PFEIFER M.; PORTE D.- Dexametasone-induced Insulin Resistance Enhances Beta Cell Responsiveness to Glucose Levels in Normal Men. *Am.J.Physiol.* 210:592-596, 1984.
- BECK P.- Progesterin Enhancement of the Plasma Insulin Response to Glucose in Rhesus Monkeys. *Diabetes* 18:146-152, 1969.
- BENNION L.J.; GRUNDY S.M.- Effects of Diabetes Mellitus on Cholesterol Metabolism in Man. *New Engl.J.Med.* 296:1365-1373, 1977.
- BERGMAN E.N.- Glycerol Turnover in the Nonpregnant and Ketotic Pregnant Sheep. *Am.J.Physiol.* 215:865-873, 1968.

- BERKOW J.; RICKETTS R.- Spontaneous Diabetes Mellitus in Dogs
J.Am.Vet.Med.Assoc. 146:1101-1108, 1965.
- BEST J.D.- Bases Fisiológicas de la Práctica Médica.
Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires 1986, p.939-954.
- BIRBAUM R.S.; GOODMAN H.M.- Comparison of Several Insulin-
like Effects of Growth Hormone. Horm.Metab.Res. 11:136-142,
1979.
- BLOM J.W.; FROEHLI D.; KUNZ P.- Effects of Catecholamines in
Plasma Free Fatty Acids in Feed and Fasted Cattle.
Endocrinology 110:452-456, 1982.
- BOHNET H.G.; NABER N.G.; DEL POZO E.- Effect of Synthetic
Gestagens on Serum Prolactin and GH Secretion in Amenorreic
Patients. Arch.Gynaecol. 226:1233-1240, 1978.
- BORDEN G.; MASTER R.W.; REZVANI I.- Glucagon Deficiency and
Hyperaminoacidemia After Total Pancreatectomy. J.Clin.Invest.
65:706-710, 1980.
- BOYLE M.R.; HUMES J.; TABOISKY G.J. Jr.- Insulin Restrains the
Hepatic Glucose Response to Sympathic Neural Activations
During Hemorrhagic Stress. Com.Libre N^o612, XIV Congreso Fed.
Intern. Diabetes, Washington D.C., USA, Junio 23-28, 1991.
- BRATUSCH-MARRAIN P.R.; SMITH D.; De FRONZO R.A.- The Effect of
Growth Hormone on Glucose Metabolism and Insulin Secretion in
Man. J.Clin.Endocr.Metab. 55:973-982, 1982.
- BRATUSCH-MARRAIN P.R.- Insulin-counteracting Hormones: Their
Impact on Glucose Metabolism. Diabetologia 24:74-79, 1983.
- BRELFE T.C.; ALLAIRE P.; HEGRE O.D.; MARSHALL S.- Effect of
Prolactin Versus Growth Hormone on Islet Function and the

Importance of Using Homologous Mammosomatotropic Hormones.

Endocrinology 125:2392-2399, 1989.

BRENNER K.V.; GURTLER H.- Einfluss alfa-oder beta-adrener auf Katecholamin-bedingte Stoffwechseleffekt beim Schwein. Acta Biol Med.Fer.40:1759-1766, 1981.

BRITTON H.G.- Some Non-reducing Carbohydrates in Animal Tissue and Fluids. Biochem.J. 85:402-407, 1962.

BRUNZELL J.D.; PORTE D. Jr.; BIERMAN E.L.- Abnormal Lipoprotein, Lipase-mediated Plasma Triglyceride Removal in Untreated Diabetes Mellitus Associated with Hypertriglyceridemia. Metabolism 28:901-907, 1979.

BURNS T.W.; LANGLEY P.E.; TERRY B.E.; ROBINSON G.A.- The Role of Fatty Acids in the Regulation of Lipolysis by Human Adipose Tissue Cells. Metabolism 27:1755-1762, 1978.

CAHILL G.F.- Physiology of Insulin in Man. Diabetes. 20: 785-799,1971.

CAMPBELL J.; KRISHNA SUDHA RASTAGI.- Growth Hormone-induced Diabetes and High Levels of Serum Insulin in Dogs. Diabetes 15:30-45, 1966,a.

CAMPBELL J.; KRISHNA SUDHA RASTAGI- Augmented Insulin Secretion Due to Growth Hormone. Diabetes 15:749-758, 1966,b.

CANO IGLESIAS F.- Coma Diabético Ketoacidótico. Medicine 28: 85-92, 1980.

CAPRIO S.; GELFAND R.A.; TAMBORLANE W.V.; SHERWIN R.S.- Oxidative Fuel Metabolism During Hypoglycemia: Critical Role of Free Fatty Acids . Am.J.Physiol. 256:E413-419, 1989.

CARLSON L.A.; ORO I.- Studies on the Relationship Between the

- Concentration of Plasma Free Fatty Acids and Glycerol in Vivo. *Metabolism* 12:132-136, 1963.
- CLUTTER W.E.; GERICH J.E.; RIZZA R.A.; CRYER P.E.- Regulation of Glucose Metabolism by Sympathocromaffin Catecholamines. *Diabetes/Metabolism Reviews* 4:1-15, 1988.
- CONCANNON P.W.; HANSEL W.; VISEK W.J.- The Ovarian Cycle of the Bitch: Plasma Estrogen, LH and Progesterone. *Biol.Reprod.* 13:111-121, 1975.
- CONCANNON P.W.; HAMPSHIRE J.; ALTSZULER N.; BUTTER W.; HANSEL W.- Growth Hormone, Prolactin and Cortisol on Dogs Developing Mammary Nodules and on Acromegaly-like Appearance During Treatment with Medroxyprogesterone Acetate. *Endocrinology* 106: 1173-1179, 1980.
- COTTARD J.P.- Epidemiologic du diabete sucre du chien et du chat. *Practique Medicales et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 20 (Suppl.4):364-366, 1985.
- COTTON R.B.; CORNELIUS L.M.; THERAN P.- Diabetes Mellitus in the Dog: A Clinicopathologic Study. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 159:863-867, 1971.
- CRAFFORD O.B.; RENOLD A.E.- Glucose Uptake by Incubated Rat Epididymal Adipose Tissue. *J.Biol.Chem.* 5:194-202, 1956.
- CRYER P.; GERICH J.- Glucose Counterregulation Hypoglycemia and Intensive Therapy in Diabetes Mellitus. *New Engl.J.Med.* 313:232-264, 1985.
- CZECH M.P.- Insulin Action. *Am.J.Med.* 70:142-150, 1981.
- CHASTAIN C.B.- Intensive Care of Dogs and Cats with Diabetic Ketoacidosis. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 179:972-978, 1981.

CHASTAIN C.B.; NICHOLS C.E.- Current Concepts on the Control of Diabetes Mellitus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 14:859-866, 1984.

CHERRINGTON A.D.; CHIASSON J.L.; LILFENQUIST J.E.- The Role of Insulin and Glucagon in the Regulation of Basal Glucose Production in the Postabsorptive Dog. *J.Clin.Invest.* 58:1407-1418, 1976.

CHIDECKEL E.W.; PALMER J.; KOERKER D.J.- Somatostatin Blockade of Acute and Chronic Stimuli of the Endocrine Pancreas and the Consequences of this Blockade on Glucose Homeostasis. *J.Clin. Invest.* 55:754-762, 1975.

CHIN H.P.; ATKINS C.E.; BARNDT R.- Abnormal Insulin Secretion in Adult Canines. *Horm.Metab.Res.* 13:486-494, 1981.

CHRISTENSEN N.J.- Catecholamines and Diabetes Mellitus. *Diabetologia* 16:211-221, 1979.

CHURCH D.B.- The Blood Glucose to Three Prolonged Duration Insulins in Canine Diabetes Mellitus. *J.Small An.Practice* 22:301-310, 1981.

CHURCH D.B.- Diabetes Mellitus. En "Current Veterinary Therapy VIII. Small Animal Practice" Kirk. Ed.Saunders, Philadelphia 1983, p.838-844.

DANGHADAY W.H.; PHILLIPS L.S.; MUELLER M.C.- The Effects of Insulin and Growth Hormone on the Release of Somatomedin by the Isolated Rat Liver. *Endocrinology* 98:1214-1219, 1976.

DANGHADAY W.H.- Adenohipófisis. Hormona de crecimiento. En "Tratado de Endocrinología" 5ta Edición. Williams R. Ed. Interamericana, Madrid 1984, p.80-126.

- DAVIS M.; MELLMAN M.; SHAMDOON H.- Effect of Physiologic Hyperinsulinemia on Counterregulatory Hormones (CRH) During Hypoglycemia in Humans. XIV Congreso, Fed.Intern.Diabetes. Washington D.C., USA. Junio 23-28, 1991. Co.,.Libre N°285.
- DE BODO R.C.; ALTSZULER N.- Insulin Hypersensitivity and Physiological Insulin Antagonists. *Physiol.Rev.* 38:338-343, 1958.
- DE FEO P.P.; PARRIELLO G.; DE COSMO S.; VENTURA M.; CAMPBELL P.J.; BRUNETTI P.; GERICH J.; BOLLI G.- Comparison of Glucose Counterregulation During Short-Term and Prolongated Hypoglycemia on Normal Humans. *Diabetes* 35:563-571, 1986.
- DEL PRATO S.; CASTELLINO P.; SIMONSON D.C.- Hyperglucogenemia and Insulin-mediated Glucose Metabolism. *J.Clin.Invest.*79:547-556, 1987.
- DEMAKER P.N.; SCHADE R.W.; STALENHOEF A.F.; STUYT P.M.; VANT' LOAR A.- Influence of Contraceptive Pill and Menstrual Cycle on Serum Lipids and High-density Cholesterol Concentrations. *Br.Med.J.* 284:1213-1215, 1982.
- De MENDOZA S.G.; NUCETE H.; SALAZAR E.; ZERPA A.; KASHYAP M.L.- Plasma Lipids and Lipoprotein Hyperactivator Property During the Menstrual Cycle. *Horm.Metab.Res.* 11:696-704, 1979.
- DIMITRIADIS G.; BAKER B.; MARSH H.; MANDARINO L.; RIZZA R.; BERGMAN R.- Effect of Thyroid hormone Excess on Action, Secretion and Metabolism of Insulin in Humans. *Am.J.Physiol.* 248:E 593-599, 1985.
- DIXON J.; SANFORD J.- Pathological Features of Spontaneous Canine Diabetes Mellitus. *J.Comp.Path.* 72:153-161, 1962.

- DOLE V.P.- A Relation Between Non-esterified Fatty Acids in Plasma and the Metabolism of Glucose. *J.Clin.Invest.* 35:150-154, 1956.
- DUNN F.L.; BILHEIMER D.W.; RASKIN P.; GEENDY S.M.- Pathogenesis of Hypertriglyceridemia in Diabetes Mellitus. The Effects of Improved Glucoseregulation. *Clin.Res* 2811:319A-325, 1980.
- DURRINGTON P.N.; NEWTON R.S.; WEINSTEIN D.B.; STEINBERG D.- Effect of Insulin and Glucose on Very Low Density Lipoprotein Triglyceride Secretion by Cultured Rat Hepatocytes. *J.Clin. Invest.* 70:63-73, 1982.
- EDEN S.- Age and Sex-related Differences in Episodic Growth Hormone Secretion in the Rat. *Endocrinology* 105:555-562, 1970.
- EDQUIST L.E.; JOHANSSON E.D.B.; KOSSTRON H.; OLSSON S.E.- RICHKIND M.- Blood Plasma Levels of Progesterone and Oestradiol in the Dog During Oestrus Cycle and Pregnancy. *Acta Endocr.(Copenh.)* 78:554-564, 1975.
- EFENDIA S.; LINS PER-ERIC; LUFT R.- Somastotatin and Insulin Secretion. *Metabolism* 27:1275-1281, 1978.
- EIGENMANN J.E.- Diabetes Mellitus in Elderly Female Dogs: Recent Finding on Pathogenesis and Clinical Implications. *J.Am.An.Hosp.Assoc.* 17:805-812, 1981, a.
- EIGENMANN J.E.- Progestagen-induced an Spontaneous Canine Acromegaly due to Reversible Growth Hormone Over Production: Clinical Picture and Pathology. *J.Am.An.Hosp.Assoc.* 17:813-818, 1981, b.

EIGENMANN J.E.; RINJBERK A.- Influence of Medroxyprogesterone Acetate (Provera) on Plasma Growth Hormone Levels and on Carbohydrate Metabolism. I. Studies in the Ovariectomized Bitch. Acta Endocr. (Copenh.) 98:599-602, 1981.

EIGENMANN J.; EIGENMANN R.Y.- Influence of Medroxyprogesterone Acetate (Provera) on Plasma Growth Hormone Levels and on Carbohydrate Metabolism. Acta Endocr. (Copenh.) 98:603-611, 1981.

EIGENMANN J.- Progesterone-controlled Growth Overproduction and Naturally Occurring Canine Diabetes and Acromegaly. Acta Endocr. (Copenh.) 104:167-176, 1983.

EIGENMANN J.; PETERSON M.E.- Diabetes Mellitus Associated with Other Endocrine Disorders. Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice 14:837-858, 1984.

EIGENMANN J.- Disorders Associated with Growth Hormone Oversecretion: Diabetes Mellitus and Acromegaly. En "Current Veterinary Therapy IX. Small Animal Practice" Kirk. Ed. Saunders. Philadelphia, 1986, p.1006-1014.

ELAM M.B.; UMSTOT E.S.; ANDERSEN R.N.; HEIMBERG M.- Differential Effects of High and Low Dose Testosterone on Triglyceride Synthesis by the Rat Hepatocyte. 69^a Reunión Anual Endocr. Soc. Anaheim Ca., 1986, p.287. Com. Libre.

ELAM M.B.; SIMKEVICH C.P.; SOLOMON S.S.; WILCOX H.G.; HEIMBERG M.- Stimulation of in Vitro Triglyceride Synthesis in the Rat Hepatocyte by Growth Hormone Treatment in Vivo. Endocrinology 122:1397-1402, 1988.

ENGERMAN R.; KRAMER J.W.- Dogs with Induced Spontaneous

Diabetes as Models for the Study of Human Diabetes Mellitus.

Diabetes (Suppl.) 1:26-33, 1982.

EXTON J.H.- Gluconeogenesis. *Metabolism* 21:945-953, 1972.

FABER O.K.; CHRISTENSEN K.; KETTLET H.; MADASBAD S.- Decreased Insulin Removal Contributes to Hyperinsulinemia in Obesity. *J.Clin.Endocr.Metab.* 53:618-623, 1981.

FAIN J.N.; KOVACEV V.P.; SCOW R.D.- Antilipolytic Effect of Insulin in Isolated Fat Cells of the Rat. *Endocrinology* 78:773-779, 1966.

FAIN J.N.- Adrenergic Blockade of Hormone-induced Lipolysis in Isolated Fat Cells. *Ann.N.Y.Sci.* 138:879-890, 1967.

FAIN J.N.; ROSENMERG L.- Antilipolytic Action of Insulin on Fat Cells. *Diabetes* 21 (Suppl.2):414-425, 1972.

FAIN J.N.; SHEPHARD R.E.- Free Fatty Acid as Feed-back Regulators of Adenilate-cyclase an Cycle 3:5'-AMP Accumulation in Rat Fat Cells. *J.Biol.Chem.* 250:6587-6595, 1975.

FAIN J.N.; GARCIA SAINZ A.- Adrenergic Regulation of Adiposite Metabolism. *J.Lipid Res.* 24:945-966, 1983.

FEINGOLD K.R.; HOWTON M.M.; SIPPERSTEIN M.D.- Sex Differences in the Sterol and Nonsterol Metabolism of the Rat. *J.Biol.Chem.* 254:837-844, 1979.

FEINGOLD K.R.; Mac RAE G.; MOSER A.H.; WU J.; SIPPERSTEIN M.D.

HUGHES WILWY.- Difference in Novo Cholesterol Synthesis Between the Intact Males and Females Rats. *Endocrinology* 112: 103-111, 1983.

FELBER J.P.; VANNOTTI A.- Effects of Fat-insulin on Glucose Tolerance and Insulin Plasma Levels. *Med.Exp.* 10:153, 1964.

FELDMAN E.C. - Diabetes Mellitus. En "Current Veterinary Therapy VII. Small Animal Practice". Kirk. Ed. Saunders, Philadelphia, 1980, p.1011-1016.

FELDMAN E.C.; NELSON R.W.- Insulin-induced Hyperglycemia in Diabetic Dogs. J.Am.Vet.An.Assoc. 180:1432-1437, 1982.

FELDMAN E.C.; NELSON R.W.- Diabetes Mellitus. En "Canine and Feline Endocrinology and Reproduction". Ed.Saunders, Philadelphia 1987, p.229-267.

FELDMAN E.C.; BRUYETTE D.S.; NELSON R.W.- Therapy for Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism. En "Current Veterinary Therapy X. Small Animal Practice" Kirk. Ed.Saunders Philadelphia, 1989, p.1024-1032.

FELIG P.- Current Concepts. Diabetic Ketoacidosis. New.Engl.J. Med. 290:1300-1302, 1974.

FELIG P.; WAHREN J.; SHERWIN R.; HENDLER R.- Insulin, Glucagon and Somatostatin in Normal Physiology and Diabetes Mellitus. Diabetes 25:1091-1099,1976.

FELTS L.M.- En "Fats as a Tissue". Ed. Groshill. New York 1963

FERRANNINI E.; BARRET E.J.; BEVILACQUA S.; De FRONZO R.A.- Effect od Fatty Acids on Glucose Production and Utilization in Man. J.Clin.Invest. 72:1737-1747, 1983.

FINEBERG S.E.; MERIMEE T.J.- Acute Metabolic Effects of Human Growth Hormone. Diabetes 23:499-513, 1974.

FOGLIA V.G.; SCHUSTER N.; RODRIGUEZ R.R.- Sex and Diabetes. Endocrinology 41:428-433, 1947.

FREDRICKSON D.S.; GORDON R.S.- Transport of Fatty Acid. Physiol.Rev. 38:585-593, 1958.

FRIER B.M.; SAUDEK CH.D.- Cholesterol Metabolism in Diabetes: The Effect of Insulin on the Kinetics of Plasma Squalene. *J.Clin.Endocr.Metab.* 49:824-829, 1979.

FUJIMOTO N.; METZ A.- Phasic Glucose-stimulated Insulin Secretion by Neonatal Rat Pancreatic Islets Cells. *Diabetes* 33:872-880, 1984.

GANDA O.P.; HATES E.J.; SOELDNER J.S.- Alterations in High-density Lipoproteins Cholesterol (HDL-C) and its Relationship to Control of Diabetes (DM). Programa, X Cong.Fed.Inter. Diabetes, Viena, Austria, Sept.9-14, 1979, p.72-79.

GANDA O.P.; SOELDNER J.S.; GLEASON R.E.- Alterations in Plasma Lipids in the Presence of Mild Glucose Intolerance in the Offspring of Type II Diabetic Parents. *Diabetes Care* 8:254-265, 1985.

GANONG W.F.- Review of Medical Physiology 9th Ed. Los Altos, California. Large Medical Publications 1979, p.231-238.

GERBER A.J.; CRYER P.E.; SANTIAGO J.V.; HAYMOND M.W.; PAGLIARA A.; KIPNIS D.- The Role of Adrenergic Mechanisms in the Substrate and Hormonal Response to Insulin-induced Hypoglycemia in Man. *J.Clin.Invest.* 58:7-15, 1976.

GERICH J.E.- Plasma Glucagon and Alanine Responses to Acute Insulin Deficiency in Man. *J.Clin.Endocr.Metab.* 40:526-534, 1975.

GERICH J.E.; LORENZI M.; BIER D.M.; TSALIKIAN E.- Effects of Physiologic Levels of Glucagon and Growth Hormone on Human Carbohydrate and Lipid Metabolism. Studies Involving Administration of Exogenous Hormone During Suppression of

Endogenous Hormone Secretion with Somatostatin. *J.Clin.Invest.* 57:875-884, 1976, a.

GERICH J.E.; CHARLES M.A.; CLAUS T.H.- Pancreatic Insulin and Glucagon Secretion. *Ann.Rev.Physiol.* 38:353-389, 1976, b.

GERICH J.E.- Somatostatin Modulation of Glucagon Secretion and its Importance in Human Glucose Homeostasis. *Metabolism* 27: 1288-1290, 1978.

GERICH J.E.; CRYER P.; RIZZA R.- Hormonal Mechanisms in Acute Glucose Counterregulation: the Relative Roles of Glucagon, Epinephrine, Growth Hormone and Cortisol. *Metabolism* 29 (Suppl.1):1164-1173, 1980.

GERICH J.E.- Glucose Counterregulation and its Impact on D.M. Diabetes 37:1708-1717, 1988.

GERSHBERG H.; ZORRILLA E.; HERNANDEZ A.; HULZE M.- Effects of Medroxyprogesterone Acetate on Serum Insulin and Growth Hormone Levels in Diabetics and Potential Diabetics. *Am.J. Obst.Gynec.* 33:383-388, 1969.

GERSHWIN L.J.- Familial Canine Diabetes Mellitus. *J.Am.Vet.Med Assoc.* 167:479-484, 1975.

GOODMAN H.M.; KNOBIL E.- Forme Endocrine Factors in Regulation of Fatty Acid Movilization During Fasting. *Am.J.Physiol.* 201: 1-3, 1961.

GOODMAN H.M.- Antilipolytic Effects of Growth hormone. *Metabolism* 19:849-855, 1970.

GORDON P.; HENDRIEKS C.M.; KALIN C.R.; MEGYESI K.; ROTH J.- Hypoglycemia Associated with Non-islet-cell Tumor and Insulin-like Growth Factors. *N.Engl.J.Med.* 305:1452-1455, 1981.

- GORDON T.; CASTELLI W.P.; HJORTLAND M.C.- Diabetes Blood Lipids and the Role of Obesity in Coronary Heart Disease Risk for women. The Framingham Study. *Ann.Intern.Med.* 87:383-389, 1977.
- GRAY D.E.; LICKLEY H.L.A.; VRANIC M.- Physiology Effects of Epinephrine on Glucose Turnover and Plasma Free Fatty Acid Concentrations Mediated Independent of Glucagon. *Diabetes* 29:600-609, 1980.
- GREENFIELD M.; KOLTERMAN D.; OLEFSKY J.; REAVEN G.- Mechanism of Hypertriglyceridemia in Diabetic Patients with Fasting Hyperglycemia. *Diabetologia* 18:441-446, 1980.
- GREENBERG G.R.; Mc CLAY R.F.; ADRIAN T.E.- Inhibition of Pancreas and Gallbladder by Pancreatic Polipeptide. *Lancet* 2: 1280-1288, 1978.
- GROEN J.J.; FRENKEL H.S.; OFFERHANS L.- Observations of a Case of Spontaneous Diabetes Mellitus in a Dog. *Diabetes* 13: 492-498, 1964.
- GRUNFELD C.; BAIRD K.; VAN OBBERGHEN E.; KAHN C.R.- Glucocorticoid-induced Insulin Resistance in Vitro: Evidence for Both Receptor and Post-receptor Defect. *Endocrinology* 109: 1723-1731, 1981.
- GUSTAFSSON J.; STENBERG A.- On the Obligatory Role of the Hypophysis in Sexual Differentiation of Hepatic Metabolism in Rats. *Proc.Natl.Acad.Sci. (USA)* 73:1462-1468, 1976.
- GUSTAFSON A.B.; BANASIAK M.F.; KALKHOFF R.K.; HAGEN R.C.- Correlation of Hyperprolactinemia with Altered Plasma Insulin and Glucagon Similarity of Effects of Late Human Pregnancy.

J.Clin.Endocr.Metab. 51: 242-260, 1980.

HAGEN J.H.; HAGEN P.B.- An Enzymic Method for the Determination of Glycerol in Blood and its Use to Determine the Effect of Noradrenaline on the Concentration of Glycerol in Blood. Can.J.Biochem.Physiol. 40:1130-1139, 1962.

HAIST R.E.- Effects of Steroids on the Pancreas. Methods Horm. Res. 4:193-196, 1965.

HALLBERG L.; HOGDAHAL A.M.; SVANVORG A.; VIKROT O.- Plasma Lipids in women. Variations in Cholesterol, Phospholipids and Triglycerides at Different Ages in Random Population Sample. Acta Med. Scand. 180:697-702, 1966.

HAMBURG S.; HENDLER R.; SHERWIN R.S.- Influence of Small Increments of Epinephrine on Glucose Tolerance in Normal Humans. Ann.Intern.Med. 93:566-571, 1980.

HAMBURGER A.D.; KNIFERS A.C.J.; van der VIES J.- The Effects of Progesterone on Plasma Insulin in the Rabbit. Experientia 31:602-608, 1975.

HAVEL R.J.; CARLSON L.A.- Comparative Turnover Rates of Free Acids and Glycerol on Blood of Dogs Under Various Conditions. Life Sci. 9:651-658, 1963.

HAVEL R.J.- Some Influences of the Sympathetic Nervous System and Insulin in Mobilization of Fat from Adipose Tissue: Studies of the Turnover Rates of Free Fatty Acids and Glycerol. Ann.N.Y. Acad.Sci. 131:91-101, 1965.

HAVEL R.J.- Pathogenesis, Differentiation and Management of Hypertriglyceridemia. Adv.Intern.Med. 15:117-150, 1969.

HEILING V.J.; JENSEN M.D.- Free Fatty Acid Metabolism During

Follicular and Luteal of the Menstrual Cycle. XIV Congreso, Federation International of Diabetes, Washington D.C., USA Junio 23-28, 1991, Com.Libre N~~o~~998.

HEISS G.; TAMER I.; DAVIS C.E.; TYROLER H.A.; RIFKIND B.; SCHONFELD G.; JACOBS D.- Lipoprotein Cholesterol Distribution in Selected North American Populations: The Lipids Research Clinics Program Prevalence Study. Circulation 16:302-310, 1980.

HIRASHI-NIGASAWA; REIKO YANDI SAKAE KIKUYAMA- Pituitary Secretion of Prolactin, Luteinizing Hormone in Adult Female Rats Treated Neonatally with Oestrogen. J.Endocr. 59:599-604, 1973.

HOENING M.- Diabetic Ketoacidosis. En "Current Veterinary Therapy IX. Small Animal Practice". Kirk. Ed.Saunders, Philadelphia 1986, p.987-991.

HOFT D.; MIRSKY I.A.; PERISUTTI G.- The Influence of Insulin Uptake of Monosaccharides by the Isolated Rat Diaphragm. Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 82:60-62, 1953.

HOLSTE L.C.; NELSON R.W.; FELDMAN E.C.; BOTTONS G.D.- Effects of Dry, Soft Moist and Canned Dog Foods on Postprandial Blood Glucose and Insulin Concentrations in Healty Dogs. Am.J.Vet. Res. 50:984-993, 1989.

HOUSSAY B.A.; HOUSSAY A.B.; MAZZOCOD P.- Acción del dietilbestrol sobre la diabetes pancreática del sapo. Revta Soc.Arg.Biol. 22:348-354, 1946.

HOUSSAY B.A.- Action of Sex Hormones on Experimental Diabetes. Br.Med.J. 2:505-509, 1951.

HOUSSAY B.A.; FOGLIA V.G.; RODRIGUEZ R.R.- Production or Prevention of Some Type of Experimental Diabetes by Oestrogen or Corticosteroid. *Acta Endocr. (Copenh.)* 17:146-159, 1954.

HOUSSAY B.A.- Diabetogenic Action of Prolactin. *Endocrinology* 57: 55-62, 1955.

IGLESIAS CAND F.- Coma Diabético-Cetoacidótico. *Medicine* 28: 2085-2092, 1980.

IMAKY T.; SHIBASAKI T.; SHIZUME K.; MASUDA A.; HOTTA M.; KIYOSAWA Y.; JIBIKI M.; DEMURA H.; TSUSHIMA T.; LING N.- The Effect of Free Fatty Acids on Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone Mediated GH Secretion in Man. *J.Clin.Endocr.Metab.* 60: 290-293, 1985.

INSEL P.A.; LILFERNQUIST J.E.- Insulin Control of Glucose Metabolism in a Man. A New Kinetic Analysis. *J.Clin.Invest.* 55:1057-1063, 1975.

ISSEKUTZ B.; BORKOW I.- Effect of Glucagon and Glucose Load on Glucose Kinetics, Plasma FFA and Insulin in Dogs Treated with Methyl Prednisolone. *Metabolism* 22:39-49, 1973.

ISSEKUTZ B. Jr.; SHAW W.A.; ISSEKUTZ T.B.- Effect of Lactate on FFA and Glycerol Turnover in Resting and Exercising Dogs. *J.Appl.Physiology* 184:175-182, 1975.

ITAYA K.; UI M.- Colorimetric Determination of Free Fatty Acids in Biological Fluids. *J.Lipid Res.* 6:16-20, 1965.

JEFFERSON L.S.- Role of Insulin in the Regulation of Protein Synthesis. *Diabetes* 29:487-493, 1980.

JOHNSTON D.G.; ALBERTI K.G.M.M.; NATRASS M.- Hyperinsulinemia in Hyperprolactinemia. *Clin.Endocrinol.* 13:361-368, 1980.

- JONES G.E.; BOYNS A.R.; CAMERON E.D.H.; BELL E.T.; CHRISTIE D. W.; PARKES M.- Plasma Oestradiol, Luteinizing Hormone and Progesteron During the Oestrous Cycle in the Beagle Bitch. J.Endocr. (London) 57:331-332, 1973.
- JONES G.E.; BAYNS A.R.- Oestradiol Stimulation of Prolactin Release from Canine Pituitary in Culture. Acta Endocr. 82: 706-709, 1976.
- KAHN S.E.; PORTE D. JR.- Islet Dysfunction in Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. A.J.Med. 85:4-9, 1988.
- KALHOFF R.K.; JACOBSON M.- Progesterone, Pregnancy and the Augmented Plasma Insulin Responses. J.Clin.Endocr.Metab. 31: 24-27, 1970.
- KANEKO J.J.; MATTHEUWS D.; ROTTIERS R.P.; VERMEULEN A.- Glucose Tolerance and Insulin Response in Diabetes Mellitus of Dogs. J.Small An.Practice 18:85-91, 1977.
- KANEKO J.J.; MATTHEUWS D.; ROTTIERS R.P.; VERMEULEN A.- Renal Clearance, Insulin Secretion and Glucose Tolerance in Spontaneous Diabetes Mellitus of Dogs. Cornell Vet. 69:375-382 1979.
- KANEKO J.J.- Lipids Metabolism and its Disorders. En "Clinical Biochemistry of Domestic Animals". Third Edition. Kaneko J.J. Ed. Academic Press, London 1980,a; p.54-90.
- KANEKO J.J.- Carbohydrate Metabolism and its Disorders. En "Clinical Biochemistry of Domestic Animals". Third Edition. Kaneko J.J., Ed.Academic Press, London 1980,b; p.2-48.
- KARL R.C.- Animals Models of Inappropriate Hyperglycemia. Metabolism 24:1305-1309, 1975.

- KATHERMAN A.E.; O'LEARY T.P.; RICHARDSON R.C.; POLZIN D.J.;
MC CALL KAUFFMAN G.- Hyperadrenocorticism and Diabetes
Mellitus in the Dog. *J.Am.An.Hosp.Assoc.* 16:705-710, 1980.
- KAUFMANN R.L.; ASSAL J.; SOELDNER J.S.; WILMSHURT E.G.;
LEMAIRE J.R.; GLEASON R.E.; WHITE P.- Plasma Lipid Levels in
Diabetics Children. Effect on Diet Restricted in Cholesterol
and Saturated Fats. *Diabetes* 24:672-679, 1975.
- KEKKI M.; NIKKILA E.A.- Plasma Triglyceride Turnover During
the Use of Oral Contraceptives. *Metabolism* 20:878-882, 1971.
- KEIGO YASUDA; ELBERT HINES III; ABBAS E. KITABCHI.-
Hypercorticism and Insulin Resistance: Comparative Effects of
Prednisone, Hydrocortisone and Dexametasone on Insulin Binding
of Human Erythrocytes. *J.Clin.Endocr.Metab.* 55:910-916, 1982.
- KIM H.J.; KALKHOFF R.K.- Changes in Lipoproteins Composition
During the Menstrual Cycle. *Metabolism* 28:663-668, 1979.
- KISSEBACH A.H.; ALFARSE S.; ADAMS P.W.; WYNN V.- The Metabolic
Fat of Plasma Lipoproteins in Normal Subjects and in Patients
with Insulin Resistance and Endogenous Hypertriglyceridemia.
Diabetologia 12:501-509, 1976.
- KNOPP R.H.; WALDEN C.E.; WAHL P.W.; HOOVER J.J.; WARNICK G.R.;
ALBERS J.J.; OGILVIE J.T.; HAZZARD W.R.- Oral Contraceptive
and Postmenopausal Estrogen Effects on Lipoprotein
Triglyceride and Cholesterol in an Adult Female Population:
Relationships to Estrogen and Progestin Potency. *J.Clin.Endocr
Metab.* 53:1123-1132, 1981.
- KOEKER D.J.; CHIDEJEL E.; RUCH M.- Somatostatin: Hypothalamic
Inhibitor of the Endocrine Pancreas. *Science* 184:482-495, 1974.

- KOPPERS L.E.; PALUMBO P.J.- Lipid Disturbances in Endocrine Disorders. *Med.Clin.North.Am.* 56:1013-1020, 1972.
- KOSTNER G.M.; KAVADI I.- Lipoproteins Alterations in Diabetes Mellitus. *Diabetologia* 31:717-722, 1988.
- KRAMER J.W.- Inherited, Early-onset Insulin-requiring Diabetes Mellitus of Keeshound Dogs. *Diabetes* 29:558-563, 1980.
- KRAUSS R.M.; LINDGREN F.T.; SILVERS A.; JUTAGIS R.; BRADLES D.D.- Changes in Serum High Density Lipoproteins in Women on Oral Contraceptive Drugs. *Clin.Chim.Acta* 80:465-470, 1977.
- KRAUS-FRIEDMANN N.- Hormonal Regulation of Hepatic Gluconeogenesis. *Physiological Reviews* 64:170-178, 1984.
- KRAUTH M.C.; SCHILLINGER E.- Changes in the Insulin Receptor Concentration in Rat Fat Cells Following Treatment with the Gestagens Acetate and Cyproterone Acetate. *Acta Endocrinol.* 86:667-673, 1977.
- KROOK L. LARSSON S.; ROONAY J.R.- The Interrelationship of Diabetes Mellitus, Obesity and Piometra in the Dog. *Am.J.Vet. Res.* 21:120-124, 1960.
- LANDGROF R.; LANDGROF M.M.C.; WEISSMAN A.- Prolactin: A Diabetogenic Hormone. *Diabetologia* 13:99-108, 1977.
- LARNER J.; CHARLOTTESVILLE D.- Insulin and Glycogen Synthetase Diabetes 21(Suppl.2):428-438, 1972.
- LEFEVRE P.J.; LUYCKX A.S.- Glucagon and Diabetes: A Reappraisal. *Diabetologia* 16:347-356, 1979.
- LENZEN S.; BAILEY C.J.- Thyroid Hormones, Gonadal and Adrenocortical Steroids and the Function of the Islets of Langerhans. *Endocrine Reviews* 5:411-420, 1984.

LEVINE R.; LUFT R.- The Relation Between the Growth and Diabetogenic Effect of the So-called Growth Hormone of the Anterior Pituitary. *Diabetes* 13:651-655, 1964.

LEVINE R.- The Actions of Insulin at the Cell Membrane. *Am.J. Med.* 40:691-695, 1966.

LEVINE R.- Carbohydrate Homeostasis. *New Engl.J.Med.* 283:552-557, 1972, a.

LEVINE R.- Actions of Insulin: An Attempt at a Summary. *Diabetes* 21:(Suppl.2):454-455, 1972, b.

LEWIS B.; MANCINI M.; MATTOCK M.; CHAIT A.; FRASER T.R.- Plasma Triglycerides and Fatty Acid Metabolism in Diabetes Mellitus. *Eur.J.Clin.Invest.* 2:445-453, 1972.

LIDDLE G.W.- Suprarrenales. En "Tratado de Endocrinología". 5ta Edición. Editorial Interamericana 1984, p.260-274.

LILFENQUIST J.E.; BOMBAY J.D.; LEWIS S.B.- Effects of Glucagon on Lipolysis and Ketogenesis in Normal and Diabetic Man. *J.Clin.Invest.* 53:190-197, 1974.

LING G.; LOWESTWEIN L.; PULLEY T.; KANEKKO J.J.- Diabetes Mellitus in Dogs: A Review of Initial Evaluation, Immediate and Long Term Management and Outcome. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 170: 521-528, 1977.

LISON L.- Estadística Aplicada a la Biología Experimental. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Bs.As. 1976.

LIU D.; MOBERG E.; KOLLIND M.; LINS P.E.; ADAMSON V.- Circulating Insulin Influences Glucagon Response to Hypoglycemia. XIV Congreso, Fed.Intern.Diabetes, Washington D.C., USA, Junio 23-28, 1991, Com.Libre N^o 283.

LOTEN E.G.; SNEID J.G.T.- An Effect of Insulin on Adipose Tissue Adenosine 3', 5'- cyclic monophosphate Phosphodiesterase Biochem.J. 120:187-193, 1970.

LUFT R.; CERASI E.- Human Growth Hormone an a Regulator of Blood Glucose Concentration and as Diabetogenic Substance. Acta Endocrinologica (Suppl.124):9-16, 1967.

MADSEN J.; BULLOW J.; NIELSEN N.E.- Inhibition of Fatty Acid Mobilization by Arterial Free Fatty Acid Concentration. Acta Physiol.Scand. 127:161-166, 1986.

MALAISSSE W.J.; MALAISSSE-LAGAE F.; PICARD C.; FLAMENT-DURANT J. Effects of Pregnancy and Chorionic Growth Hormone Upon Insulin Secretion. Endocrinology 84:41-48, 1969.

MANCHESTER K.L.; KALHOFF R.K.- Effects of Insulin on Protein Synthesis. Diabetes 21(Suppl.2):447-452, 1972.

MARBLE A.; KRALL L.P.; BRADLEY R.F.; CHRISTLIEB A.R.; SOLDNER J.A.- Joslin's Diabetes Mellitus. Lea, Febiger, Philadelphia, 1985.

MARMOR M.; WILLEBERG P.; GLICKMAN L.T.; PRIESTER W.A.; CYPRESS R.H.; HURVITZ A.- Epizootiologic Patterns of Diabetes Mellitus in Dogs. Am.J.Vet.Res. 43:465-472, 1982.

MARRE M.- Classification des diabetes pancreatiques chez l'homme. Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie 20 (Suppl.4) 361-374, 1985.

MATTEUWS D.; ROTTIERS R.; KANEKO J.J.; VERMEULEN A.- Glucose Tolerance and Insulin Response in Obese Dogs. J.Am.An.Hosp. Assoc. 20:310-317, 1984, a.

MATTEUWS D.; ROTTIERS R.; KANEKO J.J.; VERMEULEN A.- Diabetes

- Mellitus in Dogs: Relationship of Obesity to Glucose Tolerance and Insulin Response. *Am.J.Vet.Res.* 45:98-104, 1984, b.
- MATUTE M.L.- Sex Steroid Influence on Hepatic Gluconeogenesis and Glycogen Formation. *Endocrinology* 92:762-769, 1973.
- MC CANN J.P.; ALTSZULER N.; HAMPSHIRE J.; CONCANNON P.W.- Growth Hormone, Insulin, Glucose, Cortisol, Luteinizing Hormone and Diabetes in Beagle Bitches Treated with Medroxyprogesterona Acetate. *Acta Endocr. (Copenh.)* 116:73-81, 1987.
- MC MAHON M.; GERICH J.; RIZZA R.- Effects of Glucocorticoids on Carbohydrate Metabolism. *Diabetes/Metabolism Reviews* 4:17-30, 1988.
- MELLIN T.N.; ORCZYK G.F.; HIGHENS M.; BEHRMAN H.R.- Serum Profiles of Luteinizing Hormone, Progesterone and Total Estrogens During the Canine Estrous Cycle. *Theriogenology* 5: 175-183, 1976.
- MERIMEE T.J.; RABIN D.- A Survey of Growth Hormone Secretion and Action. *Metabolism* 22:1235-1246, 1973.
- METCALFE P.; JOHNSON D.G.; NOSADINI R.; DRKSOV H.; ALBERTI K.G.M.M.- Metabolic Effect of Acute and Prolonged Growth Hormone Excess in Normal and Insulin-deficient Man. *Diabetologia* 20:123-128, 1981.
- MIYOSHI H.; SHULMAN G.I.; PETERS E.J.; ELAHI D.; WOLFE R.R.- Hormonal Control of Substrate Cycling in Humans. *J.Clin.Invest* 81:1545-1545, 1988.
- MORGAN R.V.- Endocrine and Metabolic Emergencies. Part I. *Continuing Education* 4:755-762, 1982.

MURTHY V.K.; SHIPP J.C.- Accumulation of Myocardial Triglycerides in Ketotic Diabetes: Evidence for Increased Biosynthesis. *Diabetes* 26:222-229, 1977.

MURTHY V.K.; SHIPP J.C.- Synthesis and Accumulation of Triglycerides in Liver of Diabetic Rats: Effects of Insulin Treatment. *Diabetes* 28:472-478, 1979.

MURTHY V.K.; SHIPP J.C.- Regulation of Hepatic Triglyceride Synthesis in Diabetic Rats. *J.Clin.Invest.* 67:923-930, 1981.

NELSON R.W.; FELDMAN E.C.- Canine Diabetes Mellitus. En "Current Veterinary Therapy IX. Small Animal Practice" Kirk. Ed. Saunders. Philadelphia 1989, p.991-999.

NETT T.M.; AKBAR A.M.; PHEMISTER R.D.; HOLST P.A.; REICHERT L. E.; NISWENDER G.D.- Levels of Luteinizing Hormone, Estradiol and Progesterone in Serum During the Estrous Cycle and Pregnancy in the Beagle Bitch. *Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.* 148: 134-142, 1975.

NICHOL A.V.- Human Serum Lipoprotein and their Interrelationship. En "Advances in Biological and Medical Physcs" Lawrence G.H.; Gofman J.W. (Eds.). Academic Press, New York, Vol.2, 1967, p.129-138.

NIELSEN J.H.- Effects of Growth Hormone, Prolactin and Placental Lactogen on Insulin Content and Release and Deoxyribonucleic Acid Synthesis in Cultured Pancreatic Islets. *Endocrinology* 110:600-606, 1982.

NIKKILA E.A.; KEKI M.- Polymorphism of Plasma Triglyceride Kinetics in Normal Human Adult Subjects. *Acta Med.Scand.*190: 49-59, 1971.

NIKKILA E.A.; KEKKI M.- Plasma Triglyceride Transport in Diabetes Mellitus. *Metabolism* 22:1-22, 1973.

OLEFSKY J.M.; FARGUHAR J.W.; REAVEN G.M.- Reappraisal of the Role of Insulin in Hypertriglyceridemia. *Am.J.Med.* 57:551-560, 1974.

OLEFSKY J.M.; JOHNSON J.; REAVEN G.M.- The Effect of Acute and Chronic Dexametasone Administration on Insulin Binding to Isolated Rat Hepatocytes and Adipocytes. *Metabolism* 24:517-522, 1975.

OLEFSKY J.M.- Effects of Fasting on Insulin Binding, Glucose Transport and Glucose Oxidation in Isolated Rat Adipocytes. Relationship Between Insulin Receptors and Insulin Action. *J.Clin.Invest.* 58:1450-1457, 1976.

OLIVER M.F.; BOYD C.S.- Changes in the Plasma Lipids During the Menstrual Cycle. *Clinical Sci.* 12:217-222, 1953.

OLSON P.; THRELL M.; WYKES P.; NETT I.- Vaginal Cytology Part I: A Usefull Tool for Staging the Canine Estrous Cycle. *Continuing Education* 6: 385-392, 1984.

ORSETTI A.; BASSERES J.; MACABIES J.- L'insulino secretion chez le chien en etat de desequilibrie thyroïdien. *Ann. Endocrinol. (Paris)* 31:5-12, 1970.

PAGANO G.; CAVALLO-PERIN P.; CASSEDER M.; BRUNO A.- An in Vivo and in Vitro Study of the Mechanism of Prednisolone-induced Resistance in Healthy Subjects. *J.Clin.Invest.* 72:1814-1818, 1983.

PAGES J.- Exploration du pancreas endocrine chez le chien. *Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*

18 (Suppl.1):47-55, 1983.

PAGES J.P.; TROUILLET J.L.- Les lesions au diabete pancreatique. *Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 20 (Suppl.4):386-382, 1985.

PARANGON B.M.; GRANDFEAN D.- Dietetique du chien diabetique. *Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 20 (suppl.4):430-437, 1985.

PARRILLA R.; GOODMAN M.N.; TAEWS C.J.- Effect of Glucagon: Insulin Ratios on Hepatic Metabolism. *Diabetes* 23:725-735, 1974.

PATCH W.; KIM K.; SCHONFELD G.- Effect of Sex Hormones on Rat Lipoproteins. *Endocrinology* 107:1985-1991, 1980.

FECHEREAU D.- Traitment du diabete: l'insulinothérapie. *Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 20 (Suppl.4):408-414, 1985.

PERSSON B.; GENTZ J.C.H.; KAKKAREINEN J.; KELLUM M.- Catecholamines-induces Lipolysis and its Relation to Oxygen Consumption in the Newborn Pringlet. *Pediatric Res.*5:435-445, 1971

PETERSON M.E.; ALTSZULER N.- Spontaneous Canine Cushing's Syndrome Decreased Insulin Sensitivity and Glucose Tolerance. *Diabetes* 30:73-79, 1981.

PETERSON M.E.; NESBIT G.H.; SCHAER M.- Diagnosis and Management of Concurrent Diabetes Mellitus and Hyperadrenocorticism in 30 Dogs. *J.Am.Vet.Med.Ass.*178:66-74, 1981.

PETERSON M.E.- Effects of Megestrol Acetate on Glucose

- Tolerance and Growth Hormone Secretion in the Cat. Res.Vet. Sci.42:354-360, 1987.
- PHILLIPS L.S.; VASSILOPOULOU-SELLIN R.- Somatomedine. N.Engl. J.Med. 302:371-378, 1980.
- PIERLUISSI J.; CAMPBELL J.- Metahematotrophic Diabetes and its Induction; Basal Secretion and Insulin Release Responses to Glucose, Glucagon, Arginine and Meals. Diabetologia 18:223-228 1980.
- PIERLUISSI J.; PIERLUISSI R.; ASHCROFT S.J.H.- Effects of Growth Hormone on Insulin Release in the Rat. Diabetologia 19:391-396, 1980.
- PORTE D.; HOLTER J.- El Páncreas Endocrino y la Diabetes Mellitus. En "Tratado de Endocrinología" 5ta Edición. William R.H.. Editorial Interamericana. 1984, p.774-917.
- PRESS M.; TAMBORLANE W.V.; SHERWIN R.S.- Effects of Insulin on Growth Hormone-induced Metabolic Derangements in Diabetes. Metab.Clin.Exp. 35:956-959, 1986.
- PRESS M.- Growth Hormone and Metabolism. Diabetes/Metabolism Reviews 4:391-414, 1988.
- RANDLE P.J.; GARLAND P.B.; HALES C.N.; NEWSHOLME E.A.- The Glucose-fatty Acid Cycle: Its Role in Insulin Sensitivity and the Metabolic Disturbances of Diabetes Mellitus. Lancet 1: 7285-7289, 1963.
- RAVINOWITZ D.; ZIERLER K.L.- Forearm Metabolism in Obesity and its Response to Intraarterial Insulin. Characterization of Insulin Resistance and Evidence for Adaptative Hyperinsulinism J.Clin.Invest. 41:2173-2179, 1962.

- RENAULD A.; PINTO J.E.B.; SVERDLIK R.C.; FOGLIA V.G.- Studies on the Effect of Growth Hormone Upon the Rate of Disappearance of Insulin from Blood in the Dog. *Acta Physiol.Lat.Am.* 21:229-234, 1971.
- RENAULD A.; SVERDLIK R.C.; ANDRADE L.- The Effect of Chronic Prolactin Administration Upon the Blood Sugar, Insulin and Free Fatty Acid Response to a Glucose Load in the Dog. *Acta Diabetol.Lat.* 10:1286-1294, 1973, a.
- RENAULD A.; PINTO J.E.B.; SVERDLIK R.C.; FOGLIA V.G.- Studies on the Effects of Thyroidectomy on the Insulin Response to Hyperglycemia in the Dog. *Acta Physiol.Lat.* 23:29-35, 1973, b.
- RENAULD A.; SVERDLIK R.- Blood Sugar, Serum Insulin and Free Fatty Acid Levels in Normal Dogs. Sex Differences. *Acta Physiol.Lat.* 25:456-461, 1975.
- RENAULD A.; SVERDLIK R.; GARRIDO D.-Blood Sugar, Serum Insulin and Serum Free Fatty Acid Response to Slow Grades Glucose in Thyroxine Treated Dog. *Acta Diabetol.Lat.* 17:189-194, 1980.
- RENAULD A.; SVERDLIK R.C.; AGUERO A.; RODRIGUEZ R.; FOGLIA V.- Serum Insulin, Free Fatty Acids and Blood Sugar During the Estrous Cycle of Dogs. *Horm.Metab.Res.* 14:4-7, 1982.
- RENAULD A.; VON LAWZEWITSCH I.; PEREZ R.; SVERDIK R.- Effect of Estrogen on Blood Sugar, Serum Insulin and Serum Free Fatty Acids and Pancreas Cytology in Female Dogs. *Acta Diabetologica Lat.* 20:47-56, 1983.
- RENAULD A.; VON LAWZEWITZCH I.; SVERDLIK R.; RODRIGUEZ R.; FOGLIA V.- Metabolic and Pancreatic Changes Caused in Male

Dogs by Testosterone Chronic Administration. Acta Pharmacol. Lat. 36:403-417, 1986.

RENAULD A.; SVERDLIK R.; VON LAWZEWITSCH I.- Metabolic and Histological Pancreatic Changes Induced by Ovariectomy in the Female Dog. Acta Physiol. Lat. 37:289-304, 1987.

RENAULD A.; AGUERO A.; PEREZ R.; RODRIGUEZ R.- Blood Glucose Serum Insulin and Non-esterified Fatty Acid Responses in Female Dogs After Treatment with Progesterone. Com. Biol. 8:65: 83, 1989.

RENAULD A.; GOMEZ N.V.- Método espectrofotométrico para la determinación del glicerol sérico. Rev. de la Asoc. Bioqu. Arg. (ABA) 54:8-11, 1990.

RENAULD A.; PEREZ R.; RODRIGUEZ R.- Cytology and Metabolic Adjustements in Short and Long-term Ovariectomized Bitches 17-beta Estradiol Replacement Therapy. Com. Biol. En Prensa 1991.

REYES TOSO C.F.; RODRIGUEZ R.R.; RENAULD A.; MARQUEZ A.G.; SVERDLIK R.C.; LINARES L.M.- Efectos del bloqueo beta-adrenérgico con propanolol sobre los mecanismos de regulación de la glucemia en el perro. Medicina (Buenos Aires) 51:26-32, 1991.

RICO A.G.; BRAUN J.P.; BERNARD P.- Biochimie de substrates energetiques on causes du diabete pancreatique. Practica Medica et Chirurgica de l'Animal de Compagnie 20 (Suppl.4):353-356, 1985.

RICKETTS H.T.; PETERSEN E.S.; STEINER P.E.; TUPIKOVA N.- Spontaneous Diabetes Mellitus in the Dog: An Account of Eight Cases. Diabetes 2:288-293, 1953.

RICKETTS H.T.; TEST C.E.; PETERSEN E.S.; LINTS H.; TUPIKOVA N.; STEINER P.E.- Degenerative Lesions in Dogs with Experimental Diabetes. *Diabetes* 8:298-304, 1959.

RINJBERK A.; EIGENMANN J.E.; BELSHOW B.E.; HAMPSHIRE J.; ALTSZULER N.- Acromegaly Associated with Transient Overproduction of Growth Hormone in Dog. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 177:574-581, 1980.

RIZZA R.A.; MANDARINO L.J.; GERICH J.E.- Cortisol-induced Insulin Resistance in Man: Impaired Suppression of Glucose Utilization due to a Post-receptor Defect of Insulin Action. *J.Clin.Endocr.Metab.* 54:131-137, 1982.

RODRIGUEZ R.R.- Acción de las glándulas y hormonas sexuales en el metabolismo de los hidratos de carbono y en la diabetes. Tesis de Doctorado en Medicina, Ed. Lumen Buenos Aires, 1950.

ROGERS W.A.; DONOVAN E.F.; KOCIBA G.J.-Lipids and lipoproteins in Normal and in Dogs with Secondary Hyperlipoproteinemia. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 166:1092-1110, 1975.

ROGERS W.A.; RUEBNER B.H.- A Retrospective Study of Probable. Glucocorticoid-induced Hepatopathy in Dogs. *J.Am.Vet.Med.Assoc* 170:603-612, 1977.

ROGERS W.A.- Lipemia in the Dog. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 7:637-647, 1977.

ROGERS W.A.; DONOVAN E.F.; BLACK W.I. BRINK S.J.; HAVE J.W.- Coma en Diabetes. En "Joslin's Diabetes Mellitus" 12^a Ed. Lea and Febiger, Philadelphia 1985, p.526-542.

ROUSEL E.; BUEKERT A.; PAHUD P.; YEQUIER E.; FELBER J.P.- Relationship Between Glucose Oxidation and Glucose Tolerance

- in Man. Metabolism 31:866-870, 1982.
- SACCA L.; MORRONE G.; CICALA M.- Influence of Epinephrine, Norepinephrine and Isoproterenol on Glucose Homeostasis. J.Clin.Endocr.Metab. 50:680-688, 1980.
- SALMON W.D.; DAUGHADAY W.H.- A Hormonally Controlled Serum Factor which Stimulated Sulfate Incorporation by Cartilage in Vivo. J.Lab.Clin.Med. 49:825-833, 1957.
- SCARAMAL J.D.; GOMEZ N.; HUTTER E.- Diabetes mellitus espontánea en caninos: afecciones complicantes, su incidencia y manejo clínico. Rev. AVEPA-RA 4:8-14. 1986.
- SCHADE D.; EATON R.; STANDERFER J.- Modulation of Basal Ketone Body Concentration by Cortisol in Diabetic Man. Metabolism. 47:519-528, 1978.
- SCHAEFER E.J.; FOSTER D.M.; ZECH L.A.; LINDGREN F.T.; BREWER H.B.; LEVY R.I.- The Effects of Estrogen Administration on Plasma Lipoprotein Metabolism in Premenopausal Females. J. Clin.Endocr.Metab. 57:262-270, 1983.
- SCHALCH P.; KIPNIS D.M.- Abnormalities in Carbohydrate Tolerance Associated with Elevated Plasma Non-esterified Fatty Acids. J.Clin.Invest. 44:2010-2020, 1965.
- SCHENLE E.; ZAPT J.; FROECH E.R.- Regulation of Rat Metabolism and its Control by Growth Hormone. No Medication by Insuline-like Growth Factors. Endocrinology 112:384-386, 1983.
- SCHERNTHONER G.; PROGER R.; PUNZENGRUBER C.; LUGER A.- Severe Hyperprolactinemia is Associated with Decreased Insulin Binding in Vitro and Insulin Resistance in Vivo. Diabetologia.

28:138-142, 1985.

SHEURIK A.J.; STEFFERNS A.B.; BENTHEM L.- Central and Peripheral Adrenoreceptors Affects Glucose, Fatty Acids and Insulin in Exercising Rats. *Am.J.Physiol.* 255:R547-556, 1988.

SCHILLINGER E.; GORLOFF C.; HERHANDS E.; GUNZEL P.- Glucose Tolerance and Serum Insulin in Rats and Insulin Sensitivity of Rat Adipose Cells Following Treatment with the Progestagen Clomagestone Acetate. *Acta Endocrinol.* 75:305-313, 1974.

SCHIMPF R.M.; DONNADIEW M.; GLASINOVIC J.C.; WARNWT J.M.; GIRARD F.- The Liver as Source of Somatomedin: an in Vivo Study in the Dogs. *Acta Endocrinol.* 83:365-372, 1976.

SCHLEICHER R.L.; MANN D.R.; GOULD K.G.; COLLINS D.C.- Serum Levels of Cholesterol and Lipoproteins in Rhesus Monkeys: Comparison of the Effect of Gonadotropin-releasing Hormone Agonist and the Progestin, Levonorgestrol. *Fertil.Steril.* 47:710-713, 1987.

SCHUTTE A.P.- Canine Vaginal Cytology. I) Technique and Cytology Morphology, II) Cyclic Changes, III) Compilation and Evolution of Cellular Indices. *J.Small An.Practice* 8:301-317, 1967

SHAMMOON H.; HENDLER R.; SHERWIN R.- Synergistic Interaction Among Anti-insulin Hormones in the Pathogenesis of Stress Hyperglycemia in Humans. *J.Clin.Endocr.Metab.* 52:1235-1241, 1981.

SHAW W.A.S.; ISSEKUTZ T.B.; ISSEKUTZ B. Jr.- Interrelationship of FFA and Glycerol Turnover in Resting and Exercising Dogs. *J.App.Physiol.* 39:30-36, 1975.

SHELDON S.; SCHIFFER M.; GLICK S.M.; SCHWARTZ S.- Effect of Medroxyprogesterone Acetate Upon Stimulated Release of Growth Hormone in Man (Preliminary Report). *Endocr.Metab.* 27:1633-1638, 1967.

SHERWIN R.; WAHREN J.; FELIG P.- Evanescent Effects of Hypo and Hyperglucagonemia on Blood Glucose Homeostasis. *Metabolism* 25:1381-1386, 1976.

SHUPNIK M.A.; BAXTER L.A.; FRENCH L.R.; GORSKI J.- In Vivo Effects of Estrogen on Ovine Pituitaries: Prolactin and Growth Hormone Biosynthesis and Messenger Ribonucleic Acid Translation. *Endocrinology* 104:729-736, 1979.

SIEGEL E.T.- The Pancreas. En "Endocrine Diseases of the Dog". Ed. Lea and Febiger, Philadelphia 1977, p.97-144.

SIM A.W.; DE VRIES W.; VINCENT J.E.- Concentration of Glycerol and Non-esterified Fatty Acids in Plasma During Fat Mobilization. *Biochem.J.* 92:590-593, 1964.

SLOAN J.; PATH M.; OLIVER I.- Progesterone-induced Diabetes in the Dog. *Diabetes* 24:337-342, 1975.

SMITH M.S.; Mc DONALD L.E.- Serum Levels of Luteinizing Hormone and Progesterone During the Estrous Cycle, Pseudopregnancy and Pregnancy in the Dog. *Endocrinology* 94:404-409, 1974.

SMITH U.- Effects of Insulin on Glucose Transport and Lypolysis. *Hormone and Metabolic Research Suppl. Series* 19:50, 1988.

SMITH U.; LAGER I.- Insulin Antagonist Effects at Counterregulatory Hormones: Clinical and Mechanisms Aspects.

Diabetes/Metabolism Reviews 5:511-525, 1989.

SOI P.; SACHS M.; JANDET A.; ASSAN R.; GEPTS W.- Immunité antipancreatique dans le diabète insulino dépendant du chien. Bull.Acad.Vet. de France 56:107-113, 1983.

SOI P.; DEBRAY-SACHS M.; JANDET A.; ASSAN R.; GEPTS W.- Anti-b Cell in Insulinopenic Diabetic Dogs. Diabetes 33:135-139, 1984

SOI P.- Lésions des îlots de Langerhans chez les carnivores diabétiques: approche physiopathologique et perspectives thérapeutiques. Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie 20 (Suppl.4):367-369, 1985.

SOLER-ARCILAGA C.; HEIMBERG M.- Comparison of Metabolism of Free Fatty Acids by Isolated Perfused Rat Livers from Male and Female Rats. J.Lipids Res. 17:605-611, 1976.

SOMOGYI M.- Exacerbation of Diabetes by Excess Insulin Action. Am.J.Medicine 26:169-175, 1959.

SORENSEN R.L.; BRELFE T.C.; HEGRE O.D.; MARSHALL S.- Prolactin (in Vivo) Decreases the Stimulation Threshold, Enhances Insulin Secretion and Increases Dye Coupling Among Islets B Cells. Endocrinology 121:1447-1453, 1987.

SOSENKO J.M.; BRESLOW J.L.; MIETTIENEN O.S.; GABAY K.H.- Hyperglycemia and Plasma Lipids Levels. A Retrospective Study of Young Insulin-dependent Diabetic Patients. New Engl.J.Med. 302:650-654, 1980.

SPELLACY W.N.; BUHI W.C.; BIRK S.A.- Norgestrol and Carbohydrate-lipid Metabolism: Glucose, Insulin and Triglyceride Changes During Six Months Time of Use. Contraception 8:615-620, 1974.

STEEL R.G.; TORRIE J.H.- Bioestadística: Principios y Fundamentos. Editorial Mc Graw-Hill, 2^a edición, Bogotá Colombia 1985, p.202.

STEINBERG D.; VAUGHAN M.- Release of Free Fatty Acids From Adipose Tissue in Vitro in Relation to Rates of Triglyceride Synthesis and Degradation. En "Hand Book of Physiology". Renold A.E.; Cahill F.F.Jr. Adipose Tissue. American Physiological Society. Washington D.C. Section 5, 1965, p.335-347.

STEINER G.; MURASE T.- Triglyceride Turnover: A Comparison of Simultaneous Determinations Using the Radioglyceride and the Lipolytic Rate Procedures. Fed.Proc. 34:2258-2262, 1975.

STEINER G.; POASPST M.; DAVIDSON J.K.- Production of Chylomicron-like Lipoproteins from Endogenous Lipid by Intestine and Liver of Diabetic Dogs. Diabetes 24:263-271, 1975

STEINER K.E.; STEVENSON R.W.; GREEN D.R.; CHERRINGTON A.D.- Canine Hepatocytes. Metabolism 34:1020-1023, 1985.

STEINER D.- Metabolic Effects of Catecholamines, Lipid Metabolism. Catecholamines Stimulation of Fat Mobilization and its Metabolic Consequences. Pharm.Rev 18:217-221, 1966.

SUTHERLAND E.W.; ROBINSON G.A.- Metabolic Effects of Catecholamines. Carbohydrate Metabolism. The Role of Cyclic 3'- 5'- AMP Response to Catecholamines and other Hormones. Pharmacol.Rev. 18:145-161, 1966.

SUTTER-DUB M.T.; LECLERC R.; JACQUET R.- Inhibition of Insulin Action by Progesterone in the Rat. Diabetologia 9:92-98, 1973.

SUTTER-DUB M.T.- Preliminary Report: Effects of Female Sex

Hormones on Insulin Secretion by the Perfused Rat Pancreas.

J.Physiol.Paris 72:795-800, 1976.

SUTTER-DUB M.T.; DAZEY B.; HANDON E.; VERGNAUD M.T.-

Progesterone and Insulin-resistance: Studies of Progesterone

Action on Glucose Transport, Lipogenesis and Lypolysis in

Isolated Fat Cells of the Female Rat. J.Endocrinology. 88:455-

462, 1981.

SUTTER-DUB M.T.; VARGNAUD M.T.- Progesterone and Glucose

Metabolism in the Female Rat Adipocyte: Effect on Hexoquinase

Activity. J.Endocrinology. 95:369-375, 1982.

TALDOT M.; HABIT Y.A.; ABDEL NAVY S.; HANDI H.; MALEK A.Y.;

IBRAHIN Z.A.- Effect of Oestradiol Dipropionate on the Glucose

Tolerance and Insulin Sensitivity Curves in Normal and

Ovariectomized Female Rabbits. Arch.Int.Pharmacodyn. 153:290-

296, 1965.

TISCHLER S.A.- The Effect of the Estrous Cycle on Diabetes

Mellitus in the Dog. J.Am.An.Hosp.Assoc. 10:122-125, 1974.

TORBEN G.; ANDERSON N.- The High Intravenous Glucose Tolerance

Test (H-IVGTT) in Dogs. Nord Vet.Med. 25:436, 1973.

TUTTLE S.; TURKINGTON V.E.- Effect of Medroxyprogesterone

Acetate on Carbohydrate Metabolism. Obstetrics and Gynecology

43:685-691, 1974.

TYSON J.E.; FELIG P.- Medical Aspects of Diabetes in Pregnancy

and the Diabetogenic Effects of Oral Contraceptives. Medical

Clinics of North Am. 55:947-953, 1971.

UNGER R.H.- Glucagon and the A Cells. Physiology and

Pathophysiology. N.Engl.J.Med. 304:1518-1524, 1981.

- UNGER R.H.- Insulin-glucagon Relationships in the Defence of Hypoglycemia. *Diabetes* 32:575-583, 1983.
- UNGER R.H.- Glucagon Physiology and Pathophysiology in the Light of New Advances. *Diabetologia* 28:574-578, 1985.
- VAUGHAN M.- The Production and Release of Glycerol by Adipose Tissue Incubated in Vitro. *J.Biol.Chem.* 237:3354-3358, 1961.
- VICIAN L.; SHUPNIK M.A.; GORSKI J.- Effect of Estrogen on Primary Ovine Pituitary Cell Cultures Stimulation Messenger Ribonucleic Acid Activity. *Endocrinology* 104:736-743, 1979.
- VOLK B.W.; LAZARUS S.S.- Ultramicroscopy of Dog in Growth Hormone Diabetes. *Diabetes* 11:426-435, 1962.
- WADA C.W.; MIKI H.; ETOH M.; OKUDA F.; KUMADA T.; KASUKAWA R.- The Inhibitory Effect of Lipid Peroxidases on the Activity of the Membrane-bound and the Solubilized Lipoprotein Lipase. *Jpn.Circ.J.* 47:837-842, 1983.
- WALDEN C.E.; KNOPP R.H.; WAHL P.W.; BEACH K.W.; STRANDNESS E.- Sex Influence in the Effect of Diabetes Mellitus on Lipoprotein Triglyceride and Cholesterol Concentrations. *N.Engl.J.Med.* 311(15):953-958, 1984.
- WARD F.R.; EBLANCH H.; YEN S.S.C.- The Inhibitory Effects of Somatostatin on Growth Hormone, Insulin and Glucagon Secretion in Diabetes Mellitus. *Clin.Endocr.Metab.* 41:527-533, 1975.
- WEILAND D.; MONDEN C.E.; REAVEN C.M.- Evidence for Multiple Causality in Development of Diabetic Hypertriglyceridemia. *Diabetologia* 18:335-542, 1980.
- WILKINSON J.- Spontaneous Diabetes Mellitus. *Vet.Rec.* 72:548-555, 1960.

- WINNER B.J.- Statistical Principles in Experimental Design. Ed. Mc Grow-Hill Company. 2nd Edition, New York, 1971.
- WINKLER B.; STEELE R.; BJERKNES C.; RATHGER I.; ALTSZULER N.- Isolation of a Pure Glycerol-C₁₄ Derivative for Measurement of Glycerol Turnover. J.Appl.Physiol. 23:752-756, 1967.
- WISE J.; HANDLER R.; BORKOW I.- Influence of Glucocorticoids on Glucagon Secretion and Plasma Aminoacid Concentration in Man. J.Clin.Invest. 52:2774-2782, 1973.
- WOLFE R.E.; ALLSOP J.R.; BURKE J.F.- Glucose Metabolism in Man: Responses to IV Glucose Infusion. Metabolism 20:210-220, 1979.
- WOLFE R.R.; SHAW J.H.F.- Inhibitory Effect of Plasma Free Fatty Acids on Glucose Production in the Conscious Dog. Am.J. Physiol. 246:E 181-186, 1984.
- WOLFE R.R.; SHAW J.H.F.- Effect of Epinephrine Infusion and Adrenergic Blockade on Glucose Oxidation in Conscious Try. Metabolism 35:673-678, 1987.
- WOLFE R.R.; KLEIN S.; CARRARO F.; WEBER M.- Role of Triglyceride-fatty Acid Cycle in Controlling Fat Metabolism in Humans During and After Excercise. Am.J.Physiol. 258:E 382-389 1990.
- WOLFSHEIMER K.J.; FLORY W.; WILLIAMS M.D.- Effects of Prednisolone on Glucose Tolerance and Insulin Secretion in the Dog. Am.J.Vet.Res.47:1011-1018, 1986.
- WOLFSHEIMER K.J.- Insulin-resistant Diabetes Mellitus. En "Current Veterinary Therapy X Small Animal Practice". Kirk. Ed.Saunders, Philadelphia, 1989, p.1012-1019.

- WOOD P.- Metabolic Complications of Diabetes Mellitus. Continuing Education 3:218-223, 1981.
- WOODS M.; SCHAEFFER E.J.; MORRILL A.; LONGCOPE C.; DWYER J.D.; GORBACH S.L.- Effect of Menstrual Cycle Phase on Plasma Lipids J.Clin.Endocr.Metab. 65:321-323, 1987.
- WOODSIDE W.F.; HEIMBERG M.- Hepatic Metabolism of Free Fatty Acids in Experimental Diabetes. Isr.J.Med.Sci. 8:309-316, 1972
- YANG M.- Effect of a Single Dose of Progesterone on Blood Glucose in Rats. Endocrinology 86:924-927, 1970.
- YANG M.; KOK S.D.- Effect of a Single Dose of Progesterone on Blood Glucose in Diabetic and on Insulin Sensitivity in Normal Rats. Horm.Metab.Res. 6:430-431, 1974.
- ZERBE C.A.- Canine Hyperlipidemias. En "Current Veterinary Therapy IX. Small Animal Practice". Ed.Saunders. Philadelphia 1986, p.1045-1053.

OTRA BIBLIOGRAFIA CONSULTADA:

- ADLERCREUTZ H.; TALVQUIST G.- Variation in Serum Total Cholesterol and Hematocrit Values in Normal Women During the Menstrual Cycle. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 11:1-12, 1959.
- ADRIAN T.E.; BLOOM S.R.; HERMANSEN K; IVERSEN J.- Pancreatic Polipeptide, Glucagon and Insulin Secretion from the Isolated Perfused Canine Pancreas. *Diabetologia* 14:413-417, 1978.
- AERTS L.; VAN ASCHE F.A.; FAURE A.; SUTTER-DUB M.T.- Effects of Treatment with Progesterone and Oestradiol-17-beta on the Endocrine Pancreas in Ovariectomized Rats: Ultrastructural Variations in the B Cells. *J.Endocrinology (London)* 84:317-321, 1980.
- AITKEN J.M.; GALLAGHER M.J.D.; HART D.M.; NEWTON D.A.G.; CRAIG A.- Plasma Growth Hormone and Serum Phosphorus Concentrations in Relation to the Menopause and to Oestrogen Therapy. *J.Endocrinology (London)* 50:593-598, 1973.
- ANDERSEN O.O.; FRIIS T.; OTTESEN B.- Glucose Tolerance and Insulin Secretion in Hyperthyroidism. *Acta Endocr.(Kbh)* 84: 576-582, 1977.
- ARMSTRONG D.T.; STEELE R.; ALTSZULER N.A.; DEEN A.; BISHOP J.S.- Regulation of Plasma Free Fatty Acid Turnover. *Am.J. Physiol.* 201:9-15, 1965.
- ASHBY J.P.; SHIRLING D.; BAIRD J.D.- Effect of Progesterone on the Secretion and Peripheral Action of Insulin and Glucagon in the Intact Rat. *J.Endocrinology (London)* 88:49-54, 1981.

BAGDADE J.D.; PORTE D.Jr.; BIERMAN E.L.- Diabetic Lipemia: A Form of Acquired Fat-induced Lipemia. N.Engl.J.Med.276:427-432, 1967.

BAGDADE J.D.; BIERMAN E.L.; PORTE D.Jr.- Influence of Obesity on the Relation Between Insulin and Triglycerides Levels in Endogenous Hypertriglyceridemia. Diabetes 20:664-672, 1971.

BARRET E.J.; DE FRONZO R.A.; BEVILACQUA S.; FERRANNINI E.- Insulin Resistance in Diabetic Ketoacidosis. Diabetes 31:923-928, 1982.

BECK P.; WELLS S.- Plasma Insulin Responses to Glucose in Estradiol and Mestranol Treated Rhesus Monkeys. Clin.Res. 16:338-342, 1969.

BERTOLI A.; De PIRRO R.; FUSCO A.; GRECO A.L.; MAGNATTA R.; LAURO R.- Differences in Insulin Receptors Between Men and Menstruating Women and Influence of Sex Hormones on Insulin Binding During the Menstrual Cycle. J.Clin.Endocr.Metab. 50:246-252, 1980.

BONADONA R.C.; ZYCH K.; BONI C.; FERRANNINI E.; De FRONZO R.A.- Time Dependence of the Interaction Between Lipid and Glucose in Humans. Am.J.Physiol. 257:E49-56, 1989.

BUCHLER D.; WARREN J.- Effects of Estrogen on Glucose Tolerance. Am.J.Obst.Gynec. 95:479-485, 1966.

CAHILL G.F. Jr.- Current Concepts of Diabetes. En "Joslin's Diabetes Mellitus" Ed.Lea and Febiger, Philadelphia, 20th Edition, p.1-11. 1985.

CALVERT G.D.; GRAHAN J.J.; MANNIK J.J.- Effects of Therapy on

Plasma-High Density Lipoprotein-Cholesterol Concentrations in Diabetes Mellitus. *Lancet* 2:66-73, 1978.

CAPALDO B.; NAPOLI R.; MARINO L.D.; PICARDI A.; RICCARDI G.; SACCA L.- Quantification of Glucose and Free Fatty Acid (FFA) Disposal in Normal Subjects and Type II Diabetic Patients: Evidence Against and Essential Role for FFA in the Pathogenesis of Insulin Resistance. *J.Clin.Endocr.Metab.* 67: 893-898, 1988.

CASSANUEVA F.F.; VILLANUEVA L.; DIEGUEZ C.; DIAZ Y.; CABRANES J.A.; SZOKE B.; SCANLON M.F.; SCHALLY A.V.; FERNANDEZ A.- Free Fatty Acid Block Growth Hormone (GH) Releasing Hormone-stimulated GH Secretion in Man Directly at the Pituitary. *J.Clin.Endocr.Metab.* 65:634-642, 1987.

CONCANNON P.W.; HANSEL W.; Mc ENTEE K.- Changes in LH, Progesterone and Sexual Behavior Associated with Preovulatory Luteinizing in the Bitch *Biol.Reprod.* 17:604-613, 1977.

CONCANNON P.W.- Clinical and Endocrine Correlates of Canine Cycles and Pregnancy. En "Current Veterinary Therapy IX. Small Animal Practice" Kirk, Ed.Saunders Philadelphia 1986, p.1214-1224.

COSTRINI N.V.; KALKHOFF R.K.- Relative Effects of Pregnancy, Estradiol and Progesterone on Plasma Insulin and Pancreatic Islet Insulin Secretion. *J.Clin.Invest.* 50:992-998, 1971.

CRYER P.E.- Glucose Counterregulation in Man. *Diabetes* 30:261-264, 1981.

CHEN P.E.; RISSER T.R.; CULLY M.; REAVEN G.M.- Is the Hypertriglyceridemia Associated with Insulin Deficiency Caused

- by Decreased Lipoprotein Lipase Activity. *Diabetes* 28:893-898, 1979.
- CHENG J.S.; KALANT N.- Effects of Insulin and Growth Hormone on the Flux of Plasma Free Fatty Acids in Man. *J.Clin. Endocrinol.* 31:647-653, 1970.
- CHRISTENSEN N.C.; DAVIDSEN P.C.; SCHER N.J.; PEDERSON G.- Serum Lipids During Oestradiol-Valerate Norgestriol Treatment of Menopausal Women. *Acta Obst.Gynecol.Scand.* 54:213-218, 1975
- DAY J.L.- The Metabolic Consequences of Adrenergic Blockage: A Review. *Metabolism* 24: 987-994, 1979.
- DEIBER D.; De FRONZO R.-Epinephrine-induced Insulin Resistance in Man. *Clin.Res.* 27:365-371, 1979.
- DE PIRRO R.; FUSCO A.; BERTOLI A.; GRECO A.V.; LAURO R.- Insulin Receptors During the Menstrual Cycle in Normal Women. *J.Clin.Endocr.Metab.* 47:1387-1394, 1978.
- DIVERTIO G.; JENSEN M. CRYER P.; MILES J.- Lipolytic Response to Epinephrine in Normal and Insulin Dependent Diabetic Humans. XIV Congreso, Fed.Intern.Diabetes, Washington D.C., USA. Junio 23-28, 1991. Com.Libre N^o995.
- DOAR J.W.H.; STAMP T.C.B.; WYNN V.- Effects of Oral and Intravenous Glucose Loading in Thyrotoxicosis. Studies of Intravenous Glucose, Free Fatty Acid, Plasma Insulin and Blood Pyruvate Levels. *Diabetes* 18:633-639, 1969.
- EATON P.; WHYTE J.- The Relationship Between Insulin Secretion and Triglyceride Concentrations in Endogenous Lipemia. *J.Lab. Clin.Med.* 81:682-695, 1975.

- ECKEL R.H.; ALBERS J.J.; CHEUNG M.C.- High Density Lipoprotein Composition in Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Diabetes* 30:132-136, 1981.
- EIGENMANN J.; BRUIJNE J.J.; FRAENCH R.- Insulin-like Growth Fact I and Growth Hormone in Canine Starvation. *Acta Endocr. (Copenh.)* 108:161-166, 1985.
- EISENBERG S.; LEVY R.I.- Lipoprotein Metabolism. *Adv.Lipid Res.* 13:1-89, 1975.
- FAURE A.; SUTTER-DUB M.T.; SUTTER B.C.J.; ASSAN R.- Ovarian-adrenal Interactions in Regulation of Endocrine Pancreatic Function in the Rat. *Diabetologia* 24:122-129, 1983.
- FAURE A.; SUTTER-DUB M.T.- Insulin Secretion from Isolated Pancreatic Islets in the Female Rat. Short and Long Term Oestradiol Influence. *J.Physiol.(Paris)* 75:289-275, 1979.
- FELDMAN E.C.; NELSON R.W.- "Canine Female Reproduction". *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Ed.Saunders Philadelphia 1987, p.339-480.
- FILLIOS L.C.- The Gonadal Regulation of Cholesterolemia in the Rat. *Endocrinology* 60:22-27, 1957.
- FRANTZ A.C.- Effects of Estrogen and Sex Difference on Secretion of Human Growth Hormone. *J.Clin.Endocr.Metab.* 25:1470-1480, 1965.
- GOBERNA R.; VOIGT K.; FUSSGONGER R.; LAMBE H.; PFIEFFER E.- Effect of the Synthetic Progestin Clormadinone Acetate on the Insulin Response. *Endocrinology* 89:974-979, 1971.
- GOLDMAN J.; OVADIA J.- Defect of Estrogen on Intravenous Glucose Tolerance in Women. *Am.J.Obst.Gynec.* 103:172-178, 1969.

- GOLDFIEN A.- Metabolic Effect of Catecholamines. Lipid Metabolism. Effects of Drugs on Mobilization of Free Fatty Acids. Pharmacol.Rev. 18:243-251, 1966.
- GOLAY A.Y; CHEN D.I.; REAVEN G.M.- Effect of Differences in Glucose Tolerance on Insulin's Ability to Regulate Carbohydrate and Free Fatty Acid Metabolism in Obese Individuals. J.Clin.Endocr. 62:1081-1086, 1986.
- GORIN E.; SHAFIR E.- Turnover of Adipose Tissue Triglycerides, Measured by the Rates of Synthesis and Release of Glycerol. Biochim.Biophys.Acta 70:109-116, 1963.
- GUFTAFFSON A.; SVANBORG A.- Gonadal Steroid Effects of Plasma Lipoproteins and Individual Phospholipids. J.Clin.Endocr. Metab. 35:203-208, 1972.
- HAGEN J.H.- The Turnover of Glycerol in Plasma. Life Sci. 2: 170-176, 1963.
- HAGER D.; GLORG R.H.; LEITNER J.W.- Insulin Secretion and Content in Isolated Rat Pancreatic Islets Following Treatment with Gestational Hormones. Endocrinology 91:977-983, 1972.
- HALL S.E.H.; SAUNDERS J.; SONKSEN P.H.- Glucose and Free Fatty Acid Turnover in Normal Subjects and in Diabetic Patients Before and After Insulin Treatment. Diabetologia 16:297-306, 1979.
- HAVEL R.Y.; GOLDFIEN A.- The Role of the Sympathetic Nervous System in the Metabolism of Free Fatty Acid. J.Lipid Research 11:102-108, 1959.
- HAZZARD W.R.; DRUNZELL J.D.; MOHER D.T.- Estrogens and Triglyceride Transport: Increased Endogenous Production as the

- Mechanism for the Hypertriglyceridemia of Oral Contraceptive Therapy. Internat.Cong.Series N^o 1006, 1972.
- HEIMBERG M.; GOH E.H.; KLAUSNER H.A.; SOLER-ARCILAGA G.; WEINSTEIN I.; WILCOX H.G.- Regulation of Hepatic Metabolism of Free Fatty Acids. En "Disturbances in Lipid and Lipoprotein Metabolism". J.M. Dweitchy; A.M. Goto; J.A.Ontko (Eds). Am.Physiol.Soc., Bethesda, Md, USA, 1978, p.251-267.
- HOLST E.J.- Glycerol Oxidation in the Animal Organism. Acta Physiol.Scand. 7:69-79, 1944.
- HOWARD B.V.- Lipoprotein Metabolism in Diabetes Mellitus. J. Lip.Res. 28:613-619, 1987.
- HOWELL S.; TYHURST M.; GREEN I.-Direct Effects of Progesterone on Rats Islets of Langerhans in Vivo and Tissue Culture. Diabetologia 13:579-585, 1977.
- JAP T.S.; HO L.T.; WON J.G.S.- Insulin Secretion and Sensitivity in Hyperthyroidism. Horm.Metab.Res. 21:261-271, 1989.
- JENSEN J.; RIIS B.J.; STROM V.; NILLAS L.; CHRISTIANSEN C.- Long Term Effects of Percutaneous Estrogens and Oral Progesterone on Serum Lipoproteins of Postmenopausal Women. J.Obst.Gynecol. 156:66-74, 1980.
- JURGENSEN H.J.; MEINERTZ H.; FAERGEMAN O.- Lipids and Lipoproteins in Long-term Beta-adrenergic Blockade. Acta Med. Scand. 211:449-452, 1982.
- KASHIWAGI A.; VERSA M.A.; ANDREWS J.; VASQUEZ B.; REAVEN G.; FOKY J.E.- In Vitro Insulin Resistance of Human Adipocytes

Isolated from Subjects in with Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. *J.Clin.Invest.* 72:1246-1254, 1983.

KRAUSS R.M.; LINDGREN F.T.; WINGARD J.L.; BRADY D.D.; RAWCHARAN S.- Effects of Estrogen and Progesterone on High Density Lipoproteins. *Lipids* 14:113-117, 1979.

LEBOEUF B.; FLINN R.B.; CAHILL G.E. Jr.- Effect of Epinephrine on Glucosa Uptake and Glycerol Release by Adipocyte Tissue in Vitro. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 102:527-532, 1959.

LENSEN S.; KUCKING H.- Inhibition of Insulin Secretion by L-thyroxine and D-thyroxine Treatment in Rats Under the Influence of Drug Affecting the Adrenergic Nervous System. *Acta Endocr.* 100:27-38, 1982.

LILFENQUIST J.E.; MULLER G.L.; CHERRINGTON A.D.- Evidence for an Important Role of Glucagon in the Regulation of Hepatic Glucose Production in Normal Man. *J.Clin.Invest.* 59:369-373, 1977.

LILLIOJA S.; BOGARDUS C.; MOTT D.M.; KENNEDY A.L.; KNOWLER W.C.; HOWARD B.V.- Relationship Between Insulin-mediated Glucose Disposal and Lipid Metabolism in Man. *J.Clin.Invest.* 75:1106-1115, 1985.

LOPEZ-VIRELLA M.F.; WOHLTMANN H.J.; LOADHOLDT C.B.; BUSE M.B.- Plasma Lipids and Lipoproteins in Young Insulin-dependent Diabetic Patients: Relationship with Control. *Diabetologia* 21: 216-223, 1981.

MATTOCK M.B.; FULLER J.H.; MAURE P.S.; KEEN H.- Lipoproteins and Plasma Cholesterol in Normal and Diabetic Subject. *Atherosclerosis* 34:437-449, 1979.

MARTIN J.M.; FRIESEN H.- Effects of Human Placental Lactogen on the Isolated Islets of Langerhans in Vitro. *Endocrinology* 84:610-616, 1969.

MASAREI J.R.L.; ARMSTRONG B.K.; SICINNER M.W.; RATAJCZAK T.; HAHNER R.; CROOKE D.; CLARKE H.T.- HDL-Cholesterol and Sex Hormone Status. *Lancet* 1:208-211, 1980.

MATTOCK M.B.; FULLER J.H.; MAUDE P.S.; KEEN H.- Lipoproteins and Plasma Cholesterol in Normal and Diabetic Subject. *Atherosclerosis* 34:437-449, 1979.

Mc KERNS K.W.; COULOMB B.; KANITA E.; DE RENZO E.C.- Some Effects of in Vivo Administered Estrogens on Glucose Metabolism and Adrenal Cortical Secretion in Vitro. *Endocrinology* 63:709-716, 1958.

MERIMEE T.J.; PULKINEN A.J.- GH-estrogen Interaction in Modulation Insulin Secretion. *J.Clin.Endocr.Metab.* 45:232-238, 1977

MULLER M.J.B.; SCHUTZ H.J.; MITZKAT A.- Glucoregulatory Function of Thyroid Hormones: Interactions with Insulin on the Prevailing Glucose Concentrations. *J.Clin.Endocr.Metab.* 63:62-69, 1986.

NELSON W.O.; OVERHALSER M.D.- The Effects of Oestrogenic Hormone on Experimental Pancreatic Diabetes in the Monkey. *Endocrinology* 20:473-476, 1936.

NELSON P.- Triglyceride Turnover In Coronary Heart Disease and Effect of Dietary Carbohydrate. *Clin.Sci.* 31-38, 1966.

NESTEL P.; GHYTE J.- Plasma Fatty Acids and Triglyceride

- Turnover in Obesity. *Metabolism* 17:1122-1128, 1968.
- NEW M.I.; ROBERTS A.M.; BIERMAN F.L.; READER G.G.- The Significance of Blood Lipid Alterations in Diabetes Mellitus. *Diabetes* 12:208-212, 1963.
- NICHOLL A.; MILLER N.E.; LEWIS B.E.- High Density Lipoproteins *Adv.Lipid Res.* 17:95-99, 1980.
- NIKKILA E.A.- Regulation of Hepatic Production of Plasma Triglycerides by Glucose and Insulin. En "Regulation of Hepatic Metabolism" Lundquist F.; Tygstrup n. (Eds.) Munksgaard, Copenhagen 1974, p.360-385.
- NIKKILA E.A.; HUTTMEN J.K.; EHNHOLM C.- Post Heparin Plasma Lipoprotein-lipase and Hepatic lipase in Diabetes Mellitus Relationship of Plasma Triglyceride Metabolism. *Diabetes* 26:11-21, 1977.
- NIKKILA E.A.; HORMILA P.- Serum Lipids and Lipoproteins in Insulin-treated Diabetes. Demonstration of Increased High-density Lipoprotein Concentrations. *Diabetes* 27:1078-1083, 1978.
- NOBEL W.L.; MC GUIRE W.B.- Hormonal Effects Upon in Vitro Cholesterol Synthesis. *Circ.Res.* 5:573-578, 1957.
- OLEFSKY J.M.; FARGUHAR J.W.; REAVEN G.M.- Sex Difference in the Kinetics of Triglyceride Metabolism in Normal and Hypertriglyceridaemic Human Subjects. *Eur.J.Clin.Invest.* 4:121-127, 1974.
- OLSON P.M.; HUSTER P.W.; ALLEN T.A.; NETT T.M.- Reproductive Endocrinology and Physiology of the Bitch and Queen. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*

14:947-954, 1984.

ORSETTI A.; COLLARD F.; JAFFIEOL C.- Abnormalities of Carbohydrate Metabolism in Experimental and Clinical Hyperthyroidism Studies on Plasma Insulin and on the A and B Chains of Insulin. *Acta Endocrinol.Lat.* 11:486-491, 1974.

PAUL P.; ISSEKUTZ B. Jr.; MILLER H.I.- Interrelationship of Free Fatty Acids and Glucose Metabolism in the Dog. *Am.J. Physiol.* 211:1313-1317, 1966.

PECHEREAU D.- Endocrinopathies et diabete. *Practique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 20 (Suppl.4):402-408, 1985.

PERKONEN R.; NIKKILA E.A.; KOSKINEN S.; PENTTINEN K.; SARNA S.- Triglycerides in Diabetes Mellitus. *Br.Med.J.* 2:1185, 1977

PERLEY M. KIPNIS D.- Effect of Glucocorticoids on Plasma Insulin. *N.Engl.J.Med.* 274:1237-1241, 1966.

PETERSON M.E.- Decreased Insulin Sensitivity and Glucose Tolerance in Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism. *Res.Vet. Sci.* 36:177-184, 1984.

PILKIN R.M.; VAN ORDEN D.E.; REYNOLDS W.A.- Plasma Insulin Responses and Glucose Tolerance in Pregnant Rhesus Monkeys. *Endocrinology* 86:435-439, 1979.

PILKINGTON T.R.E.; LOWE R.D.; FOSTER R.; ROBINSON B.F.; ANTONIS A.- Effects of Simpathomimetic Compounds with Beta-adrenergic Effects on Plasma Free Fatty Acids in Man. *J.Lipid Res.* 7:73-77, 1966.

PILKIS S.J.; PARK C.R.; CLANS T.H.- Hormonal Control of Hepatic Gluconeogenesis. *Vitamins and Hormones* 36:383-392,

1978.

POLHEIN D.; DAVID J.S.K.; SCHULTZ F.M.; WYLIE M.B.; JOHNSTON J.M.- Regulation of Triglyceride Biosynthesis in Adipose and Intestinal Tissue. *J.Lipid Res.* 14:415-421, 1973.

POLONSKY K.S.; GROEN B.D.; HIRSH E.T.; SHAPIROTT H.- Quantitative Study of Insulin Secretion and Clearance in Normal and Obese Subjects. *J.Clin.Invest.* 81:435-439, 1988.

PORTE D. Jr.; WILLIAMS R.H.- Inhibition of Insulin Release by Norepinephrine in Man. *Science* 152:1248-1250, 1966.

POWELL M.G.; HEDLIN A.M.; CERKUS I.; KARIS G.; PRADHAN D.; ROSENROT P.- Effects of Oral Contraceptives on Lipoprotein Lipids: A Prospective Study. *Obst.Gynecol.* 63:764-778, 1984.

QUABBE H.J.; BUNGE S.; WALTZ T.; BRATZKE B.- Plasma Glucose and Free Fatty Acids Modulate the Secretion of Growth Hormone, but not Prolactin in the Rhesus and Yara Monkey. *J.Clin.Endocr Metabol.* 70:908-915, 1990.

RABEN M.S.; HOLLEMBERG C.H.- Effect of Growth Hormone on Plasma Fatty Acids. *J.Clin.Invest.* 38:484-489, 1959.

RATHLEB I.; WINKLER B.; STEELE R.- Effect of Ovine Prolactin Administration on Glucose Metabolism and Plasma Insulin Levels in the Dog. *Endocrinology* 88:718-723, 1971.

RENAULD A.; VON LAWZEWITSCH I.; SVERDLIK R.; RODRIGUEZ R.; FOGLIA V.G.- Metabolic and Pancreatic Changes Caused in Male Dogs by Testosterone Chronic Administration. *Acta Physiol. Pharmacol.Lat.* 36:403-417, 1986.

RENAULD A.; PEREZ R.; RODRIGUEZ R.- Plasma Cytology and

Clomagestone Acetate. *Acta Endocrinol.(Copenh.)* 75:305-313, 1974.

SCHREIBEMAN P.H.- Alterations in Carbohydrate and Lipid Metabolism by a Progestin. *Diabetes* 17:341-348, 1968.

SIDMU K.S.; EMERY R.S.- Blood Fatty Acids and Glycerol Response to Diet and Norepinephrine. *J.Dairy Sci.* 56:258-262, 1973.

SPELLACY W.N.; BUHI W.C.; BIRK S.A.- The Effect of the Progestagen Ethynodiol Diacetate After Six Months Treatment. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 70:373-384, 1972.

STEELE R.- Influences of Glucose Loading and of Injected Insulin on Hepatic Glucose Output. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 82:420-426, 1959.

STIRLING R.A.C.; CAMPBELL J.- Metabolism of Hypophysectomized-depancreatized Dog. *Metabolism* 9:738-741, 1960.

SUTTER-DUB T.H.; AERTS L.; Van ASSCHE F.A.; FAURE A.- Effect of Oestradiol and/or Progesterone Treatment on Plasma Insulin, Oestradiol, Progesterone, Glycemia and Ultrastructural Changes of Endocrine Pancreas. *Diabetologia* 13:434-439, 1977.

SUTTER-DUB M.T.H.; FAURE A.; AERTS L.; VAN ASSCHE F.A.- Effects of Progesterone and 17-beta-oestradiol Treatment on the Pancreatic B Cells in Castrated Female Rats. *J.Physiol.* 74:725-730, 1978.

THIEBAUD D.; DE FRONZO R.A.; YACOT E.; GOLAT A.; ACHESON K.; MAEDER E.; YEGUIER E.; FELBER J.P.- Effects of Long-chain Triglyceride Infusion on Glucose Metabolism in Man. *Metabolism* 31:1128-1136, 1982.

- WAHAL P.W.; WALDEN C.; KNOPP R.; HOOVER J.; WALLACE R.; HEISS G.; RIFKIND B.- Effects of Estrogen/progestin Potency on Lipid/lipoprotein Cholesterol. N.Engl.J.Med. 308:862-867,1983.
- WALKER D.- Diabetes Mellitus Following Steroid Therapy in a Dog. Vet.Rec. 74:1543-1564, 1962.
- WILLIAMSON J.R.- Glycolytic Control Mechanisms. J.Biol.Chem. 240:2308-2321, 1965.
- WINKLER B.; STEELE R.; ALTSZULER N.; DUNN A.; BISHOP J.S.; DE BODO A.C.- Relationship of Glycerol Uptake to Plasma Glycerol Concentration in the Normal Dog. Am.J.Physiol. 216:191-194, 1969.
- WYNN V.; MILLS G.L.; DOAR J.W.H.; STOKES T.- Fasting Serum Triglyceride, Cholesterol and Lipoprotein Levels During Oral Contraceptive Therapy. Lancet 2:756-759, 1969.

REGLAMENTO DE TESIS:

ART. 11.- "La Facultad no se hace solidaria con las opiniones vertidas en la Tesis".