

Metodología diagnóstica hormonal

C. LUZURIAGA TOMÁS

PLANTEAMIENTO CLÍNICO ANTE EL NIÑO DE TALLA BAJA

Ningún test de laboratorio puede reemplazar una cuidadosa evaluación seriada del crecimiento. Los métodos complementarios analíticos, radiográficos ayudan al diagnóstico; deben seleccionarse sólo los exámenes complementarios que aconseje el historial de cada paciente, de ahí la importancia de los datos de la historia clínica completa y de una minuciosa exploración física.

Cuando se haya descartado otras patologías será necesario analizar los trastornos endocrinos y en particular la secreción de hormona de crecimiento (GH) teniendo en cuenta todas las cuestiones en torno a la secreción de dicha hormona; pero la valoración de la secreción de GH por la complejidad de su modulación y secreción conducen en la práctica a una dificultad diagnóstica que se hace evidente en un porcentaje elevado de niños.

Para una valoración correcta de la patología del crecimiento derivado de la GH es de suma importancia conocer no solamente los avances actuales, sobre los mecanismos de regulación, síntesis, liberación, transporte y acciones de la GH, sino también la secuencia, organización y expresión del gen de esta hormona con fines diagnósticos y terapéuticos. También existen amplios conocimientos algunos de más reciente aparición sobre los factores

relacionados con la secreción de «somatomedinas», su mecanismo de actuación y transporte.

REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GH

La secreción de hormona de crecimiento (GH) está regulada por un complejo sistema de control neuroendocrino que implica una intrínseca correlación entre varios componentes: Sistema nervioso central (hipotálamo), hipófisis anterior, órganos diana, tejidos periféricos (figura 1) (1).

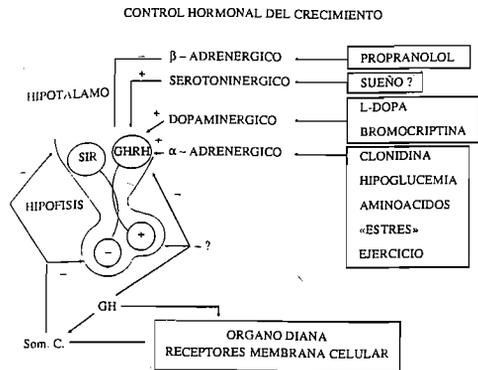


FIGURA. 1. Mecanismos reguladores de la secreción de GH. Esquema modificado de Schaft Blass E. y cols.

En la actualidad se conoce que la secreción hipofisaria de GH, es controlada mediante la interacción de dos hormonas

hipotalámicas: la Somatostatina (SIR) péptido inhibitor, y el (GHRH), hormona liberadora de la hormona de crecimiento, péptido estimulador (2).

Estos factores peptídicos hipotalámicos GHRH y SIR, secretados episódicamente desde los núcleos hipotalámicos, alcanzan la eminencia media, llegando a sus propios receptores siendo transportados por el sistema porta-hipofisario hasta la hipófisis anterior (figura 1); la forma en que revierten a los vasos portahipofisarios para actuar en las células somatotropas de la hipófisis anterior es también episódica. Por tanto *la secreción de GH no es constante sino episódica*. Siendo fundamental el papel de los péptidos hipotalámicos SIR y GHRH. Existe una acción sinérgica entre ambos péptidos, pero no competitiva; en este sistema estímulo-inhibición, predomina la acción de la somatostatina, ya que la retirada o inhibición de este péptido se sigue de una liberación de GH, cuya magnitud está determinada por la concentración de GHRH. Se sabe que existen períodos de máxima amplitud secretora cada 3-4 horas, alternando con períodos donde la GH en plasma es indetectable. Las primeras observaciones se deben a los trabajos Tannebaum y Martín, al comprobar un ritmo ultradiano secretor de GH en la rata (3).

A su vez las neuronas hipotalámicas están reguladas por los centros cerebrales superiores que secretan neurotransmisores que influyen en la liberación de la GH y están interrelacionadas mediante sinapsis. Esta es así mismo modulada por: Neurotransmisores, Hormonas periféricas, Factores metabólicos, Factores estimulantes fisiológicos. Además *debe existir una intrínseca correlación con los órganos diana y tejidos periféricos*. Así como una adecuada generación de los factores de crecimiento o Insulíne-like; dado que la acción de la GH aunque puede también ejercerse de forma directa, lo hace prefe-

rentemente a través de los factores de crecimiento; estos factores ejercen a su vez un efecto feed-back negativo sobre la secreción de GH actuando tanto a nivel hipotalámico como hipofisario (ver figura 1).

Neurotransmisores

Se conoce la síntesis y metabolismo de varios neurotransmisores; *con efectos diversos* que van a depender del propio neurotransmisor, de su dosis y concentración, y del estado hormonal y/o condiciones fisiológicas del sujeto; sus efectos pueden ejercerse tanto a nivel hipotalámico como hipofisario, a través de las neuronas productoras de GHRH o SIR, o sobre los mismos péptidos hipotalámicos. Algunos tienen «*un efecto dual*» estimulando o inhibiendo las secreciones hormonales (4, 5). Son *utilizados como agentes terapéuticos*; es importante su conocimiento y *sus efectos endocrinos a través de las diferentes vías nerviosas*, pues constituyen la base de los estudios de «reserva funcional» de la secreción de GH hipofisaria, o también llamados test de provocación o tests farmacológicos.

Señalaremos los mecanismos más importantes:

La vía alfa adrenérgica es capaz de liberar GH y es un *efecto dosis dependiente* por tanto: Estimulantes alfa-adrenérgicos, como *clonidina*, incrementan la secreción de GH y de la misma forma bloqueantes alfa-adrenérgicos la inhiben (6). Hasta hace poco se pensó, en un mecanismo de acción a través de estimular el GHRH (7); pero recientes estudios *indican que su efecto es ejercido primeramente sobre la inhibición somatostatinérgica*, éste sería el efecto clave; y consecuentemente se produciría la liberación del GHRH con un mayor incremento en la secreción de GH (8, 9). Asimismo se ha podido estudiar la influencia

de los mecanismos beta-adrenérgicos, sugiriéndose que actuarían estimulando el tono somatostatinérgico, por tanto el empleo de los antagonistas beta-adrenérgicos como *propranolol*, aumentarían la secreción de GH inhibiendo la secreción de la somatostatina hipotalámica (10).

La vía colinérgica; actualmente está bien establecido que el sistema colinérgico juega un papel clave en la neuroregulación de la secreción de GH (11). Ya Stephen y cols. (1980) (12), comprobaron que la acetil-colina a diferentes concentraciones *inhibe la secreción de SIR* en segmentos hipotalámicos de rata, asimismo se conseguía el mismo efecto utilizando un anticolinestirásico (neostigmina).

Investigaciones posteriores utilizando anticolinesterásico «piridostigmina» con fines diagnósticos en adultos (13-14) comprobaron cómo se incrementaba los valores de GH inducidos por el GHRH, indicando que estas drogas anticolinesterásicas tienen capacidad para anular el período refractario inducido por la administración de GHRH. Más tarde estos mismos investigadores, demostraron que *la piridostigmina sola o asociada al GHRH es el más potente estimulador de la secreción de GH* (15).

Nuestra experiencia es similar tanto en niños diagnosticados de disfunción neurosecretora (16), como en niños de talla baja normosecretores e hiposecretores (en respuesta a los tests farmacológicos y secreción espontánea de GH) (17). También se ha estudiado *la acción de otros neurotransmisores* a través de la vía dopaminérgica (18) serotoninérgica, vía histaminérgica, y el ácido gamaaminobutírico (19-21). Actualmente se tiene conocimiento de la actuación de *otros péptidos hipotalámicos* sobre la secreción de GH, *Galanina*, *GHRP* y *opiáceos endógenos*, utilizándose los dos primeros en estudios de reserva hipofisaria de la secreción de GH (22-25).

Hormonas periféricas

Varias son las hormonas periféricas que interaccionan con la hormona de crecimiento para producir el crecimiento somático.

Hormonas tiroideas. Merece la pena destacar la función de las hormonas tiroideas (26). En el hipotiroidismo primario *existe una respuesta disminuida a la estimulación secretora de GH, por inactividad relativa de las células somatotropas y/o una desaparición del GHRH hipotalámico* (27). Es conocido el escaso crecimiento de los niños hipotiroideos, y su normalización con el tratamiento sustitutivo. Por tanto nunca se debe realizar un estudio de secreción de GH sin evidenciarse la situación de eutiroidismo.

Glucocorticoides. Aunque en épocas anteriores se mantenía la hipótesis de que los glucocorticoides utilizados «in vivo», reducían las respuestas secretoras de GH a la mayoría de los estímulos conocidos, y asimismo producían un crecimiento más lento en situaciones de administración excesiva (28). Actualmente, se conoce *que las respuestas secretoras de GH pueden modificarse dependiendo del tiempo de administración y de la potencia secretora de los corticoides*, por un comportamiento diferente debido a su distinta farmacocinética (29).

Esteroides sexuales. Es conocida como *las altas concentraciones de andrógenos y estrógenos existentes en el período fetal determinan un patrón secretor diferente de GH en hombres y mujeres*, que se expresa al llegar a la pubertad o incluso en etapas anteriores, coincidiendo con la adrenarquina (30). Los hombres tienen un patrón secretor de GH con pulsos más amplios y menos constantes y las mujeres más constantes y menos episódicos, aunque la cantidad de GH secretada al final del día sea similar. Ello es debido a un patrón se-

cretor diferente de los péptidos hipotalámicos SIR y GHRH.

La secreción de GH varía en las distintas etapas de la vida y conforme avanza la pubertad hay un cambio en el comportamiento secretor, los pulsos son de mayor amplitud y menor frecuencia. Los niveles de estradiol sérico y de testosterona se relacionan con la secreción total de GH (31).

La testosterona y su metabolito activo la dihidrotestosterona tienen acciones directas sobre el crecimiento independientes de la GH, son capaces de estimular la proliferación de los controcitos epifisarios ya desde épocas fetales (32). También es conocida la acción de los estrógenos sobre la mineralización ósea.

Insulina. La secreción de GH parece encontrarse inversamente relacionada con la secreción de insulina. El núcleo ventromedial del hipotálamo muy en contacto con el péptido estimulador de la secreción de GH (GHRH), contiene gluco-receptores capaces de detectar cambios en el nivel de glucosa y de influir en la secreción de insulina y liberación de GH relacionada con el proceso de ayuno o post-prandial (33).

Factores metabólicos

La GH no solamente es una hormona con capacidad de incrementar el crecimiento, sino que se trata de una hormona con importantes efectos anabólicos y metabólicos. Esto nos indica la necesidad de analizar cómo su secreción puede también estar modulada por los niveles circulantes de los tres principios inmediatos o metabolitos derivados de ellos.

Es bien conocido como el descenso relativo de la concentración plasmática de glucosa (superior al 50 %) es un potente estímulo para la secreción de GH, y de hecho ha sido uno de los primeros estímulos utilizado en los tests de estudio de secre-

ción de GH (34). Asimismo se conoce que la hiperglucemia aguda bloquea la secreción de GH, y es capaz de inhibir la respuesta ante otros estímulos conocidos (35).

El nivel de ácidos grasos también influye en la estimulación o liberación de GH: el aumento de los ácidos grasos inhibirían de inmediato la secreción de GH y su disminución la estimularían, efecto que se produce más tardíamente (36).

No se conoce bien a través de qué mecanismos los aminoácidos liberan GH, quizá sea a través de la estimulación del GHRH hipotalámico. Los aminoácidos más conocidos estimulantes de la secreción de GH y por este motivo utilizados en los tests de estudio son la «arginina» y «ornitina» (37-38).

Estado de nutrición. La secreción de GH está disminuida en sujetos obesos por una elevación del péptido inhibidor (somatostatina) (39-40), y paradójicamente se encuentran elevados los niveles de IGF-I o somatomedinas. Todo lo contrario sucede en estados de desnutrición severa; hay un incremento en los niveles de GH y una disminución de los niveles de IGF-I (39-40).

Factores fisiológicos

La secreción de hormona de crecimiento, puede modificarse por factores no sólo nutricionales, sino fisiológicos (fig. 1).

Sueño. Aunque primeramente se conocía que los mayores picos secretores de GH ocurrían en la fase III y IV del sueño profundo, o fase de ondas lentas (al inicio del sueño); se conoce en la actualidad que además existen otros dos picos semejantes de mediana amplitud que se producen a lo largo de la noche (42). Luego para hacer un estudio correcto debe monitorizarse o analizarse la secreción de GH a lo largo de toda la noche (43-44). El por qué existe esta máxima capacidad secretora durante el

sueño se desconoce, pero puede ser debida a una inhibición fisiológica del tono somatostatinérgico (45).

Ejercicio físico. Se le conoce como un potente estímulo en la secreción de GH, quizá incrementando la vía colinérgica y actuando a nivel hipotalámico o quizá por el propio estrés que se genera con el ejercicio físico intenso, que también actuaría a través de la vía colinérgica (fig. 1).

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA ESTRUCTURA, SÍNTESIS, LIBERACIÓN Y TRANSPORTE DE LA GH

La GH químicamente es una molécula polipeptídica de cadena lineal de 191 aminoácidos con dos puentes disulfuros que unen las cisteínas localizadas en posición 53 y 182 con las situadas en las posiciones 165 y 189 respectivamente. Su peso molecular aproximadamente es de 22 kilodaltons (KDa). *Siendo ésta la forma más común de la hormona hipofisaria, el 90 %.* En los últimos años se han descubierto *variantes de diferentes pesos moleculares*, tanto en la hipófisis como en sangre periférica. Se estima que el 10 % de la GH contenida en la hipófisis corresponde a una molécula más pequeña de 20 (KDa) al faltar 15 aminoácidos en relación a la molécula original. *Estas formas moleculares son menos activas que la molécula 22 (KDa) de GH, principalmente en cuanto a su acción promotora del crecimiento* (46).

Los genes que integran este clúster están localizados en una porción de 50.000 pares de bases 50 kb en el brazo largo del cromosoma 17. Todos poseen 5 exones, interrumpidos por pequeños intrones. De esta familia de genes, e locus GH1, o gen GH-N, codifica la secuencia proteica de 191 aminoácidos conocida como estructura, de la GH humana. Aunque predomi-

nantemente codifica la GH de peso molecular 22 (KDa), por la transferencia de un segmento de un exon (segmento del gen expresado) a un intron muy cercano (segmento del gen no expresado) se da lugar a la variante más corta 20 (KDa), descrita por Lewis (47), como resultado de una delección del mensaje de los residuos 32-46 de los aminoácidos de la molécula original. Esta variante es una transcripción primaria de hGH-N.

Recientemente se ha descubierto que un alto porcentaje de la hormona de crecimiento liberada por la hipófisis es transportada por el sistema circulatorio, unida a unas sustancias que posteriormente se descubrieron como proteínas transportadoras formando un complejo con la GH «GH binding-proteins» (BPs) o «proteínas ligadas a la GH». Se trata de dos complejos GH-BP independientes específicos para la GH humana, es decir, que no se unen a otras moléculas estructuralmente similares a la GH como es la prolactina (48).

Se conocen dos proteínas transportadoras, una de alta afinidad y otra de baja afinidad. Se tiene un mayor conocimiento sobre la primera (alta afinidad), se une al receptor hepático de la GH modulando su interacción y con los receptores de los tejidos periféricos; e *indirectamente puede modular la bioactividad de la GH*, al modular la acción de la GH con los receptores, restringir su distribución, retrasar su desaparición al disminuir su degradación; por tanto tiene un papel biológicamente relevante (49).

Los valores de esta proteína transportadora, son variables a lo largo de la vida, hay una correlación positiva con la edad, sin embargo no hay diferencias en el sexo. Se han analizado la cantidad de BPs en niños con déficit de GH demostrándose un bajo nivel y un incremento posterior al recibir tratamiento con GH (50).

RECEPTORES PARA LA GH

Existen al menos tres formas polipeptídicas diferentes del receptor de GH; observándose tanto en los receptores hepáticos como en otras células. Su mecanismo de actuación es «down-regulation» (51). *La variante molecular 20 (KDa) posee diferente afinidad por el receptor de GH con respecto a la forma molecular 22 (KDa)*, pudiendo oscilar de un 3 a un 60 %, según los distintos territorios celulares. *Esto explicaría que una y otra variante molecular tengan efectos biológicos diferentes.*

ESTUDIO DE LAS SOMATOMEDINAS

Las somatomedinas son un grupo de péptidos o factores del crecimiento insulínicos presentes en el suero, *cuya concentración va a depender de la secreción de hormona de crecimiento.* Aunque su descubrimiento tuvo lugar hace más de 30 años por Salmon y Daughay (52), los diferentes estudios sobre dichos péptidos han ido primeramente, destinados a conocer sus mecanismos de producción y posteriormente *su papel en la fisiología y patología de diferentes situaciones clínicas*; existiendo dificultades para ello, *por no tener un órgano diana de específica actuación*, y por escasez del péptido puro.

Por su morfología estructural con la proinsulina, sus acciones similares a la insulina y ser capaces de no suprimirse por el antisuero específico de insulina se les llama «NSILA» (actividad similar a la insulina no suprimible) o simplemente «factor insuline-like». Se evidenciaron más de un péptido; pero para que puedan ser considerados como somatomedinas deben reunir las siguientes características (53):

— Sus concentraciones séricas deben depender de la hormona de crecimiento.

— En los tejidos extraesqueléticos deben tener acciones tipo insulina.

— En el cartílago de crecimiento fomentarán la incorporación de sulfato.

— Es indispensable que estimulen la síntesis de DNA (síntesis de nuevas proteínas) y la multiplicación de ciertos tipos de células en cultivo.

— Cinco sustancias descritas cumplían estos criterios. Dos de ellas fueron aisladas en el suero por su actividad estimulando el cartílago de crecimiento y son: La somatomedina-A, péptido neutral y la somatomedina-C que se aisló posteriormente.

Más tarde con el fin de unificar la terminología se propuso utilizar el término de «factores de crecimiento con efectos similares a la insulina», quedaron definidos con las siglas IGF-s (Insuline-Like-growth), *de tal forma que IGF y somatomedina (Sm) son los mismos péptidos.* Los péptidos IGF-I se ha relacionado con la Sm-C y los péptidos IGF-II con la Sm-A (54-55). Tiene una estructura química básica de cadena peptídica, pero de diferente forma molecular y aunque en un 70 % son idénticas, se trata de sustancias con distintas características y funciones biológicas.

La IGF-I depende básicamente de GH, y es, más activa que la IGF-II en cuanto a la actividad sobre el cartílago de crecimiento, «in vitro».

La IGF-II tiene más actividad insulínica y menos sobre el crecimiento del cartílago, por tanto menos dependiente de la concentración de GH.

Primeramente se creía que sólo se sintetizaba en el hígado, y aunque es el órgano principal que contribuye a la síntesis y secreción de las IGF-s circulantes. Hoy día se conoce que son sintetizadas por un gran número de células en el organismo y están presentes en varios tejidos extrahepáticos humanos, tales como: riñón, corazón, testículos y condrocitos epifisarios proliferativos (56).

Sus acciones biológicas se efectúan cuando la hormona se une al receptor específico, distinguiéndose dos tipos de receptores distintos: 1. El receptor tipo I; une fundamentalmente la IGF-I, pero también puede unir a la IGF-II y la insulina; 2. El receptor tipo II es diferente estructuralmente, se trata de una cadena única más pequeña. Tiene poca afinidad por la IGF-I.

La regulación del número o de la afinidad de los receptores de IGF-s, es importante, a la hora de influir en los efectos biológicos (57).

Al encontrarse receptores específicos para la IGS-S, en varios tipos diferentes de células, se explica la amplitud de acciones biológicas (58): 1) en el cartílago estimulando no sólo la incorporación de sulfato al interior de los proteoglicanos, sino la incorporación de H-timidina y la síntesis de ARNm, ADN, colágeno y otras proteínas; 2) acciones mitogénicas dada su capacidad de estimular la síntesis de ADN y/o proliferación celular, distinguiéndose su actuación en fibroblastos, hepatocitos, mioblastos, células mesenquiales y de músculo liso, adipocitos y condrocitos; 3) acciones similares a la insulina, sobre el tejido adiposo, músculo esquelético y músculo cardíaco; favoreciendo el transporte de glucosa al interior de la célula, la lipogénesis y síntesis de proteínas.

El impacto que causó la hipótesis de la actuación de las somatomedinas o factores de crecimiento plasmático ha oscurecido el conocimiento de muchos de los efectos de la GH, no mediados por la IGF-I; a estos se les ha definido como efectos directos y van a precisar de otros receptores celulares. Son todos aquellos efectos metabólicos y anabolizantes descritos, que van a depender preferentemente de la IGF-II (57).

Hay diversos factores conocidos que influyen en las concentraciones de IGF-I co-

mo son: 1) Edad; al nacer existen unos valores más disminuidos, variando según el tamaño del niño (59), se incrementan a los 3 ó 5 años de edad. La mayor secreción se produce en la pubertad. Se han encontrado valores elevados en niños con pubertad precoz idiopática (60); 2) Sexo; se han objetivado valores más elevados en mujeres que en hombres, así como en las niñas adolescentes; 3) Fluctuaciones diurnas; disminuyen ligeramente durante el sueño, en relación contraria a la secreción de GH; 4) Los estados nutricionales; pueden modificar bastante su concentración y es un dato muy a tener en consideración en la regulación de la GH y consecuentemente de IGF-I. Las situaciones de ayuno disminuyen los niveles de IGF-I (61), y en la obesidad sin embargo se encuentran muy aumentados, en contraposición, hay una menor cantidad de GH. Sin embargo, en los casos de mal nutrición proteica calórica severa, existe una disminución importante de los niveles de IGF-I pudiéndose corregir con la implantación de una dieta adecuada (62, 63); 5) Cambios hormonales; los niveles de IGF-s se encuentran reducidos en el hipotiroidismo, en los estados de exceso de glucocorticoides y tras administración excesiva de estrógenos.

Transporte, «Proteínas de transportes»

Aunque las somatomedinas se han aislado como péptidos pequeños se ha visto que sólo un 1 % de ellas circulan en el plasma en forma libre. Se han distinguido seis proteínas de transporte de IGF-I. Su función es estabilizar las concentraciones de IGF-s y prolongar su semidesintegración biológica en el suero, es decir, tendrían una función de reserva. La más importante es la IGF-BP3, dependiente de la secreción de GH (64); la IGF-BP3 es la proteína que predominantemente circula en la vida postnatal, actualmente su conocimiento es básico en los trastornos del crecimiento

(65). Recientemente se ha conseguido un radioinmunoensayo específico que permite analizar de forma adecuada la IGF-BP₃ (65). Dada su dependencia de la secreción de GH, ha sido y está siendo de enorme utilidad como parámetro analítico en el estudio de las alteraciones secretoras de la GH.

Los niveles de IGF-BP₃ circulantes también pueden modificarse:

1) *Por la edad*, están más bajos al nacimiento, se incrementan en los primeros años de la vida, tiene su máximo pico en la pubertad y esta elevación se presenta dos años antes en las niñas que en los niños.

2) *Por la nutrición*, se han observado un descenso de los niveles con el ayuno, y sin embargo en situaciones de malnutrición o malabsorción, están elevadas.

3) *Por la función hepática*, cuando se ha estudiado en niños con atresia de vías biliares se han encontrado niveles muy disminuidos, bien porque exista un trastorno metabólico general o de la circulación de la propia IGF-BP₃. Luego puede ser útil en el diagnóstico del fracaso hepático.

4) *Por la función renal*, también en los fracasos renales se han encontrado alteradas, con una elevación de sus niveles al tener disminuido el aclaramiento o función renal, lo que puede ser eficaz también en la valoración diagnóstica de estas situaciones clínicas.

5) *Variaciones diurnas*. Se ha buscado una relación de los niveles de IGF-BP₃ con la secreción de GH espontánea en 24 horas y modificaciones de la IGF-BP₃ tras la administración de GH. Existe una buena correlación entre el logaritmo del área bajo la curva de la secreción de GH de 24 horas y los valores de IGF-BP₃ pudiendo estar relacionado además con los pulsos secretores (66).

VALORACIÓN DE LA SECRECIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO

Si la hormona de crecimiento es indispensable para el crecimiento de los niños, *su valoración será de enorme interés en las situaciones de talla baja y crecimiento patológico* cuando previamente se hayan descartado otras patologías.

MÉTODOS ANALÍTICOS

La dosificación radioinmunológica de la hormona de crecimiento permitió aportar un elemento diagnóstico esencial en la exploración de niños de talla baja al conocer su posible capacidad secretora. La GH, fue la segunda hormona que por técnicas de RIA se podía llegar a conocer su secreción endógena, con mínimas cantidades de suero o plasma (un dato de enorme interés en la práctica pediátrica).

Existen métodos de análisis que evalúan la parte biológicamente relevante de la GH circulante, son los análisis del radioreceptor (RRA). Estos son métodos muy sofisticados, costosos teóricamente y económicamente por tanto sólo se han utilizado en situaciones muy específicas y no en la práctica diaria.

Uno de los aspectos más importantes para comprender el grado de fiabilidad de los diferentes tests utilizados ha sido el definir el límite de normalidad. *Algunos autores han considerado respuestas normales* las superiores a 5 ng/ml. (67) en estímulos fisiológicos (ejercicio físico), y en estímulos farmacológicos 7 ng/ml a 10 ng/ml. En la actualidad existe un *consenso bastante unánime de considerar déficits totales de GH respuestas secretoras inferiores a 7 ng/ml.; y déficit parciales respuestas entre 7-10 ng/ml* (68-69).

Pruebas analíticas

La GH se libera de forma episódica, y en los períodos de mínima secreción, en

ocasiones, los valores de GH son indetectables; por otra parte la vida media de la GH plasmática es corta, de sólo 25 minutos. Sin embargo la tasa basal de GH es muy variable en los sujetos por diferentes circunstancias; se han dado a conocer cifras que van desde 1.9 ng/ml hasta 6.9 ng/ml. (70). Por este motivo las determinaciones hormonales aisladas, al azar, raramente son informativas para la investigación de un trastorno endocrino, particularmente en los niños; por tanto se requieren exploraciones dinámicas donde se pueda conocer con más exactitud la secreción de la hormona. Un hecho frecuente en patología endocrina es que *para diagnosticar una hipofunción debe realizarse una prueba de estimulación*. Esto ha motivado el desarrollo de test de estimulación basados en el conocimiento de los diferentes agentes moduladores de la secreción de GH, actuando a nivel hipotalámico y/o hipofisario; alguno de ellos se vienen realizando desde hace muchos años y otros son de más reciente utilización como el GHRH; también se hacen tests para conocer la secreción de GH en respuesta a estímulos fisiológicos. Basados en los diferentes mecanismos o situaciones fisiológicas que puede modificar la secreción de GH, se han utilizado:

1) *Tests fisiológicos*

* **Ejercicio Físico.** El ejercicio físico es un potente estimulador de la secreción de GH, pero es necesario que se realice de forma estenuante y que signifique un estrés para el organismo (71-72). Muchos autores encuentran que es un test útil por: su sencillez, comodidad (obtención de una única muestra) y poder realizarse ambulatoriamente; por estos motivos, lo han considerado un test válido como screening para el estudio de secreción de GH, pero utilizando como límite de normalidad 10 ng/ml. A pesar de todo es dificultoso para

niños menores de 6 años. También se ha utilizado asociado a estímulos farmacológicos «betabloqueantes» (propranolol), así se logra un incremento importante en la respuesta secretora de GH (73-74).

* **Sueño espontáneo.** Dado que el sueño es un auténtico estímulo fisiológico y no requiere la administración exógena de ningún fármaco se ha propuesto como estudio válido para el análisis de la secreción espontánea de GH (75).

2) *Tests farmacológicos*

Se les ha llamado «test de provocación o test de reserva hipofisaria», al intentar provocar la secreción de GH contenida en la hipófisis, como respuesta a un estímulo; ciertos neuropéptidos, neurotransmisores o bien factores metabólicos que actúan modulando la interacción de la vía somatostática y del GHRH endógeno.

Requieren cierta familiaridad en su valoración. Cada uno tiene ventajas e inconvenientes y no hay un claro consenso sobre si existe uno de más utilidad que otro. Todos presentan falsos positivos y falsos negativos, aconsejándose la realización de dos, para asegurar el diagnóstico de déficit de GH (76).

Es importante tener en cuenta que cada fármaco de los utilizados como estímulo tiene un mecanismo de acción diferente y una potencia liberadora distinta. A la hora de elegir un test u otro se debe de tener en consideración (77):

1) *La eficiencia del test, que será del 100 %, cuando no exista ningún falso negativo, ni ningún falso positivo.*

2) *La sensibilidad del test que puede definirse como la cifra límite que permite distinguir una respuesta normal de una patológica. Deberá alcanzar un intervalo de confianza del 95 %.*

Dificultades diagnósticas de los diferentes tests

Todos los tests por tratarse de una manipulación farmacológica presentan efectos secundarios más o menos importantes y deben tenerse en cuenta a la hora de elegir el más adecuado para cada paciente. Por tanto la utilización de estos tests requieren; atención cuidadosa del paciente, del momento de su realización y obtención de las muestras así como familiaridad con el test elegido.

Es importante el conocimiento de las complicaciones de los diferentes estímulos comúnmente utilizados y así mismo de aquellas situaciones que no lo hacen aconsejable. (Tabla I).

2. El niño estará convenientemente preparado:

- Ayuno
- Clínicamente estable
- No interferencias con alimentos o medicamentos
- En situación basal (ingresar de víspera o reposar al menos media hora antes de comenzar la prueba).
- Procurar que la canalización de la vena sea lo menos estresante posible y con el mínimo tiempo de duración hasta su fijación cuando sea necesario; tal y como se comentó en párrafos anteriores, en ocasiones *el estrés del pinchazo es tan importante que se produce una liberación previa de*

TABLA I. COMPLICACIONES DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

<i>Estímulo</i>	<i>Complicaciones</i>	<i>Contraindicaciones</i>
Ejercicio físico		Niños menores de 6 años
Propranolol	Hipoglucemia Hipotensión	Asma Cuadros conocidos de espasticidad Hipoglucemias Debilidad cardiaca
Insulina-Hipoglucemia	Hipoglucemia rara vez convulsiones	Hipoglucemias anteriores severas
Clonidina	Hipotensión Somnolencia	
L-Dopa	Náuseas Vómitos	
Glucagón	Náuseas Vómitos Hipoglucemia tardía	Shock anafiláctico
Ornitina	Vómitos Palidez	
GHRH	Rubicundez Facial Rara vez náuseas, vómitos	

Situaciones que modifican las respuestas secretoras de GH: Preparación del paciente

1. La prueba concreta a realizar estará indicada en base a una evaluación clínica detallada.

la GH hipofisaria con niveles más elevados en la primera muestra obtenida que tras el estímulo que se pretende administrar.

3. *Cálculo correcto de la dosis del agente estimulador o supresor que se va a utilizar. Es necesario que el peso y talla*

del niño sea tomado muy próximo o el mismo día de la prueba.

4. *Recogida de la muestra* en los tiempos precisos; es importante conocer el *pico máximo de actuación del estímulo utilizado*, y que la muestra se tome en los tiempos precisos. No tiene ningún objeto prolongarla más de los tiempos necesarios. Por ejemplo si conocemos que el pico máximo secretor de GH tras clonidina se produce a los 90' de administrar el fármaco, no tiene ningún objeto continuar la prueba durante más tiempo, pues el valor de la GH será mínimo y no aumentara la información (78).

Estudios con GHRH

Por las dificultades y efectos secundarios de los diferentes tests de estimulación de la secreción de GH utilizando agentes farmacológicos, y al ser considerados procedimientos no fisiológicos, se han desarrollado otros tests de estudio, *basándose en el efecto del GHRH hipotalámico*, como estimulante específico de la secreción de hormona de crecimiento (79).

Primeramente se probó su eficacia y seguridad en adultos; así como el tiempo en que se producía el máximo incremento de GH tras su administración I.V.; utilizando diferentes dosis 0.5-5 y 10 mcg/Kg, se encontró un incremento en los niveles de GH, ya a los 5 minutos de la administración del GHRH, con un pico máximo entre los 30-45 minutos (80), otros investigadores comprobaron un pico a los 30 y 60 minutos y la GH retorna a los niveles basales a los 90 minutos (81); ambos grupos mostraron una diferencia significativa entre las respuestas secretoras de GH tras GHRH y la administración de placebo.

Es dudosa la relación dosis respuesta. *En la actualidad la dosis comúnmente empleada de forma I.V., es la de 1 mcg/kg* (82), aunque en un amplio estudio del

grupo colaborativo español han utilizado dosis de 1.5 mcg/Kg (83). Se recomienda tomar muestras de sangre para determinar GH a los 0-15-30-45-60-90 y 120 minutos de su administración (83).

A lo largo de los últimos años diferentes investigadores han utilizado este test en niños de talla baja de diferentes etiologías, pero los resultados no son del todo concluyentes. Butenandt mostraba que *no sería posible detectar un déficit de secreción de GH, realizando un simple test de GHRH* (84).

En la serie de niños de talla baja estudiados en nuestro país, un total de 299, «grupo colaborativo español» (141), el 77,6 % de los niños presentaron respuestas secretoras de GH superiores a 10 ng/ml con dosis de 1.5 mcg/Kg I.V.; y *de un total de 163 niños que no habían respondido a otros tests farmacológicos el 67.48 % sí respondían al GHRH*; de la misma forma que autores anteriores, *consideraron a estos niños no respondedores y deficitarios en GH debido a un déficit de GHRH endógeno*, pues la hipófisis es capaz de responder y segregar GH en cantidad normal si se estimula con el factor hipotalámico liberador de GH. Por tanto *este tipo de test podría ser útil para distinguir defectos secretores de origen hipotalámico*, pudiéndose utilizar como *un test de localización del defecto secretor* cuando este ha sido constatado.

También se ha utilizado por vía subcutánea. Se ha estudiado el aclaramiento plasmático de GHRH surigiriéndose que existe una pérdida del péptido entre los tejidos subcutáneos que no llega a la circulación, *por lo que se requieren dosis más elevadas para obtener el mismo efecto secretor* de GH 7-10 mcg/Kg. Utilizando la vía subcutánea se encuentra que el pico de GH se produce a los 15 minutos de administración del fármaco (85-86). Algunos

pacientes sobre todo cuando se ha utilizado dosis elevadas 10 mcg/Kg han mostrado como efectos secundarios rubicundez facial, rara vez náuseas y vómitos.

Algunos investigadores que han utilizado el test de GHRH para el diagnóstico de los déficit de GH hipofisario o hipotalámicos, sugieren que la ausencia de respuesta a un simple pulso no excluye el déficit de GHRH, y para cerciorarse del defecto hipotalámico en los no respondedores aconsejan utilizar dosis repetidas; por analogía con otros defectos hormonales hipotalámicos, pues la ausencia de GHRH endógeno puede hacer (87) descender fácilmente la secreción del pool de GH; este hecho, unido a la observación de una inferior respuesta secretora de GH el estímulo con GHRH, en los pacientes con lesiones estructurales, frente a las que muestran los déficit de GH idiopático, por haber permanecido la célula somatotropa más tiempo lesionada, ha motivado que muchos investigadores realicen este tipo de estudios de primación o cebamiento de la célula somatotropa con dosis repetidas de GHRH (88). El estudio del grupo colaborativo español y en nuestra experiencia con la primación de la célula somatotropa con 5-7 mcg/Kg durante 6 días y repitiendo el test agudo se consiguen respuesta al segundo test de GHRH en un elevado porcentaje de niños que previamente habían sido diagnosticados de déficit de GH, y no habían respondido al primer test (83 y 89).

Los Estudios con GHRH más inhibición del tono somatostatinérgico con piridostigmina es el más potente estímulo para la secreción de GH comparativamente frente a otros estímulos como insulina hipoglucemia o piridostigmina y/o GHRH administrado aisladamente, al comprobarse como niños diagnosticados de déficit de GH con ausencia de respuesta a test farmacológico y a GHRH, responden a la asociación de piridostigmina y GHRH (11-90). Nuestro grupo ha obtenido resultados similares (91). Se

sugiere, que si se estimula la secreción de GH inhibiendo la secreción de somatostatina y se consigue una adecuada respuesta, podría indicar una función integrada de células hipotalámicas e hipofisarias (46-52).

3) Valoración de la secreción espontánea de GH

La secreción de GH en forma episódica a lo largo del día tiene oscilaciones con momentos de máxima o mínima secreción. Se incrementa con el sueño y también al caminar, disminuyendo si el sujeto permanece inmóvil, pero despierto; además, se incrementa antes de la comida disminuyendo tras la ingesta. Ante una respuesta inadecuada frente un estímulo habrá que pensar que la secreción de GH se encuentre en fase refractaria o de mínima secreción, y por tanto la valoración de la secreción de GH plasmática puede ser indetectable. La valoración de los estudios de secreción espontánea nos pondrán en conocimiento de la pulsatilidad de la secreción de GH. Por tanto, los test farmacológicos tienen sus limitaciones debido a:

- No determinan la secreción de GH espontánea.

- No permiten establecer una diferencia segregacional de GH.

Con los estudios de los perfiles secretores de GH en 24 horas se han aumentado nuestros conocimientos acerca de la importancia en la relación entre crecimiento y secreción de GH, el patrón pulsátil de la secreción de GH puede funcionar como una señal biológica para hacer óptimo el crecimiento. *Para algunos investigadores la velocidad de crecimiento está determinada, principalmente por los pulsos de secreción de GH; como si se tratase de un fenómeno modulado por la amplitud de los pulsos (92).*

La cifra considerada como normal es también un valor arbitrario. Se ha consi-

derado en la literatura como cifra discriminadora entre pacientes con crecimiento normal o patológico 3.2 ngr/ml (93, 94).

El adecuado conocimiento de la secreción de GH requiere los análisis de muestras tomadas con unos intervalos o períodos de tiempos razonables teniendo en cuenta el aclaramiento metabólico o vida media de la hormona, 20 minutos para la GH. Los estudios de Albertsson-Wikland y Rosberg (95) aconsejan que los tiempos de toma de muestra *no deben ser superiores a 30 minutos pues se sobreestiman los niveles de GH*.

Existen métodos de estudio de pulsatibilidad y esto ha sido motivo de diversos artículos, libros, tesis doctorales para diferentes investigadores; uno de ellos ha sido diseñado por G. R. Merriam and Kenneth W. Wachter con el programa PC-Pulsar (96), es el más utilizado en Europa. Este método estudia las tendencias secretoras a lo largo del tiempo, identificando picos en series residuales, y resolviendo cada pico; de tal forma que definiendo primeramente una línea basal (que representa la contribución de los ritmos circadianos y tendencias a largo plazo, depurando las fluctuaciones ultradianas). Identifica posteriormente los picos como subseries individuales por encima de la línea basal; pero debe decidir qué elevaciones de las series residuales constituyen picos. No todas las elevaciones representan episodios secretores, pues a causa del RIA y las condiciones metabólicas en relación a la toma de muestra y su conservación pueden existir fluctuaciones aleatorias y es necesario de alguna forma hacer un filtrado. El algoritmo del «Pulsar» no hace suposiciones de picos ideales, requiere que los picos tengan alguna relación entre su altura y su amplitud no excluye los picos de un punto único; un pico es aceptado, si es muy alto, aunque sea estrecho, o si es sólo moderadamente alto pero su anchura se ex-

tiende a varios puntos. Para ello calcula los niveles de discriminación $G(n)$ hasta cinco, mediante grupos de datos de ejemplos o series de calibración, obtenidos de diferentes niveles de ensayo. Por tanto, los niveles de discriminación $G(n)$ nos indican qué puntos pueden calificarse como integrantes de un pico.

La desviación estándar del radioinmunoensayo utilizado es calculado en cada punto.

Las ventajas que ofrece son: 1. Garantizar que el estudio no esté influenciado por el método de análisis empleado en la determinación de GH, ya que tiene en cuenta la desviación estándar del RIA utilizado. 2. Análisis minucioso de cada pico, valorando si cada uno de ellos puede descomponerse en más de un pico secretor. 3. Acumular datos estadísticos sobre la frecuencia e intervalos, amplitud, altura y área de cada pico, y calcular el valor medio de la serie de datos con su desviación estándar en función del tiempo de estudio, «secreción integrada» (S.I.).

— Secreción nocturna de GH

La valoración de la secreción de GH a lo largo de 24 horas, representa para el niño un importante volumen de sangre y un estrés considerable para el personal sanitario, un excesivo tiempo de trabajo y un gran costo. Reducir el tiempo de estudio de la secreción espontánea, tomando muestras solamente durante el período nocturno supone una ventaja.

Está bien documentado a lo largo de un sinnúmero de trabajos en la literatura, el aumento de la secreción de GH durante la noche. Se ha intentado analizar el por qué de una mayor frecuencia de episodios de GH durante la noche, bajo la hipótesis de un aumento de la sensibilidad de las células somatotropas a los estímulos tales como el GHRH, y los investigadores llegan a

la conclusión *de que el aumento de picos de GH nocturnos no se debe a un aumento de la sensibilidad de las células somatotropas, sino a una disminución de la secreción de la somatostatina endógena con un aumento del GHRH* (97).

Se ha constatado en diferentes estudios que la información sobre pulsatilidad de GH ofrecida por el estudio solamente nocturno es suficiente o similar al estudio durante 24 horas (98); en nuestra clínica se obtuvieron resultados similares (99).

Los análisis de pulsos, también pueden ser utilizados para valorar exclusivamente la secreción nocturna. Será preciso modificar algún algoritmo matemático, pero no en todos los programas. Lo aconsejable es que el período de tiempo no sea inferior a 10 horas y las tomas de muestras en intervalos no superiores a 20-30 minutos.

— Valoración de la secreción espontánea diurna

Algunos investigadores analizando exclusivamente la secreción de GH espontánea diurna y comparativamente con la nocturna, comprueban, como algunos niños con secreción nocturna normal muestran una secreción diurna más limitada de tal forma que si se tuviese en cuenta este parámetro como único dato a la hora de establecer un criterio de normalidad secretora, no reflejaría la realidad (100).

4) *Determinación de GH en orina*

El diagnóstico de la deficiencia de hormona de crecimiento se establecía basándose en datos clínicos y de laboratorio, pero cada una de las pruebas que evalúa secreción de GH exige la extracción de múltiples muestras de sangre. Se sugirió que la estimación de la excreción de GH en la orina a lo largo de toda la noche quizá podría reflejar la suma total de la secreción fisiológica de esta hormona

(101). Las dificultades que ha planteado el encontrar un análisis fiable y que defina la secreción normal o fisiológica ha retrasado su utilización y desarrollo, presentándose en la literatura con ciertos límites.

Ha venido motivado por tres hechos:

1. La mínima concentración de GH en la orina; sólo un 0,01 % de una dosis de GH inyectada se ha eliminado por la orina, con un aclaramiento de 0'006-0'01 ml/mn.

2. Para su determinación se precisaban métodos de alta sensibilidad y especificidad.

3. Es preciso mantener una función tubular/renal normal, pues la eliminación de GH no sería correcta.

Las primeras técnicas de análisis no estaban suficientemente definidas como para medir las cantidades tan bajas de GH encontradas en la orina y era necesario previamente realizar una extracción, filtración, concentración y posterior análisis mediante una electroforesis.

En la actualidad con el desarrollo de radioinmunoensayos específicos y de alta sensibilidad estos métodos están teniendo cierta consideración. Se ha mostrado cierta correlación con la secreción de GH en respuesta a los tests farmacológicos e incluso hay una correlación más elevada con la secreción de GH nocturna, apreciándose asimismo una diferencia significativa en la excreción de los niños con déficit total de GH, y los déficits parciales o en los niños de corta estatura; sin embargo no se han encontrado diferencias en la excreción de GH entre los niños normales y aquellos niños de talla baja, pero buenos respondedores a los tests farmacológicos (102). Trabajos recientes han mostrado buena relación en prepúberes, pero no cuando avanza la pubertad (103).

Es posible que en el futuro, las mediciones urinarias de GH puedan ser útiles

desde el punto de vista diagnóstico y como control terapéutico, para establecer una dosis de GH adecuada *en el tratamiento de los niños que lo precisen.*

CONSIDERACIONES DIAGNÓSTICAS EN LA VALORACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GH

De los métodos analíticos

Siempre se debe tener un conocimiento muy preciso de los métodos utilizados, ya que existen amplias variaciones. Se comprobó, cuando se midió un plasma con cinco radioinmunoensayos diferentes (104).

Es conocida ampliamente en la literatura a través de investigaciones de los últimos años como los radioinmunoensayos con anticuerpos monoclonales informan de valores ligeramente inferiores que cuando la misma muestra se ha valorado por RIA con anticuerpos policlonales (105-106).

La relatividad de estos ensayos para determinaciones de GH, viene motivado por la no consideración de las formas moleculares de la GH circulante; así como las interferencias con las proteínas transportadoras de GH (107).

Situaciones que modifican las respuestas secretoras de GH

Hipotiroidismo subyacente o subclínico. En estas situaciones pueden encontrarse modificaciones en la respuesta secretora de GH si los individuos no han sido tratados con hormonas sustitutivas de tiroides. Por tanto *los niños deben de estar en situación eutoroideica antes de iniciar un estudio con GH,* y en caso necesario, tratarse.

Los diferentes estadios puberales. Desde hace tiempo por diferentes trabajos aparecidos en la literatura se conoce como

en la pubertad, aparecen cambios en la secreción espontánea de GH y en las respuestas a los tests farmacológicos, sugiriendo una influencia de los andrógenos circulantes en la secreción de GH (108-109). Siguiendo las consideraciones de estas investigaciones es importante tener en cuenta antes de evaluar los resultados de la secreción de GH el estadio puberal y la edad del paciente. Una respuesta de 10 ng/ml en un niño de 5 años puede ser normal, pero quizá no lo sea en situación puberal (110).

Obesidad. En párrafos anteriores se ha mencionado como en situaciones de sobrepeso hay una respuesta abolida de la secreción de GH o disminuida a los tests farmacológicos, secreción espontánea y estimulación con GHRH. Es aconsejable en los niños con sobrepeso importante, mejorar la relación del peso para la talla antes de evaluar la secreción de GH, para evitar resultados falsos negativos. Sobrepesos discretos no asociados a otros datos de talla baja patológica pueden sin embargo indicarnos la posibilidad de un déficit de GH (por aumento del panículo adiposo en estas situaciones).

VALORACIÓN DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO (SOMATOMEDINAS)

En capítulos anteriores se ha definido la importancia de los factores de crecimiento también llamados somatomedinas o IGF-S por sus acciones biológicas productoras del crecimiento somático. Por tanto es importante conocer sus posibilidades diagnósticas y terapéuticas en los niños de talla baja de diferentes etiologías.

En la concentración plasmática de IGF-I influye la cantidad de GH secretada y un buen funcionamiento del receptor hepático. Por otra parte tal y como se citó anteriormente también influyen: Edad, sexo,

estados nutricionales, fluctuaciones diurnas y cambios hormonales.

Test de generación de IGF-I

En la necesidad de encontrar una causa que definiera mejor a los niños de talla baja y crecimiento patológico, pero con respuesta normal, o elevada a los tests de estímulo para la secreción de GH o incluso con niveles basales de GH elevados y encuadrados como talla baja idiopática o retraso constitucional del crecimiento, se administró hormona de crecimiento, y se evaluó la cantidad de IGF-I comparativamente con el valor basal (111).

Se observó cómo un grupo de niños eran capaces de incrementar su crecimiento, su anabolismo y los valores de IGF-I, sospechándose una alteración de la GH endógena (112-113), que se confirmó cuando se comparó la actividad de la GH por técnicas de radioreceptor ensayo y la GH circulante por técnicas de radioinmunoanálisis (114). Es decir, estos niños segregan una GH que si bien es inmunoreactiva (se puede medir con RIA) tiene una menor o mínima actividad biológica; por lo que el crecimiento es patológico, así como los niveles de IGF-I basales. *Si son capaces de responder a la administración de GH exógeno incrementando los niveles de IGF-I, indirectamente se puede sospechar que disponen de una GH endógena inactiva biológicamente*, con un mayor porcentaje de las formas moleculares menos activa (20 KDa). Por las dificultades técnicas que suponen tanto los estudios de radioreceptor ensayo como el análisis de las formas moleculares de la GH, diferentes investigadores han propuesto *estudios de IGF-I basal y tras GH, también llamado «test de generación de IGF-I»*, como útil y valioso para definir esta entidad clínica (115).

La valoración de la IGF-I plasmática también ha mostrado dificultades. Es difi-

cil establecer si toda la productividad de la IGF-s significa funcionalidad.

Dado que la IGF-s se encuentran ligadas a proteínas específicas (y en forma libre solamente un 1 %), estos complejos, podrían impedir que se descubra una parte importante de la reserva total o concentración real de IGF-s. Actualmente se aconseja utilizar RIAS tras separación de proteínas transportadoras y no directos por su mayor especificidad (116).

Valoración de proteínas transportadoras de IGF-I

También es importante por los conocimientos que se tienen en la actualidad la determinación de (IGF-BP₃); es más específica que la propia valoración de la IGF-I en los trastornos del crecimiento (64-66).

CLASIFICACIÓN DE LAS ALTERACIONES DE LA SECRECIÓN DE GH

Los conocimientos actuales sobre la hormona de crecimiento expuestos en párrafos anteriores, nos obligan a plantearnos una clasificación de las alteraciones secretoras de la GH donde se considere no sólo la cantidad, sino la calidad de la hormona secretada y las posibilidades para una correcta realización de sus acciones biológicas; siguiendo un criterio fisiológico y anatómico se describen las distintas entidades. (Tabla II).

PLANTEAMIENTOS DIAGNÓSTICOS DE LAS ALTERACIONES SECRETORAS DE GH

Entre la secreción normal y patológica de GH existe un abanico amplio de posibilidades que va desde una secreción anormalmente elevada pasando por una secreción normal, hasta un déficit parcial, déficit total o bien un déficit funcional

TABLA II. CLASIFICACIÓN DE LOS DEFECTOS DE GH

NIVEL DE DEFECTO	NOMBRE DE LA ENFERMEDAD QUE PRODUCE
A) ALTERACIONES SECRETORAS GH	
1. <i>Déficit de GH hipofisarios o hipotalámicos</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Alteraciones genéticas • Causas anatómicas • Orgánicas <ul style="list-style-type: none"> * Tumores, Radiaciones, post-traumáticas, e infecciosas 	Déficit de GH severo (varios tipos) Déficit de GH de comienzo neonatal Déficit de GH adquirido
2. <i>Insuficiencia de GH</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción neurocortical o defectos neurotransmisores <ul style="list-style-type: none"> * Idiopáticos * Deprivación afectiva * Radiaciones 	Disfunción neurosecretora
3. <i>Déficit transitorios de la secreción de GH</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Deprivación afectiva • Asociado a otras enfermedades orgánicas • Déficit peripuberales 	Déficits parciales transitorios
B) ALTERACIONES MÁS ALLÁ DE LA SECRECIÓN DE GH	
1. <i>Insuficiencia de GH</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Anomalías estructurales de la molécula de GH 	GH Bioinactiva (también llamado síndrome de Kowarski)
2. <i>Inhibición en la circulación periférica de GH,</i> por alteración de proteínas transportadoras	
Resistencia a la GH	
3. <i>Insensibilidad a la GH (alteraciones a nivel del receptor hepático)</i>	
Síndrome de Laron	
4. <i>Síntesis defectuosa de IGF-S</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Defectos de su gen • Daño en el lugar de producción 	Hepatopatías
5. <i>Interferencias con IGF-S</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Alteración de Proteínas transportadoras de IGF-S 	Insuficiencias renales
6. <i>Insensibilidad IGF-I</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • A nivel del receptor • Alteración de los órganos diana (cartílago hueso) 	Resistencia IGF-S Discondroplasias osteopatías
7. <i>Déficit asociados a alteraciones de GH</i>	
Síndromes de Dow, Turner y Alt. hemáticas	

(cuadros que también pueden quedar denominados como insuficiencia de GH) (116-118).

Si bien los estudios de las respuestas secretoras de GH a los tests farmacológicos nos han informado de la reserva hipofisaria no indican claramente la secreción o cantidad de GH disponible para producirse un adecuado crecimiento.

La GH es secretada en pulsos intermitentes en el niño y en la vida adulta y ésta sólo se puede conocer con la valoración de la secreción espontánea.

Tampoco los tests farmacológicos nos informan de la localización del defecto secretor o de su identidad en el tiempo. Asimismo cuando existe una alteración secretora, ¿es un defecto hipofisario o es hipotalámico? ¿está causado por un problema orgánico o es idiopático? ¿si la secreción de GH es normal, pero el crecimiento del niño es evidentemente patológico existirá un defecto más allá de la secreción o neuroregulación de la GH?

Todos estos planteamientos diagnósticos deben ser estudiados de una forma escalonada y con un planteamiento basado en la realización de la prueba o el test más indicado para el despistaje de las patologías primeramente más frecuentes y posteriormente las de menor incidencia. Aconsejamos el protocolo de estudio de la Tabla III.

CONCLUSIONES

1. Las pruebas diagnósticas de valoración de la GH no deben sustituir la historia clínica detallada, exploración minuciosa y valoración auxológica.
2. Se realizarán de forma indiscriminada a todo niño que consulta por talla baja.
3. Serán realizados por personal entrenado en unidades especializadas, que conozcan la metodología y los criterios para una interpretación correcta de los resultados.

TABLA III. SISTEMÁTICA DIAGNÓSTICA DE LAS ALTERACIONES SECRETORAS DE GH

ENTIDAD	BASES DIAGNÓSTICAS
<i>Déficit GH</i> <i>Insuficiencia GH</i>	Tests farmacológicos
1.º Déficit neurosecretor	Test farmacológicos (+) Secreción espontánea GH ↓ o (-)
2.º GH Inactiva	IGF-II Test de Generación IGF-I (+)
3.º Alt. del receptor de GH	IGF-II Test de Generación IGF-I (-)
4.º Alt. del receptor IGF-I	IGF-II
5.º Alt. Proteínas transportadoras IGF-I	IGF-BP3 ↓

4. Es necesario unificar métodos de estudio y valorarlos en el presente y en el futuro, cuando los pacientes hayan llegado a la talla final, pues resolverán algunos de los interrogantes que en la actualidad exis-

ten sobre la metodología diagnóstica más precisa a utilizar en los trastornos del crecimiento motivados por la alteración secretora de la GH.

BIBLIOGRAFÍA

- SCHAFF-BLASS, E.; BURSTEIN, S.; ROSENFELD, R. L.: *Advances in diagnosis and treatment of short stature, with special reference to the role of growth hormone*. J. Pediatr. 1984; 104: 801-813.
- TANNENBAUM, G. S.: *Neuroendocrine control of growth hormone secretion*. Act. Paediatr. Scand., 1991; (suppl); 372: 5-16.
- TANNENBAUM, G. S.; MARTÍN, J. B.: *Evidence for an endogenous ultradian rhythm governing growth hormone secretion in the rat*. Endocrinology 1976; 98: 562-570.
- COLONIA, V. G.; CELLA, S. G.; LOCATELLI, V.; LOCHE, S.; GHIGO, E.; COCCHI, D.; MÜLLER, E. E.: *Neuroendocrine control of growth hormone secretion*. Acta Paediatr. Scand. (suppl.), 1989; 349: 87-92.
- JORDAN, V.; DIÉGUEZ, C.; LAFAFFIAN, I.; RODRÍGUEZ-ARNAO, M. D.; GÓMEZ-PAN, A.; HALL, R.; SCANLON, M. F.: *Influence of dopaminergic, adrenergic and cholinergic blockade and TRH administration on GH responses to GRF 1-29*. Clin. Endocrinol. 1986; 24: 291-298.
- MÜLLER, E. E.: *Neural control of somatotrophic function*. Physiol. Rev. 1987; 67: 962-1053.
- CELLA, S. G.; LOCATELLI, V.; GENNARO, V.; WEHRENBURG, W. B.; MÜLLER, E. E.: *Pharmacological manipulations of alfa-adrenoceptors in the infant rat and effects on growth hormone secretion. Study of the underlying mechanism of action*. Endocrinology 1987; 120: 1639-1643.
- DEVESA, J.; ARCE, V.; LOIS, N.; TRESGUERRES, J. A. F.; LIMA, L.: *Alfa-2-adrenergic agonism enhances the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone through an inhibition of hypothalamic somatostatin release in normal men*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 71: 1581-1588.
- DEVESA, J.; DÍAZ, M. J.; TRESGUERRES, J. A. F.; ARCE, V.; LIMA, L.: *Evidence that alfa-2-adrenergic pathways play a major role in growth hormone (GH) neuroregulation: alfa-2-adrenergic agonism counteracts the inhibitory effect of muscarinic cholinergic receptor blockade on the GH response to GH-releasing hormone, while alfa-2-adrenergic blockade diminishes the potentiating effect of increased cholinergic tone on such stimulation in normal men*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991; 73: 251-256.
- RICHARDSON, S. B.; TWENTE, S.: *Inhibition of hypothalamic somatostatin release by beta-adrenergic antagonists*. Endocrinology 1990; 126: 1043-1046.
- GHIGO, E.; MAZZA, E.; IMPERIALE, E.; GOFFI, S.; ARVAT, E.; BELLONE, J.; PROCOPIO, M.; ULLIO, E.; BOGHEN, M.; CAMANNI, F.: *Pyridostigmine plus GHRH is the most powerful single test of the secretory integrity of somatotrophs*. Acta Paediatr. Scand. 1988 (suppl.), 343: 182-183.
- RICHARDSON, S. B.; HOLLANDER, C. S.; DELETO, R.; GREENLEAF, P. W.; THAW, C.: *Acetylcholine inhibits the release of somatostatin from rat hypothalamus in vitro*. Endocrinology 1980; 107: 122-128.
- MASSARA, F.; CHIGO, E.; MOLINATTI, P.; MAZZA, E.; LOCATELLI, V.; MÜLLER, E. E.; CAMANNI, F.: *Potential of cholinergic tone by pyridostigmine bromide re-instates and potentiates the growth hormone responsiveness to intermittent administration of growth hormone-releasing factor in man*. Acta Endocrinol. 1986; 113: 12-16.
- GHIGO, E.; MAZZA, E.; IMPERIALE, E.; MOLINATTI, P.; BERTAGNA, A.; CAMANNI, F.; MASSARA, F.: *Growth hormone responses to pyridostigmine in normal adults and in normal and short children*. Clin. Endocrinol. 1987; 27: 669-673.
- GHIGO, E.; MAZZA, E.; IMPERIALE, E.; RIZZI, G.; BENSO, L.; MÜLLER, E. E.; CAMANNI, F.; MASSARA, F.: *Enhancement of cholinergic tone by pyridostigmine promotes both basal and growth hormone (GH)-releasing hormone-induced GH secretion in children of short stature*. J. Clin. Endocrinol. 1987; 65: 452-456.
- LUZURIAGA, C.: *Disfunción neurosecretora*. En: Retrasos del crecimiento fisiopatológico, More-

- no Esteban B. Tresguerres J. A. F. (ed.) Díaz de Santos S.A. 1992: 239-253.
17. LUZURIAGA, C.: *Valoración de la secreción de hormona de crecimiento en el niño de talla baja. Planteamientos diagnósticos y terapéuticos.* Tesis Doctoral presentada en la Universidad de Cantabria. Octubre, 1992.
 18. DEVESA, J.; TRESGUERRES, J. A. F.: *Control de la secreción de GH.* En: Moreno Esteban B., Tresguerres J. A. F. Retrasos del crecimiento: fisiopatología (eds.). Díaz de Santos 1992: 35-54.
 19. MENDELSON, W. B.; JACOBS, L. S.; REICHMAM, J. D.; OTHMER, E.; CRYER, P. E.; TRIVEDI, B.; DAUGHADAY, W. H.: *Suppression of sleep-related prolactin secretion and enhancement of sleep-related growth hormone secretion.* J. Clin. Invest. 1975; 56: 690-697.
 20. RODRÍGUEZ ARNAO, M. D.; RODRÍGUEZ, J.; APAOLZA, I.; GÓMEZ PAN, A.: *Diagnóstico del déficit de hormona de crecimiento.* En: Moreno Esteban, B., Tresguerres J. A. F. Retraso del crecimiento fisiológico (eds.) Díaz de Santos 1992: 351-382.
 21. HANDFORTH, A.; SOURKES, T. L.: *Inhibition by dopamine agonists of dopamine accumulation following alpha-hydroxybutyrate treatment.* Eur. J. Pharmacol. 1975; 34: 311-319.
 22. MEISTER, B.; SCANLON, M. F.; HOKFELT, T.: *Occurrence of galanin-like immunoreactivity in growth hormone-releasing factor (GRF)-containing neurons of the monkey (Macaca fascicularis) infundibular nucleus and median eminence.* Neuroscience 1990; 119: 136-139.
 23. POMBO, M.; BARREIRO, J.; FERNÁNDEZ BUSTILLO, M.; LOIS, R.; DEVESA, J.: *El hipertonio de somatostatina (SS) en la obesidad parece depender de una afectación alfa-2-adrenergica central.* An. Esp. Pediatr. 1991; 34 (suppl.), 44: 41-42.
 24. DEBELL, W. K.; PEZZOLI, S. S.; THORNER, M. O.: *Growth hormone (GH) secretion during continuous infusion of GH-releasing peptide: partial response attenuation.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991; 72: 1312-1316.
 25. DROUVA, S. V.; EPELBAUM, J.; TAPIA ARANCIBIA, L.; LAPLANTE, E.; KORDON, C.: *Opiate receptors modulate LHRH and SRIF release from mediobasal hypothalamic neurons.* Neuroendocrinology 1981; 32: 163-167.
 26. HERVÁS, F.; MORREALE DE ESCOBAR, G.; ESCOBAR DEL REY, F.; POZUELO ESCUDERO, V.: *Dinámica de secreción de hormona de crecimiento en pacientes con hipotiroidismo primario, antes y después del tratamiento con hormonas tiroideas.* Rev. Iber. Endocrinol. 1976; 135: 263-273.
 27. SÁNCHEZ FRANCO, F.; FERNÁNDEZ VÁZQUEZ, G.; DE LOS FRAILES, M. T.; VARELA, C.; LORENZO, M. J.; CACICEDO, L.: *Regulación del GRF.* En: Tresguerres J. A. F., Sánchez Franco F., Casanueva F., Vázquez J. A. Posibilidades diagnósticas del GRF (1-29) NH2 (eds.) Garsi 1989: 3-12.
 28. NAKAGAWA, K.; MASHIMO, K.: *Suppression of exercise induced growth hormone release with dexametasone.* Hum. Metab. Res. 1973; 5: 225-226.
 29. PRALONG, F. P.; MIELL, J. P.; CORDER, R.; GAILLARD, R. C.: *Dexamethasone treatment in man induces changes in 24-hour growth hormone (GH) secretion profile without altering total GH released.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991; 73: 1191-1196.
 30. WENNINK, J. M. B.; DELEMARRE-VAN DE WAAL, H. A.; SCHOEMAKER, R.; BLAAUW, G.; BRAKEN, C.; SCHOEMAKER, J.: *Growth hormone secretion patterns in relation to LH and testosterone secretion throughout normal male puberty.* Acta Endocrinol. 1990; 123: 263-270.
 31. PLOTNICKL, P.; THOMPSON, R. G.; BEITINS, I.; BLIZZARD, R. M.: *Integrated concentrations of growth hormone correlated with stage of puberty and estrogen levels in girls.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 1974; 38: 436-439.
 32. CARRASCOSA, A.; AUDIL; BALLABRIGA, A.: *Human fetal apiphyseal chondrocytes in culture: an in vitro model for studying human fetal growth.* Acta Endocrinol. 1986; 113: 41-60.
 33. CAMMANI, F.; MASSARA, F.; BELFORTE, L.; MOLINATTI, G. M.: *Changes in plasma growth hormone levels in normal and acromegalic subjects following administration of 2-bromo-alpha-ergocryptine.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 1975; 40: 363-366.
 34. ROTH, J.; GLICK, S. M.; JALOW, R. S.; BERSON, S. A.: *Hypoglycemia: a potent stimulus to secretion of growth hormone.* Science 1963; 140: 987-989.
 35. ROTH, J.; GLICK, S. M.; JALOW, R. S.; BERSON, S. A.: *Secretion of human growth hormone: physiologic and experimental modification.* Metabolism. 1963; 12: 577-579.
 36. IMAKI, T.; SHIBASIKI, T.; SHIZUME, K.; MASUDA, A.; HOTA, M.; KIYOSAWA, Y.; JIBUJI, K.; DEMURA, H.; TSUCHIMA, T.; LING, N.: *The effect of free fatty acids on «growth hormone» (GH)-releasing «hormone-mediated» GH secretion in man.* J. Clin. Endocrinol. Metab. 1985; 60: 290-293.
 37. RAITI, S.; DAVIS, W. T.; BLIZZARD R. M.: *A comparison of the effects of insulin hypoglycemia and arginine infusion on release of human growth hormone.* Lancet 1967; 2: 1182-1185.

38. GOURMELEN, M.; DONNADIEU, M.; SCHIMPF, R.; LESTRADETU GIRARD, F.: *Effect du chlorhydrate d'ornithine sur le taux plasmatique de l'hormone de croissance (GH)*. Ann. Endocrinol. 1972; 32: 526-528.
39. WILLIAMS, T.; BERELOWITZ, M.; JOFFE, S. N.; THORNER, M. O.; RIVIER, J.; VALE, W.; FRONHMAN, L. A.: *Impaired growth hormone responses to growth hormone-releasing factor in obesity*. N. Engl. J. Med. 1984; 311: 1403-1407.
40. CORDIDO, F.; DIEGUEZ, C.; CASANUEVA, F.: *Effect of central cholinergic neurotransmission enhancement by pyridostigmine on the growth hormone secretion elicited by clonidine, arginine, or hypoglycemia in normal and obese subjects*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 70: 1361-1370.
41. PHILLIPS, L. S.; UNTERMAN, T. G.: *Somatomedin activity in disorders of nutrition and metabolism*. Clin. Endocrinol. Metab. 1984; 13: 145-189.
42. TAKAHASHI, Y.; KIPNIS, D. M.; DAUGHADAY, W. H.: *Growth hormone secretion during sleep*. J. Clin. Invest. 1968; 47: 2079-2090.
43. CACCIARI, E.; COCCAGNA, G.; COGNANI, A.; PIRAZZOLI, P.; GALLASSI, R.; FARNETI, P.; BERNARDI, F.; ZAPPULLA, F.; GOBBI, G.; VERUCCHI, P.: *Growth hormone release during sleep in growth-retarded children with normal response to pharmacological tests*. Arch. Dis. Child. 1978; 53: 487-490.
44. ROCHICCIOLI, P.; SANZ, M. T.; CALVET, U.; ARBUS, L.; CHATELAIN, P.; BERNARD, M. T.; DUTAU, G.; SABLAYROLLES, B.; ENJAUME, C.: *Etude de la sécrétion somatotrope de sommeil dans 60 cas de retards staturaux de l'enfant*. Arch. Fr. Pédiatr. 1985; 42: 665-670.
45. FROHMAN, L. A.; KRIEGER, D.: *Neuroendocrine physiology and disease*. En: Feling P., Baxter J. D., Brocidus, A. E., Frohman L. A. (eds.) Endocrinology and metabolism. New York. MacGraw-Hill 1986: 185-246.
46. LEWIS, U. J.; FRIGERI, L. G.; SIGEL, M. B.; TUTWILER, G. F.; VANDERLAAN, W. P.: *Multiple forms of human growth hormone*. En: Raiti S., Tolman R. (eds.) Human growth hormone. New York: Plenum; 1986: 349-447.
47. LEWIS, U. J.; SINGH, R. N. P.; TUTWILER, G. F.; SIGEL, M. B.; VANDERLAAN, E. F.; VANDERLAAN, W. P.: *Human growth hormone: A complex of protein*. Recent. Prog. Horm. Res. 1980; 36: 477-508.
48. BAUMANN, G.: *Growth hormone binding proteins: Biochemical characterization and assays*. Acta Endocrinol. 1991; 121: 21-26.
49. MANNOR, D. A.; WINER, J. M.; SHAW, M. A.; BAUMANN, G.: *Plasma growth hormone (GH)-binding proteins: Effect on GH binding to receptors and GH action*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991; 73: 30-34.
50. POSTERL-VINAY, M. C.; TAR, A.; HOCQUETTE, J. F.; CLOT, J. P.; FONTOURA, M.; BRAUNER, R.; RAPPAPORT, R.: *Human plasma growth hormone (GH)-binding proteins are regulated by GH and testosterone*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991; 73: 197-202.
51. LESNIAK, M. A.; ROTH, J.: *Regulation of receptor concentration by homologous hormone. Effect of human growth hormone on its receptor in IM-9 lymphocytes*. J. Biol. Chem. 1976; 251: 3720-3729.
52. SALMÓN, W. D.; DAUGHADAY, W. H.: *A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro*. J. Lab. Clin. Med. 1957; 49: 825-836.
53. UNDERWOOD, L. E.; D'ERCOLE, A. J.; VAN WYK, J. J.: *Somatomedin-C and the assessment of growth*. Ped. Clin. Nort. Am. 1980; 27: 771-782.
54. FRYKLUND, L.; UTHNE, K.; SIEVERTSSON, H.: *Identification of two somatomedin. A active polypeptides and in vivo effects of a somatomedin a concentrate*. Biochem Biophys Res. Communum 1974; 61: 957-962.
55. VAN WYK, J. J.; UNDERWOOD, L. E.; HINTZ, R. L.; CLEMMONS, D. R.; VOINA, S. J.; WEAVER, R. P.: *The somatomedins: A family of insulin-like hormones under growth hormone control*. Recent Prog. Horm. Res. 1974; 30: 259-318.
56. NILSSON, A.; ISGAARD, J.; LINDAHL, A.; DAHLSTRM, A.; SKOTTNER, A.; ISAKSSON, O. G. P.: *Regulation by growth hormone of number of chondrocytes containing IGF-I in rat growth plate*. Science 1986; 233: 571-574.
57. RECHLER, M. M.; NISSLEY, S. P.: *The nature and regulation of receptors for insulin-like growth factors*. Annu Rev. Physiol. 1985; 47: 425-442.
58. UNDERWOOD, L. E.; D'ERCOLE, A. J.; CLEMMONS, D. R.; VAN WYK, J. J.: *Paracrine functions of somatomedins*. Clin. Endocrinol. Metab. 1986; 15: 59-77.
59. LASSARRE, C.; HARDOUIN, S.; DAFFOS, F.; FOURESTIER, F.; FRANKENNE, F.; BINOUX, M.: *Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationships with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation*. Pediatr. Res. 1991; 29: 219-225.
60. HANDELSMAN, D. J.; SPALIVIERO, J. A.; SCOTT, C. D.; BAXTER, R. C.: *Hormonal regulation of the peripubertal surge of insulin-like growth*

- factor-I in the rat*. *Endocrinology* 1987; 120: 491-496.
61. CLEMMONS, D. R.; KLIBANSKI, A.; UNDERWOOD, L. E.; MCARTHUR, J. W.; RIDGWAY, E. C.; BELTINS, I. Z.; VAN WYK, J. J.: *Reduction of plasma immunoreactive somatomedin-C during fasting in humans*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1981; 53: 1247-1250.
 62. LOCHE, S.; CAPPA, M.; BORRELLI, P.; FAEDDA, A.; CRINO, A.; CELLA, S. G.; CORDA, R.; MULLER, E. E.; PINTOR, C.: *Somatomedin C mediated inhibition*. *Clin. Endocrinol.* 1987; 27: 145-153.
 63. PHILLIPS, L. S.; UNTERMAN, T. G.: *Somatomedin activity in disorders of nutrition and metabolism*. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1984; 13: 145-189.
 64. BLUM, W. F.; RANKE, M. B.; KJETZMANN, K.; GAUGGEL, E.; ZEISEL, H. J.; BIERICH, J. R.: *A specific radioimmunoassay for the growth hormone (GH)-dependent somatomedin-binding protein: Its use for diagnosis of GH deficiency*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990; 70: 1292-1298.
 65. BLUM, W. F.; RANKE, M. B.: *Insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) with special referent to IGFBP-3*. *Acta Paediatr. Scand.* 1990 (Suppl.); 367: 55-62.
 66. BLUM, W. F.; RANKE, M. B.: *Use of insulin-like growth factor-binding protein 3 for the evaluation of growth disorders*. *Horm. Res.* 1990; 33: 31-37.
 67. LACEY, K. A.; HEWISON, A.; PARKIN, J. M.: *Exercise as a screening test for growth hormone deficiency in children*. *Arch. Dis. Child.* 1973; 48: 508-512.
 68. TANNER, J. M.; WHITEHOUSE, R. H.; HUGHES, P. C. R.; VINCE, F. P.: *Effect of human growth hormone treatment for 1 to 7 years on growth of 100 children, with growth hormone deficiency, low birthweight, inherited smallness Turner's syndrome, and other complaints*. *Arch. Dis. Child.* 1971; 46: 745-782.
 69. MILNER, R. D. G.; BURNS, E. C.: *Investigation of suspected growth hormone deficiency*. *Arch. Dis. Child.* 1982; 57: 944-947.
 70. ROCHICCIOLI, P.; ENJAUME, P.; DUTAU, G.; RIBOT, C.; AUGIER, D.; FEVRIER, C.: *Etude comparative de huit épreuves de stimulation de la sécrétion dhormone de croissance. Résultats et analyse statistique chez 215 enfants*. *Rev. Med.* 1975; XI: 179-189.
 71. PARKIN, J. M.: *Exercise as a test of growth hormone secretion*. *Acta Endocrinol.* 1986 (suppl.), 279: 47-50.
 72. NEBREDA, V.; LUZURIAGA, C.; IGEA, J.; LORIDAN, L.; MARTUL, P.: *Estimulación de la secreción de hormona de crecimiento (HGH) por medio del ejercicio físico*. *An. Esp. Pediatr.* 1979; 12: 423-426.
 73. POMBO, M.; MARTINON, J. M.; TATO, F.; PEÑA, J.: *Propranolol and exercise tes for growth hormone assays*. *Pediatrics* 1977; 60: 778-779.
 74. LUZURIAGA, C.; CASTAÑO, L.; GUTIERREZ-CORTINES, D.: *Pruebas de screening de secreción HGH. Estudio comparativo de dos tests*. VII Reunión de endocrinología Pediátrica Zaragoza 1985 (Abstract.), p. 9.
 75. CACCIARI, E.; COCCAGNA, G.; CICOGNANI, A.; PIRAZZOLI, P.; GALLASSI, R.; FARNETI, P.; BERNARDI, F.; ZAPPULLA, F.; GOBBI, G.; VERUCCHI, P.: *Growth hormone release during sleep in growth-retarded children with normal response to pharmacological tests*. *Arch. Dis. Child.* 1978; 53: 487-490.
 76. FRASIER, S. D.: *A review of growth hormone stimulation tests in children*. *Pediatrics* 1974; 53: 929-937.
 77. ROCHICCIOLI, P.; DUTAU, G.; CALVET, U.; SABLAYROLLES, B.; ENJAUME, C.; SANZ, M. T.: *Exploration de la secretion somatotrope. Etude comparative de huit tests de stimulation chez 599 enfants et resultats de la secretion somatotrope de sommeil*. *Ann. Pediatr.* 1985; 32: 93-96.
 78. GIL-AD, I.; TOPPER, E.; LARON, Z.: *Oral clonidine as a growth hormone stimulation test*. *Lancet* 1979; ii: 278-280.
 79. BRAZEAU, P.; LING, N.; BOHLEN, P.; ESCH, F.; YING, S. Y.; GUILLEMIN, R.: *Growth hormone releasing factor, somatocrinin, releases pituitary growth hormone in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1982; 79: 7909-7913.
 80. RANKE, M. B.; GRUHLER, M.; ROSSKAMPR, BRUGMANN, G.; ATTANASIO, A.; BLUM, W. F.; BIERICH, J. R.: *Testing with growth hormone releasing factor GRF (1-29) NH2 and somatomedin C Measurements for the evaluation of growth hormone deficiency*. *Eur. J. Pediatr.* 1986; 145: 485-492.
 81. ROSENTHAL, S. M.; SCHRIOCK, E. A.; KAPLAN, S. L.; GUILLEMIN, R.; GRUMBACH, M. M.: *Synthetic human pancreas growth hormone-releasing factor (hpGRF 1-44 HN2) stimulates growth hormone secretion in normal man*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983; 57: 677-679.
 82. VANCE, M. L.; BORGES, J. L.; KAISER, D. L.; EVANS, W. S.; FURLANETTO, R.; THOMINET, J. L.; FROHMAN, L. A.; ROGOL, A. D.; MACLEOD, R.; BLOOM, S.; RIVIER, J.; VALE, W.; THORNER, M. O.: *Human pancreatic tumor growth hormone-releasing factor: dose-response relationships in normal man*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984; 58: 838-844.

83. GRUPO COOPERATIVO ESPAÑOL: *GRF (1-29) NH2 como prueba de reserva hipofisaria de hormonas de crecimiento (GH)*. *Endocrinología* 1989; 36: 36-44.
84. SMITH, P. J.; PRINGLE, P. J.; BROOK, C. G.; SCHULSTER, D.; RAFFERTY, B.: *Plasma immunoreactive GHRH and serum GH concentrations following pulsatile GHRH 1-40 administration in GH deficient children*. *Clin. Endocrinol.* 1987; 27: 501-507.
85. FERNÁNDEZ LÓPEZ, I.; SANTOS ESPAÑOL, C.; LEAL CERRO, A.; GAVILÁN VILLAREJO, I.; ACOSTA DELGADO, D.; GARCÍA LUNA, P. P.; ASTURGA JIMÉNEZ, R.: *Uso diagnóstico de GRF por vía subcutánea en el retraso de crecimiento*. En: Tresguerres J. A. F.; Casanueva, F.; Sánchez-Franco, F.; Vázquez, J. A. *Posibilidades diagnósticas del GRF (1-29) NH2 (eds.)*. Garsi 1989; 45-53.
86. SCHROCK, E. A.; LUSTIG, R. H.; ROSENTHAL, S. M.; KAPLAN, S. L.; GRUMBACH, M. M.: *Effect of growth hormone (GH)-releasing hormone (GRH) on plasma GH in relation to magnitude and duration of GH deficiency in 26 children and adults with isolated GH deficiency or multiple pituitary hormone deficiencies: evidence for hypothalamic GRH deficiency*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984; 58: 1043-1049.
87. GROSSMAN, A.; SAVAGE, M. O.; BLACKLAY, A.; ROSS, R. M.; PLOWMA, P. N.; PREBCE, M. A.; COY, D. H.; BESSER, G. M.: *The use of growth hormone-releasing hormone in the diagnosis and treatment of short stature*. *Horm. Res.* 1985; 22: 52-57.
88. LUZURIAGA, C.; LÓPEZ-CORDOVILLA, J. J. y MENDIGUREN SANTIAGO, M. A.: *Estudio de la secreción de hormona de crecimiento con el test dinámico de GRF (1-29) NH2 y piridostigmina*. *An. Esp. Pediatr. Sup.* 30, vol. 37, 1989: 33.
89. GHIGO, E.; MAZZA, E.; IMPERIALE, E.; RIZZI, G.; BENSO, L.; MULLER, E. E.; CAMANNI, F.; MASSARA, F.: *Enhancement of cholinergic tone by pyridostigmine promotes both basal and growth hormone (GH)-releasing hormone-induced GH secretion in children fo short stature*. *J. Clin. Endocrinol.* 1987; 65: 452-456.
90. LUZURIAGA, C.; MARTÍNEZ-CHAMORRO, M. J.: *Modifications of GH secretory responses to GHRH depending on the age and puberty stage*. *International Symposium «growth hormone and IGFs»*. Spain. March. 1993. Libro de Abstract, PT 26.
91. BROOK, C. G. D.; HINDMARSH, P. C.; SMITH, P. J.: *Is growth hormone deficiency a useful diagnosis?* *Acta Paediatr. Scand. (Suppl.)*; 1987, 331: 70-75.
92. PLOTNICK, L. P.; LEE, P. A.; MIGEON, C. J.; KOWARSKI, A. A.: *Comparison of physiological and pharmacological tests of growth hormone function in children with short stature*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 48: 811-816.
93. ZADIK, Z.; CHALEW, S. A.; KOWARSKI, A.: *Assessment of growth hormone secretion in normal stature children using 24-hour integrated concentration of GH and pharmacological stimulation*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1990; 71: 932-936.
94. ALBERTSSON-WIKLAND, K.; ROSBERG, S.: *Analyses of 24-hour growth hormone profiles in children: relation to growth*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1988; 67: 493-500.
95. MERRIAM, G. R.; WACHTER, K. W.: *Measurement and analysis of episodic hormone secretion*. En: D.Rodbar, G. Foiri (eds.), *Computers in endocrinology* Sero no Symposium v. 14, Raven New York, 1984; 325-346.
96. FUJIEDA, K.; MATSUURA, N.; ISHIKAWA, E.; NOHRIZ, Z.; MURUKAMI, Y.: *Evaluation of daytime growth hormone secretory dynamics for the diagnosis of GH deficiency*. *Acta Paediatr. Scand.* 1988 (suppl.); 343: 180-181.
97. RICHARDS, G. E.; CAVALLO, A.; MEYER, W. J.: *Diagnostic validity of 12 hour integrated concentration of growth hormone*. *AJDA*, 1987; 141: 553-555.
98. LUZURIAGA, C.; CASTILLO, L.; CAPA, L.; FREJO, C.: *Comparación de la secreción espontánea de GH durante 24 horas frente a la secreción nocturna*. *Endocrinología* 1991; 38 (suppl); 2: 30.
99. FUJIEDA, K.; MATSUURA, N.; ISHIKAWA, E.; NOHRIZ, Z.; MURUKAMI, Y.: *Evaluation of daytime growth hormone secretory dynamics for the diagnosis of GH deficiency*. *Acta Paediatr. Scand.* 1988 (suppl.); 343: 180-181.
100. GIRAD, J.; GREENWOOD, F. C.: *The absence of intact growth hormone in urine as judged by radioimmunoassay*. *J. Endocrinol.* 1968; 40: 493-503.
101. GRANADA, M. L.; SANMARTI, A.; LUCAS, A.; SALINA, I.; CUATRECASAS, J. M.; FOZ, M.; CARRASCOSA, A. and AUDI, L.: *Clinical usefulness of urinary growth hormone measurements in normal and short children according to different expressions of urinary growth hormone date*. *Pediatric Research* 1992, 32, 1: 73-76.
102. CROWNE, E. C.; WALLACE, W. H. B.; SHALET, S. M.; ADDISON, G. M.; PRICE, D. A.: *Relationship between urinary and serum growth hormone and pubertal status*. *Archives of Disease in childhood*, 1992; 67: 91-95.
103. GRANADA, M. L.; SANMARTI, A.; LUCAS, A.; SALINAS, I.; CARRASCOSA, A.; FOZ, M.; AUDI, L.: *Assay dependent results of immunoassaya*

- ble spontaneous 24 hour growth hormone secretion in short children. *Acta Paediatr. Scand.* 1990 (suppl.); 370: 63-70.
104. LEVIN, P. A.; CHALEW, S. A.; MARTIN, L.; KOWARSKI, A.: *Comparison of assays for growth hormone using monoclonal or polyclonal antibodies for diagnosis of growth disorders.* *J. Lab. Clin. Med.* 1987; 109: 85-88.
 105. CELNIKER, A. C.; CHEN, A. B.; WERT, R. M.; SHERMAN, B. M.: *Variability in the quantitation of circulating growth hormone using commercial immunoassays.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1989; 68: 469-476.
 106. BAUMANN, G.: *Growth hormone binding proteins and various forms of growth hormone: Implications for measurements.* *Acta Paediatr. Scand.* 1990 (suppl.); 370: 72-80.
 107. FINKELSTEIN, J. W.; ROFFWANG, H. P.; BOYAR, R. M.: *Age related change in the 24-hour spontaneous secretion of growth hormone.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1972; 35: 665-670.
 108. CHATELAIN, P.; BOUILLAT, B.; COHEN, R.; SASOLAS, G.; SOUBERBIELLE, J. C.; RUITON, A.; JOLY, M. O.; JOB, J. C.: *Assay of growth hormone levels in human plasma using commercial kits: analysis of some factors influencing the results.* *Acta Paediatr. Scand.* 1990 (suppl.); 370: 56-61.
 109. BIERICH, J. R.: *Serum growth hormone levels in provocation tests and during nocturnal spontaneous secretion: a comparative study.* *Acta Paediatr. Scand.* 1987 (Suppl.); 337: 48-59.
 110. HAYEK, A.; PEAKE, G. T.; ALBUQUERQUE, N. M.: *Growth and somatomedin-C responses to growth hormone in dwarfed children.* *J. Pediatr.* 1981; 99: 868-872.
 111. RUDMAN, D.; KUTNER, M. H.; BLACKSTON, R. D.; JANSEN, R. D.; PATTERSON, J. H.: *Normal variant short stature: Subclassification based on responses to exogenous human growth hormone.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 49: 92-99.
 112. RUDMAN, D.; KUTNER, M. H.; GOLDSMITH, M. A.; KENNY, J.; JENNINGS, H.; BAIN, R. P.: *Further observations on four subgroups of normal variant short stature.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1980; 51: 1378-1383.
 113. KOWARSKI, A. A.; SCHNEIDER, J.; BEN-GALIN, E.; WELDON, V. V.; DAUGHADAY, W. H.: *Growth failure with normal serum GH and low somatomedin activity: Somatomedin restoration and growth acceleration after exogenous GH.* *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1978; 47: 461-464.
 114. DIAZ, J. M.; DEVESA, J.: *Expresión del gen de hormona de crecimiento: variantes moleculares y actividad biológica de estas variantes.* En: Moreno B., Tresguerres J. A. F. *Retrasos del crecimiento fisiopatología* (eds.) Díaz de Santos 1992: 17-33.
 115. VANDERSCHUEREN-LODEWEYCKS, M.: *Assesment of growth hormone secretion: what are we looking for practically?* *Horm. Res.* 199, 33: 1-6.
 116. SPILLOTIS, B. E.; AUGUST, G. P.; HUNG, W.; SONIS, W.; MENDELSON, W.; BERCU, B. B.: *Growth hormone neurosecretory dysfunction.* *JAMA* 1984; 251: 2223-2230.
 117. BERCU, B. B.; DIAMOND, F. B.: *Growth hormone neurosecretory dysfunction.* *Clin. Endocrinol. Metab.* 1986; 15: 537-590.