

Diagnòstic bioquímic dels retards del creixement

N. Potau i Vilalta i E. Vicens i Calvet

Laboratori d'Hormones. Hospital Infantil Vall d'Hebron. Barcelona.

Presentació

El creixement és un procés multifactorial que depèn o, millor dit, està influït per factors genètics, nutricionals, ambientals i hormonals.

Les hormones amb més protagonisme sobre el creixement són: l'hormona de creixença, *growth hormone* (GH), i els factors de creixement, *insulin-like-growth-factors* (IGF), en especial la IGF I que depèn de la GH, la insulina, les hormones tiroides, els esteroides sexuals i els glucocorticoides.

La GH regula el creixement dels nens del naixement fins a la pubertat. L'absència d'aquesta hormona dona lloc a un enlentiment del creixement molt important que situa l'infant molt per sota del tercer percentil de les corbes de creixement estàndards.

Per centrar el tema de la GH, resumirem breument la fisiologia d'aquesta hormona. La GH és sintetitzada a la hipòfisi humana i la seva mol·lècula té una seqüència de 191 aminoàcids. La forma més corrent a la hipòfisi i a la sang és la d'un pes molecular de 22 Kd, encara que existeix una altra forma menys freqüent, la de 20 Kd que està codificada pel mateix gen. Igualment que les altres hormones hipofisàries, la GH està sotmesa al control de les hormones hipotalàmiques. En aquest cas són dues, el factor alliberador o GRF, *growth hormone releasing factor*, i el factor inhibidor o SRIF, *somatostatin releasing inhibitor factor*, o somatostatina. Aquesta última fou descoberta 10 anys abans que el factor alliberador. Es tracta d'un pèptid de 14 aminoàcids que, a més d'inhibir la GH, inhibeix la insulina, el glucagó i la gastrina. D'altra banda, el GRF conté una cadena de 44 aminoàcids, dels quals els primers són els determinants de l'acció biològica. La secreció de GRF i de SRIF, així com l'alliberació de GH estan també sotmesos al control del SNC mitjançant les seves connexions sinàptiques i també els neurotransmissors. Al mateix temps existeix un mecanisme de contraregulació a través de la IGF I i la mateixa GH.

El retard de creixement és una de les entitats més freqüents en la infantesa i, atesa la multiplicitat de factors que poden incidir en el procés, fa que el diagnòstic diferencial sigui un dels més amplis en la pediatria. El dèficit d'hormona de creixement dona lloc a una entitat clara denominada nanisme hipofisari, que pot ser primari o secundari a deficiència hipotalàmica. Aquesta forma, clínicament clàssica, representa només

l'1 % dels nens amb talla curta. De la resta, molts d'ells serien considerats com a nens de talla baixa constitucional o dintre d'una altra entitat anomenada actualment disfunció neurosecretora per alteració dels mecanismes de regulació de la GH.

Es considera que un nen pertany al grup de talla curta, quan la seva talla segons l'edat està situada per sota del tercer percentil de les corbes de Tanner, la seva velocitat de creixement és inferior a 4 cm per any i la seva edat òssia té un retard d'un any o més en relació amb l'edat cronològica.

El diagnòstic de dèficit de GH s'estableix mitjançant la determinació de l'hormona de creixement circulant amb la sang, atès que la GH s'allibera esporàdicament de forma pulsàtil i té una vida mitjana de 25 minuts. Els pics discrets de GH estan separats per intervals relativament llargs amb manca de secreció de GH. Així doncs, normalment els nivells de GH amb sang són indetectables o molt baixos i la seva determinació aïllada no serveix per al diagnòstic bioquímic del dèficit d'hormona de creixement. Per aquest motiu es valora la resposta de la GH sota estímuls fisiològics o farmacològics. Actualment, els diversos tests utilitzats per mesurar la GH es divideixen en test de cribratge, proves definitives i proves no convencionals o d'investigació. El test de cribratge, ideal per ésser utilitzat per al diagnòstic del dèficit d'hormona de creixença, hauria d'ésser segur quant a la seva especificitat, de baix cost econòmic, fàcil de realitzar i que comportés els mínims de risc i molèsties al malalt.

Prèviament, i abans d'iniciar el protocol del retard de creixement amb els tests d'estimulació, és important descartar qualsevol altre tipus de patologia que podria haver passat desapercebuda i que fos la causant del retard de creixement. Fonamentalment es tracta de descartar anomalies de les funcions renal, intestinal i tiroïdal.

Quant a les alteracions de la funció glomerular o tubular renal és interessant determinar la creatinina, la urea, l'equilibri àcid base, així com també fer una prova de concentració amb orina. Els processos intestinals que donin lloc a una mala absorció i a l'existència d'una anèmia microcítica quedaran descartats amb un hemograma i una velocitat de sedimentació globular, com també amb la detecció de la presència d'anticossos antigliadina en sang, patognomònics de la síndrome Celiac, atès que en aquests moments aquesta determinació específica és senzilla metodològicament¹. L'altra anomalia que cal descartar és l'existència d'un hipotiroidisme primari amb poques manifestacions clíniques, la qual cosa fa que en el cas que es determini la GH no obtinguem resposta. Per altra banda cal recordar que el

Correspondència: Dra. N. Potau i Vilalta.
Av. Josep Tarradellas, 84, 2-1.
08029 Barcelona.
Ann Med (Barc) 1989; 75:200-202.

dèficit de GH s'associa moltes vegades amb el dèficit de TSH hipofisària (*thyroid stimulating hormone*). Per aquestes raons es realitzaran unes determinacions de TSH i de T_4 (hormona tiroïdal o tetraiodotironina). Hem d'esmentar també que a les nenes amb retards de creixement i fenotipus sospitosos de la síndrome de Turner se sol·licitarà un cariotip, ja que al voltant d'un 60 % de les nenes que presenten aquesta síndrome tenen un cariotip 45 XO, mentre que la resta, el 40 %, poden presentar deleccions parcials del cromosoma X o mosaïcisme².

Test de cribratge

Una vegada hem descartat l'existència de les alteracions anteriorment esmentades, passarem a realitzar el test d'estimulació de l'hormona de creixement. Com a tests de cribratge més corrents es poden considerar: el son, l'exercici, l'L-Dopa i el propranolol.

El son és un estímul de la GH i es produeixen uns pics de secreció de l'hormona coincidint amb les ones lentes electroencefalogràfiques en les primeres tres hores de son³. Normalment es realitzen dues extraccions per a la determinació de GH als 60 i als 90 minuts després d'iniciar-se el son. De fet, al voltant d'un 30 % de nens normals no tenen una bona resposta de GH amb aquest test^{3,4}.

L'exercici, a l'igual d'altres situacions d'estrès físic, produeix una estimulació de la secreció de GH, que es mesura a l'inici de l'exercici i 20 minuts després. Aquest test és un dels més senzills i segurs, però també té un 30 % de nens normals que no responen adequadament⁵.

Tant l'L-Dopa com el propranolol actuen estimulants les vies dopaminèrgiques de l'hipotàlam, a la vegada que són bloquejadors beta. Evidentment són bons estimuladors de la GH, però també es produeix en aquesta prova un 5 % de falsos negatius, la qual cosa vol dir que un 5 % de nens normals no han donat resposta de GH amb aquest test però l'han donada després amb la hipoglucèmia insulínica⁴.

Nosaltres utilitzem com a test de cribratge el propranolol més exercici, que el realitzem de la següent manera^{6,7}: s'administra el propranolol a una dosi de 0,5 mg/kg (10 mg fins a 20 kg i 20 mg fins a 40 kg) i es deixa el nen en repòs dues hores. A partir d'aquest moment, el nen fa l'exercici durant trenta minuts (pujar i baixar un graó). Es fan tres extraccions, una basal al temps zero, una altra als 120 minuts després del propranolol i la tercera als 150 minuts, o sigui després de l'exercici.

Tests definitius

En els tests definitius utilitzem també estímuls que, amb seguretat, estimulen la secreció de GH, fent a més a més extraccions seguides de sang per documentar millor l'increment de la GH. De fet encara que utilitzem el millor test sempre tindrem un tant per cent de nens que no respondran a l'estímul, encara que siguin normals⁸.

Els tests definitius més utilitzats són: el de la hipoglucèmia induïda per insulina (0,1 U/kg i.v.), el de l'arginina (0,5 g/kg en solució 10 % i.v.), l'L-Dopa (10 mg/kg v.o.) i el de la clonidina (0,15 mg/m² v.o.). La clonidina és un agent betaadrenèrgic que actua a nivell central

estimulant la secreció de GH. Comparat amb l'arginina, l'L-Dopa i la hipoglucèmia per insulina és el que dona la resposta més alta de GH⁹, encara que pot donar somnolència i hipotensió. Així doncs, la clonidina pot substituir el test de hipoglucèmia induït per insulina. Nosaltres hem utilitzat durant molts anys el test combinat d'arginina més insulina, que va resultar ser un test molt potent amb molt pocs falsos negatius, encara que força complicat de realitzar. Actualment, utilitzem el protocol del Megatest amb el qual, a més de l'estímul de la insulina, s'administren els *releasing factors* d'altres hormones hipofisàries per determinar, en el cas que es confirmi el dèficit de GH, els possibles dèficits de TSH, gonadotropines i ACTH que moltes vegades s'associen. Així doncs, s'administra després de l'extracció basal, 0,1 U/kg d'insulina, 100 mg de LH-RH i 200 µg de TRH. Les extraccions es realitzen als 10, 20, 30, 60, 90 i 120 minuts després. D'aquesta manera, a la vegada que s'assegura el diagnòstic de dèficit de GH, es pot diagnosticar si es tracta d'un dèficit aïllat o d'un dèficit múltiple hipofisari.

Clàssicament, i des de l'inici dels tractaments substituïts, s'ha considerat necessari per al diagnòstic que el nen tingui dues proves, una de cribratge i una definitiva realitzades en dies diferents que no tinguin cap valor de GH superior a 7 ng/ml. Així doncs, el diagnòstic del dèficit de GH es confirma quan la resposta a l'estímul és inferior a 7 ng/ml. Si la resposta no és superior a 10 ng/ml, o sigui que els valors màxims de GH estan compresos entre 7 i 10 ng/ml, es considera que es tracta d'un cas de dèficit parcial de GH.

Evidentment, com ja hem comentat, tots aquests tests tenen les seves limitacions, a les quals hem d'afegir-ne d'altres, com és que la majoria de les proves (a excepció del son i l'exercici) utilitzen estímuls farmacològics que poca cosa tenen a veure amb la fisiologia normal. Per tant, cap d'elles no determina la secreció espontània de GH en condicions normals. D'altra banda, la interpretació dels resultats depèn del radioimmunoassaig utilitzat el qual, a més de tenir la seva pròpia imprecisió, pot variar els resultats en funció de l'estàndard de GH i de l'anticòs utilitzat, la qual cosa ha estat comprovada per nosaltres i també per d'altres¹⁰. Això fa que tant si en la metodologia s'utilitza un anticòs monoclonal o policlonal, com si la separació es fa amb doble anticòs o no, aquesta tècnica cal que estigui ben estandarditzada i controlada en una població normal.

La incidència del retard de creixement és també molt freqüent al voltant de la pubertat, amb retard a vegades del seu inici, secundari al paper, encara no gaire conegut, de les hormones sexuals sobre l'eix hipotàlam-hipofisari. En aquest cas, i davant un resultat negatiu de la GH enfront de l'estímul propranolol més exercici, es repeteix el test sensibilitzant-lo amb estrògens o testosterona, 3 a 5 dies abans de la prova¹¹ (per exemple 5 µg d'etinilestradiol). Llavors aquesta pot donar una resposta positiva, o sigui amb un valor de GH per damunt de 10 ng/ml, el que ens farà distingir entre un dèficit parcial i un retard constitucional de creixement i maduració. Alguns d'aquests casos poden ara ésser tractats amb les actuals hormones obtingudes amb tècniques de bioenginyeria genètica, que fan que la seva indicació no sigui tan restrictiva com quan s'utilitzava hormona extractiva d'origen humà¹².

Proves no convencionals o d'investigació

Amb respostes de GH normals tenim actualment un gran nombre de nens que tenen un retard de creixement important i que eren catalogats com nens de talla baixa constitucional, però que actualment molts d'ells es podrien incloure dintre del dèficit de GH funcional i ésser subsidiaris de tractament.

Spiliotis et al.¹³ van ser els primers que van parlar d'alteració neurosecretora. En aquell estudi es va demostrar l'existència d'un grup de nens de talla curta amb proves funcionals normals, però amb IGF I baixa, velocitat de creixement baixa i pulsilitat de la GH o secreció espontània d'aquesta hormona per sota dels nivells normals. D'aquesta manera, i estudiant la secreció de GH durant les 24 hores del dia, es va poder determinar el valor de l'àrea sota les corbes així com el valor normal i els diferents perfils de secreció de la GH. També A.D. Rogol et al. varen determinar¹⁴, utilitzant un programa informatitzat¹⁵, les diferències existents entre el perfil de les secrecions integrades de 24 hores a la pubertat i en el període pre-puberal. Durant la pubertat, o sigui sota l'efecte de les hormones sexuals, es produeix un augment molt important de la secreció de GH que es tradueix en un augment de l'amplitud dels pics de secreció¹⁴. Comparats els dos grups s'observa que l'amplitud és de $17,1 \pm 2,6$ ng/ml a la pubertat i de $8,6 \pm 1,7$ ng/ml prèviament, però no existeixen diferències en la freqüència dels polsos de secreció $5,4 \pm 0,5$ versus $5,5 \pm 0,4$.

Actualment sembla que l'estudi de la secreció integrada de GH pot ésser utilitzada per definir aquells nens amb talla baixa que no segreguen suficient GH en condicions fisiològiques. Aquest estudi consisteix a fer extraccions seriades cada 20 o 30 minuts i determinar, d'una banda, el valor de la secreció integrada, que és la mitjana de tots els valors i, d'altra banda, estudiar les característiques del perfil obtingut mesurant la GH de cada extracció. Nosaltres realitzem aquesta exploració fent una extracció de 0,5 a 1 ml de sang cada mitja hora i fent un *pool* de plasma de les 48 mostres obtingudes. Es considera com a secreció inadequada de GH, els valors per sota de 3,5 ng/ml¹⁶. Si el valor de secreció integrada de GH és superior a 3,5 ng/ml, passem doncs a estudiar el seu perfil de secreció. Per avaluar la secreció de GH durant les 24 hores del dia, s'utilitzen programes informatitzats, que eliminen la subjectivitat quantificant els diferents paràmetres del perfil. Els mètodes de Santin i Barden¹⁷ o el de Merrian i Wachter (PULSAR)¹⁸ han estat utilitzats per identificar pics o polsos individuals; en canvi, el mètode de Clifton i Steiner¹⁹ estudia l'amplitud i la freqüència dels cicles. Nosaltres hem utilitzat aquest últim, que ens ha estat facilitat gentilment pel Dr. Tortosa. Amb l'ajuda d'aquest programa hem valorat els perfils de secreció de la GH en un grup de nens normals i un grup de nens amb talla baixa i secreció anormal de GH, que han iniciat tractament dintre d'un protocol d'estudi^{14,16}.

El tractament amb hormona de creixement d'aquests grups de nens baixos que responen als estímuls però

que tenen una secreció integrada o un perfil anormal, sembla donar bons resultats a curt termini, però desconeixem encara el resultat final o a llarg termini. També en aquest cas està indicat, en començar el tractament i com a test pronòstic de resposta a aquest, fer un test de generació d'IGF I. Aquest test consisteix a mesurar la IGF I de 16 a 24 hores després d'administrar un conjunt de 4 a 10 injeccions diàries d'hormona de creixement.

A més a més de mesurar els nivells d'IGF I en sang basalment i com a resposta a la GH, també té interès estudiar els seus receptors per determinar possibles casos de resistència a l'acció de la IGF I.

Actualment, amb les dades auxològiques, clíniques i bioquímiques, es pot establir amb força seguretat la indicació de tractament amb GH. El diagnòstic definitiu d'aquesta deficiència o disfunció caldrà recolzar-lo amb el seguiment de l'increment de la velocitat de creixement i la progressiva millora de la talla com a resposta al tractament.

BIBLIOGRAFIA

1. Juto P, Fredriksson B, Hernell O. Gliadin specific serum immunoglobulins A, E, G, and M in childhood. Relation to intestinal morphology. *J Pediatr Gastr* 1985; 4:723.
2. Lipe BM. Primary ovarian failure A: Kaplan SA, ed. *Clinical Pediatric and Adolescent Endocrinology*. Filadèlfia, W.B. Saunders, 1982; 269.
3. Underwood LE, Azumi K, Voia SJ, Van Wyk JJ. Growth hormone levels during sleep in normal and growth hormone deficient children. *Pediatrics* 1971; 48:946.
4. Fass B, Lippe BM, Kaplan SA. Relative usefulness of three growth hormone stimulation screening test. *Am J Dis Child* 1979; 133:931.
5. Keenan BS, Kilmer LB, Sode J. Growth hormone response to exercise. A test of pituitary function in children. *Pediatrics* 1972; 50:760.
6. Vicens-Calvet E, Potau N, Carrascosa A et al. Clinical experience with somatrem in growth hormone deficiency. *Acta Paediatr Scandinavica* (supl.) 1986; 325:33.
7. Vicens-Calvet JM, Potau N. Tratamiento del enanismo hipofisario con hormona de crecimiento. *Rev Española Pediatr* 1975; 181:131.
8. Frasier SD. A review of growth hormone stimulation test in children. *Pediatrics* 1974; 53:929.
9. Fraser NC, Seth J, Brown NS. Clonidine is a better test for growth hormone deficiency than insulin hypoglycemia. *Arch Dis Child* 1983; 58:355.
10. Reiter EO, Morris AH, MacGillivray MH, Weber D. Variable estimates of serum growth hormone concentrations by different radioassay systems. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66:68.
11. Lippe B, Wong SLR, Kaplan SA. Simultaneous assessment of growth hormone and ACTH in children pretreated with diethylstilbestrol. *J Clin Endocrinol* 1971; 33:949.
12. Raben MS. Treatment of a pituitary dwarf with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1958; 18:901.
13. Spiliotis BE, August GP, Hung W et al. Growth hormone secretory dysfunction. A treatable cause of short stature. *JAMA* 1984; 251:2223.
14. Link K, Blizzard RM, Evans WS, Kaiser DL, Parker MW, Rogol AD. The effect of androgens on the pulsatile release and the twenty-four-hour mean concentration of growth hormone in peripuberty males. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:159.
15. Veldhuis JD, Johnson ML. Cluster analysis. A simple, versatile, and robust algorithm for endocrine pulse detection. *Am J Physiol* 1986; 250:E 486.
16. Zri Zadik, Stuart A, Chalew A, Raiter S, Kowark AA. Do short children secrete insufficient growth hormone? *Pediatrics* 1985; 76:355.
17. Santin R, Barden CW. Episodic luteinising hormone secretion in man: pulse analysis, clinical interpretation, physiologic mechanism. *J Clin Invest* 1973; 52:2.617.
18. Merrian GR, Wachter KW. Algorithms for the study of episodic hormone secretion. *Am J Physiol* 1982; 243:E-310.
19. Clifton DK, Steiner RA. Cycle detection: A technique for estimating the frequency and amplitude of episodic fluctuations in blood hormone and substrate concentrations. *Endocrinology* 1983; 112:1.057.