

## TRABAJO ORIGINAL

# Evaluación de los niveles séricos de la proteína de unión de alta afinidad de la hormona de crecimiento humana (GHBP) y del polimorfismo del exón 3 del gen del receptor de GH en niños con talla baja idiopática

Premio “Dra. Sara Chiocchio”, XVI Congreso SAEM 2009

María G Ballerini<sup>1\*</sup>, Paula Scaglia<sup>2</sup>, Horacio M Domené<sup>2</sup>, Alicia Martínez<sup>2</sup>, Ana Keselman<sup>2</sup>, Viviana Piperman<sup>3</sup>, Sonio V Bengolea<sup>4</sup>, Hamilton Cassinelli<sup>1</sup>, Liliana Karabatas<sup>2</sup>, María L Calcagno<sup>5</sup>, Juan J Heinrich<sup>1</sup>, Héctor G Jasper<sup>2\*\*</sup>, María G Ropelato<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> División de Endocrinología-Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez de Buenos Aires

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE) CONICET

<sup>3</sup> Servicio de Pediatría-Hospital General de Agudos Dr. E. Tornú, Buenos Aires

<sup>4</sup> Servicio de Pediatría-Hospital General de Agudos Juan A. Fernández, Buenos Aires

<sup>5</sup> Cátedra de Matemática-Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad de Buenos Aires

\* Miembro de la Carrera de Investigador del Consejo de Investigación en Salud, Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. \*\* Investigador Independiente del CONICET

### Resumen

La talla baja idiopática (TBI) incluye a un grupo heterogéneo de pacientes con fallas en su crecimiento. Una causa probable de TBI puede ser la insensibilidad a la GH (IGH). La proteína de unión de GH de alta afinidad (GHBP) se genera por el clivaje proteolítico de la porción extracelular del receptor de GH (GHR) y su determinación se propone como un marcador periférico del nivel de GHR en los tejidos. El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de GHBP circulantes y su asociación con factores de crecimiento y el polimorfismo del exón 3 del gen *GHR* en niños con TBI. Los niños con TBI presentaron talla, IMC, IGF-I, IGFBP-3, ALS y niveles de GHBP significativamente más bajos que un grupo de niños de edad comparable ( $p < 0.001$ ). El genotipo del exón 3 del *GHR* no fue un factor determinante de las diferencias observadas. La máxima respuesta de GH de los tests de estímulo de secreción correlacionó negativa y significativamente con los niveles de GHBP ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.012$ ). Los perfiles de distribución de la concentración de GHBP, IGF-I, ALS y BP3 expresadas en score de desvío estándar (SDE) en la TBI, mostraron un sesgo hacia

**Dirección Postal:** División de Endocrinología Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez Gallo 1360 Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CEF1425) Telefax: 4963-5931/4963-5930 int 132

**Correspondencia a:** mgballerini@cedie.org.ar

**Palabras clave:** GHBP, baja talla idiopática, Gen *GHR*, polimorfismo del exón 3, insensibilidad a la GH

**Key Words:** GHBP, Idiopathic short stature, *GHR* gene, Exon 3 polymorphism, GH insensitivity

niveles bajos. En conclusión, los marcadores de acción de GH y los niveles de GHBP fueron bajos en la TBI, independientemente del genotipo del exón 3 del gen *GHR*. En un subgrupo de niños con TBI, niveles disminuidos de GHBP y de componentes del sistema de los IGFs, colaborarían en la evaluación de la IGH sugiriendo la búsqueda de defectos en el GHR. **Rev Argent Endocrinol Metab 47: 03-12, 2010.** Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Summary

Idiopathic Short Stature (ISS) includes a heterogeneous group of children with growth failure. One possible explanation for the growth failure is a reduced responsiveness to growth hormone (GH). Human circulating GH is partially bound to a high-affinity binding protein (GHBP) which is derived from proteolytical cleavage of the extracellular domain of the GH receptor. Many reports have demonstrated a close relationship between GHBP and liver GH receptor status in physiological conditions and diseases. Moreover, serum GHBP measurement has been proposed as an useful peripheral index of GH receptor abundance. Our objective was the evaluation of serum GHBP levels and its probable association with serum growth factors (IGF-I, IGFBP-3 and ALS) and the exon 3 polymorphism of the extracellular domain of the *GHR* gene in ISS children. Children with ISS presented significantly lower height SDS, BMI SDS, serum components of the IGFs system and GHBP concentration as compared to an age-matched control group of normal children ( $p < 0.001$ ). Interestingly, exon 3 genotype did not influence the differences observed in these parameters. The maximal GH response obtained after two GH provocative tests inversely and significantly correlated to GHBP serum levels ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.012$ ). A frequency study showed a deviation to low SDS values of serum GHBP, IGF-I, IGFBP-3 and ALS. Conclusion: 1- in children with ISS the exon 3 genotype of the *GHR* gene is not a factor that could explain the lower levels observed in circulating GHBP concentration and components of the IGFs system; 2- low serum GHBP together with low IGF-I, IGFBP-3 or ALS levels would help pointing to GH insensitivity due to GH receptor gene abnormalities in ISS. **Rev Argent Endocrinol Metab 47: 03-12, 2010.**

No competing financial interests exist.

### Introducción

La talla baja en la infancia (talla a por lo menos 2 DE por debajo de la media normal) puede deberse a un amplio rango de condiciones tanto fisiológicas como patológicas: variaciones extremas de la normalidad o distintas patologías que pueden provocar alteraciones en el crecimiento. La mayor parte de ellas responde a causas no endocrinológicas, como insuficiencia renal, anemia, síndrome de mala absorción, enfermedades inflamatorias crónicas, desnutrición, retardo del crecimiento intrauterino, deprivación psicoafectiva, entre otras<sup>(1,2)</sup>. Entre las causas endocrinológicas figuran el Síndrome de Turner, el hipotiroidismo y la deficiencia clásica de hormona de crecimiento (DGH). El diagnóstico de DGH está bien definido<sup>(1,2)</sup>. Sin embargo, existe un grupo de pacientes en los que, habiéndose descartado las causas antes mencionadas, resulta

difícil establecer la etiología de su retardo de crecimiento<sup>(3-5)</sup>. A este grupo de pacientes se los considera afectados por una talla baja sin etiología específica (idiopática, TBI) y constituyen un problema clínico de consulta frecuente en pediatría<sup>(4)</sup>. En un subgrupo de pacientes con TBI, los niveles de IGF-I pueden ser anormalmente bajos en relación a niños normales de similar sexo, edad y desarrollo puberal. En nuestra experiencia, aproximadamente el 30% de los pacientes con TBI presentan niveles disminuidos de IGF-I<sup>(6)</sup>.

El rol fundamental del IGF-I en el crecimiento posnatal ha conducido recientemente al concepto de "Deficiencias Primarias y Secundarias de IGF-I"<sup>(5,7)</sup>. La deficiencia primaria severa de IGF-I incluye a un grupo de pacientes con resistencia o insensibilidad a la acción de GH<sup>(7)</sup>, y puede deberse a defectos en el gen que codifica para el receptor de GH (gen *GHR*)<sup>(8-11)</sup>, el gen de IGF-I<sup>(12,13)</sup>, alteraciones en los mecanismos de

transducción de señal del receptor de GH (GHR)<sup>(14-16)</sup> o defectos en el transporte de IGF-I y/o fallas en su depuración<sup>(17)</sup>. La deficiencia secundaria de IGF-I (que incluye la deficiencia clásica de GH), es consecuencia de una disminución de la síntesis, secreción o bioactividad de GH<sup>(18)</sup>.

El GHR constituye un regulador crítico del crecimiento en la vida post natal y el metabolismo<sup>(19,20)</sup>. En humanos, el *GHR* se encuentra anclado como dímero a la membrana celular y está constituido por un dominio intracitoplasmático (DIC), una porción transmembrana (DTM) y un dominio extracelular (DEC) de unión a la GH, estructuralmente idéntico a la proteína de transporte de alta afinidad de la hormona de crecimiento humana (GHBP)<sup>(20,21)</sup>. La región codificante para el DEC del gen *GHR* presenta un polimorfismo que genera dos isoformas con idéntica afinidad por la GH: una que retiene al exón 3: full-length (GHRfl), y una que lo pierde por delección genómica (GHRd3)<sup>(20,22)</sup>. Si bien se ha propuesto que el estudio de este genotipo permitiría predecir la respuesta al tratamiento con GH en sujetos deficitarios de GH<sup>(23)</sup>, aún no ha sido totalmente esclarecida su utilidad en pacientes con talla baja idiopática (TBI). En un estudio realizado en niños normales, la concentración de GHBP en suero fue significativamente mayor en los niños homocigota para el polimorfismo full-length del exón 3 del gen *GHR* que en los niños portadores de una o dos copias del alelo con la delección del mismo<sup>(24)</sup>. De acuerdo a nuestro conocimiento, aún no se ha evaluado la posible asociación del genotipo del exón 3 y los niveles de GHBP circulantes en pacientes con TBI.

Determinadas alteraciones en el gen *GHR*, generan una resistencia o insensibilidad total a la acción de la GH (IGH)<sup>(5,7)</sup>, que se encuentra definida y caracterizada a nivel molecular como Síndrome de Laron<sup>(25)</sup>. Estos pacientes presentan una disminución o ausencia de la expresión del *GHR* en el hígado, niveles séricos de GH elevados, de IGF-I muy disminuidos y la concentración en suero de GHBP es baja indicando la insensibilidad periférica a GH<sup>(7,25)</sup>.

Se ha descrito que alrededor del 5% de los niños con TBI podrían presentar formas parciales de insensibilidad a la GH asociadas a niveles de GHBP, IGF-I y/o IGFBP-3 disminuidos debido a alteraciones heterocigotas en el gen *GHR*<sup>(7,26)</sup>. Sin embargo, niveles

normales o aumentados de GHBP no descartan IGH debido a que existen alteraciones que afectan los DTM y DIC o bien se deben a defectos en las vías de transducción intracelular<sup>(9-11,14,15)</sup>.

Debido a la alta homología estructural que existe entre la GHBP y el GHR<sup>(20,27,28)</sup>, la determinación de GHBP podría servir como un marcador periférico del número de receptores de GH en los tejidos blanco. De esta manera podría permitir la identificación de pacientes con una disminución en su capacidad de respuesta a la GH por defecto parcial de su receptor y orientar hacia el estudio molecular del gen *GHR*.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de GHBP circulantes y su asociación con factores de crecimiento y el polimorfismo del exón 3 del gen *GHR* en niños con TBI.

## Sujetos

Se reclutaron 196 niños y adolescentes normales con edades comprendidas entre 5-17 años (90 varones: 106 mujeres). Se obtuvieron datos auxológicos, bioquímicos y genéticos. Fueron criterios de inclusión para el grupo de niños normales: estatura entre 3 y 97 percentilos, adecuación del peso para la talla entre 90-110%, examen físico normal.

Se estudiaron 90 niños y adolescentes con talla baja idiopática (66 varones: 24 mujeres) seleccionados por: talla por debajo de - 2.0 score de desvío estándar (SDE) según edad y sexo, utilizando tablas argentinas<sup>(29)</sup>; velocidad de crecimiento inferior al percentilo 10; adecuación del peso para la talla entre 90-110%, respuesta normal a 2 pruebas de estímulo de secreción de GH (secuencial: Arginina e.v. 0.5gr/kg-Clonidina oral 100 µgr/m<sup>2</sup>) potenciadas en niños mayores de 8 años de edad ósea, por la administración previa de estrógenos (Valerianato de estradiol micronizado, 1-2 mg/d por 3 días previos a la prueba)<sup>(30)</sup>. Se descartaron otras causas de talla baja: antecedentes de retardo de crecimiento intrauterino, peso al nacimiento de término menor de 2500 gr, enfermedad celíaca, patología crónica ósea, hematológica, renal y hepática, alteraciones cromosómicas, deficiencia tiroidea o adrenal, tumor del SNC y privación psicoafectiva.

Se obtuvo una muestra de sangre de todos los niños participantes en el estudio para determinaciones hormonales (insulina, GH, IGF-I, IGFBP-3, ALS y GHBP) y los estudios de biología molecular.

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación y el Comité de Bioética del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez de Buenos Aires. Se obtuvo consentimiento informado de todos los participantes.

### Métodos

Las concentraciones séricas de insulina y GH se determinaron por un método quimioluminiscente (ICMA, IMMULITE, Diagnostic Products Corp., Los Angeles, CA, USA). La determinación sérica de IGF-I se determinó mediante un RIA desarrollado (*in house* RIA), previa extracción de las proteínas transportadoras con alcohol-ácido y crioprecipitación<sup>(30,31)</sup>. La concentración de IGFBP-3 se determinó mediante un ensayo de IRMA (Diagnostic System Laboratories, Inc., Texas, USA) y la concentración de ALS se determinó utilizando un RIA (Bioclone, Australia). La concentración de GHBP se determinó mediante un método inmunofuncional con señal de detección fluorométrica modificado de Fisker y colaboradores<sup>(32,33)</sup>. Brevemente, el método tiene por principio la saturación con GH de la GHBP presente en el suero a analizar, formando complejos que serán capturados por un anticuerpo anti-GH inmovilizado a la superficie sólida. El complejo formado es luego reconocido por un segundo anticuerpo monoclonal marcado con quelato de europio con especificidad anti-GHBP. La fluorescencia resulta directamente proporcional a la cantidad de GHBP inmunofuncional en la muestra<sup>(33)</sup>.

Se realizó la amplificación del exón 3 por PCR multiplex, utilizando primers específicos que permiten la amplificación de una banda de 935 pb para los individuos homocigotos portadores de la forma GHRfl del gen *GHR* (presencia del exón 3), una banda de 532 pb para los individuos homocigotos para el polimorfismo GHRd3 del gen *GHR* (ausencia del exón 3) y dos bandas de 935 y 532 pb para los individuos heterocigotos (GHRfl/d3)<sup>(34)</sup>. De acuerdo al genotipo, los niños se clasificaron como grupo GHRfl: portadores homocigotos de la

forma completa del GHR, grupo GHRd3: portadores de una (heterocigotos) o dos copias (homocigotos) de la isoforma con la delección.

### Análisis estadístico

El test de Levene se utilizó para verificar la homogeneidad de varianza. Se testeó la normalidad de las variables utilizando el test de Shapiro-Wilk. La concentración de GHBP e IGF-I se normalizó previa transformación logarítmica. Los resultados de IGF-I, IGFBP-3, ALS y de GHBP se expresan en SDE. Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (grupo: normales y TBI; polimorfismo del exón 3 del gen *GHR*: GHRfl y GHRd3) para evaluar las posibles diferencias en los parámetros auxológicos y bioquímicos entre los dos grupos de niños en relación al polimorfismo del exón 3 del gen *GHR*. Se introdujeron como covariables el IMC y la concentración de insulina expresadas en SDE. Se utilizó también el análisis de correlación de Spearman.

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa GraphPad Prism, Versión 4.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA. [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)) y el programa INFOSTAT ([www.InfoStat.com.ar](http://www.InfoStat.com.ar))

### Resultados

La tabla I detalla las características auxológicas y bioquímicas de los niños normales y con TBI en relación al genotipo del exón 3 del gen *GHR*. Los niños con TBI presentaron talla e índice de masa corporal expresados en SDE significativamente menores que los niños normales. En forma similar, los marcadores bioquímicos de acción de GH (IGF-I, IGFBP-3 y ALS) fueron también significativamente más bajos en la TBI. Cuando se analizó el impacto del genotipo del exón 3 del *GHR* en estos hallazgos, se constató que el mismo no fue un factor determinante de las diferencias observadas, tampoco influyó sobre la máxima capacidad de respuesta al test de estímulo de GH (GH máxima) realizado en los niños con TBI.

Cuando se analizó la variación de la concentración de GHBP en relación a los grupos de niños normales y con TBI, y el efecto del polimorfismo del exón 3 del *GHR*, se observó que

Datos auxológicos y bioquímicos expresados como media±DE de los niños normales y con talla baja idiopática (TBI) en relación al polimorfismo del exón 3 del gen *GHR*.

**Tabla I**

	GHRfl		GHRd3		ANOVA
	Normales	TBI	Normales	TBI	
n	115	55	81	35	p
Edad (años)	11.21 ± 3.28	9.92 ± 3.61	10.51 ± 3.22	8.50 ± 3.70	< 0.001
SDE Talla	0.37 ± 1.06	-2.90 ± 0.57*	0.09 ± 1.07	-2.84 ± 0.54*	< 0.0001
SDE IMC	0.33 ± 0.81	-0.58 ± 1.07*	0.16 ± 0.86	-0.71 ± 1.39*	< 0.0001
GH máxima (ng/ml)		15.00 ± 7.76		18.42 ± 10.11	NS
SDE IGF-I	0.02 ± 0.98	-1.48 ± 1.40*	0.00 ± 0.98	-1.41 ± 1.36*	< 0.0001
SDE IGFBP3	0.04 ± 1.03	-0.92 ± 1.50*	-0.05 ± 0.93	-0.80 ± 1.06*	< 0.0001
SDE ALS	-0.02 ± 0.95	-1.38 ± 1.65*	0.04 ± 1.05	-1.33 ± 1.34*	< 0.0001
SDE Insulina	0.01 ± 0.97	0.12 ± 1.90	0.01 ± 1.03	0.57 ± 2.03	NS

Grupo GHRfl: portadores homocigotos de la forma completa del GHR

Grupo GHRd3: portadores de una (heterocigotos) o dos copias (homocigotos) del genotipo con la delección del exón 3.

\* p<0.001 TBI vs normales para un mismo genotipo.

el SDE IMC y el SDE Insulina no se asociaron en forma estadísticamente significativa y debido a esto, estas variables fueron eliminadas del modelo.

El grupo de niños con TBI mostró niveles de GHBP expresadas en SDE significativamente menores que el grupo control (TBI:  $-0.37 \pm 1.13$  vs Normales:  $-0.01 \pm 1.02$ ,  $p=0.016$ ), figura 1A. El genotipo del polimorfismo del exón 3 del gen *GHR* no influyó en las diferencias observadas en la concentración de GHBP de los grupos de niños estudiados ( $p=0.285$ ), figura 1B. Por otro lado, la máxima respuesta de GH obtenida en el test de estímulo de secreción correlacionó en forma negativa y estadísticamente significativa con los niveles de GHBP inferiores de 1 SDE ( $r= -0.28$ ,  $p=0.012$ ), figura 2. No se encontró asociación significativa entre la concentración de GHBP con otros parámetros auxológicos y bioquímicos del crecimiento (SDE Talla,  $p=0.388$ ; SDE IGF-I,  $p=0.617$ ; SDE IGFBP3,  $p=0.943$ ; SDE ALS,  $p=0.793$ ).

En la figura 3 se presentan los perfiles de

distribución de los niveles de GHBP (panel A), IGF-I (panel B), ALS (panel C) e IGFBP-3 (panel D) en los niños con TBI. Todos los marcadores bioquímicos mencionados presentaron corrimiento de su distribución hacia la izquierda, es decir, hacia SDE menores. Por otro lado, un total de 18 niños del grupo TBI presentó niveles de GHBP por debajo de  $-1.5$  SDE (20%). En ellos, se pudo determinar (en un 88.9 % de los casos) la existencia de, al menos, un marcador bioquímico de acción de GH por debajo de  $-2.0$  SDE. El 22.2 % y 16.7% de los niños presentó 2 y 3 parámetros GH dependientes por debajo de  $-2.0$  SDE, respectivamente. La frecuencia de alteración de los diferentes componentes del sistema circulante de los IGFs con niveles menores de  $-2.0$  SDE fue: 44.4% (IGF-I), 27.8% (ALS) y 22.2% (BP3).

## Discusión

La talla baja idiopática es una entidad heterogénea y causa frecuente de consulta en

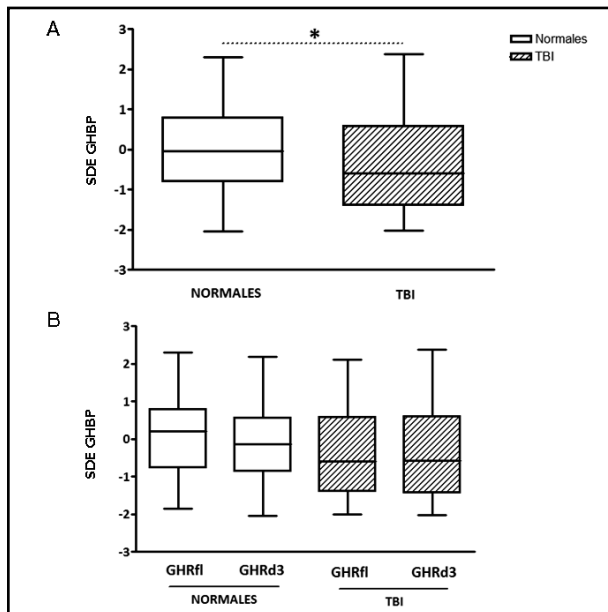


Figura 1. Niveles séricos de GHBP expresados en score de desvío estándar (SDE GHBP) en niños normales (caja abierta) y niños con TBI (caja sombreada) como grupo (Panel A) y en relación al polimorfismo del exón 3 del gen *GHR* (Panel B). GHRfl: portadores homocigotos de la forma completa del *GHR*, grupo GHRd3: portadores de una (heterocigotos) o dos copias (homocigotos) del genotipo con la delección del exón 3. La caja representa los percentilos 25 y 75 y la línea horizontal la mediana; los bigotes superior e inferior representan el rango. \*  $p < 0.05$

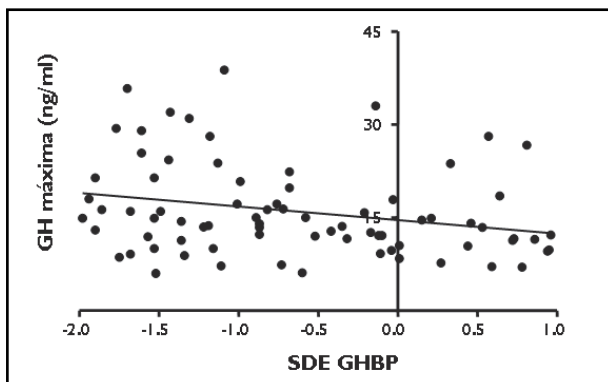


Figura 2. Estudio de correlación de Spearman y curva de regresión lineal de la concentración de GHBP expresada en score de desvío estándar (SDE GHBP) con la máxima respuesta de GH al test de estímulo de secreción en niños con TBI ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.012$ ).

endocrinología pediátrica<sup>(1-4)</sup>. El presente trabajo demuestra que en niños con TBI, las medias de los marcadores de acción de GH (IGF-I, IGFBP-3 y ALS) y de los niveles de GHBP fueron significativamente más bajas que las de los niños normales, independientemente del genotipo del exón 3 del gen *GHR*.

Coincidiendo con los hallazgos del presente trabajo, Carlsson y col.<sup>(35)</sup> utilizando un método para la determinación sérica de GHBP de diseño similar al desarrollado y optimizado en nuestro laboratorio<sup>(33)</sup>, observaron valores disminuidos de GHBP en niños con TBI en relación a un grupo de niños con talla normal. Wudy y colaboradores, también demostraron que los niños con TBI presentan una disminución en el IMC<sup>(36)</sup>. El presente estudio evaluó la asociación de la concentración de GHBP con: a) otros componentes del sistema circulante de IGFs, b) el índice de masa corporal, c) la concentración de insulina y d) el polimorfismo del exón 3 del gen *GHR*. En estudios previos en niños y adolescentes normales, hemos verificado la conocida asociación directa y significativa de los niveles de GHBP con el IMC, la concentración sérica de insulina y los índices de insulino-sensibilidad<sup>(24)</sup>. Además demostramos que el genotipo del exón 3 del gen *GHR* se asociaba a cambios en la concentración de GHBP en niños normales de la misma cohorte estudiada en este trabajo<sup>(24)</sup>. Sin embargo, en el presente estudio, la disminución de los niveles de GHBP en la TBI no se pudo explicar por diferencias en la composición corporal, en la concentración de insulina, ni por el polimorfismo del exón 3 del gen *GHR*. El genotipo del exón 3 del gen *GHR* ha sido el primer factor genético que demostró modular la respuesta individual al tratamiento con hormona de crecimiento<sup>(23)</sup>. Nosotros no pudimos demostrar que la presencia o ausencia del exón 3 del gen *GHR* se asocia a las diferencias observadas en los parámetros auxológicos y bioquímicos entre los niños normales y con TBI, y en particular, no se observó que se asociara a los diferentes niveles de GHBP en ambos grupos. Bognères en una editorial reciente, le confiere al polimorfismo del exón 3 del gen un impacto limitado en la clínica endocrinológica,

y discute sobre el uso del genotipo del exón 3 para individualizar decisiones terapéuticas o predicción de resultados en el paciente tratado con hormona de crecimiento<sup>(37)</sup>.

Por otro lado, los marcadores bioquímicos de acción de GH, en forma similar a lo observado con la concentración de GHBP en los niños con TBI, presentaron un sesgo hacia valores bajos. Es interesante señalar que la frecuencia de alteración en los diferentes componentes resultó similar a su grado de dependencia de GH (IGF-I > ALS > IGFBP-3). Los niveles significativamente disminuidos de los componentes del sistema de IGFs (IGF-I, ALS, IGFBP-3) y de GHBP, y la asociación inversa entre los niveles de esta proteína y la máxima respuesta de GH obtenida en el test de estímulo en los niños con TBI, sugieren que algunos de estos pacientes podrían presentar formas menos severas de deficiencia primaria de IGF-I. Es posible que un subgrupo de pacientes con

TBI, sean portadores de mutaciones inactivantes heterocigotas o mutaciones homocigotas menos deletéreas en el gen *GHR*<sup>(5,7)</sup>. Por lo tanto, al igual que otros autores<sup>(27,35,38,39)</sup>, proponemos la determinación de la concentración de GHBP como marcador bioquímico periférico del nivel del *GHR* en los tejidos blanco. Esta medición sería una herramienta útil en la identificación de pacientes con probable insensibilidad y podría orientar hacia el estudio molecular del gen *GHR*. Cabe destacar que si bien un resultado disminuido de GHBP puede servir como un marcador periférico de insensibilidad por mutaciones en el dominio extracelular del *GHR*, el hallazgo de niveles normales o elevados no descarta el diagnóstico de insensibilidad, ya sea debida a problemas en los otros dominios del receptor o en la cadena intracelular de transmisión de la señal de GH<sup>(9-16)</sup>. El test de generación de IGF-I, evaluando la respuesta de marcadores de acción de GH,

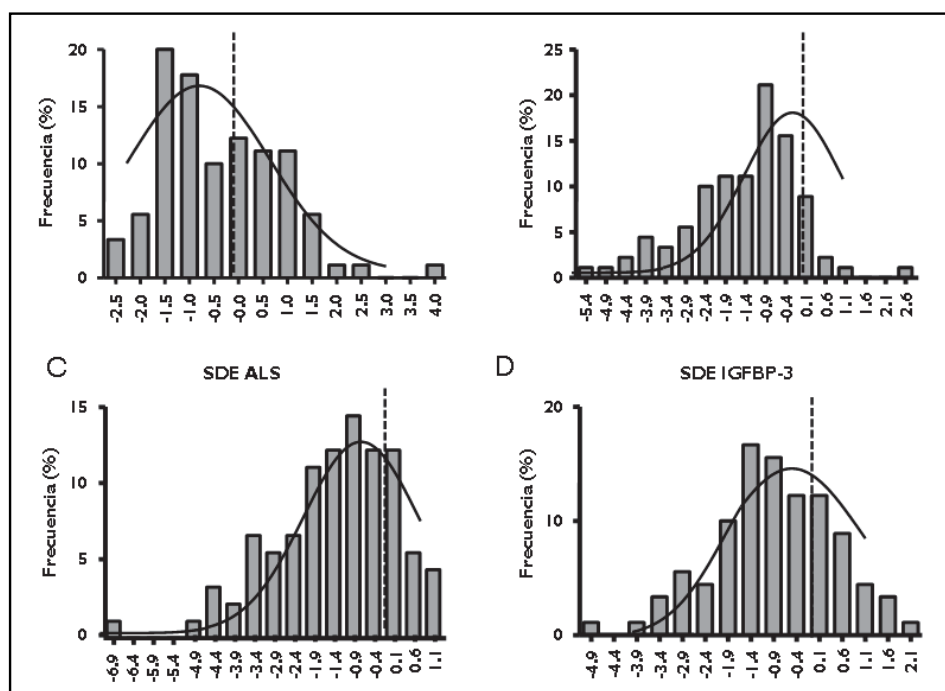


Figura 3. Perfil de frecuencia de la concentración de GHBP (panel A), IGF-I (panel B), ALS (panel C), e IGFBP-3 (panel D), expresada en score de desvío estándar (SDE) en niños con TBI. La línea punteada indica el valor cero de SDE.

es habitualmente empleado en el estudio de la insensibilidad a la hormona de crecimiento<sup>(7)</sup>. Sin embargo, debido a su pobre reproducibilidad<sup>(40)</sup> y a que algunos niños con TBI pueden responder satisfactoriamente al mismo<sup>(41)</sup>, se hace dificultosa su interpretación, limitándose su valor diagnóstico a la insensibilidad severa<sup>(25)</sup>. Por estas razones, establecer la utilidad de otros marcadores bioquímicos que puedan sugerir una insensibilidad parcial a la acción de GH es de sumo interés, especialmente si se trata de un marcador periférico de sencilla implementación como la determinación de GHBP.

En resumen, aún permanecen muchos interrogantes con respecto al diagnóstico etiológico en la mayoría de los niños con talla baja idiopática<sup>(5,7)</sup>. El empleo de la genética molecular ha permitido avanzar en el diagnóstico endocrinológico final y en muchos casos acortar el circuito desde el proceso tradicional de evaluación clínica hasta el diagnóstico definitivo<sup>(7,42)</sup>. Conocer el diagnóstico es fundamental desde el punto de vista terapéutico<sup>(43)</sup>. En nuestra experiencia la determinación de los niveles de GHBP, en asociación con los niveles de factores de crecimiento, permitiría orientar hacia el diagnóstico de insensibilidad parcial a la acción de GH en un subgrupo de pacientes con talla baja de causa no determinada.

#### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a los técnicos Ana María Montese, Silvina Gonzalez, Mónica Campos y Perla Rossano, por su colaboración en la realización de las determinaciones hormonales. Además agradecen la colaboración del equipo de salud de la División de Endocrinología y el Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE) del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez. También desean agradecer a la bibliotecaria del CEDIE, Lic. Susana Mancini, por su colaboración en la búsqueda de material bibliográfico.

Este trabajo recibió el premio Sara Chiochio en el XVI Congreso de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo, año 2009.

Parte de los resultados expuestos en el presente manuscrito fueron realizados con subsidios otorgados por Pfizer Global Pharmaceutical y por FONCYT/SECYT (PICT/2003 N° 05-14354).

#### Bibliografía

- 1 **Martinez AS, Coianis L, Heinrich JJ, Rodríguez A, Bergada C.** Evaluation of short stature in children. *Helv Pediatr Acta* 37: 536, 1982.
- 2 **Cassorla F, Gaete X.** Clasificación y valoración de la talla baja. En: *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. Eds. M Pombo Arias y colaboradores. McGraw-Hill / Interamericana. Tercera Edición, Madrid, España. p272, 2002
- 3 **Ciaccio M, Rivarola M, Belgorosky A.** Talla baja idiopática. En: *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. Eds. M Pombo Arias y colaboradores. McGraw-Hill / Interamericana. Tercera Edición, Madrid, España. p283, 2002.
- 4 **Cohen P, Rogol AD, Deal CL, Saenger P, Reiter EO, Ross JL, Chernausk SD, Savage MO, Wit JM;** 2007 ISS Consensus Workshop participants. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4210-4217, 2008
- 5 **Savage MO, Burren CP, Rosenfeld RG.** The continuum of growth hormone-IGF-I axis defects causing short stature: diagnostic and therapeutic challenges. *Clin Endocrinol (Oxf)*, "Accepted article", doi: 10.1111/j.1365-2265.2009.03775.x
- 6 **Scaglia P, Domené H, Gutiérrez M, Martínez A, Ropelato G, Pipman V, Bengolea S, Keselman A, Bedecarrás P, Ballerini G, Karabatas L, Arcos-Burgos M, Heinrich J, Jasper H.** Polymorphisms in GHR and IGF3 genes: Effect on IGF3 levels and height in normal (N) and idiopathic short stature (ISS) children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 19, (Supp 3): 1062, 2006.
- 7 **Savage MO, Attie KM, David A, Metherell LA, Clark AJ, Camacho-Hübner C.** Endocrine assessment, molecular characterization and treatment of growth hormone insensitivity disorders. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2: 395-407, 2006
- 8 **Goddard AD, Covello R, Luoh SM, Clackson T, Attie KM, Gesundheit N, Rundle AC, Wells JA, Carlsson LM.** Mutations of the growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. *The*

- Growth Hormone Insensitivity Study Group. *N Engl J Med* 333:1093-1098, 1995
- 9 **Maamra M, Milward A, Esfahani HZ, Abbott LP, Metherell LA, Savage MO, Clark AJ, Ross RJ.** A 36 residues insertion in the dimerization domain of the growth hormone receptor results in defective trafficking rather than impaired signaling. *J Endocrinol* 188:2512-61, 2006
  - 10 **Aalbers AM, Chin D, Pratt KL, Little BM, Frank SJ, Hwa V, Rosenfeld RG.** Extreme elevation of serum growth hormone-binding protein concentrations resulting from a novel heterozygous splice site mutation of the growth hormone receptor gene. *Horm Res* 71:276-84, 2009
  - 11 **Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Takahashi MO, Okimura Y, Nose O, Abe H, Chihara K.** Functional characterization of truncated growth hormone (GH) receptor-(1-277) causing partial GH insensitivity syndrome with high GH-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1011-1016, 1999
  - 12 **Woods KA, Camacho-Hübner C, Savage MO, Clark AJ.** Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *N Engl J Med* 335:1363-1367, 1996
  - 13 **Walenkamp MJ, Karperien M, Pereira AM, Hilhorst-Hofstee Y, van Doorn J, Chen JW, Mohan S, Denley A, Forbes B, van Duyvenvoorde HA, van Thiel SW, Sluimers CA, Bax JJ, de Laat JA, Breuning MB, Romijn JA, Wit JM.** Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 90:2855-64, 2005
  - 14 **Rosenfeld RG, Kofoed E, Little B, Woods K, Buckway C, Pratt K, Hwa V.** Growth hormone insensitivity resulting from post-GH receptor defects. *Growth Horm IGF Res* 14:35-38, 2004
  - 15 **Kofoed EM, Hwa V, Little B, Woods KA, Buckway CK, Tsubaki J, Pratt KL, Bezrodnik L, Jasper H, Tepper A, Heinrich JJ, Rosenfeld RG.** Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. *N Engl J Med* 18;349:1139-1147, 2003
  - 16 **Martinez A, Scaglia P, Rivas M, Bezrodnik L, Gaillard M, Heinrich J, Ballerini MG, Jasper H, Domené H.** Novel Stat5b gene mutation in a patient presenting GH insensitivity and immunodeficiency. *Horm Res* 68 (suppl 1), P33, 2007.
  - 17 **Domené HM, Bengolea SV, Martínez AS, Ropelato MG, Pennisi P, Scaglia P, Heinrich JJ, Jasper HG.** Deficiency of the circulating insulin-like growth factor system associated with inactivation of the acid-labile subunit gene. *N Engl J Med* 350:570-577, 2004
  - 18 **Besson A, Salemi S, Deladoëy J, Vuissoz JM, Eblé A, Bidlingmaier M, Bürgi S, Honegger U, Flück C, Mullis PE.** Short stature caused by a biologically inactive mutant growth hormone (GH-C53S). *J Clin Endocrinol Metab* 90:2493-2499, 2005
  - 19 **Bougnères P and Goffin V.** The growth hormone receptor in growth. *Endocrinol Metab Clin N Am* 36: 1-16, 2007
  - 20 **Ballerini MG, Ropelato MG.** El receptor de la hormona de crecimiento humana (hGH) y la proteína de transporte de alta afinidad de la hGH. *Rev Argent Endocrinol Metab* 45: 28-46, 2008.
  - 21 **Baumann G; Amburn K; Shaw MA.** The circulating growth hormone (GH)-binding protein complex: a mayor constituent of plasma GH in man. *Endocrinology* 122:976-984, 1988
  - 22 **Zogopoulos, G.; Figueiredo, A.; Jenab, Z. Ali Z, Lefebvre Y, Goodyer CG.** Expression of the exon 3-retaining and -deleted human growth hormone receptor messenger ribonucleic acid isoforms during development. *J Clin Endocrinol Metab* 84:1011-1016, 1999.
  - 23 **Jorge AA, Arnhold IJ.** Growth hormone receptor exon 3 isoforms and their implication in growth disorders and treatment. *Horm Res* 71: 55-63, 2009
  - 24 **Ballerini MG, Scaglia P, Domene H, Ropelato MG, Martinez A, Pipman V, Bengolea S, Karabatas L, Bedecarrás P, Heinrich J, Jasper H.** Growth hormone binding protein (GHBP) serum levels are associated to GH receptor exon 3 polymorphism in normal children. *Horm Res* 68(suppl 4); P2-3, 2007.
  - 25 **Laron Z.** Laron syndrome (primary growth

- hormone resistance or insensitivity): the personal experience 1958-2003. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 1031-1044, 2004.
- 26 **Attie KM.** Genetic studies in idiopathic short stature. *Curr Opin Pediatr* 12:400-404, 2000.
- 27 **Sotiropoulos A; Goujon L; Simonin G. y col.** Evidence for generation of the growth hormone binding protein through proteolysis of the growth hormone membrane receptor. *Endocrinol* 132: 1863-1865, 1993
- 28 **Baumann G.** Growth hormone binding protein 2001. *J Pediatric Endocrinol Metab* 14: 355-375, 2001
- 29 **Lejarraga H, Orfila G.** 1987. Estándares de peso y estatura para niñas y niños argentinos desde el nacimiento hasta la madurez. *Arch Arg Pediatr* 85:209-222.
- 30 **Martínez AS, Domené HM, Ropelato MG, Jasper HG, Pennisi PA, Escobar ME, Heinrich JJ.** Estrogen priming effect on growth hormone (GH) provocative test: A useful tool for the diagnosis of GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.*; 85:4168-4172, 2000.
- 31 **Jasper H, Scaglia P, Domené H, Pipman V, Bengolea S, Bedecarrás P, Karabatas L, Fernandez D, Martinez A, Keselman A, Ropelato MG, Ballerini MG, Heinrich JJ.** "In vitro" ternary complex formation (TCF) in short stature patients (SS). *Horm Res* 68(suppl 4) 2007, 15
- 32 **Fisker S, Frystyk J, Skriver L, Vestbo E, Ho KK, Orskov H.** A simple, rapid immunometric assay for determination of functional and growth hormone-occupied growth hormone-binding protein in human serum. *Eur J Clin Invest* 26:779-85, 1996
- 33 **Ballerini MG, Ropelato MG, Domené H, Pennisi P, Heinrich JJ, Jasper HG.** Differential impact of simple childhood obesity on the components of the growth hormone-insulin like growth factor (IGF), IGF binding protein axis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 17:749-757, 2004.
- 34 **Pantel J, Machinis K, Sobrier ML, Duquesnoy P, Goossens M, Amselem S.** Species-specific alternative splice mimicry at the growth hormone receptor locus revealed by the lineage of retroelements during primate evolution. *J Biol Chem* 275:18664-18669, 2000
- 35 **Carlsson LM, Attie KM, Compton PG, Vitacol RV, Merimee TJ.** Reduced concentration of serum growth hormone binding protein in children with idiopathic short stature. National Cooperative Growth Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 78: 1325-1330, 1994
- 36 **Wudy SA, Hagemann S, Dempfle A, Ringler G, Blum WF, Berthold LD, Alzen G, Gortner L, Hebebrand J.** Children with idiopathic short stature are poor eaters and have decreased body mass index. *Pediatrics* 116:52-57, 2005
- 37 **Bougnères P.** The exon-3 deletion of the growth hormone receptor (GHR) gene still has a limited impact in clinical endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 95:56-59, 2010
- 38 **Attie KM; Julius JR; Stoppani C. y col.** National Cooperative Growth Study substudy VI: the clinical utility of growth-hormone-binding protein, Insulin-like growth factor I, and insulin-like growth factor-binding protein 3 measurements. *J Pediatr* 131: S56-60, 1997
- 39 **Fisker S.** Physiology and pathophysiology of growth hormone-binding protein: methodological and clinical aspects. *Growth hormone & IGF research* 16: 1-28, 2006
- 40 **Jorge AA, Souza SC, Arnhold IJ, Mendonca BB.** Poor reproducibility of IGF-I and IGF binding protein-3 generation test in children with short stature and normal coding region of the GH receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 87:469-472, 2002
- 41 **Blair JC, Camacho-Hübner C, Miraki Moud F, Rosberg S, Burren C, Lim S, Clayton PE, Bjarnason R, Albertsson-Wikland K, Savage MO.** Standard and low-dose IGF-I generation tests and spontaneous growth hormone secretion in children with idiopathic short stature. *Clin Endocrinol (Oxf)* 60:163-168, 2004
- 42 **Savage MO, Camacho-Hübner C, David A, Metherell LA, Hwa V, Rosenfeld RG, Clark AJ.** Idiopathic short stature: will genetics influence the choice between GH and IGF-I therapy? *Eur J Endocrinol* 157 Suppl 1:33-37, 2007
- 43 **Wit J, Reiter E, Ross J, Saenger P, Savage M, Rogol A, Cohen P.** Idiopathic short stature: management and growth hormone treatment. *Growth Hormone & IGF Research* 18: 111-135, 2008