

REVISIÓN

Consecuencias endocrinas y metabólicas de la deficiencia de la subunidad ácidolabil del complejo circulante de los factores de crecimiento insulino-símiles.

Endocrine and metabolic consequences in the deficiency of the acid-labile subunit of the insulin-like growth factor-binding protein complex.

Domené, H. M. ¹; Bengolea, V.S. ²; Jasper, H.G. ¹

¹ Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE/CONICET) y División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Gallo 1330 y ² División de Pediatría, Hospital J. A. Fernández, Cerviño 3356, (1425) Buenos Aires, Argentina.
Tel.: 4963-5931, Fax: 4963-5930, E-mail: hdomene@cedie.org.ar

Resumen

Los factores de crecimiento insulinosímiles (IGF-I y II), son polipéptidos que desempeñan un rol importante en el crecimiento y el metabolismo. Son producidos en múltiples tejidos y ejercen sus efectos en forma local (acción autocrina/paracrina) o a distancia (acción endocrina). Circulan formando complejos con proteínas transportadoras (IGFBPs). Éstas incrementan la vida media de los IGFs y modulan su biodisponibilidad. Alrededor del 80-90 % de los IGFs se encuentra en un complejo ternario de aproximadamente 150 kDa formado por IGF-I o II, IGFBP-3 ó -5 y una glicoproteína de aproximadamente 85 kDa conocida como subunidad ácidolabil (ALS). El desarrollo de un modelo animal con ausencia de ALS (ratón ALS-KO) y más recientemente la descripción del primer paciente con deficiencia completa de ALS, han contribuido a caracterizar las consecuencias hormonales y metabólicas de su deficiencia.

En un paciente con retraso del crecimiento y la pubertad, se encontró una respuesta normal de GH a pruebas de estímulo (GH máxima 31.0 ng/ml) con niveles circulantes muy disminuidos de IGF-I (31 ng/ml; -5.3 DE) é IGFBP-3 (0.22 µg/ml; -9.7 DE). Los niveles de ALS fueron no detectables (< 1 mg/L) y no se observó la formación de complejos ternarios. Se caracterizó una mutación en homocigosis en el gen IGFALS (1338delG, E35fsX120) que predice la formación de una proteína truncada.

A la edad de 20 años presentó un desarrollo puberal completo, con un empuje del crecimiento normal de 8.3 cm/año, alcanzando una talla final normal de 166.4 cm, (-0.94 DE). Se constató insulinoresistencia y osteopenia.

La asociación de retraso del crecimiento con niveles normales o aumentados de GH y niveles extremada-

Dirección Postal: CEDIE, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Gallo 1330, (1425) Buenos Aires, Argentina.

Palabras clave: subunidad ácido labil, crecimiento, factores de crecimiento, IGF-I, proteínas transportadora de los IGFs.

Key words: acid-labile subunit, growth, growth factors, IGF-I, IGFBPs.

Recibido: octubre 2005

Aprobado: octubre 2005

mente disminuidos de IGF-I e IGFBP-3, son característicos de la insensibilidad a la GH, o de la presencia de una GH biológicamente inactiva. Sin embargo, la inestabilidad del IGF-I circulante por deficiencia de ALS emerge como un diagnóstico alternativo.

El hallazgo, en el paciente con deficiencia de ALS, de talla normal con niveles marcadamente disminuidos de IGF-I (total, libre y bioactivo) sugiere un rol preponderante del IGF-I producido localmente en el crecimiento lineal. El retardo puberal, la insulinoresistencia y la osteopenia, podrían ser indicadores del requerimiento del IGF-I circulante para el inicio de la pubertad a edad adecuada, la acción normal de la insulina y la adquisición de una masa ósea normal.

(Rev Argent Endocrinol Metab 42:157-166, 2005)

Abstract

Insulin-like growth factor (IGF)-I and II are stimulators of cell growth and differentiation. They are synthesized by many tissues and cell types during fetal and postnatal life. They are capable of endocrine actions as shown by increasing plasma concentration after birth. Insulin-like growth factor (IGF)-I and II (IGFs) form complexes with specific binding proteins (IGFBP-1 to -6). These complexes are referred to as binary complexes consisting of IGF-I or IGF-II and one IGFBP, or as ternary complexes consisting of one molecule each of IGF-I or IGF-II, IGFBP-3 or -5, and an acid-labile subunit known as ALS. Binary and ternary complexes contain respectively 10-15% and 80-90% of total plasma IGFs, leaving 1% or less of plasma IGFs in free form. Free IGF-I has a half-life of approximately 10 minutes in plasma, which is extended to 30-90 min when in binary complexes, and to more than 12 hours when in ternary complexes. Ternary complex formation restricts the IGFs to the circulation and prolongs their half-life. ALS is mainly produced in the liver under the control of GH stimulation. Recently, the development of an animal model for ALS deficiency (the ALS-KO mouse) and the identification of a patient with an inactivating mutation in the *IGFALS* gene, have provided the opportunity to assess the physiological role of this protein, and to characterize the endocrine and metabolic consequences of its deficiency.

In a patient with delay of growth and pubertal development (Height: 145.2 cm; 2.05 SDS below the mean; Tanner stage I for both sexual development and pubic hair) we have found normal GH-stimulated levels (maximal GH 31.0 ng/ml) with marked reduction of IGF-I (31 ng/ml; -5.3 SDS) and IGFBP-3 (0.22 µg/ml; -9.7 SDS) plasma concentrations. Normal or increased GH levels, associated to reduced levels of IGF-I, are characteristic of GH insensitivity or biological inactive GH. However, in these conditions the magnitude of the growth-factor deficiency usually correlates with the severity of growth impairment. After six month of treatment with GH (0.17 mg/kg body weight), there was no effect on either the growth velocity or the serum levels of IGF-I and IGFBP-3. We hypothesized that the deficiency of IGF-I and IGFBP-3, observed in this patient, could be related to their instability in the circulation. The finding of undetectable levels of ALS steered the investigation to the *IGFALS* gene. The patient resulted homozygous for the frame-shift mutation 1338delG, E35fsX120 in the *IGFALS* gene, which encodes a truncated and probably inactive protein. The lack of immuno and functional ALS was assessed by means of Western immunoblot and ternary complex formation by size-exclusion chromatography.

The follow up to the age of 20 years, has shown that the patient attained a complete pubertal development, a normal growth spurt of 8.3 cm/year, and a normal near final height of 166.4 cm (-0.94 SDS).

The patient also presented insulin-resistance (glucose 100 mg/dl; insulin 32 µUI/ml; HOMA index 7.9), and osteopenia, even after he completed pubertal development (BMD at lumbar spine Z score -2.1 SDS at 19 years of age).

The original somatomedin hypothesis proposed that the growth-promoting actions of GH are mediated through the circulating liver-generated IGF-I. Recently, the role of circulating IGF-I in growth has been challenged by the finding that specific disruption of the hepatic *igf1* gene in mouse, the main source of circulating IGF-I, or the inactivation of the gene encoding the ALS (*igfals*) in mice, has a minor effect on growth, despite causing a profound reduction in serum IGF-I. The complete deficiency of the acid-labile subunit, caused by an inactivating mutation in the *IGFALS* gene, represents a unique condition in which the inability of ternary complex forma-

tion, produces a marked reduction of circulating IGF-I, with presumably no effects on locally produced IGF-I. The finding that normal circulating IGF-I is not essential to attain a normal final height, suggest that normal growth could be sustained by local production of IGF-I.

Pubertal delay, insulin-resistance, and osteopenia may all result as a consequence of the reduction of serum IGF-I levels, indicating that circulating IGF-I plays an important role in the timing of the onset of puberty, and is required for a normal insulin action, and for the acquisition of a normal bone mass.

(Rev Argent Endocrinol Metab 42:157-166, 2005)

Introducción

Los factores de crecimiento insulinosímiles, conocidos por sus siglas en inglés como IGFs (insulin-like growth factors) I y II, son polipéptidos que desempeñan un importante rol en el crecimiento y el metabolismo ⁽¹⁾. Los IGFs son producidos en múltiples tejidos ⁽²⁾ y ejercen sus efectos actuando sobre receptores específicos de membrana (IGF-receptor) ⁽³⁾, ya sea en forma local (acción autocrina/paracrina) ⁽⁴⁾ o a distancia (acción endocrina) ⁽⁵⁾. En el plasma y otros fluidos biológicos se encuentran formando complejos con proteínas transportadoras (IGFBPs), de las que se han descrito 6 diferentes (IGFBP-1 a -6) ⁽⁶⁾. Estas proteínas incrementan la vida media de los IGFs y modulan su biodisponibilidad a los tejidos blanco. Alrededor del 80-90 % de los IGFs se encuentran en la circulación, en un complejo ternario de aproximadamente 150 kDa formado por IGF-I o II, IGFBP-3 ó -5 y una glicoproteína de aproximadamente 85 kDa conocida como subunidad ácidolabil (ALS) ⁽⁷⁾. Del 10-15% de los IGFs circulan como complejos binarios asociados mayoritariamente a IGFBP-1, -2, y -4, y sólo el 1 % o menos circula en forma libre. La vida media del IGF-I libre en la circulación es de aproximadamente 10 minutos, aumenta hasta 30-90 minutos en los complejos binarios y a más de 12 horas en los complejos ternarios ⁽⁸⁾. Tanto el IGF-I libre como el presente en los complejos binarios pueden atravesar el endotelio vascular, llegando a los tejidos. La formación de complejos ternarios es importante para mantener un reservorio de IGF-I en la circulación. De esta forma se modularía su acción endocrina, restringiendo su pasaje vascular y evitando la acción de proteasas, prolongando así su vida media y evitando al mismo tiempo sus efectos hipoglucemiantes ⁽⁹⁾. La producción de ALS es predominantemente hepática, aunque se han reportado bajos niveles de expresión en músculo, ri-

ñón, pulmón, bazo, timo, glándula mamaria, ovario y útero ^(10, 11). Su síntesis, al igual que la de IGF-I e IGFBP-3, se encuentra bajo la acción estimuladora de la hormona de crecimiento (GH). Los niveles circulantes de ALS son bajos durante la vida fetal, incrementando rápidamente después del nacimiento.

La ALS es el miembro de las proteínas transportadoras de los IGFs que ha recibido menos atención ⁽¹²⁾ y sólo su empleo reciente como marcador de la función de la GH, junto a IGF-I e IGFBP-3, en el diagnóstico de la insuficiencia somatotrófica del niño y el adulto ^(13, 14) y en el diagnóstico y seguimiento de la acromegalia ⁽¹⁵⁾, han hecho posible su determinación en el laboratorio clínico hormonal.

Los modelos animales con expresión aumentada o ausente de ALS han permitido definir más precisamente su función. Además, la descripción reciente del primer paciente con deficiencia completa de ALS, ha contribuido a caracterizar las consecuencias hormonales y metabólicas de su carencia.

Modelos animales con exceso o falta de ALS

En ratones transgénicos con expresión aumentada de ALS humana ⁽¹⁶⁾, se observó una modesta reducción del crecimiento posnatal (entre el 4 y 8 %) sin cambios en los niveles circulantes de IGF-I o IGFBP-3. Como normalmente la ALS se encuentra en exceso, en comparación con los niveles circulantes de IGF-I e IGFBP-3, es probable que un moderado incremento de ALS sólo produzca un pequeño aumento en la formación de complejos ternarios, afectando en forma mínima la disponibilidad del IGF-I circulante para actuar en sus tejidos blanco.

El ratón con deficiencia completa de ALS (ALS-KO) fue generado por inactivación del gen *igfals* mediante recombinación homóloga ⁽¹⁷⁾. Estos ratones presentan una modesta reducción del creci-

miento (de alrededor del 13 % a las 10 semanas de vida), con un marcado descenso en los niveles circulantes de IGF-I (62 %) y de IGFBP-3 (88 %). Esta deficiencia de IGF-I e IGFBP-3 es el resultado de una disminución de la vida media ("turnover" aumentado), ya que la síntesis hepática y renal de estas proteínas no fue afectada. No se detectaron alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, evaluado por la medición de los niveles de glucosa e insulina.

Deficiencia de ALS en el humano

Recientemente, hemos tenido la oportunidad de caracterizar el primer paciente con deficiencia completa de ALS⁽¹⁸⁾, OMIM # 601489⁽¹⁹⁾. El paciente fue adoptado a la semana de vida, no disponiéndose en consecuencia, de información con referencia al embarazo y al período perinatal. A esa edad presentaba una talla de 47 cm y un peso de 2500 g, dentro de límites normales. Su crecimiento y desarrollo psicofísico fueron normales hasta la edad de 14.6 años, en la que el paciente fue derivado por su pediatra al endocrinólogo para la evaluación de su crecimiento y desarrollo. Su talla era de 145.2 cm, 2.05 DE por debajo de la media, presentando un Tanner I para desarrollo genital y vello pubiano. La impresión diagnóstica fue de retraso constitucional del crecimiento y la pubertad, una condición caracterizada por un retraso temporario del crecimiento, asociado a la falta de desarrollo puberal y que en general no requiere tratamiento médico. Este cuadro se presenta generalmente en niños en los que uno de sus progenitores han presentado un retraso puberal. Al tratarse de un niño adoptado y desconocerse los antecedentes familiares de este paciente, se consideró adecuado realizar una evaluación clínica, bioquímica y hormonal. Se descartaron, por estudios habituales de laboratorio, enfermedad hematólogica, hepática y renal. La evaluación de la función tiroidea fue normal y los niveles de LH, FSH, prolactina y testosterona estuvieron dentro del rango prepuberal normal. La evaluación del sector somatotrófico presentó una respuesta normal de GH a prueba de estimulación con arginina-clonidina (GH máxima 31.0 ng/ml), con niveles circulantes de IGF-I (31 ng/ml; -5.3 DE) e IGFBP-3 (0.22 µg/ml; -9.7 DE),

marcadamente disminuidos. Niveles normales o aumentados de GH con niveles disminuidos de IGF-I y de IGFBP-3 son característicos de la insensibilidad a la GH⁽²⁰⁾ o de una GH biológicamente inactiva^(21, 22). Estos casos presentan un marcado retraso del crecimiento que habitualmente correlaciona con la magnitud de la deficiencia de los factores de crecimiento⁽²³⁾. En el caso particular de la GH biológicamente inactiva, estos pacientes responden en general al tratamiento con GH exógena. Un corto período de tratamiento con GH a dosis habituales (0.17 mg/kg de peso por semana) fue inefectivo para acelerar la velocidad de crecimiento (6.2 cm/año pretratamiento comparada con 4.6 cm/año durante el tratamiento), como así también para incrementar los niveles circulantes de IGF-I y de IGFBP-3. Sin embargo, la reducción de los pliegues cutáneos subescapulares durante el tratamiento, es sugestiva de una acción normal de la GH a nivel del tejido graso. Con estos resultados se planteó la hipótesis que la deficiencia de IGF-I pudiera ser debida a su inestabilidad en la circulación. Esta inestabilidad podría resultar como consecuencia de una deficiencia en sus proteínas de transporte. El hallazgo de niveles no detectables de ALS circulantes (< 1 mg/L) orientó los estudios hacia el gen *IGFALS*, que codifica para esta proteína. La secuenciación completa de los exones 1 y 2 del gen *IGFALS*, demostró la delección de una de cinco guaninas consecutivas que resultan en el reemplazo de ácido glutámico por lisina en la posición 35 y la aparición de un codón de finalización en la posición 120 de la forma precursora de la proteína (1338delG, E35fsX120). El paciente resultó homocigota para esta mutación con cambio en el marco de lectura. Esta mutación predice la formación de una proteína trunca y presumiblemente inactiva, que sólo conserva 7 aminoácidos de su secuencia aminoacídica y que carece de los dominios requeridos para su unión con IGFBP-3⁽²⁴⁾.

La falta total de la proteína ALS en el suero de este paciente fue confirmada por caracterización inmunológica (Western immunoblotting) con antiseros monoclonales que reconocen las porciones amino y carboxilo terminales de la ALS. La incapacidad del suero del paciente de formar complejos ternarios de 150 kDa fue demostrada mediante unión con ¹²⁵I-IGF-I, seguida de cromatografía en columnas de exclusión.

El seguimiento de este paciente hasta la edad de

20 años demostró un desarrollo puberal completo con un empuje del crecimiento normal de 8.3 cm/año, alcanzando una talla final normal de 166.4 cm, a -0.94 DE de la media ⁽²⁴⁾. Aunque el paciente presenta una talla normal, al no disponerse de las tallas de sus padres no resulta posible determinar si alcanzó su talla objetivo genética.

Secreción de GH y el sistema circulante de los IGFs

A diferencia del ratón ALS-KO que presenta niveles circulantes normales de GH ⁽¹⁷⁾, en el paciente con deficiencia de ALS la secreción espontánea nocturna de GH se encontró moderadamente aumentada y los niveles de GH no suprimían durante la sobrecarga oral con glucosa ⁽¹⁸⁾. Parte de esta discrepancia podría explicarse por diferencias en los niveles de IGF-I libre, el principal regulador de la secreción de GH. Mientras que los ratones ALS-KO tenían niveles normales de IGF-I libre, éstos estaban disminuidos en el paciente con deficiencia de ALS ⁽²⁵⁾. Las diferencias en los niveles de IGF-I libre podrían estar relacionadas con los niveles circulantes de las IGFBPs. En ratones ALS-KO y en el paciente con deficiencia de ALS los niveles de IGFBP-3 estaban marcadamente disminuidos, pero mientras que en el ratón no se afectaban otras IGFBPs, en el paciente los niveles de IGFBP-1 y -2 estaban muy disminuidos.

Metabolismo de los hidratos de carbono y adquisición de masa ósea

El paciente con deficiencia de ALS presentó niveles de glucosa normales, tanto basales como en respuesta a la sobrecarga oral de glucosa, con niveles de insulina basales y de respuesta aumentados. Estos resultados, característicos de la resistencia a la insulina, podrían ser la consecuencia de los niveles aumentados de GH. No puede descartarse un papel de los niveles circulantes disminuidos de IGF-I en la acción alterada de la insulina sobre el músculo ⁽²⁶⁾.

El IGF-I circulante es importante para el crecimiento óseo y la adquisición de la masa ósea ⁽²⁷⁾. El ratón con ALS-KO presenta una reducción del periostio, la cortical y la densidad mineral ósea sin diferencias en la expresión local de IGF-I ⁽²⁸⁾. En el hu-

mano, el retardo puberal se asocia con reducción de la densidad mineral ósea (DMO). En el paciente con deficiencia de ALS se observó una marcada disminución de la DMO en columna lumbar (Z score -4.7 a los 16 años), con recuperación parcial al completar su pubertad (Z score -2.1 a los 19 años) ⁽²⁹⁾. Estos resultados confirman la hipótesis que el IGF-I circulante es necesario para la adquisición de una masa ósea normal en el humano.

Conclusión

La caracterización de la deficiencia completa de ALS en un modelo experimental en el ratón y más recientemente en el humano permitieron resaltar la importante acción de esta proteína, en el mantenimiento de las concentraciones circulantes de IGF-I. Por otra parte el hallazgo de una deficiencia de IGFBP-3 aún más marcada, enfatiza el requerimiento de ALS para prevenir la degradación proteolítica tanto de IGFBP-3 como de IGF-I. Otra consecuencia directa de estos estudios es la revisión de los mecanismos que regulan el crecimiento longitudinal. Diferentes modelos animales y alteraciones genéticas en el humano han establecido claramente el papel central que desempeñan la GH y el IGF-I en el crecimiento posnatal.

En los últimos años la aplicación de herramientas genéticas y de biología molecular han permitido caracterizar alteraciones moleculares en los genes que regulan la síntesis y liberación de GH (receptor de GH-RH) ^(30, 31), de los factores de transcripción responsables para el desarrollo hipofisario (POU1F1 o Pit-1, PROP-1, Hesx1, etc) ⁽³²⁻³⁶⁾, de la GH (gen GH-1) ⁽³⁷⁻³⁹⁾; de los genes que median la acción de GH a nivel del receptor celular (receptor de GH) ⁽⁴⁰⁾ o a nivel posreceptor (STAT-5b) ^(41, 42) y de la síntesis y acción de IGF-I [genes IGF1 ⁽⁴³⁻⁴⁵⁾ y receptor de IGF tipo 1 ⁽⁴⁶⁾]. Estos estudios han confirmado también el papel central de IGF-I como mediador de la mayoría de las acciones de la GH sobre el crecimiento posnatal. En su formulación original de la hipótesis de las somatomedinas ⁽⁵⁾, William Daughaday postulaba que el IGF-I circulante [originalmente descrito en el ratón como factor de sulfatación o somatomedina ⁽⁴⁷⁾], mayoritariamente de síntesis hepática, constituía el principal mediador de las acciones

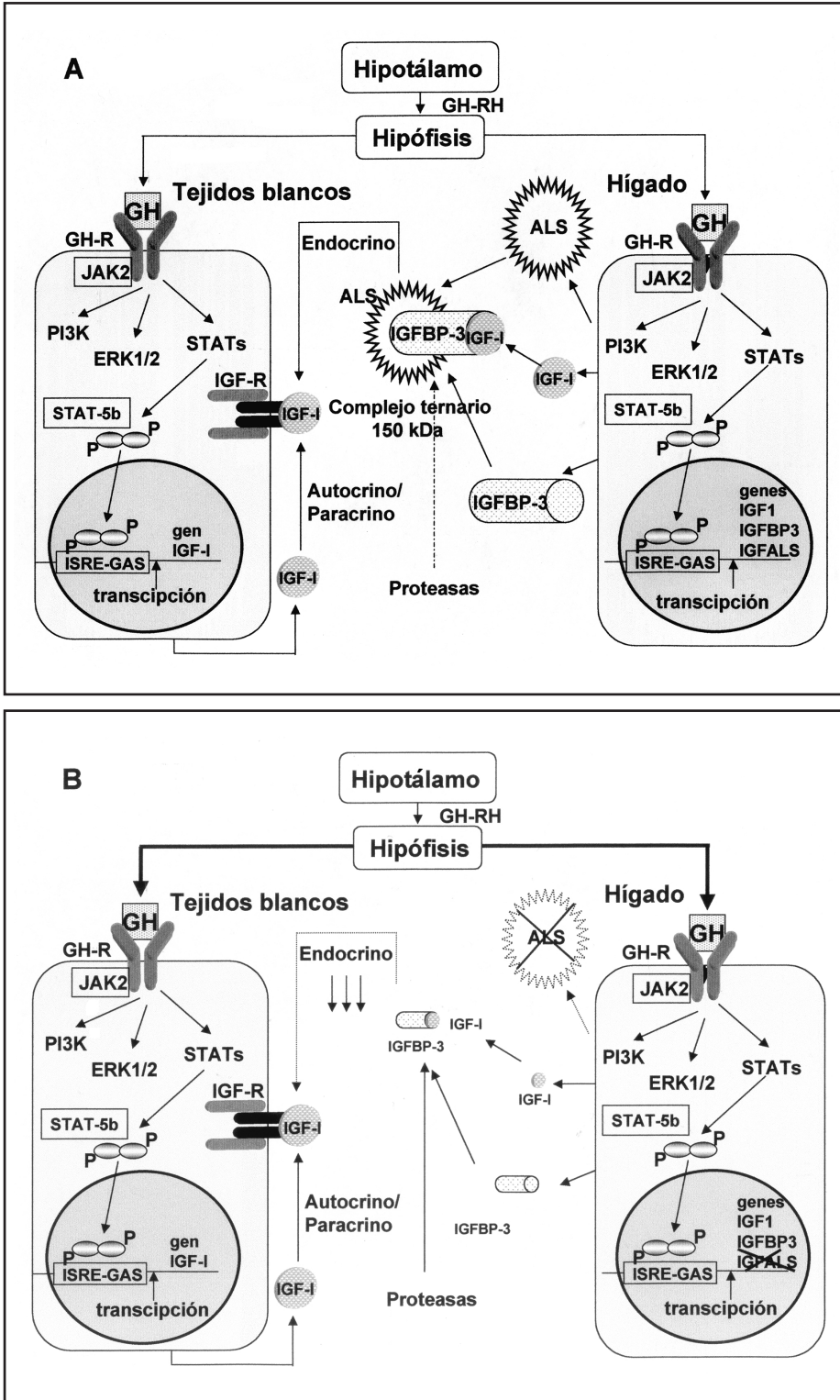


Figura 1.

Panel A: En condiciones fisiológicas normales la GH estimula la síntesis de IGF-I en el hígado, actuando sobre receptores específicos de membrana (GH-R). La activación del GH-R, induce la fosforilación de JAK2 (Janus tirosina-quinasa) y produce la activación de varias cascadas de señales intracelulares: fosfatidil-inositol 3-quinasa (PI3K), señal-regulada quinasa extracelular (ERK1/2) y traductores de señal y reguladores de transcripción (STATs). El traductor de señal y regulador de transcripción 5b (STAT-5b) se fosforila, se dimeriza, se trasloca al núcleo y se une a secuencias regulatorias específicas (GAS, secuencias activadas por interferón gamma) en las regiones promotoras de genes como IGF-1, IGFBP-3 y ALS, produciendo un aumento en la transcripción de estos genes. La secreción coordinada de IGF-1, IGFBP-3 y ALS por el hígado induce la formación de complejos ternarios de 150 kDa, formados por estas tres proteínas. Esta forma de IGF-I circulante constituye el IGF-I "endocrino" que puede actuar a distancia sobre múltiples tejidos uniéndose a receptores específicos de membrana (IGF-R). A su vez la GH es capaz de inducir la producción local de IGF-I, que actuaría localmente sin producir aumentos en sus niveles circulantes (IGF-I "autocrino/paracrino").

Panel B: En la deficiencia de ALS producida por una mutación inactivante del gen IGFALS, no se produce ALS en el hígado, y aunque IGF-I e IGFBP-3 parecen sintetizarse normalmente, serían rápidamente degradados en la circulación por la acción de proteasas específicas. Se encuentran bajos niveles circulantes de IGF-I e IGFBP-3 (disminución del IGF-I "endocrino") y por la falta de retrocontrol negativo, se produce un incremento en los niveles circulantes de GH. Sin embargo como la síntesis de IGF-I en los tejidos está conservada, la acción del denominado IGF-I "autocrino/paracrino" estaría preservada. El crecimiento lineal se encontraría prácticamente normal por la producción y acción local de IGF-I a nivel de los cartílagos de crecimiento.

de GH sobre el crecimiento. Sin embargo los modelos animales con inactivación selectiva del gen del IGF-I hepático (LID) ^(48, 49) o del gen que codifica para ALS (ALS-KO) ⁽¹⁷⁾ mostraron un crecimiento normal o un modesto retraso del crecimiento asociado con niveles circulantes de IGF-I marcadamente disminuidos. En un intento por conciliar la hipótesis original de las somatomedinas con los nuevos hallazgos, los niveles normales de IGF-I libre en el ratón LID han sido sugeridos como los responsables de un crecimiento normal ⁽⁵⁰⁾. Sin embargo, un moderado retraso del crecimiento ocurre en ratones con IGF-I libre normal (ALS-KO) y también con niveles aumentados de IGF-I libre (LID-ALS doble KO) ⁽⁵⁰⁾. El paciente con deficiencia de ALS resulta el más claro ejemplo en el humano de que es posible alcanzar una talla adulta dentro de límites normales, aún con niveles circulantes extremadamente disminuidos de IGF-I (medidos como IGF-I total, libre o bioactivo) ^(25, 51). Como el niño fue adoptado, no se dispone de información sobre la talla de sus padres que permita determinar su talla objetivo genética. Sin embargo su talla casi final de 166.4 cm se encuentra sólo un 3.3 % por debajo del percentilo 50 y un 11.5

% por debajo del percentilo 97. Resulta así evidente que la afectación de la talla final es mucho menor que la magnitud de la deficiencia de IGF-I. Es probable que se necesiten niveles normales circulantes de IGF-I (endocrino) para alcanzar el máximo potencial genético de la estatura. Sin embargo los hallazgos en el paciente con deficiencia de ALS refuerzan la hipótesis de un papel predominante del IGF-I producido localmente (paracrino/autocrino), a nivel de los cartílagos del crecimiento, en el crecimiento lineal.

La deficiencia aislada de ALS resulta así un modelo único en el que se hallaría muy afectado el IGF-I endocrino con la presumible preservación del IGF-I autocrino/paracrino (Figura 1). El retardo puberal, la insulinoresistencia y la osteopenia, podrían ser indicadores del requerimiento de importantes concentraciones de IGF-I circulante para el inicio de la pubertad a una edad adecuada, la adquisición de una masa ósea normal y la acción normal de la insulina.

La descripción de este primer paciente con deficiencia de ALS ha permitido también caracterizar el fenotipo en el que debiera sospecharse la implicancia de esta proteína en las alteraciones del crecimiento y el desarrollo (Tabla I).

Tabla I.
Diagnóstico de la deficiencia de ALS

Presentación clínica:

Baja talla

Retraso de crecimiento leve o moderado asociado a retardo puberal

Estudios hormonales iniciales:

GH Niveles basales y en respuesta a pruebas de estimulación normales o elevados

IGF-I Niveles bajos (más marcados que la deficiencia de talla)

IGFBP-3 Niveles extremadamente bajos (mucho más marcados que la deficiencia de talla)

Estudios confirmatorios:

ALS Niveles extremadamente bajos o ausentes

Ausencia de formación de complejos ternarios *in vitro*

Estudios moleculares:

Caracterización de mutaciones inactivantes en el gen *IGFALS*.

Alteraciones endocrinas y metabólicas asociadas:

Retardo puberal Niveles de LH, FSH normales o disminuidos Esteroides gonadales disminuidos

Insulino-resistencia Niveles de Insulina basales y en prueba de sobrecarga aumentados, con niveles normales de glucosa

Osteopenia Densidad mineral ósea disminuida

La reciente descripción de dos nuevos pacientes con deficiencia de ALS asociada a mutaciones en el gen *IGFALS* ^(52,53), en el período de poco más de un año desde el reporte del primer paciente, sugiere que esta entidad podría no ser tan excepcional como se pensaba. Estos nuevos pacientes confirman la asociación de retraso leve o moderado del crecimiento en presencia de niveles normales o aumentados de GH y niveles extremadamente disminuidos de IGF-I e IGFBP-3. Aunque estos resultados podrían interpretarse como característicos de insensibilidad a la GH o, alternativamente de la presencia de una GH biológicamente inactiva, la inestabilidad de IGF-I circulante emerge como un diagnóstico alternativo. La disponibilidad de la medición de ALS nos permitirá caracterizar más pacientes con retraso del crecimiento y la pubertad causados por deficiencia de IGF-I circulante como consecuencia de la deficiencia de esta proteína. La importancia de su detección radica, principalmente, en evitar el tratamiento con GH, prácticamente inefectiva en producir acele-

ración del crecimiento y potencialmente perjudicial por el agravamiento de la insulinoresistencia. Además, en estos pacientes estaría indicado un seguimiento longitudinal prolongado para prevenir los efectos a largo plazo de la insulinoresistencia y de la adquisición de una masa ósea insuficiente.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al paciente y a su familia por su aceptación para participar en este estudio. Queremos hacer extensiva nuestra gratitud a todos aquellos que colaboraron en la caracterización de esta nueva alteración: Dra. Alicia Martínez, Dr. Juan J. Heinrich, Dra. Paula Scaglia, Dra. M. Gabriela Ropelato, Dra. Patricia Pennisi y Dra. Gabriela Ballerini. Finalmente, queremos resaltar la colaboración de todos aquellos que aportaron todo su empeño y capacidad para la realización de los estudios bioquímicos y moleculares requeridos: Martín Peña, Perla Rossano, Silvina González, Daniel De Maio y Ana Montese.

Bibliografía

1. Daughaday, W.H.; Rotwein, P. Insulin-like growth factor I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations. *Endocr Rev* 10: 68-91, 1989.
2. D'Ercole, A.J.; Applewhite, G.T.; Underwood, L.E. Evidence that somatomedin is synthesized by multiple tissues in the fetus. *Dev Biol* 75: 315-328, 1980.
3. LeRoith, D.; Adamo, M.; Werner, H. y col. Insulin-like growth factors and their receptors as growth regulators in normal physiology and pathological states. *Trends Endocrinol Metab* 2: 134-139, 1991.
4. Isaksson, O.G.; Jansson, J.O.; Gause, I.A. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science* 216: 1237-1239, 1982.
5. Daughaday, W.H.; Hall, K.; Raben, M.S. y col. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature* 235: 107-109, 1972.
6. Jones, J.I.; Clemmons, D.R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16: 3-34, 1995.
7. Baxter, R.C. Circulating levels and molecular distribution of the acid-labile α -subunit of the high molecular weight insulin-like growth factor-binding protein complex. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 1347-1353, 1990.
8. Guler, H.P.; Zapf, J.; Schmid, C. y col. Insulin-like growth factors I and II in healthy man. Estimation of half-life and production rates. *Acta Endocrinologica* 121: 753-759, 1989.
9. Zapf, J.; Hauri, C.; Futo, E. y col. Intravenously injected insulin-like growth factor (IGF) I/IGF binding protein-3 complex exerts insulin-like effects in hypophysectomized, but not in normal rats. *J Clin Invest* 95: 179-186, 1995.
10. Baxter, R.C.; Dai, J. Purification and characterization of the acid-labile subunit of rat serum insulin-like growth factor binding protein complex. *Endocrinology* 134: 848-852, 1994.
11. Chin, E.; Zhou, J.; Dai, J. y col. Cellular localization and regulation of gene expression for components of the insulin-like growth factor ternary binding protein complex. *Endocrinology* 134: 2498-2504, 1994.
12. Boisclair, Y.R.; Rhoads, R.P.; Ueki, I. y col. The acid-labile subunit (ALS) of the 150-kDa IGF-bind-

- ing protein complex: an important but forgotten component of the circulating IGF system. *J Endocrinol* 170: 63-70, 2001.
13. **Juul, A.; Møller, S.; Mosfeldt-Laursen, E. y col.** The acid-labile subunit of human ternary insulin-like growth factor binding protein complex in serum: hepatosplanchnic release, diurnal variation, circulating concentrations in healthy subjects, and diagnostic use in patients with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 4408-4415, 1998.
 14. **Fukuda, I.; Hizuka, N.; Itoh, E. y col.** Acid-labile subunit in growth hormone excess and deficiency in adults: evaluation of its diagnostic value in comparison with insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *Endocr J.* 49: 379-386, 2002.
 15. **Morrison, K.M.; Wu, Z.; Strasburger, C.J.** Findings and theoretical considerations on the usefulness of the acid-labile subunit in the monitoring of acromegaly. *Growth Horm IGF Res* 11: Suppl A S61-63, 2001.
 16. **Silha, J.V.; Gui, Y.; Modric, T. y col.** Overexpression of the acid-labile subunit of the IGF ternary complex in transgenic mice. *Endocrinology* 142: 4305 - 4313, 2001.
 17. **Ueki, I.; Ooi, G.T.; Tremblay, M.L. y col.** Inactivation of the acid labile subunit gene in mice results in mild retardation of postnatal growth despite profound disruptions in the circulating insulin-like growth factor system. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 6868-73, 2000.
 18. **Domené, H.M.; Bengolea, S.V.; Martínez, A.S. y col.** 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.
 19. **OMIM™: Online mendelian inheritance in man.** John Hopkins University. URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi.
 20. **Rosenfeld, R.G.; Rosenbloom, A.L.; Guevara-Aguirre, J.** Growth hormone (GH) insensitivity due to primary GH receptor deficiency. *Endocr Rev* 15: 369-390, 1994.
 21. **Kowarski, A.A.; Schneider, J.J.; Ben-Galim, E. y col.** Growth failure with normal serum RIA GH and low somatomedin activity: somatomedin restoration and growth acceleration after exogenous GH. *J Clin Endocrinol Metab* 47: 461-464, 1978.
 22. **Takahashi, Y.; Kaji, H.; Okimura, Y. y col.** Short stature caused by a mutant growth hormone. *New Engl J Med* 334: 432-436, 1996. [Erratum, *New Engl J Med* 334: 1207, 1996.]
 23. **Woods, K.A.; Clark, A.J.; Amselem, S. y col.** Relationship between phenotype and genotype in growth hormone insensitivity syndrome. *Acta Paediatr Suppl* 88: 158-162, 1999.
 24. **Janosi, J.B.; Ramsland, P.A.; Mott, M.R. y col.** The acid-labile subunit of the serum insulin-like growth factor binding protein complexes. Structural determination by molecular modeling and electron microscopy. *J Biol Chem* 274: 23328-23332, 1999.
 25. **Domené, H.M.; Martínez, A.S.; Frystyk, J. y col.** Normal circulating IGF-I levels are not essential to attain a normal height: Insights from a patient with acid-labile subunit deficiency. XVII Annual Meeting of the Sociedad Latinoamericana de Endocrinología Pediátrica, Angra dos Reis, Brasil, 24-28 de Octubre de 2004. *J Peadiatr Endocrinol Metab* 17 (Suppl 5): 1336, 2004 (Abstract).
 26. **Yakar, S.; Liu, J-L.; Fernández, A.M. y col.** Liver-specific igf-1 gene deletion leads to muscle insulin insensitivity. *Diabetes* 50: 1110-1110, 2001.
 27. **Beamer, W.G.; Donahue, L.R.; Rosen, C.J. y col.** Genetic variability in adult bone density among inbred strains of mice. *Bone* 18: 397-403, 1996.
 28. **Yakar, S.; Rosen, C.J.; Beamer, W.G. y col.** Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J Clin Invest* 110: 771-781, 2002.
 29. **Domené, H.M.; Bengolea, S.; Jasper, H.G. y col.** Acid-labile subunit deficiency: Similarities and differences in phenotypic expression between human and mouse. *J Endocrinol Invest* 28 (Suppl. to no. 5): 43-46, 2005.
 30. **Maheshwari, H.G.; Silverman, B.L.; Dupuis, J. y col.** Phenotype and genetic analysis of a syndrome caused by an inactivating mutation in the growth hormone-releasing hormone receptor: dwarfism of Sindh. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 4065-4074, 1998.
 31. **Salvatori, R.; Hayashida, C.Y.; Aguiar-Oliveira, M.H. y col.** Familial dwarfism due to a novel mutation of the growth hormone-releasing hormone receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 917-923, 1999.
 32. **Pfaffle, R.W.; DiMattia, G.E.; Parks, J.S. y col.**

- Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. *Science* 257: 1118-1121, 1992.
33. **Radovick, S.; Nations, M.; Du, Y. y col.** A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. *Science* 257: 1115-1118, 1992.
 34. **Cogan, J.D.; Wu, W.; Phillips, J.A. III y col.** The PROP1 2-base pair deletion is a common cause of combined pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 83: 3346-3349, 1998.
 35. **Mendonca, B.B.; Osorio, M.G.F.; Latrónico, A.C. y col.** Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301,G302 in the PROP1 gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 84: 942-945, 1999.
 36. **Dattani, M.T.; Martinez-Barbera, J-P.; Thomas, P.Q. y col.** Mutations in the homeobox gene HESX1/Hesx1 associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nature Genet* 19: 125-133, 1998.
 37. **Illig, R.; Prader, A.; Fernández, A; y col.** Hereditary prenatal growth hormone deficiency with increased tendency to growth hormone antibody formation (A-type of isolated growth hormone deficiency). *Acta Paed Scand Suppl* 60:607, 1971.
 38. **Rivarola, M.A.; Phillips, J.A. 3rd; Migeon, C.J.; y col.** Phenotypic Heterogeneity in familial isolated growth hormone deficiency type I-A. *J Clin Endocrinol Metab* 59: 34-40, 1984.
 39. **Cogan, J.D.; Phillips, J.A. III; Sakati, N. y col.** Heterogeneous growth hormone (GH) gene mutations in familial GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 1224-1228, 1993.
 40. **Godowski, P.J.; Leung, D.W.; Meacham, L.R. y col.** Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Nat Acad Sci* 86: 8083-8087, 1989.
 41. **Kofoed, E.M.; Hwa, V.; Little, B. y col.** Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. *N Engl J Med* 349:1139-1147, 2003.
 42. **Hwa, V.; Little, B.; Adimayan, P. y col.** Severe growth hormone insensitivity resulting from total absence of signal transducer and activator of transcription 5b. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 4260-4206, 2005.
 43. **Woods, K.A.; Camacho-Hubner, C.; Savage, M.O. y col.** 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.
 44. **Bonapace, G.; Concolino, D.; Formicola, S.; y col.** A novel mutation in a patient with insulin-like growth factor 1 (IGF1) deficiency. *J Med Genet* 40: 913-917, 2003.
 45. **Walenkamp, M.J.; Karperien, M.; Pereira, A.M.; y col.** Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 2855-2864, 2005.
 46. **Abuzzahab, M.J.; Schneider, A.; Goddard, A. y col.** IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation *N Engl J Med* 2003 349: 2211-2222, 2003.
 47. **Salmon, W.D. Jr.; Daughaday, W.H.** A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med* 49: 825-836, 1957.
 48. **Sjögren, K.; Liu, J-L.; Blad K. y col.** Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 7088-7092, 1999.
 49. **Yakar, S.; Liu, J-L.; Stannard, B. y col.** Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 7324-7329, 1999.
 50. **Daughaday, W.H.** Free insulin-like growth factor (IGF) in disorders of IGF binding protein 3 complex formation. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3-5, 2004.
 51. **Daughaday, W.H.; Domené, H.M.; Martínez, A. y col.** *N Engl J Med* 350, 1906, 2004. Correspondence.
 52. **Hwa, V.; Haeusler, G.; Pratt, K.L. y col.** Idiopathic short stature and growth hormone insensitivity (GHI) associated with an absence of acid-labile subunit (ALS). 87th Annual Meeting of the Endocrine Society, San Diego, CA, USA, 2005 (Abstr P2-464).
 53. **Domené, H.M.; Scaglia, P.; Lteif, A. y col.** Two novel IGFALS gene mutations in a patient presenting with IGF-I deficiency, delay of growth and pubertal development. ESPE/LWPES 7th Joint Meeting Paediatric Endocrinology, Lyon, France, September 21-24, 2005 (Abstr OR9-107).