

**PATOLOGIA DE L'HORMONA DEL  
CREIXEMENT (GH) EN ADULTS: DEL  
DEFECTE A L'EXCÉS DE GH**

**Marcadors inflamatoris i factors de risc cardiovascular**

**Tesi Doctoral presentada per Gemma Sesmilo León per a optar al títol  
de Doctora en Medicina y Cirurgia**

**Directors: Drs. Anne Klibanski i Ramon Gomis de Barbarà**

**Barcelona 2002**



**Índex**

---



|   |           |
|---|-----------|
| Informe dels Directors de la Tesi.....                                | 1         |
| Agraïments.....   | 2         |
| Motivació.....  | 3         |
| Abreviatures.....   | 4         |
| Introducció teòrica.....  | 5         |
| <b>1. Generalitats:</b> .....   | <b>13</b> |
| 1.1 Estructura i gen de de l'hormona del creixement (GH).....         | 13        |
| 1.2 Regulació de la secreció de GH.....                               | 15        |
| 1.3 Bases moleculars de l'acció de GH.....                            | 17        |
| 1.4 Bases estructurals de l'acció de GH.....                          | 21        |
| 1.5 Desenvolupament d'un antagonista de la GH.....                    | 22        |
| 1.6 Diagnòstic de la deficiència de GH en adults.....                 | 24        |
| 1.5.1 Aspectes generals.....  | 24        |
| 1.5.2 Proves d'estimulació.....                                       | 25        |
| <b>2. Clínica dels trastorns de secreció de GH en adults.....</b>     | <b>28</b> |
| 2.1 Síntomes relacionats amb la deficiència de GH.....                | 28        |
| 2.2 GH i composició corporal.....                                     | 30        |
| 2.2.1 Accions lipolítiques i anabòliques de la GH.....                | 30        |
| 2.2.2 Composició corporal en l'excés de GH.....                       | 31        |
| 2.2.3 Composició corporal en la deficiència de GH.....                | 31        |
| 2.3 GH i metabolisme ossi.....  | 33        |
| 2.3.1 Paper de la GH en el manteniment de la massa òssia.....         | 36        |
| 2.3.2 Massa òssia en l'excés de GH.....                               | 37        |
| 2.3.3 Massa òssia en la deficiència de GH.....                        | 38        |
| 2.4 Mortalitat cardiovascular en pacients amb deficiència de GH.....  | 40        |
| 2.5 Mortalitat cardiovascular en pacients amb acromegàlia.....        | 42        |
| 2.6 Malaltia arterial perifèrica en malalts amb hipopituitarisme..... | 43        |

---

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 2.7       | Factors de risc cardiovascular en malalts amb deficiència de GH...   | 45        |
| 2.7.1     | Obesitat, composició corporal i distribució del greix.....           | 45        |
| 2.7.2     | Tolerància a la glucosa i resistència a la insulina.....             | 45        |
| 2.7.3     | Lípids i lipoproteïnes.....  | 46        |
| 2.8       | Factors de risc cardiovascular en malalts amb acromegàlia.....       | 47        |
| 2.8.1     | Hipertensió arterial.....  | 45        |
| 2.8.2     | Resistència a la insulina i tolerància a la glucosa.....             | 50        |
| 2.8.3     | Lípids i lipoproteïnes.....  | 50        |
| <b>3.</b> | <b>Efectes del tractament substitutiu amb GH en adults.....</b>      | <b>52</b> |
| 3.1       | Composició corporal.....   | 52        |
| 3.1.1     | Massa grassa, massa muscular i aigua corporal.....                   | 52        |
| 3.1.2     | Metabolisme ossi.....  | 54        |
| 3.1.2.1   | Marcadors de remodelament ossi.....                                  | 54        |
| 3.1.2.2   | Densitat mineral òssia.....  | 56        |
| 3.2       | Factors de risc cardiovascular.....                                  | 60        |
| 3.2.1     | Perfil lipídic.....  | 60        |
| 3.2.2     | Metabolisme hidrocarbonat.....                                       | 62        |
| <b>4.</b> | <b>Hormona del creixement i sistema immune.....</b>                  | <b>65</b> |
| 4.1       | Síntesi, expressió i acció de GH en teixits limfoides.....           | 65        |
| 4.2       | GH i funció immune en models animals.....                            | 67        |
| 4.3       | GH i funció immune en humans.....                                    | 69        |
| <b>5.</b> | <b>Arteriosclerosi i nous factors de risc cardiovascular.....</b>    | <b>71</b> |
| 5.1       | L'arteriosclerosi com a malaltia inflamatòria crònica.....           | 71        |
| 5.2       | Proteïna C reactiva i IL-6 com a factors de risc cardiovascular..... | 73        |

---

---

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 5.3 | Homocisteïna i risc cardiovascular.....   | 76  |
|     | Justificació.....   | 81  |
|     | Objectius.....  | 85  |
| 1   | Objectiu 1: Investigar l'efecte del tractament substitutiu amb hormona del creixement (GH) sobre paràmetres inflamatoris i altres marcadors de risc cardiovascular en una població d'homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta |     |
|     | a. Justificació de l'objectiu 1.....  | 91  |
|     | b. Desenvolupament de l'objectiu 1.....   | 92  |
| 2   | Objectiu 2: Investigar l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre homocisteïna, folat i hormones tiroidees en una població d'homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta   |     |
|     | a. Justificació de l'objectiu 2.....  | 95  |
|     | b. Desenvolupament de l'objectiu 2.....   | 96  |
| 3   | Objectiu 3: Investigar l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre la composició corporal i la massa òssia en homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.   |     |
|     | a. Justificació de l'objectiu 3.....  | 99  |
|     | b. Desenvolupament de l'objectiu 3.....   | 99  |
| 4   | Objectiu 4: Investigar l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre factors de risc cardiovascular en malalts amb deficiència de GH d'inici en edat adulta   |     |
|     | a. Justificació de l'objectiu 4.....  | 103 |
|     | b. Desenvolupament de l'objectiu 4.....   | 103 |
| 5   | Objectiu 5: Investigar les concentracions d'andrògens i de nous factors de risc cardiovascular en dones amb hipopituitarisme en comparació amb controls   |     |
|     | a. Justificació de l'objectiu 5.....  | 107 |

---

|    |  |     |
|----|--|-----|
| b. | Desenvolupament de l'objectiu 5.....   | 107 |
| 6  | Objectiu 6: Investigar les concentracions de factors de risc cardiovascular en una població de pacients amb acromegàlia activa en comparació amb controls i estudiar l'efecte del tractament amb l'antagonista del receptor de GH "Pegvisomant" sobre aquests paràmetres |     |
| a. | Justificació de l'objectiu 6.....  | 112 |
| b. | Desenvolupament de l'objectiu 6.....   | 112 |
|    | Discussió.....   | 113 |
|    | Resum de resultats.....  | 133 |
|    | Conclusions.....   | 135 |
|    | Articles inclosos a la tesi.....   | 139 |
|    | Bibliografia.....  | 141 |

---



## **1. INFORME DELS DIRECTORS DE LA TESI**

Anne Klibanski, MD, Professor of Medicine, Harvard Medical School; and Chief, Neuroendocrine Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts i

Ramon Gomis de Barbarà, Professor de Medicina, Universitat de Barcelona; i Cap de Servei de la Unitat d'Endocrinologia i Diabetis de l' Hospital Clínic de Barcelona,

CERTIFIQUEN: que la tesi doctoral " **PATOLOGIA DE L'HORMONA DEL CREIXEMENT (GH) EN ADULTS: DEL DEFECTE A L'EXCÉS DE GH**", presentada per Gemma Sesmilo León per optar al grau de Doctor en Medicina i Cirurgia ha estat realitzada sota la seva direcció i compleix tots els requisits necessaris per a ésser defensada davant del Tribunal d' avaluació corresponent.

Dr. Anne Klibanski

Dr. Ramón Gomis de Barbarà

---

---

## **AGRAÏMENTS**

Al doctor Ramón Gomis, per transmetre'm el seu entusiasme per la recerca, per motivar-me i per donar-me sempre tot el seu suport i ajut.

A la doctora Anne Klibanski, per ser una excepcional mestra i una excepcional dona, per transmetre'm l'esperit de treball i el rigor necessaris per a realitzar aquesta tesi, per animar-me i ajudar-me durant la meva estada a la seva unitat i després.

A la doctora Irene Halperín per la seva gran vàlua humana i professional, la seva amistat i el seu paper fonamental en la meva formació com a metge endocrinòleg.

Al doctor Vilardell per crear un clima de llibertat al servei i pel seu suport.

Al doctor Jorge Ferrer per ajudar-me a reflexionar sobre el meu camp de recerca, i pel suport continuat durant el desenvolupament dels meus projectes a l'estranger.

A les doctores Beverly MK Biller i Karen K Miller per tot el que he pogut aprendre d'elles, per haver-me tractat amb molt de respecte i per la seva amistat.

A les meves companyes i companys de l'Hospital Clínic, especialment a la Roser Casamitjana, l'Ignacio Conget, l'Àngels Costa, la Mercè Fernández i el Josep Vidal, pel seu ajut i disposició per tot allò en que els he necessitat.

Als meus companys del Massachusetts General Hospital: al Doug Hayden pel seu ajut fonamental en tots els treballs d'aquesta tesi, a la Ivy Greene, Ruth Nally, Karen Pulaski i Wesley Fairfield, pel seu ajut i disposició.

A la Fundació Clínic i Fundació La Caixa, per haver-me donat suport econòmic.

A la meva família, sobretot als meus pares i germanes per estimar-me i ajudar-me sempre incondicionalment.

A la Mireia, al Joan i al Joan, per omplir-me la vida.

---

---

## **MOTIVACIÓ**

La glàndula hipofisària dirigeix una multiplicitat de sistemes hormonals que a la seva vegada determinen tan el metabolisme com la fesomia i en part el comportament de l'ésser humà. El paper central del sistema endocrí en el funcionament de l'organisme va ésser el motiu pel qual vaig escollir l' endocrinologia com a camp d'especialitat. La malaltia hipofisària de l'adult, trunca el funcionament d'aquesta glàndula mare, constituint un estat d'amenaça de la integritat de l'individu en la que incideix l'endocrinòleg, mitjançant el tractament substitutiu, indicant com reparar allò que ha estat malmès. El malalt amb hipopituitarisme és habitualment, un malalt complex, politractat, no només com a conseqüència dels diferents defectes hormonals, sinó també per l'elevada freqüència de patologies associades que presenta, com ara la hipercolesterolèmia, l'obesitat, les malalties osteoarticulares degeneratives i l'osteoporosi. Molts d'aquests malalts, malgrat el tractament que reben, no es troben bé. Reuneixen una simptomatologia inespecífica consistent en tendència depressiva, poca tolerància a l'exercisi, manca d'autoestima i percepció mermada de benestar. Encara més important, aquests malalts tenen més possibilitats de morir per malaltia cardiovascular que la població general. Amb la disponibilitat del tractament substitutiu amb GH, es va pensar que tots aquests problemes quedarien resolts. Des de l'obtenció de GH recombinant, s'ha barrejat per una banda la curiositat dels científics i clínics d'esbrinar tan les conseqüències de la deficiència de GH en adults com els efectes del tractament substitutiu amb GH, amb un interès important per part de les companyies que comercialitzen la GH en impulsar la indicació d'aquest nou tractament. Els malalts adults amb deficiència de GH són malalts complexes, molts cops s'han atribuït a la deficiència de GH,

conseqüències clíniques que potser són degudes a altres mancances hormonals o a la inadequació dels altres tractaments hormonals substitutius (és molt difícil mimetitzar la secreció hormonal endògena fisiològica). La complexitat d'aquest tipus de malalts i els interessos comercials en la GH, fa que sigui especialment important dissenyar estudis controlats i aleatoritzats per respondre a qüestions encara no resoltes sobre el tractament substitutiu amb GH i una molt important és l'efecte del mateix sobre la morbi-mortalitat cardiovascular. Encara més enllà, seria útil identificar marcadors sèrics capaços de predir el risc cardiovascular en aquesta població que ens permetin assajar estratègies terapèutiques destinades a la prevenció primària i secundària d'aquesta patologia.

Aquesta tesi va néixer d'un intent d'aprofundir en l'estudi de la fisiopatologia de la deficiència de GH d'inici en edat adulta i en els efectes del tractament substitutiu amb GH en aquests pacients a partir d'una aproximació científica vàlida, posteriorment, vam explorar allò que primer havíem trobat en el model de deficiència de GH en el model oposat: l'excés de GH en l'adult (l'acromegàlia) i els efectes del seu tractament. Els treballs inclosos en aquesta tesi reflexen un intent d'aportar noves observacions fisiopatològiques a partir de models experimentals clínics. Els models estudiats són dos models oposats de patologia de la GH: la deficiència i l'excés. En ambdós models s'estudien les condicions basals en estudis observacionals en els que es compara la població estudiada amb població general i amb grups control. En ambdós models també es dissenyen estratègies experimentals i es desenvolupen estudis controlats i aleatoritzats d'actuació terapèutica: tractament amb GH en el model de deficiència de GH i tractament amb l'antagonista del receptor de GH en el model d'excés de GH.

Val a dir que l'oportunitat d'ampliar la meva formació al Departament de Neuroendocrinologia del Massachusetts General Hospital amb la Dra Klibanski i els seus col·laboradors van ser motivació fonamental en el desenvolupament d'aquesta tesi doctoral.





## ABREVIATURES

|        |   |
|--------|---|
| BMC    | Contingut mineral ossi                              |
| CRP    | Proteïna C Reactiva                                 |
| DMO    | Densitat mineral òssia                              |
| DXA    | Absorciometria per raigs X d'energia dual           |
| ELISA  | Enzim-immunoassaig                                  |
| GH     | Hormona del creixement                              |
| GHR    | Receptor de GH                                      |
| GHRH   | Hormona alliberadora de l'hormona del creixement    |
| GHRP   | Pèptid estimulator de l'alliberació de GH           |
| Hcy    | Homocisteïna  |
| HDL    | Lipoproteïna d' alta densitat                       |
| HOMA   | "Homeostasis Model of Assessment"                   |
| HPLC   | Cromatografia líquida d'alta pressió                |
| HTA    | Hipertensió arterial                                |
| ICTP   | Telopèptid carboxiterminal del procolagen tipus I   |
| IGF-I  | Factor de creixement similar a la insulina tipus I  |
| JAK    | Janus kinases                                       |
| IL-6   | Interleukina-6                                      |
| IRHOMA | Index d'insulin resistència calculat segons el HOMA |
| IRS    | Substrats d'acció insulínica                        |
| IS     | Index de sensibilitat insulínica                    |
| ITT    | Test d'hipoglucèmia insulínica                      |
| LDL    | Lipoproteïna de baixa densitat                      |
| Lp(a)  | Lipoproteïna (a)                                    |
| MIST   | Test modificat de supressió insulínica              |
| MONICA | "Monitoring trends on cardiovascular disease"       |
| MTHR   | Metilentetrahidrofolat reductassa                   |
| PACAP  | Pèptid activador de l'adenilciclasa pituitaria      |
| PICP   | Propèptid C-terminal del procolagen tipus I         |
| PROCAM | Prospective cardiovascular Münster                  |
| QCT    | Tomografia computeritzada quantificada              |
| RIA    | Radioimmunoassaig                                   |
| SAA    | Proteïna amiloide sèrica tipus A                    |
| SD     | Desviació estàndar                                  |
| STAT   | Traductors de senyal i activadors de transcripció   |
| TAC    | Tomografia axial computeritzada                     |
| TSH    | Hormona estimulant del tiroides                     |
| TRH    | Hormona alliberadora de TSH                         |
| TTOG   | Test de tolerància oral a la glucosa                |
| T3     | Triiodetironina                                     |
| T4     | Tetraiodetironina                                   |
| RMN    | Ressonància magnètica nuclear                       |



# **Introducció**



L'hormona del creixement (GH) és l'hormona hipofisària més abundant, produïda per les cèl·lules somatotropes de la hipòfisi anterior. El seu elevat pes molecular i la seva especificitat d'espècie van fer que fins l'esdeveniment de la tecnologia de la producció de DNA recombinant només fos disponible en quantitats molt limitades. És per això que el seu ús es restringí a la indicació "clàssica" de promoció del creixement longitudinal, és a dir, als casos pediàtrics més severos de deficiència de GH. Malgrat aquesta limitació en la disponibilitat de GH, a l'any 1962 Raben va descriure el primer malalt adult amb deficiència de GH a qui l'administració de l'hormona va millorar el seu vigor i energia (1).

Després del 1985 i a partir de l'obtenció de GH per tecnologia recombinant, la deficiència de GH en el pacient adult ha centrat un gran interès en el món de l'endocrinologia i s'han portat a terme nombrosos estudis per aprofundir en la fisiopatologia de la malaltia i per estudiar les conseqüències del tractament substitutiu amb GH.

## **1. GENERALITATS**

### **1.1 ESTRUCTURA I GEN DE GH**

La GH és una hormona polipeptídica de 191 aminoàcids disposats en una cadena única que conté quatre hèlix alfa i dos ponts disulfur a la seva estructura (Figura 1). En plasma es troben diferents formes moleculars de les quals la més abundant és la de 22 kilodaltons (KDa) (2). La GH està codificada per un únic gen (GH-N), localitzat al braç llarg del cromosoma 17. Aquest gen forma part d'una família de 5 gens coneguda com

"cluster de gens GH" i que inclou els gens de GH (hGH-N) (*growth hormone normal*) i GH-V (*growth hormone variant*) i els gens de la somatotropina coriònica o lactògen placentari CS-A, CS-B i CS-L. GH-N és el gen expressat a hipòfisi i dona lloc a la GH circulant. El promotor del gen GH-N es situa a la regió 5' no codificant del gen i presenta diferents seqüències d'unió, dues d'elles pel factor de transcripció específic GHF-1 o Pit-1 (*growth hormone factor 1* o *pituitary 1*), dues seqüències de resposta a l'AMP cíclic (pCRE i dCRE), una seqüència d'unió del receptor de glucocorticoids (GRE) i una sèrie de seqüències d'unió per a altres factors de transcripció més ubicus com SP-1, NF-1, AP-2 i USF. Com a resultat de l'activació del gen, se sintetitza una molècula de mRNA que pot tenir diferents processaments. El processament més comú (90%) dona lloc a la variant més abundant a plasma que és la GH de 22 KDa; en plasma es troben també variants de 20 i 17,5 KDa així com formes oligomèriques de GH (també s'anomenen *big-GH*) (2).

Figura 1. Estructura primària de hGH-N. Les barres negres representen els ponts disulfur. En gris, els aminoàcids que es perden a la forma GH 20 KDa. De: JA Tresguerres, Tratado de Endocrinología Básica y Clínica. Ed Síntesis.

La GH plasmàtica circula unida a la seva proteïna de transport (GHBP) que és la porció extracel·lular del receptor de GH. La GH plasmàtica es dissocia de les proteïnes de transport per a ser eliminada a nivell renal.

## **1.2 REGULACIÓ DE LA SECRECIÓ DE GH**

Diferents vies neurotransmisores i una gran varietat d'estímuls perifèrics participen en la regulació de la secreció de GH, ja sigui per acció directa en la hipòfisi anterior, o per modulació de la secreció dels secretagogs i somatostatina hipotalàmics (3). Els dos reguladors principals de la síntesi de GH són la hormona estimuladora de la síntesi de GH (GHRH), un pèptid amidat de 44 aminoàcids, i la somatostatina, que exerceix un estímul inhibitor de la secreció de GH (3). La secreció de GH és pulsàtil, amb fases de brusca alliberació (polsos) separades per períodes en els que no hi ha secreció (interpols). Els polsos de GH es deuen a la secreció alternant de GHRH i somatostatina; així, cada pic de GH es correspon amb un augment de la secreció de GHRH i una disminució de la de somatostatina i al contrari passa en els períodes interpols. La infusió intermitent de GH en ratolins és un estímul més potent pel creixement que la infusió contínua, per tant la secreció intermitent de GH és important en la seva acció (4). Existeix un dimorfisme sexual en el patró secretor de GH, tan en models murins com en humans (5-7). El patró masculí es caracteritza per polsos més marcats amb concentracions molt baixes interpols, mentre que el patró femení és menys pulsàtil i presenta unes concentracions interpols més elevades (5-7). La regulació de la

síntesi de GH és complexa, al nucli arcuat de l'hipotàlem colocalitzen receptors de somatostatina amb neurones productores de GHRH (8), permetent interaccions intrahipotalàmiques entre els dos sistemes en la regulació de GH. Sobre aquests sistemes actuen una varietat d'estímuls com els neurotransmisors acetilcolina, catecolamines, serotonina, histamina i GABA així com d'altres (glucocorticoids, leptina, esteroides sexuals, galanina, calcitonina, PACAP, opioïds, TRH, NPY, bombesina, melatonina, substància P, citokines i nutrients) que contribueixen a la complexitat de la síntesi de GH i al seu ritme circadià de secreció (Figura 2). Els esteroides sexuals controlen l'ordre de la secreció de GH, així en el període puberal, el patró de secreció de GH es torna quantificablement molt més irregular (9).

Recentment s'ha caracteritzat un nou secretagog de GH, es tracta d'un pèptid acetilat, la ghrelina, que actua a través d'un receptor hipofisari independent del receptor de GHRH (10). Desde fa quasi 20 anys, s'havia reconegut que determinats pèptids sintètics derivats de les encefalines (pèptids alliberadors de GH o GHRPs), estimulaven la secreció de GH a partir de la seva unió amb receptors diferents del receptor de GHRH (11-13). Es varen desenvolupar diferents pèptids sintètics capaços d'unir-se al receptor de GHRP però el lligand endògen no va ser identificat fins a finals del 1999 (10) i va ser anomenat ghrelina (ghre és l'arrel proto-indo-europea de la paraula créixer). La Ghrelina, encara que està present a nivell hipotalàmic, es troba en altes concentracions a l'estómac, pel que es pensa que aquesta hormona és una incretina. Un esquema dels mecanismes reguladors de la síntesi de GH està representat a la Figura 2.



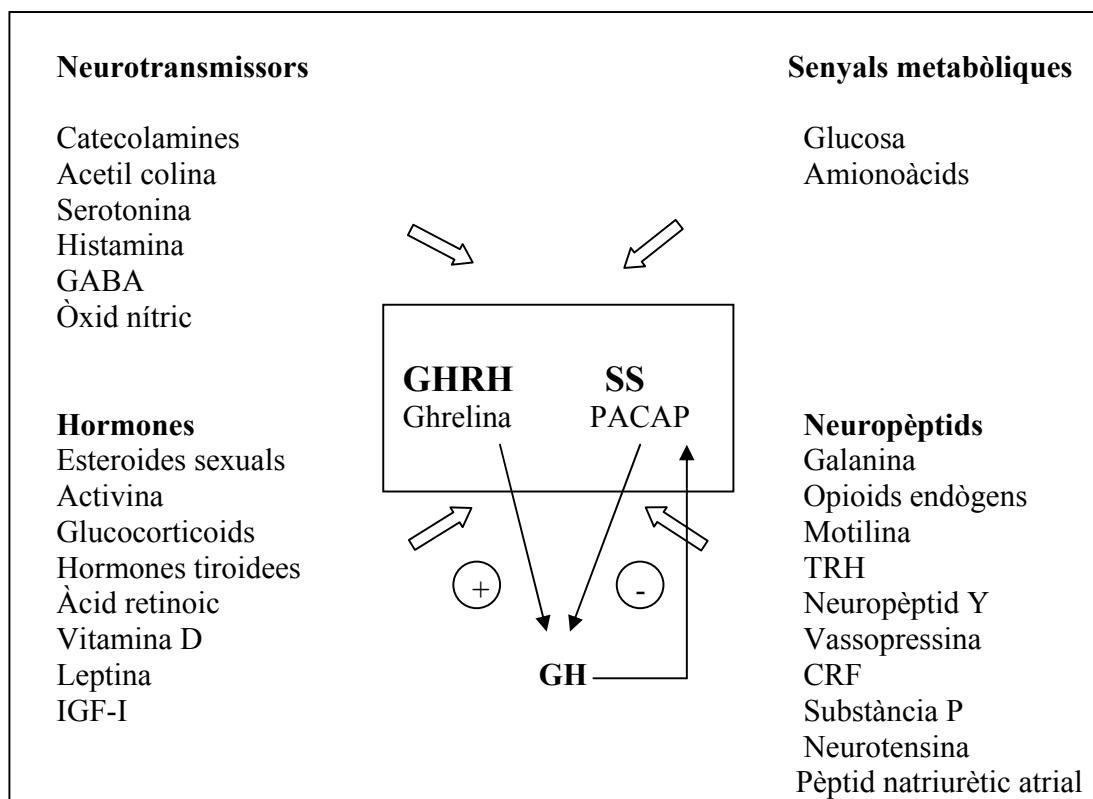


Figura 2. Diagrama dels factors implicats en la neuroregulació de la secreció de GH. Modificat de JA Tresguerres, Tratado de Endocrinología Básica y Clínica. Ed Síntesis.

### 1.3 BASES MOLECULARS DE L'ACCIÓ DE GH

La GH s'uneix al seu receptor (GHR) que està present en nombrosos teixits de l'organisme com fetge, múscle, os, teixit adipós i ronyó entre d'altres (14). El GHR és un membre de la família de receptors citokina-hematopoiètica (15). Aquesta família inclou receptors com el de prolactina i d'una varietat de citokines i factors de creixement (16). La unió d'una molècula de GH a dos receptors (GHRs) (17, 18) provoca una dimerització del GHR i una activació de la tirosin-kinasa intracel·lular JAK-2 i la tirosil fosforilació de JAK-2 i del propi GHR (19). Aquests aconteixements recluten i/o activen una varietat de

molècules intracel·lulars com les MAP kinases, els sustrats del receptor d'insulina (IRS), la fosfatidil-inositol 3' fosfat kinasa, el diacilglicerol i els factors de transcripció STAT (transductors de la senyal i activadors de la transcripció). S'ha vist també que després de la unió de GH al seu receptor, s'activen altres vies de segons missatgers depenents de proteín-kinasa C i calç -revisat en (20)- (Figura 3). De particular interès és l'activació (fosforilació, dimerització i translocació al nucli) de les STAT 1, 3 i 5, pel que es requereix JAK2 activada, les molècules STAT es fosforilen en residus tirosina, dimeritzen i són traslocades al nucli on activen o inhibeixen la transcripció de gens regulats per GH com el gen d'IGF-I.

Moltes de les senyals i cascades de fosforilació desencadenades per la unió de la GH al seu receptor culminen en canvis en l'expressió gènica en cèl·lules diana. La GH regula l'activitat de diferents factors de transcripció i de gens teixit-específics que mediaran les accions fisiològiques de la GH. Entre ells destaquen els gens d'IGF-I i Spi 2.1 (inhibidor de serín proteasa) regulats per STAT (21-23); uns altres són els gens de resposta ràpida com el *C-fos* i *C-jun* (24-26) implicats en el creixement i diferenciació cel·lulars i també el *C-myc* (27), un factor de transcripció involucrat en la proliferació cel·lular. Aquestes molècules transmissores de senyal contribuiran als efectes induïts per GH en l'activitat enzimàtica, les funcions de transport, i l'expressió gènica que finalment resultaran en els efectes metabòlics i de creixement de la GH.

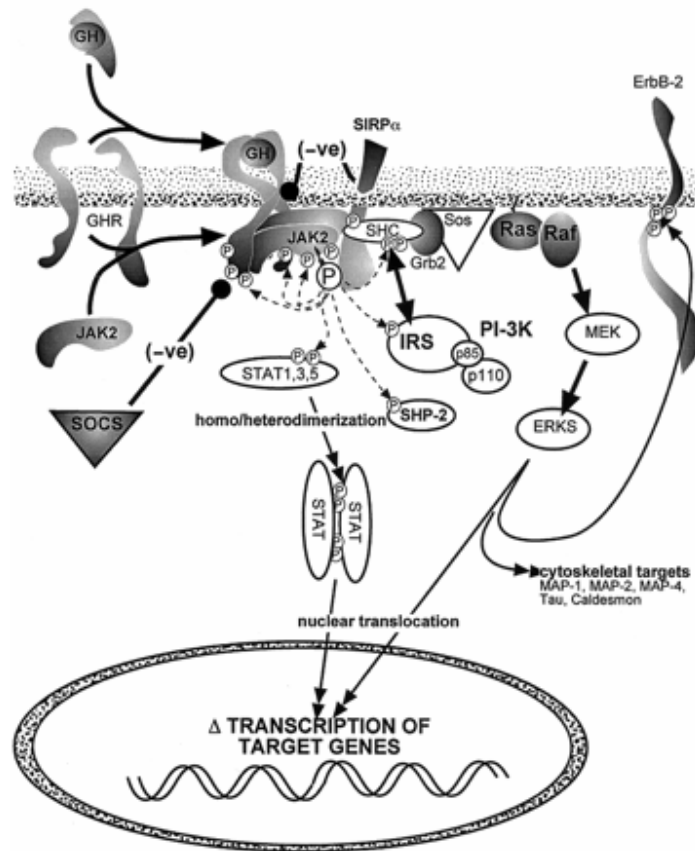


Figura 3. Esquema dels mecanismes moleculars implicats en la transmissió de la senyal a partir de la interacció de GH amb el seu receptor. Reproduït de Le Roith i cols. *Endocr Rev* 2001; 22: 53-74, ref. (28).

Un dels gens regulats per GH en el fetge és el del factor de creixement similar a la insulina o IGF-I, estimulat per mecanismes transcripcionals (29). La GH exerceix les seves accions per un mecanisme directe i a partir de la inducció tan de la síntesi hepàtica com local d'IGF-I (28). L'IGF-I hepàtic té efectes endocrins, mentre que la síntesi d'IGF-I a nivell local en cada teixit, tindria importants efectes autocrins i paracrins. Aquesta teoria d'acció de la GH es coneix com "teoria de l'efecte dual" i substituï a la inicial "hipòtesi de la somatomedina" per la que es pensava que l'acció de la GH sobre el creixement postnatal estava exclusivament mediada per la inducció de la producció d'IGF-

I sistèmic (30, 31). Les darreres tecnologies de biologia molecular han permès desenvolupar un model animal amb manca d'expressió del gen d'IGF-I únicament a nivell hepàtic (32). Aquest model ha demostrat que, si bé la producció hepàtica és responsable en major part de les concentracions plasmàtiques d'IGF-I, aquesta no és essencial pel creixement postnatal, confirmant la importància del paper autocrí-paracrí de l'IGF-I produït localment. Per la teoria de l'efecte dual, la GH estimularia la diferenciació dels adipòcits, mentre que l'IGF-I estimularia la seva expansió clonal, i anàlogament, la GH estimularia la diferenciació dels precondròcits de la placa fisària de creixement i IGF-I estimularia l'expansió clonal dels condròcits en diferenciació (28). L'evidència actual, a partir de diferents models experimentals ha complicat la teoria dual d'acció de la GH i ha proposat dubtes sobre aquest model. S'ha confirmat que la GH té efectes directes independent d'IGF-I sobre el cartíleg de creixement però es disputa el fet de que la GH induexi la síntesi d'IGF-I a nivell de precondròcits del cartíleg fisari (33). Malgrat aquestes controvèrsies sobre l'acció de GH, se sap certament que IGF-I té un paper fonamental en el creixement longitudinal, donat que la delecció del gen d'IGF-I condueix a nanisme tan en humans com en ratolins (34-36). Per altra banda, IGF-II podria ser també important en la proliferació dels condròcits de la placa de creixement (37), doncs el ratolí IGF-I  $-/-$ , presenta un nombre i proliferació normal de condròcits, malgrat el resultat final és el nanisme (28). Així, la GH actuaria sobre la zona germinal promovent la diferenciació de condròcits, IGF-II promouria la proliferació d'aquests i IGF-I tindria un paper important en promoure la hipertròfia dels condròcits. En resum, la GH té efectes directes independents d'IGF-I mentre que GH, IGF-I i IGF-II tenen efectes

complementaris en la promoció del creixement linial. Tot això ha estat recentment revisat (28, 38) i està esquematitzat en la Figura 4.

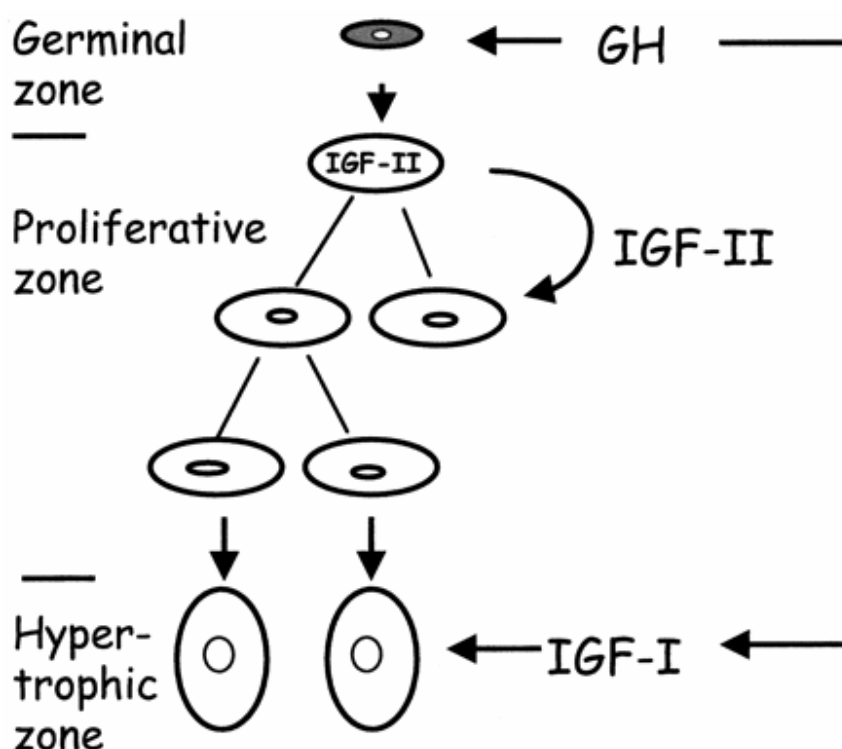


Figura 4. Aquest esquema representa el cartíleg de creixement on la proliferació dels condrocits i la posterior hipertròfia condueixen al creixement longitudinal de l'òs. La GH actua en la zona germinal estimulando la proliferació i diferenciació dels precursors dels condrocits que entren en el cartíleg de creixement com a condrocits proliferatius. IGF-II s'expressa a nivell dels condrocits en proliferació i pot ser important per augmentar la seva capacitat mitògena tot i que això darrer encara està per demostrar. Reproduït de Le Roith i cols. *Endocr Rev* 2001; 22: 53-74, ref. (28).

#### 1.4 BASES ESTRUCTURALS DE L'ACCIÓ DE GH

La GH és una hormona de 191 aminoàcids amb quatre hèlix  $\alpha$ . En els darrers anys, estudis de mutagènesi homòloga escanejada (substitució sistemàtica de segments de GH per seqüències anàlogues) i mutagènesi d'alanina escanejada (substitució a l'atzar de

codons de GH per aquells que codifiquen per alanina, un aminoàcid relativament “inert”), han permès la identificació dels residus implicats en la interacció de la GH amb el seu receptor (GHR). D’acord amb anàlisis de l’enllaç d’aquestes variants creades de GH, es va concloure que la nansa entre aminoàcids 54 i 74, la porció central de l’hèlix 4 fins a la regió carboxi-terminal i la regió aminoterminal de l’hèlix 1, estaven implicades en la interacció GH-GHR. Aquesta part de la molècula que s’uneix al GHR és coneguda com a “lloc 1” (39) (Figura 5). De Vos i cols varen demostrar que una molècula de GH interacciona amb dos receptors de GH (18). El segon lloc d’unió al receptor situat en la tercera hèlix  $\alpha$ , es coneix com a “lloc 2” d’unió (Figura 5). Cunningham i cols. van predir que la interacció de la molècula de GH amb els dos receptors era seqüencial (17). Aquestes observacions varen ser claus en el desenvolupament d’un antagonista del receptor de GH.

## **1.5 DESENVOLUPAMENT D’UN ANTAGONISTA DE GH**

En primer lloc s’identificà el paper fonamental de la tercera hèlix  $\alpha$  en la dimerització del receptor de GH i així, mutant un aminoàcid glicina localitzat a la meitat de l’hèlix s’aconseguia impedir la unió del complex GH-GHR amb una altre molècula de GHR (40). La molècula que es desenvolupà (Pegvisomant), posseïa una substitució d’un aminoàcid en el lloc 2 (Gly120Lys) impedit la dimerització del receptor de GH i actuant, per tant com un antagonista. La molècula s’associà covalentment amb residus de polietilenglicol (PEG), per incrementar la seva vida mitjana. L’adició de PEG va resultar en una molècula molt gran, amb afinitat disminuïda pel GHR. Aleshores es dissenyaren vuit substitucions en el lloc 1 d’unió al GHR, que incrementaren l’afinitat de la molècula

de GH pel GHR (40). La molècula final de Pegvisomant quedà configurada definitivament per: 1) La substitució Gly120Lys en el lloc 2 que impedeix dimerització del receptor de GH; 2) L'adició del molècules de PEG que incrementen la seva vida mitjana; 3) Vuit alteracions puntuals d'aminoàcids en el lloc 1 d'unió al GHR que resulten en un increment en l'afinitat de la molècula pel GHR (40) (Figura 5). Els resultats del primer estudi multicèntric aleatoritzat a doble cec del tractament de l'acromegàlia activa amb Pegvisomant durant 12 setmanes, demostrà que el 89% dels pacients que reberen tractament amb 20 mg/dia de Pegvisomant via subcutània, varen normalitzar els nivells d'IGF-I i milloraren símptomes i signes de la malaltia (41).

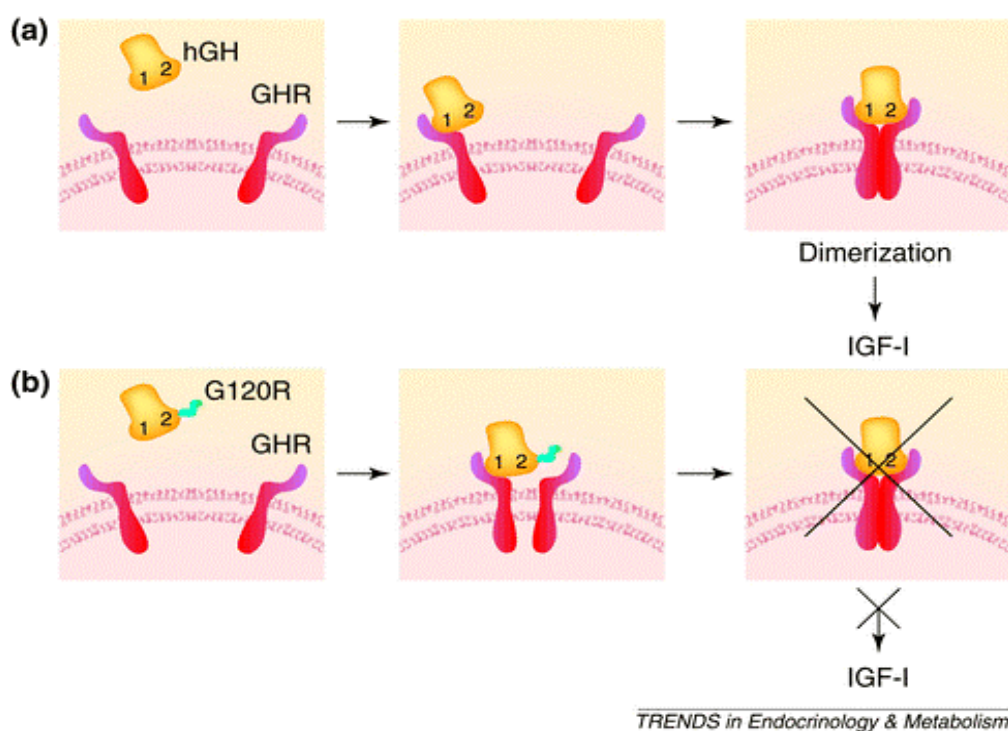


Figura 5. (a) Esquema de la unió d'una molècula de GH al GHR en el lloc 1 d'unió, amb la posterior dimerització del receptor i unió al lloc 2 de la molècula de GH. (b) Antagonista del receptor de GH. Les mutacions al lloc 1 augmenten l'afinitat pel GHR, mentre que la mutació al lloc 2 impedeix la dimerització i així, la traducció de la senyal. Esquema extret de Drake i cols. Trends in Endocrinology and Metabolism 2001;12: 408-13..

## **1.6DIAGNÒSTIC DE LA DEFICIÈNCIA DE GH EN ADULTS**

### **1.6.1 ASPECTES GENERALS**

En pacients adults, a diferència de la població pediàtrica, no hi ha cap aspecte biològic de la deficiència de GH que sigui específic d'aquesta patologia. Però en adults, a diferència també de la població pediàtrica, la deficiència de GH s'observa majoritàriament com a conseqüència de patologia hipofisària o perihipofisària o com a conseqüència de tractaments rebuts per aquesta patologia o en aquesta zona (42). La incidència estimada de la deficiència de GH en adults, en base a la incidència de tumors hipofisaris, seria d'uns 10 casos per milió per any (43). La secreció de GH és una de les primeres que es perd quan hi ha dany hipofisari, de forma que a mesura que augmenta el nombre de defectes hormonals hipofisaris en un pacient, augmenta la probabilitat de deficiència de GH en aproximadament un 45% si no hi ha altres defectes hipofisaris, fins a quasi el 100% si hi ha presents tres o més deficiències hormonals (44, 45). No obstant, la secreció de GH és un continu des de la normalitat fins a la patologia (46) i tot i que casos severes de deficiència hormonal són relativament fàcils de detectar, el problema es planteja en aquells casos d'insuficiència hormonal més lleugera on la diferència amb la normalitat pot ser difícil de demostrar (47). La secreció de GH és pulsàtil, amb polsos de predomini nocturn; les concentracions hormonals són baixes durant la major part del dia, per tant, una determinació aïllada de GH té molt poc valor predictiu a l'hora de fer el diagnòstic de la deficiència de GH en l'adult. Les mesures del perfil de 24 hores i l'anàlisi de pulsatilitat demostren que els pacients amb deficiència de GH presenten menor amplitud i freqüència de polsos (45). No obstant, aquests estudis són costosos i



també s'ha trobat superposició entre individus amb secreció intacta i pacients amb deficiència de GH (48).

El factor de creixement similar a la insulina (IGF-I) és un dels principals mediadors de l'acció de la GH. Les concentracions plasmàtiques d'IGF-I reflexen la seva síntesi a nivell hepàtic estimulada per la GH. Els malalts amb deficiència de GH presenten en moltes ocasions concentracions normals d'IGF-I. Les concentracions baixes d'IGF-I (inferiors a dos desviacions estàndard), tenen poca sensibilitat però una elevada especificitat en el diagnòstic de la deficiència de GH. Estudis recents han demostrat que en el malalt que presenta tres o més defectes hormonals hipofisaris i un nivell d'IGF-I baix, es pot fer el diagnòstic de deficiència de GH amb una especificitat del 89% (49). Les concentracions d'IGFBP3 no han afegit cap valor al d'IGF-I en el diagnòstic de la deficiència de GH en l'adult (50).

A la pràctica clínica i seguint criteris consensuats per diferents grups d'experts (51, 52), emprem els tests d'estimulació per a determinar si existeix deficiència en la secreció de GH.

### **1.6.2 PROVES D'ESTIMULACIÓ**

Dels nombrosos tests d'estimulació que s'han heretat de la pràctica clínica pediàtrica, el test d'hipoglicèmia insulínica (ITT) és el test considerat com a estàndard en la valoració de la secreció de GH. Estudis comparatius de diferents test d'estimulació com els de clonidina, glucagó, arginina, L-Dopa i ITT, han conclòs que l'ITT sembla ser un estímul superior per a la secreció de GH que els altres i individus normals habitualment presenten pics de resposta de GH a l'estímul de la hipoglucèmia superiors a

5 µg/L (53-60). L' associació americana d'endocrinòlegs clínics (AACE) recomana que el diagnòstic de deficiència de GH en l'adult es faci quan en un context apropiat (malaltia hipotàlem-hipofisària o tractaments rebuts a la zona, o bé quan ha existit deficiència de GH en la infantesa), el pic de GH en l'ITT sigui inferior a 5 µg/L si es mesura per radioimmunoassaig policlonal o inferior a 2,5 µg/L si es mesura per assaig immunoradiomètric (42, 52). La "Growth Hormone Research Society" ha recomanat de fer el diagnòstic de deficiència sever de GH, quan el pic de GH en resposta a l'ITT sigui inferior a 3 µg/L (51), també en pacients amb context clínic adequat. Quan existeix dany hipòfiso-hipotalàmic i una o més deficiències hormonals, una sola prova d'estimulació és suficient; en cas de deficiència de GH d'inici en la infantesa, es recomana recomprovar-ho en l'edat adulta amb dos proves d'estimulació. No obstant, l'ITT també té algunes limitacions com el requeriment de supervisió mèdica continuada, les conseqüències potencialment greus i els casos en els que està definitivament contraindicada. S'ha criticat també el que té una baixa reproducibilitat i la manca de normalitats de resposta a la prova, per això s'han buscat alternatives. La combinació d'arginina amb GHRH i més recentment la de GHRH amb el pèptid-6 alliberador de GH (GHRP-6), s'han descrit com proves sensibles i específiques així com fàcils de realitzar en l'àmbit ambulatori, útils en el diagnòstic de la deficiència de GH en l'adult (61). El valor de resposta de GH a aquests estímuls és superior que a altres tests clàssics, considerant-se una resposta normal valors de GH per sobre de 9 µg/L. Aquestes proves no són vàlides quan el defecte és purament hipotalàmic i encara no s'han generalitzat en la pràctica mèdica habitual.

## **2. CLÍNICA DELS TRANSTORNS DE LA SECRECIÓ DE GH EN ADULTS**

### **2.1 SÍMPTOMES RELACIONATS AMB LA DEFICIÈNCIA DE GH**

Els malalts adults amb deficiència de GH refereixen manca de vitalitat, força muscular disminuïda i cansament fàcil. Aquesta simptomatologia, força inespecífica, va ser avaluada sistemàticament per primer cop per Wüster i cols (62). En un grup de 122 pacients amb panhipopituitarisme d'inici en edat adulta i en tractament substitutiu hormonal convencional, el 53% dels malalts van referir baixa forma física i el 40% presentaren obesitat. Contràriament als malalts pediàtrics, la hipoglicèmia no va ser una característica d'aquest grup de pacients. La simptomatologia d'escassa vitalitat, tendència depressiva, manca d'energia, labilitat emocional i sentiment d'isolament social, es van atribuir a la deficiència de GH i es van desenvolupar qüestionaris específics de qualitat de vida per a valorar-la (63, 64). Dels nombrosos estudis que han avaluat la qualitat de vida en malalts amb hipopituitarisme en tractament convencional substitutiu, la majoria han trobat que aquests tenen una sensació mermada de benestar i una escassa qualitat de vida (65-68). Com els malalts amb hipopituitarisme inclosos en els diferents estudis, estaven tractats convencionalment pels altres defectes hormonals que presentaven, aquesta simptomatologia es va relacionar amb el defecte no substituït de GH, encara que l'evidència científica de que això sigui realment així és escassa.

**Taula 1.** Alteracions físiques i bioquímiques en pacients amb deficiència de GH

| Estudi*    | N   | Composició corporal                                    | Sistema cardiovascular                                    | Densitat mineral òssia  | Exercici i força                              | Lípids en sèrum  |
|------------|-----|--|---|---|---|--|
| Rutherford | 11  | Augment 18-22% massa grassa 1 any post discontinuar GH | ND  | ND  | Descens 5-8% força 1 any post discontinuar GH | ND   |
| Cuneo      | 24  | Descens 16% àrea quàdriceps                            | ND  | ND  | Descens 26% força quàdriceps                  | ND   |
| Cuneo      | 24  | ND   | ND  | ND  | Descens 20-28% el la captació max d'oxigen    | ND   |
| Lehmann    | 10  | ND   | Descens 23% distensibilitat aorta                         | ND  | ND  | Augment 18% colesterol   |
| Bing-You   | 14  | ND   | ND  | Descens 8% DMO total, 14% coll fèmur, 18% Wards i 10% trocànter | ND  | ND   |
| Markussis  | 34  | ND   | Augment 12% gruix íntima-mitja caròtida                   | ND  | ND  | Augment 19% colesterol, 23% LDL colesterol   |
| Cuneo      | 24  | ND   | ND  | ND  | ND  | 39% de pacients valors anormals de colesterol, 39% de LDL, 75% de HDL i 26% triglicèrids |
| Merola     | 11  | ND   | Descens 22% septe inter-ventricular, 36% massa VE, 14% FE | ND  | ND  | ND   |
| Holmes     | 26  | ND   | ND  | Z score columna - 1.07, femoral -0.38, radi -0.86               | ND  | ND   |
| Nass       | 20  | ND   | No canvis en massa VE o tamany cambres                    | ND  | Descens 18% el la captació max d'oxigen       | ND   |
| Attanasio  | 106 | Augment 2-4kg massa grassa homes, 3.3 kg en dones      | ND  | ND  | ND  | Pacients amb HDL baix: 72% si GHD inici edat pediàtrica, 54% edat adulta                 |
| Longobardi | 20  | ND   | Descens 17% FE repòs, 29% FE exercici                     | ND  | ND  | ND   |

Síntomes i signes en malalts amb deficiència de GH. \*Només s'esmenta el primer autor de cada estudi. ND: no determinat, VE: ventricle esquerre, FE: fracció d'ejecció, GHD: deficiència de GH

## **2.2 GH I COMPOSICIÓ CORPORAL**

### **2.2.1 ACCIONS LIPOLÍTIQUES I ANABÒLIQUES DE LA GH**

Estudis *in vivo* i *in vitro* han posat de manifest que la GH és una hormona anabòlica, lipolítica i amb efecte antinatriurètic (43, 69, 70). Tots aquests efectes tenen impacte en la composició corporal. Beshyah i cols. varen emprar leucina marcada per estudiar metabolisme proteic en 16 adults amb deficiència de GH i en 20 controls. Els pacients van presentar una disminució en el fluxe de leucina, en l'oxidació i en la síntesi proteica. Aquests paràmetres van presentar un increment no significatiu després del tractament amb GH (71). Russel-Jones i cols van realitzar un estudi aleatoritzat dels efectes del tractament amb GH sobre la síntesi proteica emprant leucina marcada en un grup de 18 adults amb deficiència de GH. En aquest cas, demostraren un augment en la síntesi proteica al cap de 2 mesos de tractament amb GH, sense alteració en la degradació proteica (72). En resum, els malalts amb deficiència de GH presenten una disminució en el flux i la síntesi proteica sense alteracions en la degradació, el tractament substitutiu amb GH podria incrementar la síntesi proteica en els primers dos mesos, encara que manca evidència de que aquest efecte sigui sostingut.

La GH presenta també una important activitat lipolítica en greix i muscle i aquesta activitat és dosi dependent (70). La GH estimula l'alliberació d'àcids grassos lliures (FFA) i glicerol en les primeres setmanes de tractament substitutiu. Els FFA poden ser oxidats en teixits perifèrics o captats pel fetge i re-esterificats per formar triglicèrids. Aquest efecte està mediat per una inhibició de la lipoprotein-lipasa, un enzim implicat en l'acúmulo de lípids en adipòcits (73-75) i representa un efecte major de la GH sobre el metabolisme.

La combinació dels efectes anabòlic i lipolític de la GH explica que els malalts amb deficiència de GH presentin una composició corporal alterada i que el tractament substitutiu tingui un impacte important sobre la massa grassa i muscular així com sobre el metabolisme intermediari.

### **2.2.2 COMPOSICIÓ CORPORAL EN L'EXCÉS DE GH**

Observacions en acromegàlics (76-79) i estudis previs en població pediàtrica amb deficiència de GH abans i després del tractament substitutiu (80-85), han posat de manifest el paper rellevant que la GH juga en la regulació de la composició corporal. El model acromegàlic d'excés de GH es caracteritza per un augment de la massa muscular associat a una reducció del greix corporal i a un augment en l'aigua extracel·lular (78, 79). No hi ha estudis específics que hagin adreçat la distribució del greix corporal en pacients amb acromegàlia.

### **2.2.3 COMPOSICIÓ CORPORAL EN LA DEFICIÈNCIA DE GH**

Diversos estudis han posat de manifest que la deficiència de GH en adults s'associa a una disminució en la massa magra corporal, un augment de la massa grassa amb distribució central i una disminució en el contingut d'aigua extracel·lular (43, 86, 87) (Taula 1). Tant per antropometria com per tècniques més sofisticades d'avaluació de composició corporal com la tomografia computeritzada (TC), s'ha posat de manifest que aquests malalts presenten una reducció de l'àrea muscular (88, 89). Diferents estudis han estimat una reducció del 10% (basat en mesures d'aigua corporal total) o del 8% (basat en estudis de K40 marcat) en la massa muscular, en pacients amb deficiència de GH (90,

91). Estudis histològics en pacients amb deficiència de GH existeixen però són força contradictoris. Alguns autors han trobat un tamany i distribució de les fibres normal (92, 93), mentre que d'altres han trobat una disminució relativa de fibres de tipus 1 (94). Rutherford i cols. valoraren longitudinalment quatre adults durant un any després d'abandonar el tractament substitutiu amb GH, demostrant una atròfia amb disminució del tamany de les fibres en un 10-40% (95).

L'avaluació de la composició corporal i en concret del compartiment de massa grassa en malalts amb deficiència de GH també s'ha realitzat per diverses tècniques com l'antropometria, la mesura de plecs cutanis, la mesura d'aigua corporal total per tècniques de dilució isotòpiques, la impedanciometria bioelèctrica, la densitometria i la determinació del potassi total per contacte de K40 marcat (90, 91, 96, 97). Els diferents estudis posen de manifest que els malalts amb deficiència de GH presenten un excés relatiu de massa grassa (90, 91, 96). S'ha estimat que l'excés de greix respecte a controls seria d'uns 6-8 kg (90, 97). Aquest augment de greix, té sobretot una distribució central i intrabdominal, acumulant-se en el compartiment visceral, recordant a la síndrome metabòlica X d'elevat risc cardiovascular (96, 98, 99).

L'alteració en la composició corporal dels malalts amb deficiència de GH, s'ha associat amb la simptomatologia de baixa tolerància a l'exercisi, cansament fàcil i sensació de fatiga i en darrer terme a la percepció de benestar o qualitat de vida (100). De forma indirecta, la reduïda capacitat funcional i baixa tolerància a l'exercisi s'associaria amb una menor activitat física i amb un reduït metabolisme basal per massa muscular reduïda (101, 102). La despesa energètica total està molt determinada per l'activitat muscular (103). El metabolisme basal està augmentat en malalts amb

acromegàlia (104), mentre que en pacients amb deficiència de GH s'ha trobat disminuït (105). Hipotèticament aquesta despesa energètica inferior podria comportar un balanç energètic positiu i contribuir al sobrepès i obesitat que acostumen a presentar aquests malalts. Aquesta hipòtesi però, no ha estat plantejada en estudis científics. El que sí s'ha estudiat és la repercussió del tractament substitutiu amb GH en el metabolisme basal i en la capacitat funcional, demostrant-se que aquest augmenta de forma notable amb el tractament substitutiu. Malgrat això, el tractament substitutiu amb GH no s'acompanya de pèrdua de pes.

### **2.3 GH I METABOLISME OSSÍ**

La GH té un paper fonamental en la promoció del creixement ossi longitudinal en el període postnatal. Experiments *in vitro* mesurant la incorporació de  $^{35}\text{SO}_3$  en cartílag costal de rata demostraren que la GH només era capaç d'estimular aquesta incorporació i per tant la formació de cartíleg, quan se li afegia ademés sèrum de rata normal i aquesta incorporació estava clarament reduïda si s'afegia sèrum de rata hipofisectomitzada (106). Aquests experiments, donaren lloc a la "hipòtesi de la somatomedina" per la que es pensà que la GH només era capaç d'estimular el creixement a través d'una substància sèrica, una "somatomedina" més tard identificada com a IGF-I (107). Experiments posteriors, posaren de manifest que la GH injectada directament en el cartíleg de creixement de rates hipofisectomitzades era capaç d'estimular el creixement longitudinal en l'extremitat en la que es realitzà la infusió però no en la contralateral (33). Aquestes i altres observacions, com el descobriment que l'IGF-I s'expressa en la majoria sinó tots els teixits (108), van fer que la inicial hipòtesi de la somatomedina es revisés i modificqués fins a la concepció



actual (28) que en resum observa que les diferents accions de la GH vindrien tan mediatades per la producció sistèmica i local de IGF-I, com per acció directa de la GH sobre el seu receptor (Figures 6 i 7).

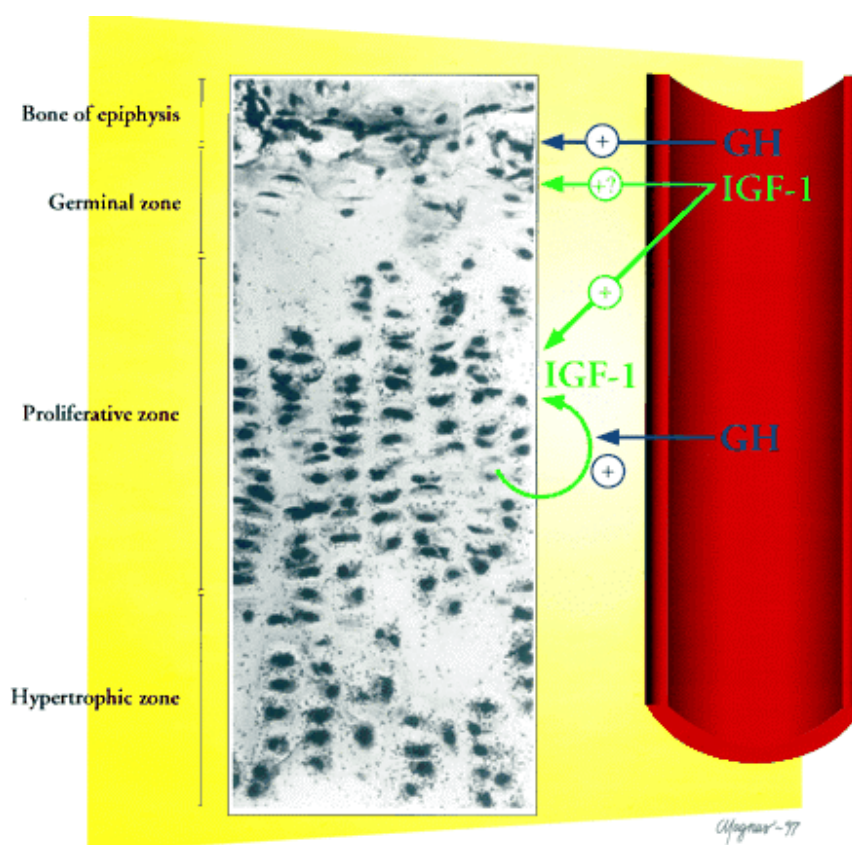


Figura 6. Mecanisme d'acció proposat per GH i IGF-I en l'estimulació del creixement ossi longitudinal. S'indiquen les diferents zones del cartílag de creixement de rata. Reproduït de Ohlsson i cols. *End Revs* 1998;19: 55-79, ref (109).

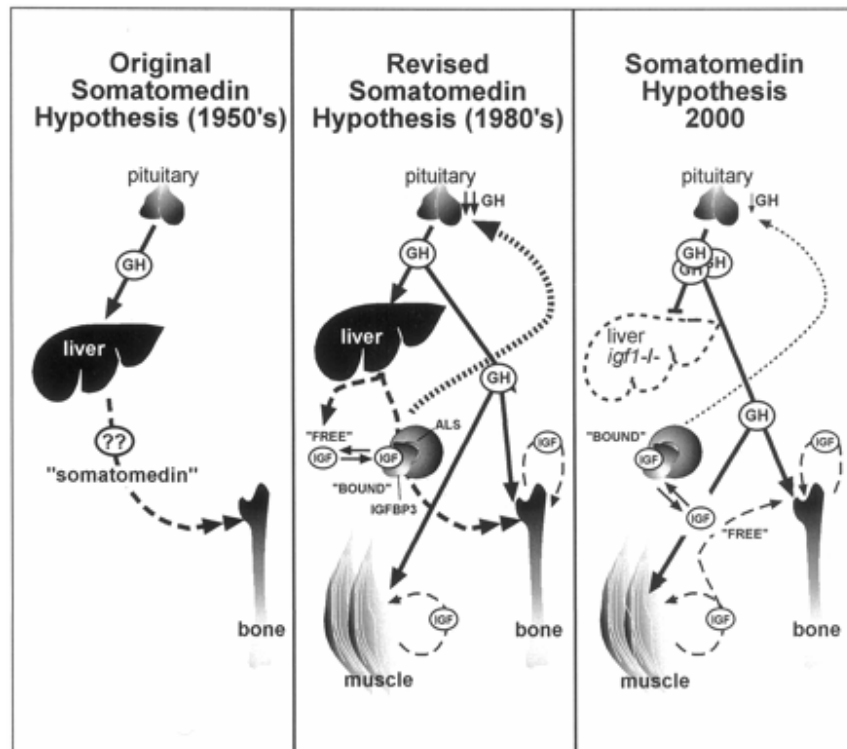


Figura 7. Evolució dels conceptes en la teoria de la somatomedina. La hipòtesi original (esquerra) va proposar que la GH controla el creixement somàtic per l'estimulació de la síntesi d'IGF-I hepàtic. Més tard (mig) es va modificar la hipòtesi quan es descobrí que IGF-I s'expressava a nivell de quasi tots els teixits, el que apuntà a la possibilitat d'un efecte paracrí-autocrí d'IGF-I. A la dreta està esquematitzat la modificació de la teoria a la llum dels experiments més nous d'abolició selectiva de l'expressió d'IGF-I en el fetge, que s'acompanya d'un descens notable de les nivells d'IGF-I i malgrat això el creixement postnatal és normal. Per tant l'IGF-I lliure és aparentment normal i pot jugar un paper en el creixement además de l'IGF-I autocrí-paracrí. L'origen d'aquest IGF-I lliure no ha estat encara determinat. Reproduït de Le Roith i cols. *Endocr Rev* 2001; 22: 53-74, ref. (28).

Experiments recents en els que s'ha aconseguit abolir selectivament l'expressió d'IGF-I a nivell hepàtic han confirmat que l'efecte de la GH sobre el creixement longitudinal no està mediat per l'IGF-I produït a nivell hepàtic que contribueix a un 70% de les concentracions plasmàtiques d'IGF-I (32). L'abolició completa d'IGF-I en

models animals afecta plenament el creixement longitudinal (110). Es pensa doncs, que la GH estimula la diferenciació dels precondròcits de la zona germinal de la placa de creixement epifisària i l'IGF-I produït a nivell local estimularia l'expansió clonal dels condròcits en diferenciació (28). A diferència del paper fonamental de la GH en el creixement longitudinal, l'efecte de la GH en el manteniment de la massa òssia un cop finalitzat el creixement lineal, és encara un tema debatut.

### **2.3.1 PAPER DE LA GH EN EL MANTENIMENT DE LA MASSA ÒSSIA**

La cèl·lula osteoblàstica presenta receptors de GH (111). La GH en models *in vitro* indueix la proliferació de línies cel·lulars osteoblàstiques i la producció de fosfatassa alcalina, osteocalcina i colagen tipus I per part d'aquestes cèl·lules, així com l'expressió de diferents protooncogens (112, 113). La GH és també capaç d'augmentar el nombre i funció dels osteoclastes per mecanismes directes i indirectes (a través de la mediació d'IGF-I i IL-6) (114, 115), encara que la regulació de l'osteoclast per part de GH no és del tot coneguda.

Dos models animals han estat emprats per a estudiar les conseqüències de la deficiència de GH i els efectes del tractament substitutiu sobre el manteniment de la massa òssia. El model de rata hipofisectomitzada i el model de rata nana (dwarf rat: dw/dw). La rata hipofisectomitzada a la que s'administra tractament substitutiu amb glucocorticoids i tiroxina (T4), presenta una pèrdua ràpida d'òs trabecular metafisari i vertebral (116). En aquest model, la pèrdua òssia ve donada tan per una disminució en la formació òssia com per un augment en la resorció, suggerint que la deficiència de GH causa pèrdua de massa òssia. El tractament substitutiu amb GH en aquest model animal,

augmenta la formació i resorció òssies (116, 117). La soca de rata nana ( $dw/dw$ ), es considera un model més pur de deficiència isolada de GH, doncs presenta intactes la resta de funcions hipofisàries. Aquestes rates presenten un volum d'os trabecular baix, una baixa densitat mineral òssia amb concentracions baixes de fosfatassa alcalina, quan es comparen amb rates normals (118). Amb l'administració de GH a dosis substitutives, les concentracions de fosfatassa alcalina, la densitat mineral òssia total i el volum d'os trabecular, es recuperen totalment en comparació amb rates normals (118). Aquests resultats han suggerit que la deficiència aïllada de GH causa pèrdua de massa òssia que pot ser del tot o parcialment recuperada amb l'administració de GH i per tant suggereix que la GH jugaria un paper important en el manteniment de la massa òssia en l'adult.

### **2.3.2 MASSA ÒSSIA EN L'EXCÉS DE GH**

Els pacients amb acromegàlia, presenten un recanvi ossi augmentat, demostrat per un increment en els marcadors bioquímics sèrics i urinaris de resorció i formació òssies (119, 120). El creixement ossi aposicional que condueix a l'eixamplament ossi i finalment a l'osteoartritis és una característica clínica cardinal de l'acromegàlia (121). Estudis histomorfomètrics han demostrat un augment significatiu de la massa òssia cortical i trabecular en cresta ilíaca de malalts amb acromegàlia (122). Igualment, les superfícies tan de formació com de resorció en os trabecular s'han vist augmentades (122). Les dades de densitat mineral òssia (DMO) en malalts amb acromegàlia són més discordants entre els diferents estudis. La DMO ha estat trobada augmentada, normal o disminuïda en comparació amb poblacions control (119, 123, 124). Es creu que aquestes discrepàncies entre estudis són degudes a diferents factors entre els que predomina la

presència d'hipogonadisme que és freqüent en aquests malalts i es creu contrarestaria l'efecte anabòlic de l'excés de GH. Estudis en malalts amb acromegàlia sense hipogonadisme han revelat una DMO normal o més freqüentment augmentada (119, 124). En un estudi recent, Scillitani i cols. (120) van avaluar 23 dones amb acromegàlia activa i les dividiren en dos grups: amb i sense amenorrea. Les compararen amb un grup de 40 dones control similar en quant a índex de massa corporal (IMC) i estat gonadal. En conjunt, les dones acromegàliques presentaren una DMO elevada en comparació amb el grup control. La subanàlisi del subgrup de dones amenorreiques va demostrar que no hi havia diferències entre aquest subgrup i el grup control en quant a DMO. En conclusió, estudis histomorfomètrics i de DMO, posen de manifest que l'excés de GH en la malaltia acromegàlica en pacients amb funció gonadal intacta s'associa amb un augment de massa òssia, abogant per un efecte positiu de la GH sobre la massa òssia.

### **2.3.3 MASSA ÒSSIA EN LA DEFICIÈNCIA DE GH**

Contràriament al model acromegàlic, malalts amb deficiència de GH, tan d'inici en edat adulta com d'inici en la infantesa, presenten una DMO disminuïda (62, 96, 125, 126). Val a dir que, si bé això s'ha trobat en la majoria d'estudis, no tots han estat concordants. De Boer i cols. van portar a terme un estudi observacional en 70 homes amb deficiència de GH d'inici en la infantesa (96). Aquests autors varen calcular la DMO corregida per l'àrea òssia (donat que aquests malalts presenten uns ossos més petits). A columna lumbar i maluc, la DMO es trobà disminuïda i el grau de pèrdua òssia va ser comparable en pacients tan amb deficiència de GH aïllada com amb presència de múltiples defectes hormonals. Aquestes dades suggereixen que la deficiència de GH és

un dels factors implicats en la baixa DMO observada en aquests malalts. Anàlogament Wüster i cols. (62) en una població de 122 pacients amb hipopituitarisme van trobar que el 57% presentà DMO baixa a columna i el 73% a avantbraç proximal. Rosen i cols. van estudiar 95 homes i dones amb deficiència de GH d'inici en edat adulta i van trobar que tan homes com dones amb o sense deficiència gonadal presentaven una DMO baixa en comparació amb una població control (125). Altres investigadors han trobat DMO normal en malalts amb hipopituitarisme (127, 128).

La prevalença de fractures en malalts amb hipopituitarisme va ésser estudiada per Rosen i cols. en 107 malalts amb deficiència de GH d'inici en edat adulta i comparada amb dades obtingudes de l'estudi poblacional MONICA realitzat a la mateixa àrea geogràfica (129). Els pacients van presentar un risc de fractura tres cops superior als de la població control (odds ratio: 3.49). Factors de confusió com l'hipogonadisme en malalts amb hipopituitarisme van contribuir probablement a aquesta troballa. Més recentment un grup d'autors han examinat la freqüència de fractures en un dels estudis de farmacovigilància del tractament substitutiu amb GH (130). La conclusió és que els malalts amb hipopituitarisme en tractament substitutiu convencional tenen un risc elevat de patir fractures òssies. Fins el moment cap estudi aleatoritzat ha estat dissenyat per a demostrar l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre la incidència de fractures.

## **2.4 MORTALITAT CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB DEFICIÈNCIA DE GH**

L'expectativa de vida en malalts amb hipopituitarisme en tractament convencional anys enrera es va considerar normal (131). Fins i tot es va proposar que la deficiència de GH conferia una protecció cardiovascular quan hi havia hiperlipidèmia concomitant (132). Rosen i cols. varen ser els primers en reportar que l'expectativa de vida en aquests malalts estava disminuïda (133). Estudiaren retrospectivament els registres de 333 malalts amb el diagnòstic d'hipopituitarisme que varen ser tractats a la seva clínica de Goteborg entre el 1956 i el 1987. Cent quatre malalts van morir en el període de l'estudi i aquesta taxa de mortalitat fou superior a la de la població sueca (observada/esperada: 1,8,  $p < 0,001$ ). L'excés de mortalitat va ésser degut a causes cardiovasculars. Infart de miocardi, cardiopatia isquèmica amb insuficiència cardíaca i malaltia cerebrovascular foren les causes més freqüents de mortalitat. Bulow i cols. de Lund (Suècia), van estudiar també les causes de mortalitat en un grup de 344 pacients diagnosticats d'hipopituitarisme entre el 1952 i el 1992. Aquest estudi trobà un increment en la taxa de mortalitat total (la taxa de mortalitat estàndard -SMR- fou 1,75) i fou sobretot a expenses d'un augment de la mortalitat per malaltia cerebrovascular (134). Ademés aquest increment en la mortalitat per malaltia cerebrovascular fou especialment marcat en dones (SMR en dones: 2,39, en homes: 1,54). Wüster i cols.(62) en la seva població de malalts amb hipopituitarisme d'Alemania, varen confirmar els mateixos resultats en un estudi observacional. La freqüència d'episodis ateroscleròtics (infart de miocardi i accidents vasculars cerebrals), fou molt superior que la de la població alemana. Un estudi del Regne Unit (135), tot i que trobà un excés de mortalitat en malalts amb hipopituitarisme

(SMR: 1,73), no trobà una taxa de mortalitat de causa cardiovascular augmentada. Recentment, les dades d'aquests estudis retrospectius s'han confirmat en un gran estudi prospectiu realitzat al Regne Unit (136, 137). Tomlinson i cols. estudiaren una cohort de 1014 pacients amb hipopituitarisme (parcial o total) tractats amb tractament substitutiu convencional durant 10 anys. Foren exclosos els pacients amb antecedents d'acromegàlia i Cushing. La mortalitat cardiovascular mesurada per la taxa de mortalitat estàndard o SMR fou del 1,87 (rang:1,62-2,16) per la població estudiada en global. L'anàlisi univariat posà de manifest que la mortalitat fou superior en dones que en homes (SMR=2,29 vs. 1,57), en pacients joves, en pacients amb diagnòstic de craniofaringioma (SMR= 9,28 vs. 1,61) i en pacients que havien rebut radiació (SMR= 2,32 vs. 1,66). L'excés de mortalitat va ser atribuït a causes cardiovasculars (SMR=1,82) i cerebrovasculars (SMR=2,44). Cap deficiència hormonal en concret va ésser associada amb un excés de mortalitat llevat de la deficiència gonadal no tractada. L'anàlisi multivariat indicà que l'edat al diagnòstic, el sexe, el diagnòstic de craniofaringioma i la deficiència gonadal no tractada foren els factors independents associats amb mortalitat. Aquest estudi, confirma doncs, que els malalts amb hipopituitarisme tenen un excés de mortalitat en comparació amb la població general i això és degut sobretot a causes cardiovasculars, no obstant, no suggereix un paper específic de la deficiència de GH en aquest increment de mortalitat, tot i que amb alta probabilitat el grup estudiat, en relació a la població general presentava deficiència de GH en menor o major grau.



## 2.5 MORTALITAT CARDIOVASCULAR EN PACIENTS AMB ACROMEGÀLIA

Nombrosos estudis han avaluat l'impacte de l'acromegàlia sobre la mortalitat global i sobre la cardiovascular (138-146). Tots els estudis existents són retrospectius i tots, llevat d'un (142), estudien un nombre petit de malalts. La majoria dels estudis tenen importants consideracions metodològiques, així, dels estudis més recents, Orme i cols (142), que inclouen 1362 pacients amb acromegàlia de diferents centres, només recuperen 1239 i no exposen les característiques clíniques o de tractament dels malalts en relació a la mortalitat. La conclusió general és que l'acromegàlia s'associa a un increment de la mortalitat general i en particular de la mortalitat de causa cardio-vascular i cerebrovascular. Orme i cols. (142), així com Rajasoorya i cols. (143) conclouen que les concentracions de GH post-tractament serien predictives de mortalitat encara que aquesta conclusió és imprecisa doncs en cap dels estudis aquesta GH post-tractament està ben definida o estandaritzada. Un altre concepte que també es repeteix entre estudis és que la mortalitat és superior en els malalts no curats d'acromegàlia que en els curats, inclús en aquests la mortalitat fou equiparable a la de la població general en un dels estudis més recents (144). En la Taula 2 es recull un esquema dels estudis més representatius i els seus resultats.

**Taula 2. Causes de mort en l'acromegàlia**

| <b>Autor</b> | <b>n</b> | <b>Total morts</b> | <b>Cardiovascular</b> | <b>Cerebrovascular</b> | <b>Respiratòries</b> | <b>Neoplàsies</b> | <b>Altres</b> |
|--------------|----------|--------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|-------------------|---------------|
| Alexander    | 164      | 45 (3,3)           | 13 (2,9)              | 14 (8,2)               | 7 (3,9)              | 7 (1,9)           | 4             |
| Nabarro      | 266      | 47 (1,3)           | 19 (1,5)              | 7 (2,2)                | 3 (1,4)              | 11 (1)            | 7             |
| Wright       | 194      | 55 (1,9)           | 13 (1,6)              | 8 (2,8)                | 10 (3,3)             | 10 (1,4)          | 14            |
| Bates        | 79       | 28 (2,6)           |                       | 16                     | 7                    | 3                 | 2             |
| Bengtsson    | 166      | 62                 | 21                    | 11 (3,6)               | -                    | 15 (2,7)          | 15            |

|            |      |          |         |         |       |         |   |
|------------|------|----------|---------|---------|-------|---------|---|
| Etxabe     | 74   | 10 (3,2) | 3 (2,7) | -       | -     | 5 (7,1) | 2 |
| Rajasoorya | 151  | 32       | 15 (3)  | 5 (3,3) | -     | 3 (1)   | 9 |
| Swearingen | 162  | 12 (1,8) | -       | -       | -     | -       | - |
| Orme       | 1420 | (1,8)    | (2,5)   | (2,6)   | (4,8) | (1,7)   | - |

---

Cada cel·la expressa nombre absolut de morts i entre parèntesi la raó entre morts observades/esperades

## 2.6 MALALTIA ARTERIAL PERIFÈRICA EN MALALTS AMB HIPOPITUITARISME

Estudis emprant ultrasonografia d'alta resolució han investigat la morfologia de les artèries femorals i carotídiades de malalts amb hipopituitarisme. Markussis i cols. (147) a l'any 1992 van reportar que el gruix de l'íntima-mitja carotídia estava augmentat en pacients amb deficiència de GH. Aquest gruix s'ha associat amb risc de patir episodis cardiovascular segons han demostrat estudis epidemiològics (148). Els resultats de Markussis i cols. han estat posteriorment confirmats per altres grups tan en malalts amb deficiència de GH d'inici en edat adulta (149) com d'inici en la infantesa (150). També s'han estudiat el nombre de plaques d'ateroma present en artèries carotídiades de malalts amb hipopituitarisme i tan el percentatge de malalts que presentaren plaques com el nombre de plaques per artèria, foren superior en malalts amb hipopituitarisme que en controls (147). Markussis i cols. també van valorar l'elasticitat arterial mitjançant el coeficient de distensibilitat, el coeficient de compliança i l'índex de rigidesa arterial (índex beta), que es calcula a partir dels canvis en el diàmetre arterial i la pressió arterial braquial. Aquestes mesures representen canvis vasculars que predisposen al desenvolupament de malaltia arterial major i canvis en la compliança aòrtica s'han relacionat amb canvis en artèries coronàries (151). Tan el coeficient de distensibilitat com el de compliança van ser inferiors i l'índex beta de rigidesa superior en malalts amb

hipopituitarisme en tractament convencional en comparació amb controls. Tot i així, sembla que la hipertensió arterial no és una característica dels malalts amb hipopituitarisme (152). Alguns estudis han trobat un augment en la prevalença d'hipertensió en malalts amb hipopituitarisme en tractament convencional respecte a controls (62, 153), però es creu que això podria ésser degut a un biaix de selecció, doncs aquests malalts reben una major atenció mèdica.

## **2.7 FACTORS DE RISC CARDIO-VASCULAR EN MALALTS AMB DEFICIÈNCIA DE GH**

### **2.7.1 OBESITAT, COMPOSICIÓ CORPORAL I DISTRIBUCIÓ REGIONAL DEL GREIX**

La importància de l'obesitat com a factor de risc cardiovascular independent és prou coneguda però és més important la distribució del greix corporal (154, 155). L'obesitat central s'associa amb un increment en la morbi-mortalitat cardiovascular i amb altres factors de risc de malaltia cardiovascular com ara són la hiperlipidèmia i la resistència a la insulina (154, 155). L'obesitat és una característica clínica prevalent en malalts amb hipopituitarisme (62, 91, 97, 152). Un estudi observacional multicèntric realitzat a Espanya confirmà aquesta troballa (156). Els malalts amb hipopituitarisme presenten una composició corporal alterada amb un augment del greix corporal total (62, 91, 97). Aquest augment, és precisament de distribució central com es comprova per un increment en l'índex cintura/cadera (90, 96, 157). Per tècniques d'imatge més sofisticades com la DXA i la ressonància magnètica nuclear, s'ha comprovat que aquest increment del greix central és preferentment a expenses del compartiment visceral, fet que en la població general s'associa a risc cardiovascular (157, 158).

### **2.7.2 TOLERÀNCIA A LA GLUCOSA I RESISTÈNCIA A LA INSULINA**

L'hipopituitarisme no tractat en humans, s'associa amb un augment en la sensibilitat a la insulina (159). Estudis realitzats en 1966 varen demostrar que després d'una infusió endovenosa d'insulina, els malalts amb hipopituitarisme presentaven un

descens de glucosa més accentuat i cert retard en recuperar-se de la hipoglucèmia (160). La hipoglucèmia és una característica del quadre clínic de la deficiència de GH en la població pediàtrica (161). No obstant, l'hipopituitarisme tractat amb teràpia convencional, s'associa més sovint amb intolerància a la glucosa i insulín-resistència (152). Dos estudis observacionals amb gran nombre de malalts, varen trobar la mateixa freqüència de diabetis mellitus en pacients amb hipopituitarisme que en població general (62, 153). Un altre estudi que va emprar el test de tolerància oral a la glucosa (TTOG) per a definir diabetis i intolerància a la glucosa, va trobar una major freqüència tan de diabetis com d'intolerància a la glucosa en malalts amb hipopituitarisme, especialment si eren dones i en pacients obesos (152). Alguns estudis han trobat una insulínèmia basal més elevada en pacients amb hipopituitarisme que en controls (157), però altres no (162). Utilitzant l'Homeostasi Model of Assesment (HOMA), Weaver i cols. (157) trobaren que l'índex de sensibilitat insulínica (IS) estava reduït al 43% del normal i que la funció beta cel·lular estava adequadament elevada (174%) per compensar. Es considera doncs, que els malalts amb hipopituitarisme en tractament convencional, presenten més intolerància a la glucosa i insulín-resistència que subjectes sans i això podria contribuir a l'elevat risc cardiovascular que presenten.

### **2.7.3 LÍPIDS I LIPOPROTEÏNES**

Diferents estudis transversals han avaluat el perfil lipídic en malalts amb hipopituitarisme en comparació amb controls. Wuster i cols. (62) trobaren que el 77% dels malalts amb hipopituitarisme en tractament convencional, presentaren un perfil lipídic anormal, ja fora en forma d'hipercolesterolèmia (42%) o d'hipertrigliceridèmia

(68%) i aquesta proporció fou significativament superior a la trobada en l'estudi poblacional PROCAM realitzat a la mateixa àrea geogràfica. De forma similar, Rosen i cols. trobaren unes concentracions superiors de triglicèrids i inferiors de HDL colesterol en pacients amb hipopituitarisme que en controls de l'estudi poblacional MONICA (153). Aquestes troballes s'han confirmat en altres estudis observacionals en els que es comparà una població de malalts amb hipopituitarisme amb una població control similar en quan a sexe, edat i IMC (163-165). Altres troballes en malalts amb hipopituitarisme han estat: concentracions superiors d'apolipoproteïna B i inferiors d'apolipoproteïna A1 (152). Aquest perfil lipídic s'ha associat amb alt risc cardiovascular.

Més enllà d'alteracions en les concentracions de lipoproteïnes també s'han trobat defectes en l'estructura de les LDL. Les partícules LDL són les principals lipoproteïnes transportadores del colesterol circulant. Les partícules LDL presenten important heterogeneïtat en quant a tamany, composició i densitat i això s'ha relacionat amb el risc aterogènic de les mateixes, així doncs, les LDL més petites i denses serien més aterogèniques (166). O'Neal i cols. (164) estudiaren el tamany de les partícules LDL per electroforesi de gradient en gel no desnaturalitzant en malalts amb hipopituitarisme en tractament convencional en comparació amb controls. Les LDL foren més petites en els malalts que en controls (25,9 vs. 26,2 nm,  $p < 0,005$ ).

## **2.8 FACTORS DE RISC CARDIO-VASCULAR EN MALALTS AMB ACROMEGÀLIA**

L'acromegàlia es caracteritza per una prevalença elevada d'alteracions cardiovasculars i per un increment en la mortalitat cardiovascular. L'anomalia estructural

més comú en el pacient amb acromegàlia és la hipertròfia concèntrica cardíaca i la cardiomegàlia. En molts pacients és assintomàtica i només s'evidencia quan s'associa a altres alteracions cardiovasculars. La hipertensió arterial (HTA) és freqüent. Altres complicacions cardiovasculars són les arrítmies ventriculars, la malaltia coronària i la insuficiència cardíaca congestiva. La prevalença de malaltia coronària a l'acromegàlia no és ben coneguda, oscil·lant entre el 3 i el 37% de pacients segons sèries. La sèrie de Nabarro de 256 pacients, no va objectivar un increment de malaltia coronària respecte a la població general (146). La majoria de sèries són antigues incloent pacients amb llargs períodes de malaltia activa. De fet, estudis post-mortem, han evidenciat normalitat dels vasos coronaris majors, amb engruiximent i hialinització de petites branques intramurals (167). La incidència d'angina i infart de miocardi en pacients amb acromegàlia no és particularment elevada (167).

### **2.8.1 HIPERTENSIÓ ARTERIAL**

La hipertensió arterial és una de les característiques clíniques cardinals de la malaltia acromegàlica. La prevalença d'HTA en pacients amb excés de GH s'ha estimat entre el 30 i el 50% (168, 169). Aquesta varia segons sèries i segons la metodologia emprada en el diagnòstic, així Pietrobelli DJ i cols. en una sèrie de 25 pacients amb acromegàlia trobaren HTA en el 56% per mesura estàndard de TA amb esfigmomanòmetre i d'un 40% en el mateix grup, per monitorització ambulatoria de TA durant 24 hores (169). El perfil de 24 hores de TA en els pacients acromegàlics es caracteritza per una elevació de les tensions sistòlica i diastòlica mitjes (170) així com una elevada prevalença de perfil pla sense descens nocturn (169, 170). La patogènia de la

HTA en l'excés de GH no és ben coneguda. Es considera que la GH té un efecte antinatriurètic que explicaria l'excés d'aigua extracel·lular en la acromegàlia o el descens en la deficiència de GH així com la simptomatologia de retenció hídrica en les fases inicials del tractament amb GH. La contribució del sistema renina-angiotensina a l'elevació de la TA és debatuda, així, alguns han trobat concentracions de renina elevades però no d'aldosterona en pacients amb acromegàlia (171), però no altres. Ogihara i cols. utilitzant un antagonista competitiu de l'angiotensina II en 5 pacients amb acromegàlia observaren una resposta pressora positiva (ademés de trobar concentracions basals de renina i aldosterona inferiors a pacients control), indicant la no implicació d'aquest sistema en la HTA de l'excés de GH (172). També s'ha implicat el factor natriurètic atrial en la patogènia de la HTA a l'acromegàlia, però els resultats també són poc sòlids i alguns contradictoris. Soszynski i cols, van trobar concentracions elevades de factor natriurètic atrial en pacients amb acromegàlia i HTN (173). Altres autors han reportat un descens de les concentracions de FNA amb el tractament exògen amb GH (174). La no elevació del FNA amb la infusió de sèrum salí en pacients amb acromegàlia trobada per McKnight i cols. els portà a concloure que la manca de regulació d'aquest pèptid podria estar implicada en la patogènia de la HTA en aquests malalts (175). Cuneo i cols. demostraren un increment en els nivells de renina sense increment en els d'aldosterona durant sis mesos de tractament amb GH (a dosis suprafisiològiques), en un grup de 12 pacients amb deficiència de GH. (176). Resultats concordants foren reportats per Hoffman i cols (177), emprant dues dosis de GH (una més fisiològica i l'altra suprafisiològica) que a la seva vegada, no trobaren canvis en el factor natriurètic atrial, conclouent que l'efecte antinatriurètic i d'expansió de fluid observat amb l'administració de



GH no és produït per un increment en la síntesi d'aldosterona sinó per un mecanisme tubular directe. Recentment, Bohlooly i cols. en un model transgènic de ratolí amb sobreexpressió de GH van trobar TA elevada acompanyada d'un descens en el diàmetre arterial de la vasculatura sense diferències respecte a ratolins control en la resposta de la vasculatura a la norepinefrina, potassi, acetilcolina o nitroprusiat, conclouent que la HTA en aquest model s'explicaria per un increment estructural en les resistències vasculars perifèriques (178).

### **2.8.2 RESISTÈNCIA A LA INSULINA I TOLERÀNCIA A LA GLUCOSA**

L'acromegàlia s'acompanya de resistència a la insulina. Estudis clàssics de la dècada dels seixanta i vuitanta, demostraren que la caiguda dels nivells de glucosa durant els tests de tolerància insulínica i tolbutamida eren escasses en malalts amb acromegàlia (179, 180). La captació de glucosa en múscle d'avantbraç deprés d'insulina intraarterial es trobà disminuïda, així com la utilització de glucosa, i la supressió de la producció hepàtica de glucosa durant el clamp euglucèmic en malalts amb acromegàlia (69). La incidència d'alteracions del metabolisme hidrocarbonat en malalts amb acromegàlia és elevada. Així, un 24-45% de pacients presenten intolerància oral a la glucosa i un 15-40% diabetis franca, que generalment no és insulín-depenent (168, 181, 182). La curació de la malaltia amb cirurgia, bromocriptina i anàlegs de la somatostatina millora la resistència insulínica i la diabetis (183-185), encara que els anàlegs de la somatostatina, a l'inici del tractament i de forma transitòria, poden empitjorar la tolerància a la glucosa (184, 186).

### **2.8.3 LÍPIDS I LIPOPROTEÏNES**

La GH té acció lipolítica, això condiona en part la hipertrigliceridèmia que es troba en el 13-44% dels pacients amb acromegàlia (187, 188). Les xifres de colesterol en aquests malalts són generalment comparables a les de la població general (187, 189), mentre que els nivells de lipoproteïna (a) es troben elevats (187). El tractament efectiu de la malaltia amb cirurgia i octreotide disminueix les xifres de triglicèrids (187, 188) i lipoproteïna (a) (187).

## **3 EFECTES DEL TRACTAMENT SUBSTITUTIU AMB GH EN ADULTS**

### **3.1 COMPOSICIÓ CORPORAL**

#### **3.1.1 MASSA GRASSA, MASSA MUSCULAR I AIGUA CORPORAL**

Nombrosos estudis han avaluat l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre la composició corporal (89, 91, 98, 102, 190, 191). Aquests estudis (molts d'ells aleatoritzats i controlats amb placebo) han demostrat de manera consistent que el tractament substitutiu amb GH disminueix la massa grassa i augmenta la massa magra. Val a dir que les dosis emprades en els diferents estudis han estat força heterogènies. Així doncs, els primers treballs (91), influenciats per les dosis emprades en pediatria, varen administrar dosis suprafisiològiques (de l'ordre de 0,07 IU/kg/dia = 23 µ/kg/dia), mentre que estudis posteriors (191), administraren dosis molt inferiors (dosi mitja de 6 µ/kg/dia). La massa muscular en els diferents estudis va incrementar de 2 a 5,5 kg amb el tractament amb GH, tant en malalts adults amb deficiència de GH d'inici edat pediàtrica com adulta (Figura 8). En contraposició, la massa grassa va disminuir de l'ordre de 4-6 kg amb el tractament amb GH (89, 91, 98, 102, 190, 191) (Figura 8). Per mesures antropomètriques s'ha demostrat que la reducció més important té lloc a la regió abdominal (91). És més, estudis d'imatge com la ressonància magnètica nuclear (RMN) o la tomografia axial computeritzada (TAC) han demostrat que aquesta reducció en el greix abdominal es produeix sobretot a expenses del compartiment visceral (98, 158).

Estudis emprant impedanciometria bioelèctrica i tècniques de dilució de radionúclids han demostrat que el tractament amb GH augmenta l'aigua corporal total (98, 192, 193), particularment el compartiment extracel·lular, en els primers 3-5 dies de tractament (96, 171, 177). L'efecte antinatriurètic del tractament substitutiu amb GH es pensa que vindria mediat tan per una acció directa de GH o IGF-I en el transport tubular de sodi, com per una activació del sistema renina-angiotensina (171, 177).

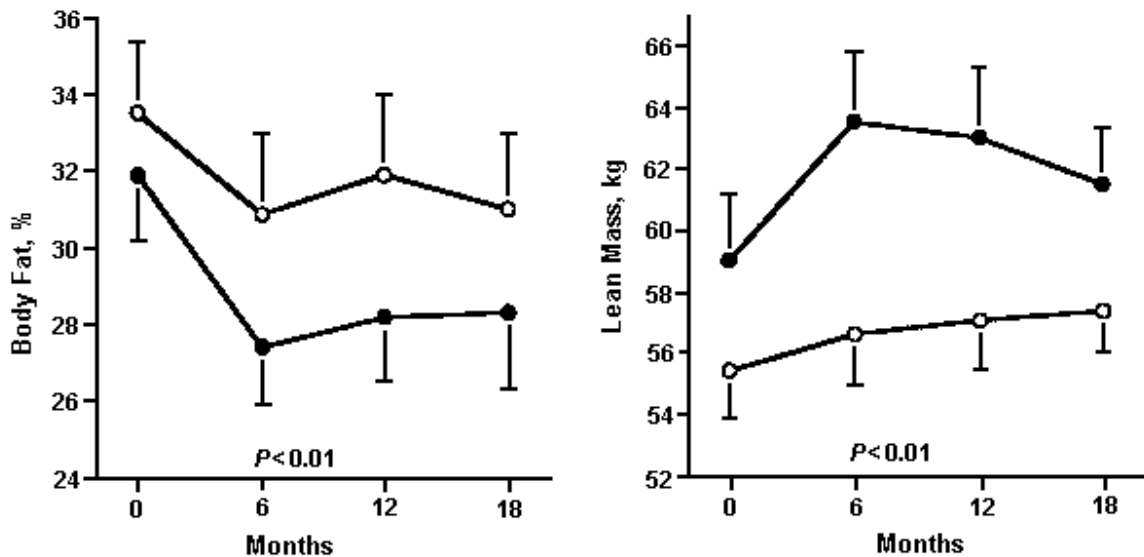


Figura 8. Percentatge de massa grassa i de massa magra determinat per DXA en homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta tractats amb GH (●) o placebo (○). Les barres d'error representen  $\pm 1$  SE. Obtingut de Baum i cols., *Ann Intern Med* 1996, 125:883-890, ref (191).

### **3.1.2 METABOLISME OSSI**

#### **3.1.2.1 Marcadors de remodelament ossi**

El tractament substitutiu amb GH en adults amb deficiència de GH, augmenta les concentracions plasmàtiques de marcadors de formació òssia (osteocalcina, propèptid carboxi-terminal del procòlagen tipus I-PICP- i fosfatassa alcalina) i de resorció (piridinolines urinàries, cross-links del colàgen i telopèptid carboxiterminal del procòlagen tipus I –ICTP-), compatible amb una estimulació del remodelament ossi (171, 177, 190, 191, 194-199) (Figura 9). El tractament amb GH també ha demostrat elevar les concentracions d'IGF-I (191, 195, 200-203). L'increment de marcadors de remodelament ossi durant el tractament amb GH, és una troballa constant entre els diferents estudis, alguns han demostrat que és un efecte dosi- dependent (204, 205). Alguns autors han demostrat que l' increment dels marcadors de resorció fou màxim als 3 mesos, en canvi, el pic de marcadors de formació es donà als sis mesos de tractament (198, 199). Per aquesta raó, s'ha postulat que podria haver un acoplament temporal entre marcadors, amb la resorció precedint la formació durant el remodelament ossi en el tractament de l'adult amb GH (198). Després de dos anys de tractament, els marcadors de remodelament ossi continuaven elevats, pel que es pensa que el tractament amb GH té un efecte sostingut en l'òs. L'administració de GH en l'adult s'ha associat també amb un increment en el calç plasmàtic (98, 198, 206). Per explicar aquest fenomen, s'ha suggerit que la GH podria augmentar la concentració o la disponibilitat de la vitamina D3. Una hipòtesi alternativa proposa que l'augment de calç es deuria a un augment en la mobilització del calç degut a l'augment en el remodelament ossi.

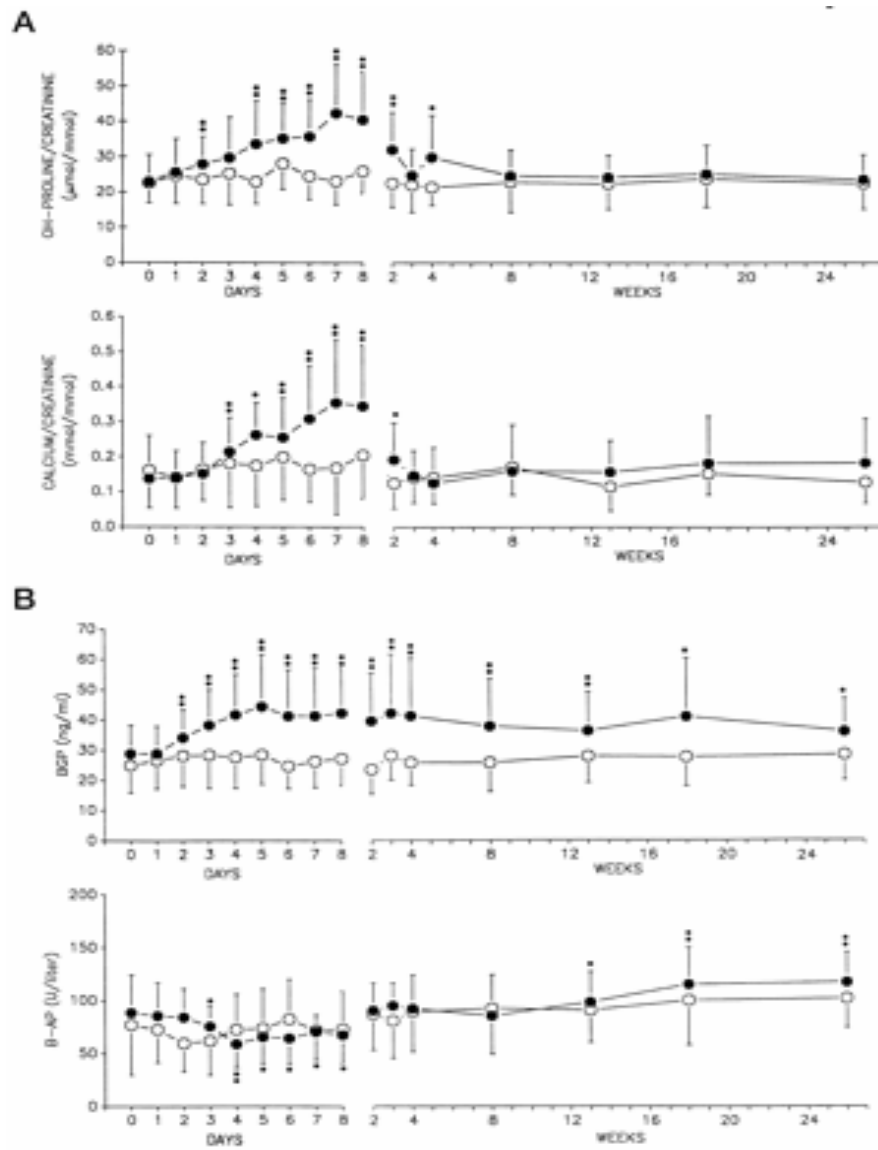


Figura 9. Efecte de 7 dies de tractament amb GH (●) i placebo (○) sobre marcadors de resorció òssia (A) i formació òssia (B) mitja  $\pm$  SD en voluntaris sans. La dosi de GH fou de 0,1 UI/Kg/ dos cops per dia administrada via subcutània. \*  $P < 0,05$  i \*\*  $P < 0,01$  en la diferència respecte als valors pretractament. Panel A: OH-prolina/creatinina en orina i calç/creatinina en orina. Panel B: BGP: bone-gla protein, B-AP: fosfatassa alcalina òssia. Reproduït de Brixen i cols.: *J Bone Miner Res* 1990; 5: 609-618.

### **3.1.2.2 Densitat mineral òssia**

Els estudis realitzats en adults amb deficiència de GH d'inici en edat pediàtrica, varen donar resultats conflictius en quan a la repercussió del tractament sobre la massa òssia. Diversos estudis de curta durada (6-12 mesos) controlats amb placebo (102, 196, 207) o amb disseny obert (190, 208), reportaren un efecte nul o fins i tot alguna davallada de la DMO després del tractament amb GH. O'Halloran i cols. (209) en contrast amb aquests estudis, varen demostrar per tomografia computeritzada quantificada (QCT) un increment en la DMO de pacients adults amb deficiència aïllada de GH, després de 6 mesos de tractament substitutiu. Estudis de més llarga durada (12-30 mesos) en pacients amb deficiència de GH d'inici en edat pediàtrica, ja van reportar resultats més positius. Degerblad i cols. (210), van mostrar un increment de la DMO a nivell d'avantbraç distal i proximal del 12 i 3,8% respectivament en 6 pacients. Vanderweghe i cols.(196), després de 30 mesos de tractament amb GH reportaren un augment progressiu en el contingut mineral ossi (BMC) del 7,8% a la columna lumbar i del 9,9% a l'avantbraç.

Estudis en pacients amb deficiència de GH d'inici en edat adulta, anàlogament als mencionats en la deficiència de GH d'inici en la infantesa, presentaren resultats similars. Estudis de curta durada (de 6 a 12 mesos), no mostraren cap increment en la DMO (194, 197, 198, 206, 211). Alguns, trobaren una disminució de la DMO als 6 mesos de tractament en diferents localitzacions (211) o als 12 mesos de tractament (198). Baum i cols van ser els primers en reportar un increment en la DMO amb el tractament amb GH (191). Estudiaren 32 homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta. L'estudi fou aleatoritzat i controlat amb placebo. Els autors trobaren un increment en la DMO a columna lumbar del 5,1% i a coll femoral del 2,4 % després de 18 mesos de tractament,

utilitzant dosis de GH ajustades per mantenir nivells d'IGF-I en el rang normal (Figura 10).

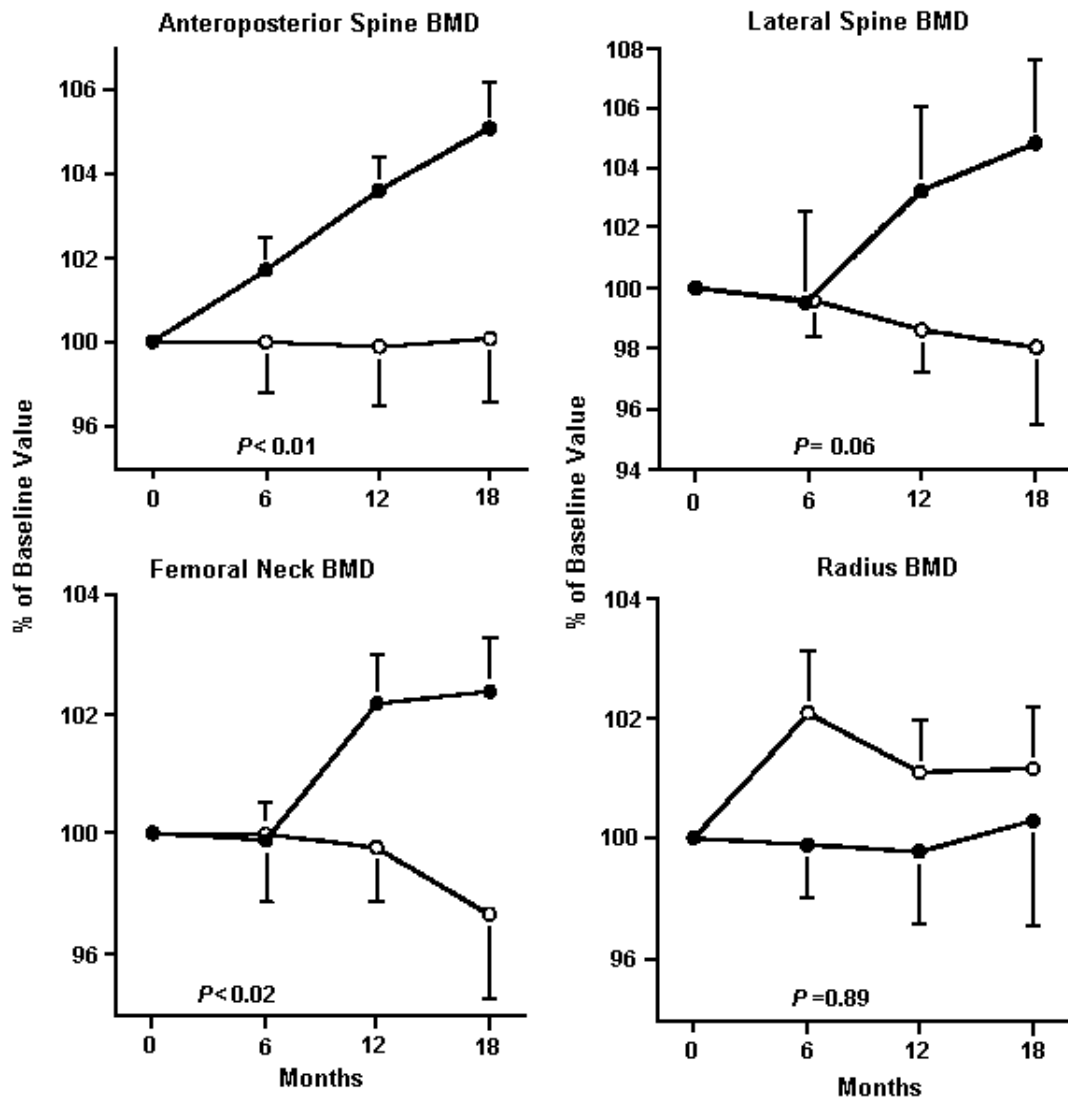


Figura 10. Densitat mineral òssia (DMO) en columna lumbar projeccions anterior i lateral, i en el terç distal del radi determinat per DXA en homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta tractats amb GH (●) o placebo (○). Les barres d'error respresenten  $\pm 1$  SE. Obtingut de Baum i cols., *Ann Intern Med* 1996; 125:883-890, ref (191).



Posteriorment Johansson i cols. (199) van confirmar aquests resultats en un estudi obert de 2 anys de durada que va incloure 24 homes i 20 dones i on s'observà un increment de la DMO en diverses localitzacions amb el tractament amb GH (increment del 3.8% a columna lumbar, 4.1% a coll femoral, 5.6% a trocànter i 4.9% al triangle de Wards). Altres estudis de 18 mesos a 4 anys de durada han confirmat aquest efecte, reportant de forma consistent increments en la DMO del 2 al 10%, sobretot a columna i maluc (127, 128, 212-215). Kann i cols. varen trobar un augment en la DMO a avantbraç proximal i distal, además de columna lumbar, després de 4 anys de tractament amb GH (212). En aquest mateix estudi, els autors notaren una disminució de la DMO als 6 mesos en columna i als 12 mesos a avantbraç. Ohlsson i cols. (109) en 1998 proposaren la "teoria de l'acció dual" per explicar l'efecte de la GH en el remodelament ossi (Figura 11). El tractament amb GH resultaria inicialment en un augment del remodelament ossi, amb la resorció òssia precedint la formació i conduint a una pèrdua de massa òssia inicial, seguida posteriorment d'un increment en la DMO. De tot això se'n dedueix que el tractament amb GH ha de mantenir-se durant un període mínim (calculat aproximadament en 18 mesos) per a assegurar un suficient nombre de cicles de remodelament ossi i temps suficient per a completar-se la mineralització de la matriu òssia per que sigui possible detectar un efecte sobre la massa òssia per DXA.

Estratègies d'associació d'un agent antiressortiu com els bifosfonats al tractament amb GH han demostrat minimitzar l'increment inicial en els marcadors de resorció òssia i la davallada inicial de la DMO (216), resultant en un increment de la DMO als 6 mesos de tractament combinat.

### "The Biphasic Model" of GH-action in bone remodelling

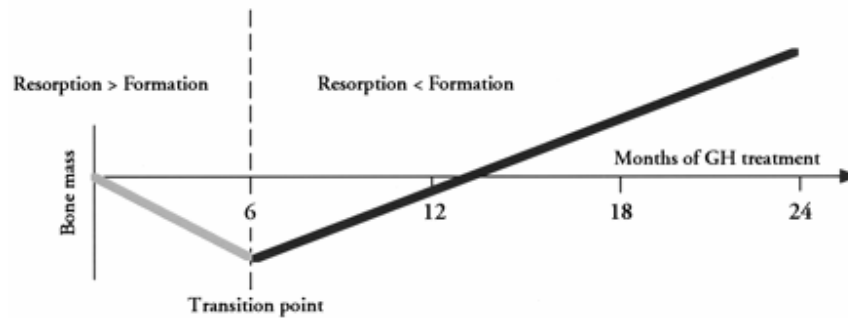


Figura 11. Acció bifàsica de la GH en el remodelament ossi. D'acord amb aquest model, la GH produeix inicialment un increment del remodelament ossi amb predomini de la resorció que condueix a la pèrdua de massa òssia. Posteriorment quan la formació òssia predomina sobre la resorció (punt de transició), la massa òssia augmenta. Reproduït de Ohlsson i cols. *End Revs* 1998;19: 55-79, ref (109).

Dades histològiques del tractament substitutiu amb GH han estat proporcionades per Bravenboer i cols. (217). Estudiaren 36 homes amb deficiència de GH tan isolada com associada a altres deficiències hormonals, observant un increment en el gruix cortical no acompanyat de canvis en l'os trabecular després de 6 mesos de tractament. Paràmetres de formació òssia com la superfície d'osteoid, la superfície mineralitzant i la taxa de formació òssia van trobar-se augmentades. El nombre d'osteoclasts també augmentà, mentre que la superfície erosionada no va mostrar canvis.

Diversos investigadors han constatat una resposta diferent al tractament substitutiu amb GH en homes que en dones. És conegut que la resposta d' IGF-I al tractament amb GH és superior en homes (128, 218). Valimaki i cols. (215) estudiaren un grup de 71 malalts (44 homes i 27 dones), trobant que els homes presentaren un major increment de la DMO en diferents localitzacions.

### **3.1 FACTORS DE RISC CARDIOVASCULAR**

#### **3.1.3 PERFIL LIPÍDIC**

Els efectes del tractament substitutiu amb GH sobre el perfil lipídic també són controvertits (Taula 2). La GH incrementa el nombre i el mRNA dels receptors hepàtics de les lipoproteïnes de baixa densitat (LDL) (219). Diferents estudis han trobat una reducció de les concentracions de colesterol total i de LDL amb el tractament substitutiu amb GH (163, 219-222), però no tots (223). Un llistat de diferents assaigs clínics controlats amb les troballes més significatives a nivell lipídic s'ha representat en la Taula 3. Cal considerar que la majoria d'aquests estudis varen emprar dosis molt elevades de GH, molt superiors a les que fem actualment. Tot i això, només alguns d'ells reportaren valors de seguiment d'IGF-I suprafisiològics (221, 222). Una altra limitació dels estudis representats és que la durada del tractament amb placebo va ser curta (habitualment 6 mesos) i molts cops els resultats significatius es van trobar només en la fase oberta de seguiment (224), pel que no constitueixen evidència científica de que l'efecte sigui explicable per la intervenció, és a dir, pel tractament substitutiu amb GH. Ademés del descens de les concentracions de LDL, alguns autors han trobat increment de les concentracions de HDL (222, 223), però això també ha estat una troballa inconsistent (163, 221). En canvi, no s'han observat canvis significatius en les concentracions de triglicèrids en els malalts amb tractament substitutiu amb GH (157, 163, 221-223). El que sí s'ha observat uniformement és una elevació de les concentracions de lipoproteïna (a) amb el tractament substitutiu amb GH (157, 222). En el model clínic d'excés de GH, és a dir, en malalts amb acromegàlia activa, s'han descrit nivells elevats de lipoproteïna (a) [Lp(a)] que disminueixen amb el tractament i curació de la malaltia (187), pel que es

pensa que la GH pot ser un important regulador de les concentracions de Lp(a). L'acció de GH sobre les concentracions de Lp(a) no sembla mitjançada per IGF-I, doncs l'administració d' IGF-I s'ha associat amb descens de les concentracions de Lp(a) (225).

---

**Taula 3.** Efectes del tractament substitutiu amb GH sobre lipoproteïnes, glucosa i insulina en adults amb deficiència de GH

---

| Estudi*   | N               | Durada tractament (mesos) | Colesterol total        | HDL colesterol           | LDL colesterol           | Triglicèrids |
|-----------|-----------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|
| Salomon   | 11              | 6                         | Descens 12%             | ND                       | ND                       | No canvi     |
| Jorgesen  | 22              | 4                         | ND                      | ND                       | ND                       | ND           |
| Whitehead | 14              | 6                         | No canvi                | No canvi                 | No canvi                 | No canvi     |
| Bengtsson | 9               | 6.5                       | No canvi                | ND                       | ND                       | No canvi     |
| Cuneo     | 24              | 6                         | Descens 12%             | No canvi                 | Descens 24%              | Descens 24%  |
| Rosen     | 25              | 6-12                      | No canvi                | Augment 12%              | ND                       | No canvi     |
| Beshyah   | 40              | 6-18                      | Descens 26%             | Augment 5%               | Descens 26%              | Augment 8%   |
| Attanasio | AO 52,<br>CO 32 | 6                         | Descens: AO: 8%, CO: 5% | Augment : AO 23%, CO:12% | Descens: AO: 11%, CO: 5% | ND           |
| Cuneo     | 166             | 6                         | Descens 3%              | Augment 8%               | Descens 13%              | No canvi     |

---

ND: no determinat, VE: ventricle esquerre, FE: fracció d'ejecció, GHD: deficiència de GH. \*Només citat primer autor. AO: GHD inici edat adulta, CO: GHD inici edat pediàtrica.

### 3.1.4 METABOLISME HIDROCARBONAT

Si bé s'ha demostrat que l'efecte fisiològic agut de l'administració de GH en l'homeostasi de la glucosa és anti-insulínic, s'ha postulat que amb el tractament mantingut

a llarg termini, els efectes lipolítics i de redistribució de greix corporal podrien contrarestar l'efecte anti-insulínic i retornar la sensibilitat a la glucosa de l'estat deficient en GH. Els resultats dels diferents estudis publicats que avaluen la repercussió del tractament substitutiu amb GH sobre el metabolisme hidrocarbonat són controvertits. Diferents autors han trobat un increment de la glucèmia basal després del tractament amb GH (157, 163, 221, 222, 224) mentre que d'altres no (223). També s'han trobat petits increments en l'insulinèmia basal (157, 163, 221, 222, 224), compatible amb un augment en la insulín-resistència, però això no s'ha acompanyat d'un increment en l'hemoglobina glicosilada. Els estudis que han avaluat la sensibilitat insulínica amb tècniques més complexes són també contradictoris i poc concloents. Fowelin i cols. van estudiar un grup de nou pacients tractats amb GH o placebo durant 26 setmanes utilitzant el clamp euglicèmic (226). Les dosis de GH administrades van ser suprafisiològiques (0.5 U/kg/setmana) i es varen reduir en el curs de l'estudi en alguns pacients per efectes secundaris. A les sis setmanes de tractament amb GH observaren un increment marcat en la resistència insulínica que no s'observà en el grup placebo, però a les 26 setmanes, ja no existien diferències respecte a l'estat basal (inici de l'estudi). El reduït nombre de pacients estudiats fa que la troballa de no diferències respecte a l'estat basal sigui poc significativa, donada l'escassa potència de l'estudi per a detectar diferències, de fet, els valors absoluts mostraren un increment en la insulín-resistència, però les diferències respecte a l'estat basal no foren significatives. Beshyah i cols estudiaren 40 pacients amb dèficit de GH tractats amb GH o placebo durant 6 mesos seguit d'una fase oberta de tractament durant 12 mesos. L'estudi de la sensibilitat insulínica mitjançant el test de tolerància oral a la glucosa amb determinació de glucèmia i insulinèmia cada 30 minuts i

càlcul de l'àrea sota la corba (AUC) per a glucosa i insulina, va indicar un efecte desfavorable a llarg termini del tractament substitutiu amb GH sobre la sensibilitat insulínica (224). Weaver i cols. administraren GH en dosis fisiològiques o placebo a 22 pacients amb deficiència de GH en un estudi controlat durant 6 mesos amb seguiment obert fins els 12 mesos (157). La sensibilitat insulínica segons l' "Homeostasi Model of Assessment" (HOMA) va disminuir als 6 i 12 mesos de tractament amb GH. Hwu i cols. realitzaren un estudi utilitzant el test modificat de supressió insulínica (MIST) (223). En aquest cas, els autors reportaren una manca d'efecte als 6 mesos y una millora de la sensibilitat insulínica als 12 mesos de tractament. És per tant encara controvertit si l'efecte inicial d'increment de la resistència insulínica que té el tractament substitutiu amb GH, millora o s'atenua amb el tractament perllongat. Fan falta estudis amb un nombre elevat de malalts, emprant dosis substitutives fisiològiques i utilitzant mètodes fins d'avaluació de resistència insulínica per respondre a aquesta pregunta.

## **4 HORMONA DEL CREIXEMENT I SISTEMA IMMUNE**

Els majors sistemes missatgers entre teixits i òrgans són els sistemes nerviós, endocrí i immune. Es creu que les hormones anabòliques GH i IGF-I juguen un paper important en el manteniment de la integritat i en la funció del sistema immunitari, actuant com a hormones immunomoduladores en les situacions d'stress (227).

Ja en els anys 30, en el model de rata hipofisectomitzada de Smith, es va comprovar que després d'ablacionar totalment la glàndula hipofisària es produïa una regressió tímica quasi immediata (228). Més evidència de l'efecte immunològic de les hormones somatogèniques el demostrà aquest mateix model de rata hipofisectomitzada que mostrà un continu descens en l'hemoglobina i el recompte de leucòcits amb l'edat i una reducció en la resposta de formació d'anticòs enfront d'antigen que millorava amb el tractament amb GH i PRL (229).

### **4.1 SÍNTESI, EXPRESSIÓ I ACCIÓ DE GH EN TEIXITS LIMFOIDES**

La GH és una hormona produïda en altres teixits a més de la hipòfisi anterior. Se sap que la producció extrapituitària no té un paper important en els efectes endocrins de l'hormona, donat l'impacte de l'hipofisectomia en el creixement lineal. No obstant, es creu que la producció local de GH i IGF-I pot tenir importants efectes autocrins i paracrins (28). Es reconeix també que la GH té efectes propis i no només mediat per IGF-I (28). S'ha demostrat que les cèl·lules mononuclears perifèriques produeixen GH

(un 10% en condicions basals i un 20% després d'estimulació amb mitògens) (230, Hattori, 1990 #251, 231). El mRNA de la GH es troba en limfòcits i granulòcits així com en teixits del sistema immune com el moll de l'os, la melsa, el nòduls limfàtics, el timus i les amígdales (232). En resum, la GH és produïda localment en teixits limfoides.

La transcripció de la GH en la hipòfisi depèn del factor de transcripció Pit-1 (233). La presència d'aquest factor de transcripció en teixit linfoide i la seva localització amb GH i PRL suggereixen una producció regulada de GH a nivell d'aquest teixit. A la seva vegada, també s'ha trobat el pèptid i el mRNA de GHRH a nivell de limfòcits (234), així com la somatostatina i el seu receptor (235, 236).

Els limfòcits expressen receptors de GH funcionals que són idèntics als receptors que es troben en fetge (237-240). Els limfòcits B tenen aproximadament 6000 receptors de GH per cèl·lula i això s'ha vist que no està afectat en malalts amb deficiència de GH (241). El receptor de GH és membre de la família de les citokines hematopoietiques; el mecanisme molecular de l'acció de GH -com el de les citokines- implica les cascades JAK/STAT kinasa (20), havent una important superposició entre les molècules transmissores de senyal involucrades en l'acció de GH i de citocines. Teòricament podria haver una competició per substrat entre les dues vies, tal i com passa amb altres sistemes hormonals.

De forma anàloga als receptors de GH, els receptors d'IGF-I també es troben presents en cèl·lules del sistema immune, principalment en monòcits i limfòcits B i l'administració d'IGF-I en models animals i humans causa creixement d'òrgans limfoides per augment en el nombre de limfòcits B i T (242).



## **4.2 GH I FUNCIO IMMUNE EN MODELS ANIMALS**

En els darrers anys, diferents models animals ens han permès d'aprofundir en l'estudi del paper de les hormones somatogèniques en la immunitat. Els ratolins Snell Dwarf (dw/dw), descrits per primer cop en 1992 tenen un defecte en el gen pit-1, un factor de transcripció que regula la síntesi de PRL, GH i TSH i són, per tant deficients en aquestes tres hormones (243). Una altre soca de ratolí, la Ames Dwarf (df/df), presenta un defecte genètic en un factor de transcripció anomenat PROP-1, que es precisa per a l'expressió de PIT-1 i, per tant també són deficients en les tres hormones abans esmentades (244). Una revisió recent dels diferents estudis que s'han fet en aquests models animals així com en rates hipofisectomitzades respecte a la immunitat tan cel·lular com humoral, apunta que si bé les hormones somatogèniques (GH i IGF-I), no són necessàries pel desenvolupament i funció dels limfòcits en condicions normals, sí poden tenir un paper rellevant com a immunoreguladors en la resposta a l'estrés (227). Això podria en part explicar, que experiments inicials, anys enrera en aquests models animals, quan els animals eren exposats a un ambient estressant (condicions d'hacinament a les gàbies, separació precoç de les mares, etc.), mostraren defectes en la immunitat humoral i cel·lular i un escurçament de l'expectativa de vida (245-250). Això no ha estat així en experiments més recents en altres condicions de tractament dels animals (251, 252).

Existeixen altres models animals en els que s'ha analitzat el paper de les hormones GH i IGF-I en la immunitat: el ratolí amb disrupció del gen d'IGF-I (IGFI-/-) i el ratolí little (lit/lit) que presenta deficiència de GH per una mutació en el receptor del GHRH. Estudis en aquests models indiquen que ni la GH ni l'IGF-I són necessaris per la

limfopoesi primària ni són essencials per a la funció efectora dels limfòcits. No obstant, hi ha circumstàncies en les que la GH i l'IGF-I actuen clarament com a immunoestimuladors. Els ratolins lit/lit tenen una disminució del 90% de les concentracions de GH circulants i també una disminució del 90% de les concentracions d'IGF-I (253, 254) com a conseqüència d'un defecte autossòmic recessiu d'un sol nucleòtid en el gen del receptor del GHRH. Com a conseqüència, les cèl·lules somatotropes de la hipòfisi anterior no secreten GH per un defecte de la unió de GHRH al seu receptor (255). Els ratolins lit/lit tenen nivells normals de TSH i nivells de prolactina normals-baixos, per tant constitueixen un model més pur de deficiència de GH que no els models dw/dw i df/df. Cal tenir en compte que en aquest model es desconeix si la producció local de GH per part de teixits està afectada, doncs està ben descrit que existeix una producció extrapituitària de GH a nivell de diferents teixits incloent limfòcits (230, 256-258). En tot cas, aquesta producció és insuficient per als efectes sobre el creixement, doncs aquest ratolins són molt petits. El model IGF-/- és especialment complicat, doncs presenta unes alteracions en el desenvolupament que resulten en una elevada mortalitat precoç després del naixement (35, 259). Estudis de timopoesi, limfopoesi, immunitat humoral i cel·lular i immunitat innata en els models lit/lit i IGF-/- han indicat que no hi ha afectació de tots aquests processos i per tant, s'ha conclòs que en condicions normals, la GH i l'IGF-I no jugarien un paper important en la immunitat (227). Consistent amb aquestes conclusions, el model humà de deficiència de GH en població pediàtrica i el model de resistència a la GH per mutació en el GHR (Enanisme de Laron) no es caracteritzen per alteracions en la immunitat, revisat a (242).

No obstant, un gran volum d'estudis han indicat que tan la GH com l'IGF-I tenen un gran potencial d'estimulació del sistema immunitari a diferents nivells. Així doncs, l'administració de GH o IGF-I a ratolins normals o Snell dwarf, s'acompanya d'un creixement del tamany del timus i del nombre de timòcits (260-262). IGF-I pot potenciar la limfopoesi B promovent la maduració de cèl·lules CD45R+ pre-B a partir de precursor CD45R- *in vitro* (263). El tractament amb IGF-I en ratolins normals augmenta el nombre de cèl·lules de línia B al moll de l'os (264). La GH i l'IGF-I també estimulen la immunitat cel·lular (264, 265).

En conclusió, si bé la GH i l'IGF-I no semblen ser factors essencials pel desenvolupament dels limfòcits i per la seva funció, sí podrien jugar un paper com a hormones immunomoduladores i tenir un efecte important en la resposta d'adaptació a l'estrès.

### **4.3 GH I FUNCIO IMMUNE EN HUMANS**

Els malalts amb síndrome de Laron que presenten un defecte en el receptor de GH i per tant, nivells elevats de GH en sèrum i disminuïts d' IGF-I, no presenten cap immunodeficiència aparent (242). Els pacients pediàtrics i adults amb deficiència de GH no tenen immunodeficiència clínicament aparent (266). En el model humà d'hipersecreció de GH –l'acromegàlia- no s'ha descrit ni hiperestimulació del sistema immunitari ni immunodeficiència.

No obstant, estudis en models murins d'estrès (sepsi i cremats), han demostrat que l'administració de GH és capaç de disminuir la producció excessiva de citokines (267, 268). Serri i cols. realitzaren estudis de funció monocitària-macrofàgica *in vivo* i *in vitro*

en malalts amb deficiència de GH (269). Estudiaren dotze malalts amb deficiència de GH d'inici en l'edat adulta en comparació amb un grup control sa abans i després del tractament amb dosis substitutives de GH. Aquests autors demostraren que tan la interleukina-6 (IL-6) com el factor de necrosi tumoral (TNF- $\alpha$ ) sèrics estaven augmentats en aquests malalts en situació basal i que l'administració de GH redueix aquests nivells (per a IL-6 només es demostrà una tendència). Els monòcits d'aquests pacients en cultiu, mostraren una secreció molt superior de les dues citokines IL-6 i TNF- $\alpha$  en comparació amb els monòcits del grup control i això va disminuir amb el tractament amb GH. Tot i que aquest estudi té limitacions (per exemple el disseny obert i el reduït nombre de malalts), suggereix que els malalts amb deficiència de GH podrien tenir una producció excessiva de citokines i això es corregeix parcialment amb l'administració de GH.

## **5. ARTERIOSCLEROSI I NOUS FACTORS DE RISC CARDIOVASCULAR**

### **5.1 L'ARTERIOSCLEROSI COM A MALALTIA INFLAMATÒRIA CRÒNICA.**

En els darrers anys, avanços científics bàsics i experimentals han permès d'entendre l'arteriosclerosi com a malaltia inflamatòria crònica (270). Les lesions ateroscleròtiques apareixen principalment a artèries elàstiques grans i mitjanes, conduint a la situació d'isquèmia i a la complicació de l'infart. La primera lesió ateroscleròtica, l'"estria lipídica" és una lesió purament inflamatòria composta principalment de macròfags i limfòcits T (271). La hipòtesi actual sobre l'inici del procés ateroscleròtic considera que la disfunció endotelial seria el primer fenomen que desencadena la formació de lesions ateroscleròtiques (270). Entre els factors que indueixen i promouen la disfunció endotelial, s'inclouen les molècules de LDL oxidades, els radicals lliures originats pel tabaquisme, hipertensió i diabetis mellitus, alteracions genètiques, nivells elevats d'homocisteïna i infeccions per microorganismes com la *Clamídia pneumoniae* o l'*Herpesvirus* (272-275). Les diferents formes de lesió, condueixen a una sèrie de canvis a nivell endotelial: es produeix un augment de l'adhesivitat per a leucòcits i plaquetes, una inducció de l'activitat procoagulant endotelial, la formació de molècules vasoactives, citokines i factors de creixement (Figura 12). Si la resposta inflamatòria no neutralitza els agents ofensius, aquesta pot continuar indefinidament, amb l'estimulació de la proliferació del múscle llis i l'aparició de la lesió intermitja (270). En cada estadi de lesió

ateroscleròtica, la resposta està mitjançada per macròfags derivats de monòcits i limfòcits T (276-278). La inflamació continuada porta a l'augment en el nombre de macròfags i limfòcits que en part provenen de la circulació i en part de la proliferació a l'interior de la placa. L'activació d'aquestes cèl·lules origina l'alliberament d'enzims hidrolítics, citokines, agents quimiotàctics i factors de creixement locals que indueixen encara més dany i poden conduir a necrosi focal (270). Després, cicles d'acumulació de cèl·lules mononuclears, migració i proliferació de cèl·lules musculars llises i formació de teixit fibrós, condueixen a un major creixement i reestructuració de la lesió que s'acaba recobrint d'una càpsula fibrosa que envolta el teixit necròtic subjacent i el core lipídic, en aquest estat s'anomena lesió complicada, sobre aquesta lesió, fenòmens de ruptura i trombosi, poden conduir a l'oclusió completa de la llum vascular i en últim lloc a l'infart (279-281).

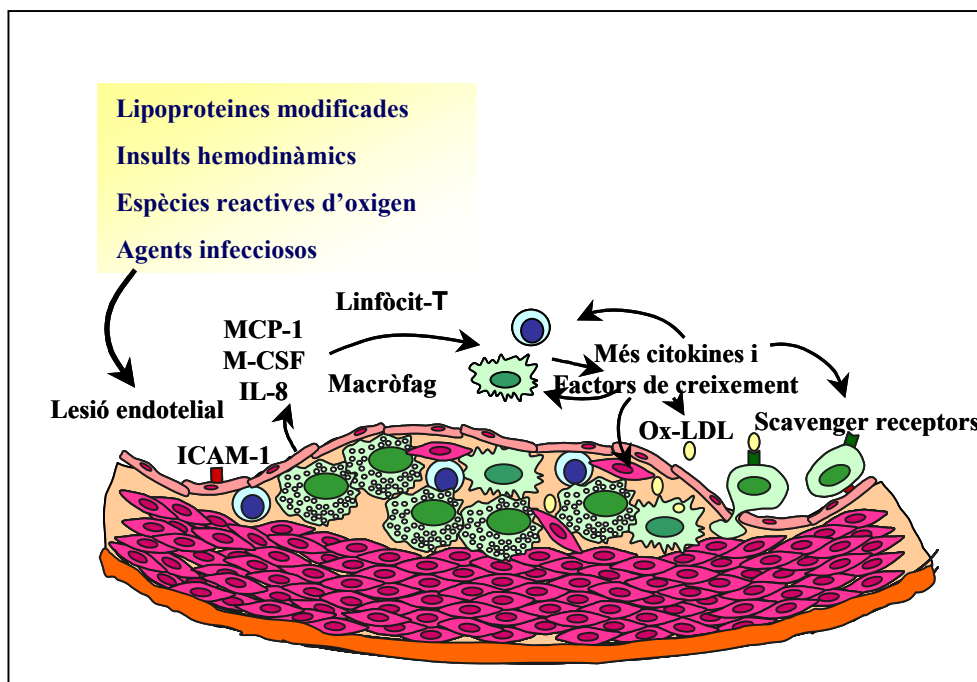


Figura 12. Desenvolupament de la lesió endotelial i inici dels processos que condueixen a l'arteriosclerosi. Diversos insults actuen sobre l'endoteli induint l'activació d'aquest, que expressa molècules d'adhesió i desencadena una resposta inflamatòria

## **5.2 PROTEÏNA C REACTIVA I INTERLEUKINA 6 COM A FACTORS DE RISC CARDIOVASCULAR.**

La malaltia cardiovascular continua essent la major causa de morbiditat i mortalitat en el món desenvolupat. Els factors cardiovasculars clàssics (tabaquisme, dislipèmia i hipertensió), tot i explicar en gran part el risc cardiovascular d'alguns pacients, encara no expliquen perquè altres persones desenvolupen malaltia cardiovascular (282). És per això que en els darrers anys, s'han portat a terme grans estudis per tal de determinar la utilitat de nous marcadors de risc que permetin identificar amb més probabilitat els individus amb risc de patir un fenomen cardiovascular o també per detectar aquells grups de malalts que presenten més risc de patir episodis cardiovasculars aguts i en els que les teràpies de prevenció serien més efectives. Juntament amb les noves tècniques d'imatge no invasives (ultrasonografia d'alta resolució, ressonància magnètica nuclear i tomografia computeritzada amb detecció de calç), s'han identificat nous factors sèrics, diferents del clàssics que han demostrat tenir utilitat en la predicció de risc cardiovascular, especialment els marcadors d'inflamació: proteïna C reactiva (CRP) i interleukina-6 (IL-6) (283, 284). La malaltia ateroscleròtica es considera una malaltia inflamatòria crònica (270). Cada estadi de la placa d'ateroma, representa un focus inflamatori a la paret vascular amb presència de limfòcits i monòcits que produeixen citokines i factors de creixements així com substàncies quimiotàctiques i CRP que a la seva vegada és capaç d'activar el complement (270, 283-285). Diversos

estudis epidemiològics de llarga escala ha avaluat el valor de la CRP determinada per radioimmunoassaig d'alta sensibilitat, en la predicció del risc cardiovascular (286-292). El *Physician's Health Study*, un estudi prospectiu realitzat en una cohort de 22.000 metges aparentment sans va demostrar que els malalts amb CRP en el quartil superior a l'inici de l'estudi, presentaren un risc tres vegades superior de presentar infart de miocardi i dos vegades superior de presentar un accident vascular cerebral o malaltia vascular perifèrica, que els malalts en el quartil inferior en un període de seguiment de 10 anys (288). De la mateixa manera, l'estudi MRFIT (*Multiple Factor Intervention Trial*) en un període de seguiment de 17 anys, va trobar que les concentracions de CRP van predir el risc de patir un episodi cardiovascular només en pacients fumadors (287). Altres estudis fets en altres poblacions han confirmat aquestes troballes: el *Cardiovascular Health Study* en homes d'edat superior a 65 anys (292), el *Women's Health Study* que va incloure només dones postmenopàusiques (291), el *Helsinki Heart Study* (293) i l'estudi MONICA (*Monitoring Trends on Cardiovascular Disease*) (286) (aquests dos darrers europeus), tots han demostrat que la CRP és un bon marcador de risc cardiovascular. Una altra característica de la proteïna C reactiva és que afegeix risc de forma independent als factors clàssics com són: tabaquisme, HTA, història familiar de risc cardiovascular, índex de massa corporal o perfil lipídic i afegeix valor predictiu als marcadors clàssics de risc (291, 294, 295). Tan en anàlisi univariat com multivariat, la CRP ha mostrat afegir valor en la predicció de risc cardiovascular als algoritmes clàssics de Framingham (291, 294, 295). El valor d'aquest paràmetre en combinació amb el valor de les subfraccions lipídiques segons els estudis epidemiològics realitzats per Ridker i cols. està representat en la figura 13. Aquest autor ha proposat recentment, l'ús de la CRP combinat amb la



relació colesterol total/HDL en els models de predicció (295). Cal tenir en compte que en població general, les concentracions de proteïna C reactiva es correlacionen amb l'índex de massa corporal, amb la insulinèmia, les concentracions de triglicèrids i amb la resistència a la insulina (296, 297). La proteïna C reactiva es considera un marcador inespecífic d'inflamació, si bé les concentracions francament elevades poden traduir un procés inflamatori agut, s'ha proposat que les concentracions basals estables podrien ser indicadores d'activitat inflamatòria crònica (283, 295).

### Ratio CT:HDL i hs-CRP

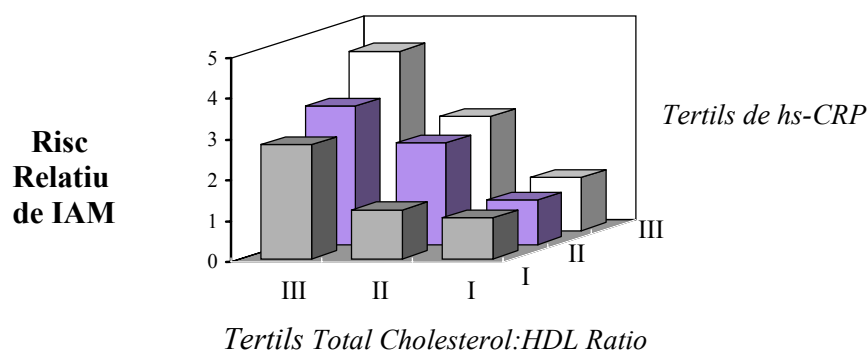


Figura 13. Risk relatiu de presentar infart de miocardi segons les concentracions de hs-CRP (CRP determinada per assaig d'alta sensibilitat) i ratio colesterol total/HDL. Per a homes. Adaptat de Ridker i cols. *Circulation*. 1998;97(20):2007-11, ref. (294).

La interleukina-6 i el polipèptid amiloide de tipus A són també marcadors d'inflamació. La interleukina-6 va demostrar ser predictiva de risc cardiovascular en un estudi prospectiu a llarga escala fet en dones, però en anàlisi multivariat no va afegir valor a altres paràmetres clàssics (291).

### 5.3 HOMOCISTEÏNA I RISC CARDIOVASCULAR.

L'homocisteïna és un aminoàcid no formador de proteïna, que s'origina a partir de la desmetilació de la metionina (Figura 14). En els darrers anys aquest aminoàcid ha centrat molt d'interès per la possible relació entre nivells moderadament alts d'homocisteïna en plasma i risc cardiovascular. Aquesta hipòtesi va ser proposada per primer cop per McCully (298), el qui observà que la malaltia congènita homocistinúria s'associava amb risc de patir fenòmens trombòtics a edats temperanes en el context d'uns nivells plasmàtics d'homocisteïna molt elevats. Estudis de casos i controls varen donar suport a aquesta hipòtesi (299) però diferents estudis prospectius realitzats per a confirmar-la han presentat resultats contradictoris (300-310).

A nivell experimental estudis *in vitro* han demostrat que la hiperhomocisteïnèmia causa disfunció endotelial que a la seva vegada activa les plaquetes i estimula la trombogènesi (311-313). S'ha suggerit que la hiperhomocisteïnèmia causaria un efecte tòxic directe sobre la cèl·lula endotelial. Aquest efecte tòxic en models *in vitro* i *in vivo* en primats s'ha relacionat amb 1) la generació d'espècies reactives d'oxigen (275, 314-317), 2) la producció defectuosa d'òxid nítric per part de l'endoteli (318-321); 3) l'estimulació de la proliferació del múscle llis (322, 323); 4) alteracions lipídiques incloent elevació de les concentracions de triglicèrids (324, 325); 5) l'augment en la trombogenicitat mediat per un augment en l'adherència plaquetària i l'alliberament de factors de creixement secundari al dany endotelial causat per la hiperhomocisteïnèmia (326-330).

Malgrat les evidències *in vitro* i els resultats de casos i controls, la majoria d'estudis prospectius no han pogut confirmar una relació entre nivells d'homocisteïna i risc cardiovascular, revisat a (310). S'ha postulat que l'elevació de la homocisteïna en plasma pot ser secundària al dany vascular que es produeix en l'arteriosclerosi. Això explicaria els resultats positius dels estudis de casos i controls i la manca d'associació entre hiperhomocisteïnèmia i risc cardiovascular en estudis prospectius. Un estudi recent basat en una llarga cohort seguida durant 13 anys (331) trobà que les concentracions d'homocisteïna es relacionaren amb risc cardiovascular només en malalts que ja tenien malaltia cardiovascular coneguda, i no així en els lliures de malaltia, donant suport a la hipòtesi de que la hiperhomocisteïnèmia moderada podria ser secundària a dany coronari o vascular en malalts amb arteriosclerosi.

Les concentracions plasmàtiques d'homocisteïna venen determinades per factors genètics, nutricionals (ingesta de folat i vitamines B6 i B12) i per influències hormonals (332-337). En la dona embarassada es produeix un gran descens de les concentracions d'homocisteïna (338, 339), s'ha pensat que les concentracions elevades d'estrògens durant l'embaràs podrien tenir un paper en aquesta reducció. No obstant el tractament amb contraceptius orals en la dona premenopàusica no afecta les concentracions d'homocisteïna segons un estudi (340), encara que s'han observat reduccions en les concentracions d'homocisteïna en la dona postmenopàusica tractada amb teràpia hormonal substitutiva (341). El tamoxifè i el raloxifè han demostrat reduir les concentracions d'homocisteïna (342, 343).

L'hipotiroidisme s'ha associat amb un increment en les concentracions d'homocisteïna que reverteix al tornar a l'estat d'eutiroidisme (344-346). El metabolisme

de l'homocisteïna pot seguir dues vies: o bé es remetila formant de nou metionina, o bé es transulfura per formar cisteïna (Figura 14), en aquestes dues vies participen els cofactors enzimàtics: folat, vitamina B6 i vitamina B12. La remetilació seria més activa en dejú mentre que la transulfuració és predominant després de la ingesta proteica. La homocisteïna es condensa irreversiblement amb cisteïna per formar cistationina (reacció 1), aquesta reacció és catalitzada per la cistationina - $\beta$  sintasa i depèn del piridoxal-5'-fosfat (forma activa de la vitamina B6) com a cofactor. La cistationina s'hidrolitza a cisteïna per l'enzim cistationasa (reacció 2), que és també una reacció dependent de B6. Alternativament, la homocisteïna es remetila a metionina, quan un grup metil és donat a l'homocisteïna, en aquest pas intervenen la metilentetrahidrofolat reductassa i la metionina sintasa (ó 5-metiltetrahidrofolat-homocisteïna, metiltransferassa) amb la rivo flavina com a cofactor. El grup metil també pot ésser donat per la betaïna (reacció 4) catalitzat per la betaïna-homocisteïna metiltransferassa, una reacció no dependent de folat ni de vitamina B12. Si bé se sap que la GH és una hormona anabòlica amb una important influència en el metabolisme proteic, fins el moment no s'ha estudiat la possible influència de la GH sobre el metabolisme de l' homocisteïna.

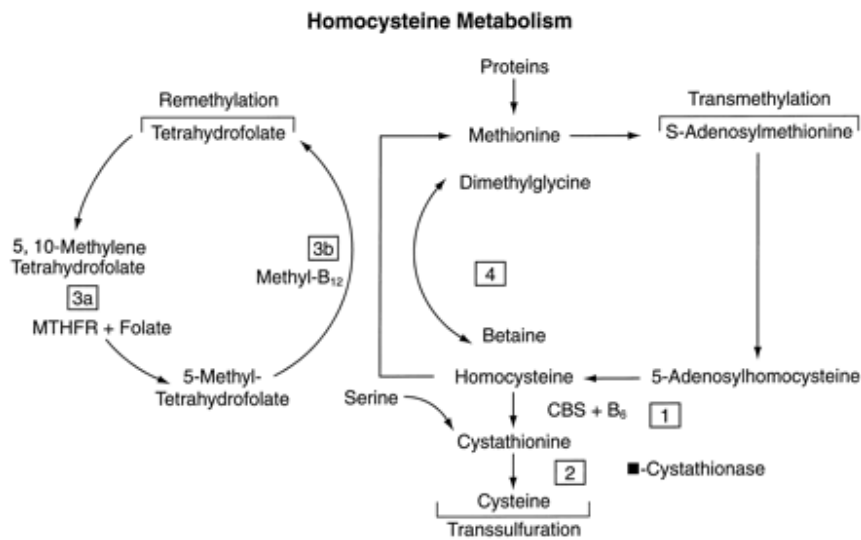


Figura 14. Vies metabòliques implicades en el metabolisme de l'homocisteïna. La reacció 1 està catalitzada per la cistationina - $\beta$  sintasa; la reacció 2 per la cistationasa; reacció 3 per la 5-metilentetrahidrofolat-homocisteïna-metiltransferassa i la reacció 4 per la betaïna-homocisteïna metiltransferassa. De ref. (347).



## **Justificació**





Els malalts amb hipopituitarisme i deficiència de GH presenten una taxa de mortalitat cardiovascular augmentada respecte a la població general (62, 133, 134, 136). En aquests pacients s'ha descrit una incidència elevada d'alguns factors de risc cardiovascular clàssics com dislipèmia i obesitat central, però hi ha poques dades científicament sòlides sobre l'efecte de la GH sobre aquests paràmetres. Ademés, en els darrers anys, s'han definit nous factors de risc cardiovascular que hipotèticament podrien estar alterats en el pacient amb deficiència de GH i que es podrien modificar amb el tractament substitutiu, incloent entre ells la proteïna C reactiva i l'homocisteïna.

La nostre hipòtesi de treball és que els pacients amb hipopituitarisme i deficiència de GH (tan homes com dones), presenten un perfil cardiovascular d'elevat risc i el tractament substitutiu amb GH modifica aquest perfil. Donades les interrelacions entre GH i inflamació, els pacients amb deficiència de GH presentaran alteració en paràmetres inflamatoris, concretament en les concentracions basals de proteïna C reactiva i aquests es modificaran amb el tractament amb GH. El tractament amb GH s'acompanyarà d'un canvi en les concentracions d'hormones tiroidees (específicament, un increment en les concentracions de T3) i possiblement en un canvi en les concentracions d'homocisteïna. La interrupció del tractament amb GH produirà uns canvis en mirall (reversibilitat) d'alguns dels efectes de GH, especialment els efectes metabòlics i de composició corporal. Els efectes de GH sobre la massa òssia es mantindran en el temps, més enllà de la retirada del tractament.

Per últim el model d'excés de GH, l'acromegàlia activa es caracteritzarà per un perfil cardiovascular i unes alteracions metabòliques oposades a les de la deficiència de

GH i el tractament amb l'antagonista del receptor de GH produirà uns efectes oposats al tractament substitutiu amb GH en el model de deficiència de GH.

Aquets tesi estudia dos models oposats de patologia de la GH: la deficiència i l'excés. En ambdós models s'estudien les condicions basals en estudis observacionals en els que es compara la població estudiada amb població general i amb grups control. En ambdós models també es dissenyen estratègies experimentals i es desenvolupen estudis controlats i aleatoritzats d'actuació terapèutica: tractament amb GH en el model de deficiència de GH i tractament amb l'antagonista del receptor de GH en el models d'excés de GH. En tercer lloc s'estudien els efectes de la discontinuació del tractament en el model de la deficiència de GH.

## **Objectius**



- 1) Objectiu 1: Investigar l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre paràmetres inflamatoris i altres marcadors de risc cardiovascular en una població d'homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.
  
- 2) Objectiu 2: Investigar l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre homocisteïna, folat i hormones tiroidees en una població d'homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.
  
- 3) Objectiu 3: Investigar l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre la composició corporal i la massa òssia en homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.
  
- 4) Objectiu 4: Investigar l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre factors de risc cardiovascular en malalts amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.
  
- 5) Objectiu 5: Investigar les concentracions d'andrògens i de nous factors de risc cardiovascular en dones amb hipopituitarisme en comparació amb controls.
  
- 6) Objectiu 6: Investigar les concentracions de factors de risc cardiovascular en una població de pacients amb acromegàlia activa en comparació amb controls i estudiar l'efecte del tractament amb l'antagonista del receptor de GH "Pegvisomant" sobre aquests paràmetres.



## **Objectiu 1**

Investigar l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre paràmetres inflamatoris i altres marcadors de risc cardiovascular en una població d'homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.





### **1-Justificació de l'objectiu 1**

Els malalts amb deficiència de GH presenten una taxa de mortalitat cardiovascular augmentada respecte a la població general (62, 133, 134, 136). Aquesta observació, proposada per diferents estudis retrospectius i recentment confirmada en un gran estudi prospectiu (136), justifica l'estudi dels mecanismes implicats en l'increment de patologia vascular en aquests malalts per, en últim cas, dissenyar noves estratègies terapèutiques adreçades a reduir el risc. Si bé ja hem mencionat que el tractament substitutiu convencional en els malalts amb hipopituitarisme no mimetitza completament la secreció hormonal fisiològica, i per tant, seria important fixar-se en tots i cadascun dels règims de tractament substitutiu, aquesta tesi es centra en l'estudi de la deficiència de GH i els efectes del tractament substitutiu amb aquesta hormona sobre factors de risc cardiovascular.

Nombrosos estudis fins el moment han avaluat la repercussió del tractament substitutiu amb GH sobre alguns paràmetres de risc cardiovascular com ara el perfil lipídic i la distribució de greix corporal (98, 157, 163, 220, 221, 224). Les limitacions d'aquests estudis són l'heterogeneïtat de pacients inclosos (pacients amb deficiència de GH d'inici en edat pediàtrica i en edat adulta, diferents definicions de la deficiència de GH), l'ús de dosis suprafisiològiques de GH i la manca de grup control tractat amb placebo. El present estudi, a partir d'un disseny aleatoritzat, simple cec i amb placebo, intenta aportar dades científiques sobre els efectes del tractament substitutiu amb GH sobre marcadors clàssics de risc cardiovascular: greix central, tensió arterial, colesterol total i fraccions de colesterol, insulinèmia i glucèmia basals. Ademés incorpora l'estudi de nous marcadors inflamatoris com: lipoproteïna (a), proteïna amiloide sèrica tipus A

(SAA), interleukina-6 i la proteïna C reactiva, aquesta última, d'interès creixent en els darrers anys per la seva capacitat de predicció de risc cardiovascular. Per homogeneïtzar la mostra estudiada s'ha escollit una població d'homes, doncs sembla que la GH té efectes diferencials en ambdós sexes (348).

## **2-Desenvolupament de l'objectiu 1**

## **Objectiu 2**

Investigar l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre homocisteïna, folat i hormones tiroidees en una població d'homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.



## 1-Justificació de l'objectiu 2

La GH és una hormona anabòlica amb importants efectes sobre el metabolisme intermediari i la síntesi proteica. En pacients pediàtrics i adults amb deficiència de GH s'ha descrit que el tractament substitutiu amb GH s'acompanya d'una reducció en les concentracions de tiroxina (T4) lliure així com d'un increment en la concentració de T3 (349, 350). L' homocisteïna, un aminoàcid no formador de proteïna derivat del metabolisme de la metionina ha centrat un gran interès en els darrers anys pel seu potencial paper patogènic en la malaltia ateroscleròtica (310, 334). S'ha proposat que les concentracions basals d'homocisteïna moderadament elevades estarien relacionats amb el risc cardiovascular (333). Encara que aquesta afirmació es troba en discussió (331), models *in vitro* i estudis *in vivo* en humans han demostrat que l'homocisteïna causa disfunció i dany endotelial (311, 321) i concentracions molt elevades com en l'homocistinúria s'associen amb fenòmens trombòtics (298). Tot i que els factors genètics i nutricionals són els determinants més importants de les concentracions plasmàtiques d'homocisteïna (334), s'han descrit influències hormonals com els estrògens o les hormones tiroidees (346) sobre el seu metabolisme. Es desconeix fins el moment si la GH pot tenir alguna influència sobre les concentracions plasmàtiques d'homocisteïna. La GH és una hormona anabòlica que té importants efectes sobre la síntesi proteica (72). Ademés, el tractament substitutiu amb GH afecta el metabolisme d'hormones tiroidees (349, 351) i aquestes a la seva vegada s'han relacionat amb canvis en les concentracions plasmàtiques d'homocisteïna. El present estudi avalua la influència del tractament substitutiu amb GH sobre les concentracions d'homocisteïna així com d'hormones tiroidees i estudia possibles relacions entre aquests diferents eixos hormonals

## *Objectius*

---

amb les concentracions d'homocisteïna. Donat el paper fonamental que els cofactors folat i B12 juguen en el metabolisme de l'homocisteïna (335, 337, 352), aquests factors també es van considerar i estudiar. Tot això en el marc d'un estudi aleatoritzat, simple cec i controlat amb placebo.

## **2-Desenvolupament de l'objectiu 2**

### **Objectiu 3**

Investigar l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre la composició corporal i la massa òssia en malalts amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.





### **1-Justificació de l'objectiu 3**

El tractament substitutiu amb GH en el pacient amb deficiència de GH d'inici en edat adulta, té importants efectes sobre la composició corporal. La disminució de massa grassa i l'increment de massa magra són troballes constants en els diferents estudis realitzats emprant diferents tècniques de mesura de la composició corporal (89, 91, 98, 191, 224). L'efecte anabòlic sobre l'òs, amb increment de la densitat mineral òssia a nivell de columna lumbar i fèmur, s'ha constatat també en els estudis amb durada igual o superior a 18 mesos de tractament (127, 191, 199, 212-214). No obstant, fins el moment es desconeix quines són les conseqüències de la retirada del tractament substitutiu amb GH en l'adult sobre la composició corporal, especialment sobre la densitat mineral òssia. L'estudi de les conseqüències de la discontinuació del tractament és important per a dissenyar estratègies terapèutiques el més adient possibles per a cada individu en funció de la indicació del tractament.

El present estudi avalua l'efecte de la interrupció del tractament substitutiu amb GH sobre la composició corporal en un grup de pacients que participaren en un estudi aleatoritzat i controlat dels efectes del tractament i la discontinuació del tractament amb GH en homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta. L'estudi fou aleatoritzat, controlat amb placebo en la fase de tractament i posteriorment creuat el que permetè estudiar els efectes de la discontinuació del tractament.

### **2-Desenvolupament de l'objectiu 3**



## **Objectiu 4**

Investigar l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre factors de risc cardiovascular en malalts amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.



### **1-Justificació de l'objectiu 4**

El tractament substitutiu amb GH en l'adult ha estat centre de nombrosos estudis en els darrers anys, però pocs d'ells s'han dissenyat per a estudiar les conseqüències de la discontinuació del tractament.

La GH té importants efectes sobre el metabolisme intermediari. Se sap que en administració aguda, la GH antagonitza la insulina (226). És debatut si a més llarg termini, quan els canvis en la composició corporal s'han assolit, es podria retornar a l'estat inicial o inclús millorar la sensibilitat a la insulina (157, 223, 226). Hem demostrat en un treball previ que el tractament substitutiu amb GH disminueix les concentracions de CRP i d'interleukina-6 així com les concentracions d'homocisteïna (353, 354). Altres efectes observats foren un increment en les concentracions de glucèmia i en els de lipoproteïna (a) (353). És també important estudiar les conseqüències de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre aquests paràmetres doncs un nombre considerable de pacients que inicien tractament amb GH l'abandonaran per diferents motius.

El present estudi avalua l'efecte de la interrupció del tractament substitutiu amb GH sobre paràmetres de risc cardiovascular en un grup de pacients que participaren en un estudi aleatoritzat i controlat dels efectes del tractament i la discontinuació del tractament amb GH en homes amb deficiència de GH d'inici en edat adulta.

### **2-Desenvolupament de l'objectiu 4**



## **Objectiu 5**

Investigar les concentracions d'andrògens i de nous factors de risc cardiovascular en dones amb hipopituitarisme en comparació amb controls.





### **1-Justificació de l'objectiu 5**

Els estudis desenvolupats fins ara sobre els efectes del tractament i discontinuació del tractament substitutiu amb GH els havíem realitzat només en homes. El motiu havia estat un intent d'homogeneïtzar la mostra, donat que hi ha factors sexe-específics que operen en la fisiopatologia de la síntesi i acció de la GH. Per això, després del model masculí, vam decidir estudiar els mateixos paràmetres en dones i ho iniciarem amb un estudi transversal en que els subjectes a estudi foren dones amb hipopituitarisme en comparació amb dones control.

En les dones amb hipopituitarisme un factor clau a tenir present és la insuficiència gonadal i el tractament de la mateixa. Per això, en el nostre estudi, al reclutar el grup control varem considerar molt precisament l'estat gonadal de les pacients. En la metodologia d'aquest estudi transversal vam tenir molt en compte la ciclicitat de molts paràmetres hormonals en la dona pre-menopàusica. Un dels objectius de l'estudi fou el de determinar els nivells d'andrògens en dones amb hipopituitarisme. Els andrògens són unes hormones clàssicament considerades com a masculines i la deficiència androgènica en la dona mai s'ha considerat patològica. En els darrers anys però, s'han començat a estudiar els efectes de la deficiència androgènica en diferents models com ara són les dones ooforectomitzades o les dones amb insuficiència suprarenal (355, 356). L'hipopituitarisme complet associa aquestes dues situacions: insuficiència gonadal i suprarenal, per tant el nostre estudi fou dissenyat per a determinar nivells androgènics i de factors de risc cardiovascular i en especial els nous factors de risc cardiovascular estudiats en el model d'hipopituitarisme masculí: CRP i IL-6.

### **2-Desenvolupament de l'objectiu 5**



## **Objectiu 6**

Investigar les concentracions de factors de risc cardiovascular en una població de pacients amb acromegàlia activa en comparació amb controls i estudiar l'efecte del tractament amb l'antagonista del receptor de GH "Pegvisomant" sobre aquests paràmetres



## **1-Justificació de l'objectiu 6**

L'acromegàlia és el model clínic humà d'excés de GH, produïda en la majoria dels casos per un tumor hipofisari productor de GH (357). Aquest model ens permet estudiar les conseqüències de les concentracions persistentment elevades de GH i contrastar-les amb el model de deficiència de GH. L'acromegàlia té una incidència aproximada de 10 casos per milió d'habitants per any. El tractament primari acostuma a ser la cirurgia per a extirpar el tumor (358), que és força efectiva (70-90%) en els casos de microadenoma hipofisari (tumoracions < a 1 cm), però no tant en els casos de macroadenomes que en les millors sèries no arriba al 50% (144). El tractament radioteràpic i farmacològic estan en segona línia. La radioteràpia té un efecte molt lent i és ineficaç en un determinat nombre de pacients (359). Els anàlegs de la somatostatina i la dopamina (els fàrmacs comercialitzats per al tractament de l'acromegàlia), són eficaços respectivament en un 70 i 30% de pacients aproximadament (358). Tot això ha fet que en els darrers anys es busquessin alternatives terapèutiques per a tractar aquells malalts no curats amb cirurgia i sense resposta als tractament farmacològic i/o radioteràpic. En base als avanços en el coneixement dels mecanismes de l'acció molecular de la GH i el seu receptor, es dissenyà genèticament un fàrmac antagonista del receptor de GH: el pegvisomant. El pegvisomant és una molècula que s'uneix al receptor de GH amb més afinitat que la pròpia GH bloquejant-lo i impeding la transmissió de la senyal intracel·lular. Els resultats de l'estudi de fase III multicèntric sobre l'eficàcia i perfil de seguretat del pegvisomant en el tractament de l'acromegàlia es varen publicar recentment (41), demostrant que aquest fàrmac és capaç de normalitzar les concentracions d' IGF-I en el 89% dels pacients que reberen 20 mg/dia de pegvisomant en comparació amb

placebo. A partir d'aquest estudi en el que nosaltres vam participar, ens varem plantejar estudiar els efectes del fàrmac sobre els paràmetres cardiovasculars que anteriorment havíem estudiat en el model de la deficiència de GH en l'adult per a comprovar si obteníem resultats concordants.

L'objectiu fou el d'estudiar una població de malalts amb acromegàlia activa en comparació amb un grup control abans i després del tractament amb l'antagonista del receptor de GH: pegvisomant.

## **2-Desenvolupament de l'objectiu 6**

## **Discussió**





Aquesta tesi estudia dos models clínics oposats: la deficiència i l'excés d'hormona del creixement. En ambdós models hem avaluat l'estat basal mitjançant estudis transversals que comparen malalts amb grups control reclutats de la població general o amb valors de referència obtinguts a partir de grans estudis poblacionals. En ambdós models, hem portat a terme estudis científics d'intervenció per a corregir la situació patològica: 1) hem estudiat els efectes del tractament substitutiu amb GH en el model de deficiència de GH i 2) l'efecte del bloqueig del receptor de la GH amb pegvisomant en el model d'excés de GH. En tots dos casos hem realitzat assaigs clínics controlats amb placebo. Ademés, en el model clínic de deficiència de GH, hem estudiat les conseqüències de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH. La discussió està estructurada al voltant de les troballes més importants de tots els estudis, integrant les conclusions paral·leles que es deriven dels diferents models estudiats en conjunt.

#### *1-Hormona del creixement i proteïna C reactiva*

La primera conclusió que es deriva dels nostres estudis és que l'estat secretor de GH afecta les concentracions de proteïna C reactiva. En el model de deficiència de GH, tan en homes com dones, les concentracions de CRP són elevades en comparació a un grup control i en relació a nivells de referència per a la població general. Les diferències trobades entre pacients i controls són clares, així doncs, la distribució de valors de CRP en dones control coincidí amb els valors publicats per població general, mentre que la mitjana dels valors en homes i dones amb hipopituitarisme i deficiència de GH es trobà en el quintil superior de la distribució en població general. El tractament amb GH en comparació amb placebo es va associar amb una clara reducció de les concentracions de

CRP. De manera inversa, l'excés de GH –l'acromegàlia activa- s'associa amb uns nivells molt reduïts de CRP en comparació amb un grup control i amb dades de referència de població general. En aquest cas, les diferències també varen ser molt considerables, així, els malalts amb acromegàlia presentaren uns valors de CRP en el quintil inferior de la distribució dels valors de CRP en població americana sana, mentre que el grup control presentà una distribució comparable a població general. També en aquest cas, al tractar l'excés de GH amb un antagonista del receptor de GH que bloqueja l'acció de l'hormona (demostrat per la reducció de nivells sèrics d'IGF-I), s'obté una elevació en les concentracions de CRP. Aquestes dades combinades suggereixen que l'estat secretor de GH/IGF-I regula negativament les concentracions sèrics de proteïna C reactiva.

Els possibles mecanismes pels quals la GH afectaria les concentracions de CRP són diversos. En primer lloc, podria ser que la GH tingués un efecte directe sobre la síntesi i secreció de proteïna C reactiva, exercint una regulació negativa sobre aquesta. Podria ser que un dels gens regulats per GH fos el gen de proteïna C reactiva, tan per efecte directe sobre el propi gen o sobre algun altre gen regulador de la síntesi de CRP, com per exemple algun factor de transcripció o alguna citokina. Tècniques de cDNA “arrays” han demostrat que la GH és un important regulador de citokines i factors de creixement (360). Hi ha força evidència experimental d'una relació creuada a nivell molecular entre citokines (principals reguladores de la síntesi de CRP) i GH (361, 362). La GH actua a nivell del seu receptor, que és membre de la superfamília citokina-hemopoetina (16). La unió d'una molècula de GH a dos receptors activa una cascada de molècules transmissores de senyal que contribueixen als efectes induïts per GH en l'activitat enzimàtica, les funcions de transport, i en l'expressió gènica (20). És conegut

que alguns gens que s'activen en la resposta a GH són reguladors negatius de la resposta inflamatòria aguda (361). Ademés, la traducció de la senyal de GH a nivell intracel·lular utilitza molècules idèntiques a les emprades per les citokines (20). És possible que hi hagi una competició per substrat entre els sistemes citokina (representant la resposta inflamatòria aguda) i la GH. Aquesta competició ha estat demostrada en el cas invers: en el de la inhibició de la resposta a GH en models d'inflamació aguda en rates (361).

La GH exerceix les seves accions per un mecanisme directe i a partir de la inducció tan de la síntesi hepàtica com local d'IGF-I, també podria ser que l'efecte sobre CRP fos mediat per IGF-I. En aquest sentit, varem trobar correlació entre nivells de CRP i nivells de IGF-I en dones amb hipopituitarisme, però això no vol dir que l'efecte de GH sobre CRP sigui mediat per IGF-I, podria ser també un efecte paral·lel.

La regulació negativa de la resposta inflamatòria per part de GH ha estat demostrada en diferents models clínics i experimentals. En models murins d'estress com rates cremades o amb sepsis, l'administració de GH és capaç d'atenuar la resposta inflamatòria aguda i reduir la hiperproducció de citokines(267, 268). Serri i cols. ho varen estudiar en el model clínic de deficiència de GH (269) obtenint resultats concordants amb les troballes del nostre estudi (353). Els monòcits dels malalts amb deficiència de GH estudiats per Serri produïen un excés de citokines en relació a malalts controls. El tractament amb GH reduí la producció d'IL-6 i TNF- $\alpha$ , demostrant un efecte de la GH sobre la producció d'aquestes citokines. La IL-6 és un dels principals estímuls per a la producció de CRP (363), encara que té una vida mitjana curta i els seus nivells són més transitoris i variables que els de CRP. En el nostre estudi, els homes amb deficiència de GH van presentar un descens tan de CRP com d'IL-6 després del

tractament substitutiu amb GH. No fou així en el model acromegàlic, on no observarem efecte del bloqueig de GH sobre les concentracions d'IL-6 en l'estudi controlat amb placebo, encara que l'anàlisi del logaritme de les concentracions d'IL-6 en l'estudi longitudinal obert mostrà una tendència a un ascens significatiu de les concentracions d'IL-6 (dades no mostrades). En qualsevol cas, l'estudi no fou dissenyat per a detectar diferències en IL-6, el nombre de malalts inclosos en l'estudi controlat fou molt petit (13 malalts en un grup i 12 en l'altre), sense poder estadístic per a detectar diferències a no ser que foren molt grans. És teòricament possible que l'efecte de GH sobre citokines sigui el mediador de l'efecte de GH sobre la CRP.

Un altre possibilitat és que l'efecte de GH/IGF-I sobre la CRP sigui indirecte, mediat per altres efectes de la GH com els efectes sobre la composició corporal. El teixit adipós és un teixit endocrí molt actiu. Produeix una quantitat de proteïnes capaces d'actuar en teixits a distància (acció endocrina), entre elles, la IL-6 (364), la interleukina proinflamatòria que clàssicament s'ha considerat com un dels estímuls més importants per a la producció de CRP (363). Els pacients amb deficiència de GH tenen una composició corporal alterada amb un excés de greix i una disminució de la massa magra (87, 90). En malalts amb acromegàlia succeeix el contrari (78). Aquest excés de greix en un dels casos i defecte en l'altre podria explicar una major producció d'IL-6 en el model de deficiència de GH i una menor en el model acromegàlic i com a conseqüència un estimul positiu i negatiu respectivament sobre la síntesi de CRP. En l'estudi dels malalts amb deficiència de GH tractats amb GH comprovarem l'efecte de la GH sobre la composició corporal causant un descens de massa grassa i un augment de massa magra. Aquest fou especialment notable a nivell del compartiment central, observant un descens

en la ratio de greix central amb respecte al total i tot això s'acompanyà d'un descens en les concentracions tan d'IL-6 com de CRP. En el model acromegàlic, no vam estudiar composició corporal, amb el que la hipòtesi de que els canvis en la CRP podrien estar en relació a canvis en la composició corporal, no va ser testada. No obstant, les concentracions basals d'IL-6 en acromegàlics no foren inferiors a les de controls, anant en contra de la hipòtesi de mediació de l'efecte de GH sobre CRP per part de l'IL-6 provinent de teixit adipós.

Quin és el significat de les nostres troballes?. L'interès en aquest paràmetre inflamatori radica en el seu valor com a marcador en estats patològics. Clàssicament la CRP s'ha considerat un dels principals reactants de fase aguda i els seus nivells s'utilitzen per a monitoritzar el tractament de determinades patologies inflamatòries. Més recentment, en els darrers anys, s'ha reconegut també la seva capacitat de predicció de risc cardiovascular en població general, tan en pacients aparentment sans com en pacients que ja han presentat algun episodi cardiovascular (286, 287, 289, 291, 292, 365). Les concentracions de CRP confereixen un risc de patir un episodi cardiovascular agut (infart de miocardi o accident vascular cerebral) que és independent d'altres factors de risc clàssics (288, 291). Recentment, Ridker i Rifai han proposat algoritmes de predicció de risc cardiovascular combinant les xifres de CRP amb la ratio colesterol total/HDL colesterol (295, 366). Aquesta estratègia en l'estudi prospectiu *Women's Health Study* (259) i *Physician's Health Study* (294) fou significativament superior al valor dels lípids sols en la predicció de risc. Tot i així, els estudis esmentats han inclòs població general aparentment sana, i per tant sense patologia de la secreció de GH. No sabem si les concentracions de CRP en la població amb deficiència o excés de GH, continuen essent

vàlides com a marcador de risc cardiovascular però en base a les nostres troballes en el model d'acromegàlia, semblaria que aquest marcador no indica risc cardiovascular en aquest contexte. Quin pot ser el significat de les concentracions baixes de CRP en malalts amb acromegàlia?. És la CRP un marcador inflamatori quan hi ha un estat patològic de l'eix GH-IGF-I?. Malhauradament no podem respondre a aquesta pregunta en base als nostres estudis. Es considera que els malalts amb acromegàlia tenen un elevat risc cardiovascular (146, 367-371), tot i que cal matitzar que no hi ha cap estudi prospectiu ben realitzat per a determinar amb fiabilitat les característiques de la malaltia cardiovascular en l'acromegàlia. Els malalts amb acromegàlia activa en el nostre estudi, presentaven nivells molt baixos de CRP en comparació amb valors de referència (en el quintil més baix de la distribució poblacional de CRP). Aquests malalts presentaven però elevada incidència de factors de risc cardiovascular i algun ja havia presentat malaltia cardiovascular clínicament significativa. Aquest fet fa que pensem que les concentracions de CRP en aquesta població no tenen el mateix significat que en població general i no estan en relació al risc cardiovascular. És important comprovar en estudis prospectius la validesa d'aquest marcador en la predicció de risc en aquestes poblacions. En aquest sentit, un estudi recent planteja una nova consideració de la malaltia cardiovascular en l'acromegàlia i de la relació d'aquesta amb altres factors de risc cardiovascular. Si analitzem els treballs que han estudiat la malaltia ateroscleròtica en els malalts amb acromegàlia, ens adonem que no existeix cap estudi sistemàtic prospectiu que ens pugui donar idea de la incidència i prevalença d'aquesta en els malalts amb acromegàlia i la relació amb els factors de risc cardiovascular que presenten aquests malalts. Els estudis transversals i retrospectius que s'han dut a terme, han reportat una

elevada prevalença de hipertensió, diabetis i s'ha ressaltat l'existència d'una miocardiopatia acromegàlica, que tot i tenir alguns signes específics, seria similar a la vasculopatia hipertensiva i miocardiopatia per sobrecàrrega amb lesions microvasculars característiques de la cardiopatia hipertensiva (372). Otsuki i cols. (373) van mesurar el gruix de la íntima-mitja carotídia (IMT) en 21 pacients amb acromegàlia activa (que no tenien malaltia ateroscleròtica coneguda), mitjançant ultrasonografia d'alta resolució. Els resultats es compararen 1) amb l' IMT calculat en base a l'existència d'altres factors de risc (edat, sexe, masculí, dislipoproteinèmia, hipertensió, diabetis i tabaquisme) segons equacions determinades pels propis autors en base a un estudi de 282 individus sense acromegàlia i 2) amb un grup de 42 controls comparables en edat, sexe i altres factors de risc cardiovascular. Els malalts amb acromegàlia presentaren un IMT inferior al calculat en base als seus factors de risc cardiovascular i inferior al grup control. És interessant especular si les concentracions reduïdes de CRP, confereixen un factor de protecció de l'arteriosclerosi davant d'altres factors de risc cardiovascular.

Un altre punt interessant és la magnitud de la variació de les concentracions de CRP en els dos models experimentals estudiats. En l'estudi en malalts amb deficiència de GH, el tractament substitutiu s'associà amb un descens de  $1.9 \pm 0.6$  mg/L en les concentracions de CRP. Aquest descens és similar al reportat per a altres modalitats de tractament que disminueixen les concentracions de CRP com la pravastatina. L'increment de les concentracions de CRP en els malalts acromegàlics tractats amb pegvisomant mereix una atenció especial. En l'estudi controlat amb placebo, els malalts tractats amb pegvisomant presentaren un increment de CRP molt considerable: de  $13.7 \pm 3.6$  vs.  $0.5 \pm 3.3$  mg/L,  $p=0.010$  en els primers tres mesos de tractament. En l'estudi

longitudinal obert, la magnitud de l'increment de les concentracions de CRP fou molt inferior:  $2.0 \pm 0.5$  mg/L,  $p= 0.0002$ . En l'estudi controlat, un 42% dels malalts tractats amb 20 mg/dia de pegvisomant presentaren nivells de CRP per sobre dels 15 mg/L (mentre cap dels pacients amb placebo ho presentà) i un 12% dels malalts en l'estudi longitudinal obert va tenir nivells de CRP per sobre dels 15 mg/L en almenys una ocasió. Les concentracions de CRP per sobre dels 15 mg/L es consideren indicatives d'inflamació aguda (295). Encara que es desconeix si en l'acromegàlia les concentracions de CRP tenen el mateix significat que en la població general, cal considerar la possibilitat de que el tractament agut amb pegvisomant produeixi inflamació.

Com a resum, l'estat secretor i l'acció de la GH modulen les concentracions sèriques de CRP. El mecanisme d'aquesta modulació es desconeix pel moment però podria ser un efecte directe de la GH sobre la CRP o indirecte a través de modulació d'altres gens o proteïnes. És important establir el significat d'aquest paràmetre en els estats patològics de l'eix GH-IGF-I.

### *2-Tractament substitutiu amb GH, homocisteïna, folat i hormones tiroidees*

El tractament substitutiu amb GH reduí significativament les concentracions d'homocisteïna respecte al placebo. El nivell de significació d'aquesta reducció ( $p=0.047$ ) i el reduït nombre de malalts que participaren en l'estudi fan necessari que aquests resultats siguin replicats en estudis posteriors amb un major nombre de malalts. En tot cas, la interrupció del tractament amb GH es va associar amb un increment de les concentracions d'homocisteïna, que retornaren a l'estat basal (pre-inici del tractament).



No obstant, a nivell basal, no vam trobar diferències en les concentracions d'homocisteïna entre pacients amb acromegàlia i controls indicant que la influència de la GH sobre les concentracions d'homocisteïna podria estar influenciada per algun altre factor present en el model de deficiència de GH i no en el model d'acromegàlia.

Part de l'interès en l'efecte de GH sobre la homocisteïna radica en la relació d'aquest paràmetre amb el risc cardiovascular. No obstant, aquesta relació és força controvertida en base als diferents estudis disponibles (310). L'acceptació més recent és la de que les concentracions d'homocisteïna es relacionarien amb risc cardiovascular en malalts que ja han presentat un episodi cardiovascular o en malalts que tenen alt risc cardiovascular però no en malalts aparentment sans (331). L'homocisteïna podria ser un paràmetre secundàriament elevat en el dany vascular per arteriosclerosi. En qualsevol cas, un altre interès del nostre estudi és el d'aportar noves dades fisiopatològiques sobre la regulació hormonal d'aquest peculiar aminoàcid.

Els possibles mecanismes implicats en la regulació de les concentracions d'homocisteïna per part de la GH són els següents. En primer lloc, la GH com a hormona anabòlica que estimula la síntesi proteica podria comportar un increment en les necessitats de metionina i cisteïna i així reduir les concentracions d'homocisteïna. En aquest cas, seria d'esperar que els malalts amb acromegàlia activa presentessin uns nivells d'homocisteïna inferiors als controls i no fou així. Una altra possibilitat és que l'efecte de GH sobre homocisteïna estigui mediat per l'efecte de la GH sobre el metabolisme d'hormones tiroidees. El tractament amb GH altera el metabolisme d'hormones tiroidees estimulants la conversió de T4 a T3. En el nostre estudi l'administració de GH s'associà a una reducció significativa de les concentracions de T4

lliure així com amb un augment de les concentracions de folat i d'hormona triiodetironina (T3), observació corroborada per altres investigadors (349, 350). Com la T3 és l'hormona activa, podríem dir que el tractament amb GH restitueix el balanç T4/T3, augmentant les concentracions d'hormona activa. Recentment s'ha comprovat que l'estat tiroïdal és un determinant important de les concentracions d'homocisteïna i també de les concentracions de folat en sèrum (345, 346). L'hipotiroidisme iatrogen s'acompanya d'un augment de les concentracions d'homocisteïna que posteriorment disminueixen al restituir la funció tiroïdal normal (374). El mecanisme pel qual l'hipotiroidisme provoca hiperhomocisteïnèmia és controvertit però es pensa que la disminució de les concentracions de folat i de l'aclariment de creatinina, així com una alteració en la remetilació podrien jugar un paper (374). La hipòtesi de que l'efecte de GH sobre les concentracions d'homocisteïna estaria mediat per l'efecte de la GH sobre el metabolisme d'hormones tiroïdals seria més compatible amb les nostres troballes en els malalts amb acromegàlia. En l'estudi basal, no vam trobar diferències entre pacients i controls, malgrat nivells francament alts de GH en els malalts amb acromegàlia activa. Els malalts participants en el nostre estudi no presentaven hipotiroidisme i no estaven tractats amb T4. En un sistema intacte podrien actuar els mecanismes d'autoregulació per a mantenir uns nivells de T3 adequats i una situació d'eutiroidisme malgrat la presència de nivells elevats de GH. Cal remarcar però que això és només una hipòtesi i en el nostre estudi, els canvis en les concentracions d'hormones tiroïdals no correlacionaren amb els canvis en l'homocisteïna.

Com a conclusió, el tractament substitutiu amb GH en pacients amb hipopituitarisme disminueix les concentracions d'homocisteïna. Aquestes retornen a

l'estat basal al discontinuar el tractament. Es requereixen estudis amb un nombre superior de malalts per a confirmar aquestes troballes i per estudiar el mecanisme d'aquest efecte.

### *3-Tractament substitutiu amb GH i resistència a la insulina*

Un altre aspecte important derivat dels nostres estudis és l'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre les concentracions de glucèmia i insulinèmia, paràmetres que ens donen una estimació del nivell d'insulin-resistència. És clarament reconegut que l'acromegàlia activa representa un estat de resistència a la insulina. En el nostre estudi, els malalts amb acromegàlia presentaren una elevada incidència de diabetis i nivells d'insulinèmia superiors que malalts controls comparables. La GH administrada com a tractament substitutiu causa un efecte antagònic a la insulina i per tant, una insulin-resistència (226). El que ha estat proposat per alguns investigadors és que el tractament perllongat amb GH, pels canvis en la composició corporal i la reducció del greix central i visceral aconseguiria revertir la insulin resistència (226) inclús millorar-la respecte a l'estat basal (223). En el nostre estudi en homes amb deficiència de GH tractats amb GH, varem comprovar un franc increment de les concentracions d'insulinèmia i de la ratio insulina/glucosa amb respecte al grup placebo en els tres primers mesos de tractament (353). El nostre estudi confirma que l'administració de GH de forma aguda causa insulin-resistència. Als 18 mesos de tractament, s'objectivà també un increment en les concentracions de glucèmia. De fet, dos pacients (de 20) presentaren nivells de glucèmia superiors a 7 mmol/L (en el rang de diabetis) i dos més, entre 6.1 i 7 mmol/L, en el rang d'hiperglicèmia en dejú. En els primers tres mesos de l'estudi, les dosis de GH que es

van emprar foren suprafisiològiques, segons ho demostraren les concentracions d' IGF-I per sobre de la normalitat en un gran percentatge de pacients. És possible que la dosi de GH jugui un paper important en l'efecte antagonista de la insulina. Els nostres resultats són concordants amb d'altres i suggereixen que, tot i en administració crònica, el tractament substitutiu amb GH s'associa amb insulín resistència (190, 224). Pensem que l'estudi de Fowelin i cols. (226), tot i ser l'únic que ha utilitzat la tècnica del clamp en l'estudi de la insulín-resistència en el tractament substitutiu amb GH, té una important limitació constituïda per l'escàs nombre de malalts estudiats i la inadequada aproximació estadística, la segona limitació ve donada per les elevades dosis de GH emprades que foren suprafisiològiques. Recentment Rosenfalck i cols. han estudiat l'efecte del tractament substitutiu amb GH a llarg termini sobre la resistència a la insulina mitjançant el HOMA i el test de tolerància endovenosa a la glucosa amb mostreig freqüent (FISGT) i anàlisis utilitzant el programa minimal model (375). Aquests autors confirmen que l'administració de GH causa una insulín resistència important que no és compensada per l'increment que s'observa en la síntesi d'insulina per part de la cèl·lula beta. Recentment també s'han identificat alguns dels mecanismes moleculars pels quals la GH causaria insulín-resistència (376). És important doncs, tenir en compte que el tractament substitutiu amb GH té efectes beneficiosos i altres que no ho són tant.

#### *4- Tractament substitutiu amb GH, lípids i lipoproteïnes*

Hem comprovat que tan els homes com les dones amb hipopituitarisme tenen uns nivells de HDL colesterol disminuïts i uns nivells de triglicèrids elevats. La ratio colesterol total/HDL colesterol també està incrementada amb respecte al grup control que

varem estudiar. Aquestes dades són concordants amb les d'altres estudis i confereixen un més elevat risc cardiovascular (62, 153, 163-165). En el nostre estudi vam observar un efecte agut del tractament substitutiu amb GH sobre les concentracions de colesterol total, LDL colesterol i sobre la ratio colesterol total/HDL que mostraren un descens amb respecte al grup placebo. No obstant, aquest efecte no es va mantenir a llarg termini. En els primers tres mesos de tractament, els malalts varen rebre dosis suprafisiològiques de GH. Els efectes no mantinguts sobre el perfil lipídic poden traduir un efecte dosi dependent o temps dependent. Tan en persones amb secreció adequada com en persones amb deficiència de GH, s'ha comprovat que els efectes de l'administració de GH són dosi dependents (70, 351, 377). Podria ser, per tant, que l'efecte observat en els lípids fos degut a les dosis emprades, però no es pot descartar que sigui un efecte agut de l'administració de GH a curt-mig termini que després desapareix. L'efecte del tractament substitutiu amb GH sobre els lípids és debatut. Altres estudis han observat resultats similars als nostres: descens inicial de les xifres de colesterol total i de LDL no mantingudes (221, 222, 378). Altres estudis controlats han trobat resultats discordants, alguns han trobat un descens de les concentracions de colesterol total i LDL amb el tractament crònic amb GH (157, 163, 220) i d'altres no (223). El nostre estudi, no dóna suport a un efecte sostingut del tractament substitutiu amb GH sobre el colesterol total i LDL.

En el model d'acromegàlia, el tractament amb pegvisomant s'associà amb increments en el colesterol total i en les lipoproteïnes LDL. Aquest efecte és consistent amb la regulació negativa dels nivells lipídics per la GH tal i com han proposat alguns autors (186). La reducció de l'acció de GH i de les concentracions d'IGF-I amb pegvisomant s'acompanyà d'un increment de les concentracions de colesterol. Aquest

efecte sobre el colesterol només s'observà en l'estudi longitudinal, pel que queda per demostrar que sigui realment degut al tractament amb l'antagonista del receptor de GH pegvisomant.

L'efecte de la GH sobre la lipoproteïna (a) és més reconegut. Nosaltres varem observar un increment de les concentracions de lipoproteïna (a) amb el tractament substitutiu amb GH, consistent amb altres estudis (220, 222, 225, 350, 377, 379) i un descens de les concentracions després del tractament dels pacients acromegàlics amb pegvisomant. El que no està tan clar és el paper de la lipoproteïna (a) com a factor aterogènic. Alguns estudis han suggerit que les concentracions de lipoproteïna (a) poden predir el risc cardiovascular (380), però d'altres no (381, 382). El que és clar, és que l'eix GH-IGF-I regula les concentracions de lipoproteïna (a), però és més difícil, interpretar les conseqüències d'aquest efecte.

#### *5-Tractament substitutiu amb GH i distribució del greix central*

De manera consistent amb altres estudis, hem comprovat que el tractament substitutiu amb GH disminueix el greix central determinat per DXA. Aquest és un efecte molts cops percebut subjectivament pel malalt i un efecte beneficiós des del punt de vista del risc cardiovascular. És sabut que la GH té un efecte lipolític sobre el teixit adipós i estudis emprant tècniques d'imatge com la TAC han demostrat resultats espectaculars en quan a la reducció de greix central -sobretot a expenses del compartiment visceral- amb el tractament amb GH (383). Cal ressaltar però que aquests estudis empraren dosis suprafisiològiques de GH, aconseguint una situació semblant al

model acromegàlic. El nostre estudi demostra que amb dosis substitutives de GH, s'aconsegueix una reducció en el greix central.

#### *6-Efectes de la discontinuació del tractament amb GH sobre paràmetres de risc cardiovascular*

Hem comprovat que la discontinuació del tractament substitutiu amb GH comporta la reversió dels efectes sobre composició corporal i sobre marcadors de risc cardiovascular però no dels efectes sobre la massa òssia. La proteïna C reactiva, la homocisteïna i la ratio colesterol total/HDL van presentar una elevació després de la retirada del tractament amb GH. El greix central determinat per DXA va augmentar. En contraposició a aquests efectes potencialment deleteris des del punt de vista cardiovascular, les concentracions de glicèmia i insulinèmia així com l'índex IRHOMA van disminuir clarament després de la retirada del tractament amb GH, constituint una evidència més de que el tractament amb GH inclús a llarg termini (després de 18 mesos), produeix insulin-resistència. És important dissenyar estudis prospectius i controlats amb l'objectiu de determinar els efectes del tractament substitutiu sobre episodis cardiovascular clínicament significatius i sobre mortalitat, doncs els efectes observats sobre paràmetres indirectes de risc cardiovascular són contraposats. En tot cas, hem comprovat que els efectes de la GH sobre aquests paràmetres són reversibles amb la retirada del tractament.

#### *7-Efectes de la discontinuació del tractament amb GH sobre la composició corporal*

A l'igual que els efectes sobre el greix central, els canvis en la composició corporal massa magra i massa grassa assolits amb el tractament substitutiu amb GH retornen a l'estat basal després de la retirada del tractament amb GH: la massa grassa augmenta i la magra disminueix. Això va ser evident ja als sis mesos després de la interrupció del tractament amb GH en el nostre estudi. Aquests resultats són concordants amb altres estudis que han comprovat que en malalts amb deficiència de GH d'inici en edat pediàtrica, la reversió dels efectes de la GH sobre la composició corporal ja s'ha produït en els primers tres mesos després d'abandonar el tractament (190).

Més interessant és l'efecte de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH sobre la densitat mineral òssia (DMO). Vam observar que la DMO va continuar augmentant més enllà de la retirada del tractament, comprovant-se un guany net en la DMO en diferents localitzacions: columna en projecció antero-posterior, columna en projecció lateral, cadera, fèmur, trocànter i DMO total. Totes aquestes localitzacions mostraren un increment net respecte a l'estat basal. L'únic lloc que no mostrà canvis significatius en la DMO fou el radi. Aquest efecte perllongat -més enllà de la finalització del tractament amb GH- d'increment de massa òssia, s'explicaria en part per la complexitat del procés de remodelament ossi que precisa de mesos per a completar un cicle de resorció-mineralització, de forma que hi hauria una mineralització tardana de l'osteòide format durant el tractament amb GH però també pot ser que la GH fos necessària per iniciar el cicle de remodelament ossi però no per mantenir-lo. Probablement però, el mecanisme d'acció de la GH, regulant diferents gens a nivell cel·lular, té a veure amb el fet de que l'efecte es perllongui més enllà de la retirada de l'hormona. Aquesta efecte sostingut d'increment de massa òssia després de la retirada



del tractament amb GH ha estat també observat per altres autors en un estudi més petit en el que es valorà la DMO dos anys després d'un curs de tractament amb GH per 6 mesos (214) i també en un estudi que implicà pacients amb deficiència de GH d'inici en edat pediàtrica on es constatà un increment de massa òssia a nivells d'os cortical en el radi (200). Recentment, s'ha pogut comprovar que aquest efecte perllongat sobre la massa òssia es produeix també després de la retirada del tractament amb PTH, una altra hormona anabòlica (384). Aquest efecte persistent d'increment de massa òssia després de la retirada del tractament amb GH és important de tenir en compte per a dissenyar estratègies terapèutiques adients a la indicació del tractament amb GH en cada cas.

#### *8-Nivells androgènics en dones amb hipopituitarisme*

Una altra troballa en l'estudi transversal de dones amb hipopituitarisme és el fet de que aquestes tenen nivells molt baixos d'andrògens, en molts casos indetectables i sempre inferiors a dones controls. El nostre estudi avaluà de forma sistemàtica si les dones amb hipopituitarisme presentaven nivells d'andrògens inferiors a dones controls en diferent situació estrogènica: pre i postmenopàusiques i en ambdós casos rebent i no rebent tractament estrogènic en forma de tractament contraceptiu o de tractament hormonal substitutiu. Les concentracions d'andrògens (testosterona total i lliure, DHEAs i androstendiona) foren sempre inferiors en dones amb hipopituitarisme amb afectació d'eixos gonadal i/o adrenal. Les concentracions de testosterona total i lliure foren especialment indetectables en aquelles dones amb afectació concomitant d'eixos adrenocòrtico-suprarenal i gonadotròpic. Varem comprovar també que en dones premenopàusiques, hi ha un pic de testosterona total i lliure així com androstendiona a la

meitat del cicle, consistent amb observacions d'altres autors (385). Nosaltres no vam adreçar quines són les possibles conseqüències d'aquesta deficiència androgènica en la dona amb hipopituitarisme, però definitivament és un camp d'interès per a estudis posteriors. Vam trobar una certa correlació entre nivells de testosterona i IGF-I en dones amb hipopituitarisme. Se sap que la GH exerceix un efecte estimulador de la síntesi d'andrògens a nivell d'ovari, que en certa manera podria estar en relació amb aquesta troballa (386). De forma recíproca, la deficiència androgènica, també podria contribuir a una deficiència més important de GH donat el proposat efecte estimulador de la testosterona sobre la secreció de GH (386). En homes amb hipogonadisme hipogonadotrop s'ha observat una menor amplitud dels polsos de GH en comparació amb homes eugonadals i el tractament substitutiu amb testosterona s'associa amb un increment en la secreció de GH de 24 hores i les concentracions d'IGF-I (386). Aquest efecte s'atribuí en part a l'aromatització de testosterona a estradiol. Una altra possibilitat és la de que les dones amb defectes hormonals hipofisaris més greus, presentin mancances més importants i paral·leles dels eixos somatotrop, gonadotrop i/o corticotrop explicant la correlació entre nivells hormonals. En conclusió, en dones amb hipopituitarisme vam observar uns nivells d'andrògens reduïts i una correlació entre nivells de testosterona i d'IGF-I. Queden per determinar les conseqüències de la deficiència androgènica en dones amb hipopituitarisme però és un factor a tenir en compte a l'interpretar la clínica que presenten aquestes pacients.

## **Resum de resultats**

- 1) Els pacients amb hipopituitarisme i deficiència de GH presenten nivells elevats de CRP. Aquests disminueixen amb el tractament substitutiu amb GH.
- 2) Els pacients amb acromegàlia activa tenen uns nivells baixos de CRP i aquests augmenten amb el tractament amb l'antagonista del receptor de GH, pegvisomant.
- 3) La discontinuació del tractament amb GH s'acompanya d'una tendència a l'augment de les concentracions de CRP.
- 4) El tractament substitutiu amb GH en homes amb deficiència de GH disminueix altres marcadors inflamatoris com la IL-6 i tendeix a disminuir les concentracions de proteïna sèrica amiloide A.
- 5) El tractament substitutiu amb GH en homes amb deficiència de GH disminueix les concentracions d'homocisteïna.
- 6) El tractament substitutiu amb GH augmenta les concentracions de T3.
- 7) La discontinuació del tractament amb GH s'acompanya d'un augment en les concentracions d'homocisteïna.
- 8) El tractament substitutiu amb GH en homes amb deficiència de GH a curt termini disminueix el colesterol total i la ratio colesterol total/HDL, però aquest efecte no es manté a llarg termini a l'ajustar les dosis de GH per mantenir uns nivells fisiològics d'IGF-I.
- 9) El tractament de l'acromegàlia amb l'antagonista del receptor de GH pegvisomant s'acompanya d'un lleuger augment en les concentracions de colesterol i triglicèrids.

- 10) El tractament substitutiu amb GH en homes amb deficiència de GH a curt termini augmenta les concentracions de glucèmia, insulinèmia i la ratio insulinèmia/glucèmia, però només la glicèmia es manté lleugerament incrementada a llarg termini.
- 11) La discontinuació del tractament amb GH en homes amb deficiència de GH s'associa amb una disminució de les concentracions d'insulinèmia i glucèmia compatible amb un augment en la insulín-sensibilitat o també amb una millora de la insulín-resistència associada al tractament substitutiu amb GH.
- 12) El tractament substitutiu amb GH en homes amb deficiència de GH disminueix el greix central.
- 13) Els canvis en la composició corporal: augment de massa magra i disminució de greix total i central, reverteixen després de la discontinuació del tractament substitutiu amb GH.
- 14) La densitat mineral òssia continua augmentant 18 mesos després d'abandonar el tractament substitutiu amb GH.
- 15) Les dones amb hipopituitarisme presenten uns nivells androgènics disminuïts, especialment en aquells casos en que existeix simultàniament hipogonadisme i hipoadrenalisme.
- 16) Les dones amb hipopituitarisme presenten nivells elevats de proteïna C reactiva en comparació amb controls.
- 17) Tan en dones amb hipopituitarisme com en controls, les concentracions de proteïna C reactiva estan influenciades per l'índex de massa corporal i pel tractament estrogènic.

## **Conclusions**



- 1) L'estat secretor i l'acció de la GH modulen negativament les concentracions sèriques de CRP. El mecanisme d'aquesta modulació es desconeix però podria ser un efecte directe de la GH sobre el mateix gen o d'altres gens o proteïnes que regulen de la síntesi de CRP, o indirecta i mediada per altres efectes de GH, com els efectes sobre la composició corporal. Tan en homes com en dones, les concentracions de CRP són altes en la deficiència de GH i baixes en l'acromegàlia. Les concentracions de CRP disminueixen amb el tractament substitutiu amb GH en pacients amb deficiència i anàlogament, augmenten amb el tractament satisfactori de l'acromegàlia amb l'antagonista del receptor pegvisomant. El significat d'aquest marcador en els estats patològics de l'eix GH-IGF-I encara es desconeix. Són necessaris més estudis per tal d'establir el significat d'aquest paràmetre en aquest contexte clínic, especialment la relació de la CRP en aquests dos models amb el risc cardiovascular.
- 2) El tractament substitutiu amb GH en adults té efectes sobre diferents factors clàssics de risc cardiovascular, alguns dels quals poden ser considerats "beneficials" i altres no tant. El tractament substitutiu amb GH redueix el greix central, efecte aparentment beneficiós, però incrementa la insulín resistència, efecte potencialment perjudicial.
- 3) El tractament substitutiu amb GH disminueix les concentracions plasmàtiques d'homocisteïna. El mecanisme i el significat d'aquesta modulació es desconeixen pel moment però podria ésser mediat per l'efecte de la GH sobre el metabolisme d'hormones tiroidees.

- 4) La discontinuació del tractament substitutiu amb GH s'acompanya d'una reversió dels efectes beneficiosos de la GH sobre la composició corporal: augmenta la massa grassa i disminueix la massa magra. No obstant, l'efecte de la GH incrementant la massa òssia continua més enllà de la discontinuació del tractament.
- 5) La discontinuació del tractament substitutiu amb GH s'acompanya d'un increment en el greix central i d'un augment de les concentracions de CRP i homocisteïna. Les concentracions d'insulina i glucèmia així com la ratio insulina/glucèmia disminueixen clarament amb la discontinuació del tractament substitutiu amb GH indicant un descens en la insulín resistència. El tractament de l'acromegàlia amb l'antagonista del receptor de GH pegvisomant no té cap efecte significatiu sobre les concentracions de glucèmia i insulinèmia.
- 6) La GH regula les concentracions de lipoproteïna (a), el tractament substitutiu amb GH en homes amb deficiència s'acompanya d'un augment en les concentracions sèriques de lipoproteïna (a), mentre que el tractament de l'acromegàlia amb pegvisomant s'associa a un descens dels mateixos.



**Articles inclosos a la tesi:**

1. Sesmilo, G., Biller BMK, Llevadot J, Hanson G, Hayden D, Rifai N, Klibanski A. "Effects of growth hormone administration on inflammatory and other cardiovascular risk markers in men with growth hormone deficiency. A randomized, controlled clinical trial." *Ann Intern Med* 2000; 133(2): 111-22.
2. Sesmilo G, Biller BM, Llevadot J, Hanson G, Hayden D, Rifai N, Klibanski A. Effects of Growth Hormone (GH) Administration on Homocyst(e)ine Levels in Men with GH Deficiency: A Randomized Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(4):1518-1524.
3. Biller BMK, Sesmilo G, Baum HBA, Hayden D, Schoenfeld, Klibanski A. Withdrawal of long-term physiological growth hormone (GH) administration: differential effects on bone density and body composition in men with adult-onset GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(3): 970-6.
4. Sesmilo G, Biller BM, Llevadot J, Hayden D, Klibanski A. Effects of withdrawal of growth hormone (GH) replacement therapy on cardiovascular risk markers in men with adult-onset GH deficiency. *Sotmès per a publicació.*
5. Sesmilo G, Miller KK, Hayden D, Klibanski A. Inflammatory Cardiovascular Risk Markers in Women with Hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86: 5774-81.
6. Miller KK, Sesmilo G, Schiller A, Schoenfeld D, Burton S, Klibanski A. Androgen deficiency in women with hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(2): 561-7.

## *Referències*

---

7. Sesmilo G, Fairfield W, Katznelson L, Pulaski K, Freda P, Bonert V, Dimaraki E, Stavrou S, Vance ML, Hayden D, Klibanski A. Cardiovascular risk factors in acromegaly before and after normalization of serum IGF-I levels with the GH antagonist pegvisomant. . J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87: 1692-1699.

**Bibliografia:**

1. Raben M. Clinical use of human growth hormone. *N. Engl. J. Med.* 1962;266:82-86.
2. Baumann G. Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins. *Endocr Rev.* 1991;12(4):424-49.
3. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev.* 1998;19(6):717-97.
4. Isgaard J, Moller C, Isaksson OG, Nilsson A, Mathews LS, Norstedt G. Regulation of insulin-like growth factor messenger ribonucleic acid in rat growth plate by growth hormone. *Endocrinology.* 1988;122(4):1515-20.
5. Clark RG, Carlsson LM, Robinson IC. Growth hormone secretory profiles in conscious female rats. *J Endocrinol.* 1987;114(3):399-407.
6. Eden S. Age- and sex-related differences in episodic growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology.* 1979;105(2):555-60.
7. Saunders A, Terry LC, Audet J, Brazeau P, Martin JB. Dynamic studies of growth hormone and prolactin secretion in the female rat. *Neuroendocrinology.* 1976;21(3):193-203.
8. Bertherat J, Dournaud P, Berod A, et al. Growth hormone-releasing hormone-synthesizing neurons are a subpopulation of somatostatin receptor-labelled cells in the rat arcuate nucleus: a combined in situ hybridization and receptor light- microscopic radioautographic study. *Neuroendocrinology.* 1992;56(1):25-31.
9. Veldhuis JD. Neuroendocrine control of pulsatile growth hormone release in the human: relationship with gender. *Growth Horm IGF Res.* 1998;8 Suppl B:49-59.
10. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999;402(6762):656-60.
11. Dickson SL, Luckman SM. Induction of c-fos messenger ribonucleic acid in neuropeptide Y and growth hormone (GH)-releasing factor neurons in the rat arcuate nucleus following systemic injection of the GH secretagogue, GH-releasing peptide-6. *Endocrinology.* 1997;138(2):771-7.
12. Arvat E, di Vito L, Maccagno B, et al. Effects of GHRP-2 and hexarelin, two synthetic GH-releasing peptides, on GH, prolactin, ACTH and cortisol levels in man. Comparison with the effects of GHRH, TRH and hCRH. *Peptides.* 1997;18(6):885-91.
13. Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology.* 1984;114(5):1537-45.
14. Roupas P, Herington AC. Cellular mechanisms in the processing of growth hormone and its receptor. *Mol Cell Endocrinol.* 1989;61(1):1-12.
15. Bazan JF. Haemopoietic receptors and helical cytokines. *Immunol Today.* 1990;11(10):350-4.
16. Bazan JF. A novel family of growth factor receptors: a common binding domain in the growth hormone, prolactin, erythropoietin and IL-6 receptors, and the p75 IL-2 receptor beta-chain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;164(2):788-95.
17. Cunningham BC, Ultsch M, De Vos AM, Mulkerrin MG, Clauser KR, Wells JA. Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecule. *Science.* 1991;254(5033):821-5.
18. de Vos AM, Ultsch M, Kossiakoff AA. Human growth hormone and extracellular domain of its receptor: crystal structure of the complex. *Science.* 1992;255(5042):306-12.
19. Argetsinger LS, Campbell GS, Yang X, et al. Identification of JAK2 as a growth hormone receptor-associated tyrosine kinase. *Cell.* 1993;74(2):237-44.
20. Carter-Su C, Schwartz J, Smit LS. Molecular mechanism of growth hormone action. *Annu Rev Physiol.* 1996;58:187-207.

21. Campbell GS, Meyer DJ, Raz R, Levy DE, Schwartz J, Carter-Su C. Activation of acute phase response factor (APRF)/Stat3 transcription factor by growth hormone. *J Biol Chem.* 1995;270(8):3974-9.
22. Gronowski AM, Rotwein P. Rapid changes in nuclear protein tyrosine phosphorylation after growth hormone treatment in vivo. Identification of phosphorylated mitogen-activated protein kinase and STAT91. *J Biol Chem.* 1994;269(11):7874-8.
23. Gronowski AM, Zhong Z, Wen Z, Thomas MJ, Darnell JE, Jr., Rotwein P. In vivo growth hormone treatment rapidly stimulates the tyrosine phosphorylation and activation of Stat3. *Mol Endocrinol.* 1995;9(2):171-7.
24. Doglio A, Dani C, Grimaldi P, Ailhaud G. Growth hormone stimulates c-fos gene expression by means of protein kinase C without increasing inositol lipid turnover. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(4):1148-52.
25. Gurland G, Ashcom G, Cochran BH, Schwartz J. Rapid events in growth hormone action. Induction of c-fos and c-jun transcription in 3T3-F442A preadipocytes. *Endocrinology.* 1990;127(6):3187-95.
26. Slootweg MC, de Groot RP, Herrmann-Erlee MP, Koornneef I, Kruijer W, Kramer YM. Growth hormone induces expression of c-jun and jun B oncogenes and employs a protein kinase C signal transduction pathway for the induction of c-fos oncogene expression. *J Mol Endocrinol.* 1991;6(2):179-88.
27. Murphy LJ, Bell GI, Friesen HG. Growth hormone stimulates sequential induction of c-myc and insulin-like growth factor I expression in vivo. *Endocrinology.* 1987;120(5):1806-12.
28. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev.* 2001;22(1):53-74.
29. Bichell DP, Kikuchi K, Rotwein P. Growth hormone rapidly activates insulin-like growth factor I gene transcription in vivo. *Mol Endocrinol.* 1992;6(11):1899-908.
30. Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD, Jr., van den Brande JL, van Wyk JJ. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature.* 1972;235(5333):107.
31. Garland JT, Lottes ME, Kozak S, Daughaday WH. Stimulation of DNA synthesis in isolated chondrocytes by sulfation factor. *Endocrinology.* 1972;90(4):1086-90.
32. Yakar S, Liu JL, Stannard B, et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(13):7324-9.
33. Isaksson OG, Lindahl A, Nilsson A, Isgaard J. Mechanism of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. *Endocr Rev.* 1987;8(4):426-38.
34. Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell.* 1993;75(1):59-72.
35. Powell-Braxton L, Hollingshead P, Warburton C, et al. IGF-I is required for normal embryonic growth in mice. *Genes Dev.* 1993;7(12B):2609-17.
36. Woods KA, Camacho-Hubner 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.* 1996;335(18):1363-7.
37. Shinar DM, Endo N, Halperin D, Rodan GA, Weinreb M. Differential expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF- II messenger ribonucleic acid in growing rat bone. *Endocrinology.* 1993;132(3):1158-67.
38. Butler AA, Le Roith D. Control of growth by the somatotropic axis: growth hormone and the insulin-like growth factors have related and independent roles. *Annu Rev Physiol.* 2001;63:141-64.
39. Okada S, Kopchick JJ. Biological effects of growth hormone and its antagonist. *Trends Mol Med.* 2001;7(3):126-32.

40. Wells JA. Binding in the growth hormone receptor complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(1):1-6.
41. Trainer PJ, Drake WM, Katznelson L, et al. Treatment of acromegaly with the growth hormone-receptor antagonist pegvisomant. *N Engl J Med*. 2000;342(16):1171-7.
42. Vance ML, Mauras N. Growth hormone therapy in adults and children. *N Engl J Med*. 1999;341(16):1206-16.
43. Carroll PV, Christ ER, Bengtsson BA, et al. Growth hormone deficiency in adulthood and the effects of growth hormone replacement: a review. Growth Hormone Research Society Scientific Committee. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(2):382-95.
44. Klibanski A. Nonsecreting pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1987;16(3):793-804.
45. Littley MD, Shalet SM, Beardwell CG, Ahmed SR, Applegate G, Sutton ML. Hypopituitarism following external radiotherapy for pituitary tumours in adults. *Q J Med*. 1989;70(262):145-60.
46. Hindmarsh P, Smith PJ, Brook CG, Matthews DR. The relationship between height velocity and growth hormone secretion in short prepubertal children. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1987;27(5):581-91.
47. Shalet SM, Toogood A, Rahim A, Brennan BM. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. *Endocr Rev*. 1998;19(2):203-23.
48. Baum HB, Biller BM, Katznelson L, et al. Assessment of growth hormone (GH) secretion in men with adult-onset GH deficiency compared with that in normal men--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(1):84-92.
49. Hartman ML, Crowe BJ, Chipman JJ, group USHs. Which patients do not require a GH stimulation test for the diagnosis of adult GH deficiency (GHD). *The Endocrine Society's 82nd Annual Meeting Abstract book*. 2000;2170.
50. Hoffman DM, O'Sullivan AJ, Baxter RC, Ho KK. Diagnosis of growth-hormone deficiency in adults. *Lancet*. 1994;343(8905):1064-8.
51. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with growth hormone deficiency: summary statement of the Growth Hormone Research Society Workshop on Adult Growth Hormone Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(2):379-81.
52. AACE clinical practice guidelines for growth hormone use in adults and children. *Endocrine practice*. 1998;4(3):166-173.
53. Cain JP, Williams GH, Dluhy RG. Glucagon-initiated human growth hormone release: a comparative study. *Can Med Assoc J*. 1972;107(7):617-22.
54. Lin T, Tucci JR. Provocative tests of growth-hormone release. A comparison of results with seven stimuli. *Ann Intern Med*. 1974;80(4):464-9.
55. Sutton J, Lazarus L. Growth hormone in exercise: comparison of physiological and pharmacological stimuli. *J Appl Physiol*. 1976;41(4):523-7.
56. Eddy RL, Gilliland PF, Ibarra JD, Jr., McMurry JF, Jr., Thompson JQ. Human growth hormone release. Comparison of provocative test procedures. *Am J Med*. 1974;56(2):179-85.
57. Vahl N, Jorgensen JO, Jurik AG, Christiansen JS. Abdominal adiposity and physical fitness are major determinants of the age associated decline in stimulated GH secretion in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(6):2209-15.
58. Rahim A, Toogood AA, Shalet SM. The assessment of growth hormone status in normal young adult males using a variety of provocative agents. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996;45(5):557-62.
59. Tapanainen P, Knip M, Lautala P, Leppaluoto J. Variable plasma growth hormone (GH)-releasing hormone and GH responses to clonidine, L-dopa, and insulin in normal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;67(4):845-9.

60. Koppeschaar HP, ten Horn CD, Thijssen JH, Page MD, Dieguez C, Scanlon MF. Differential effects of arginine on growth hormone releasing hormone and insulin induced growth hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;36(5):487-90.
61. Popovic V, Leal A, Micic D, et al. GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults [In Process Citation]. *Lancet*. 2000;356(9236):1137-42.
62. Wuster C, Slenczka E, Ziegler R. [Increased prevalence of osteoporosis and arteriosclerosis in conventionally substituted anterior pituitary insufficiency: need for additional growth hormone substitution?]. *Klin Wochenschr*. 1991;69(16):769-73.
63. Monson JP. Application of a disease-specific, quality-of-life measure (QoL-AGHDA) in growth hormone-deficient adults and a random population sample in Sweden: validation of the measure by rasch analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52(2):141-2.
64. Wiren L, Whalley D, McKenna S, Wilhelmsen L. Application of a disease-specific, quality-of-life measure (QoL-AGHDA) in growth hormone-deficient adults and a random population sample in Sweden: validation of the measure by rasch analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52(2):143-52.
65. Stabler B, Turner JR, Girdler SS, Light KC, Underwood LE. Reactivity to stress and psychological adjustment in adults with pituitary insufficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;36(5):467-73.
66. McGauley GA. Quality of life assessment before and after growth hormone treatment in adults with growth hormone deficiency. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1989;356:70-2.
67. Bjork S, Jonsson B, Westphal O, Levin JE. Quality of life of adults with growth hormone deficiency: a controlled study. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1989;356:55-9.
68. Rosen T, Wiren L, Wilhelmsen L, Wiklund I, Bengtsson BA. Decreased psychological well-being in adult patients with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;40(1):111-6.
69. Davidson MB. Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Endocr Rev*. 1987;8(2):115-31.
70. Lucidi P, Lauteri M, Laureti S, et al. A dose-response study of growth hormone (GH) replacement on whole body protein and lipid kinetics in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(2):353-7.
71. Beshyah SA, Sharp PS, Gelding SV, Halliday D, Johnston DG. Whole-body leucine turnover in adults on conventional treatment for hypopituitarism. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1993;129(2):158-64.
72. Russell-Jones DL, Weissberger AJ, Bowes SB, et al. The effects of growth hormone on protein metabolism in adult growth hormone deficient patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993;38(4):427-31.
73. Ottosson M, Vikman-Adolfsson K, Enerback S, Elander A, Bjorntorp P, Eden S. Growth hormone inhibits lipoprotein lipase activity in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(3):936-41.
74. Dietz J, Schwartz J. Growth hormone alters lipolysis and hormone-sensitive lipase activity in 3T3-F442A adipocytes. *Metabolism*. 1991;40(8):800-6.
75. Asayama K, Amemiya S, Kusano S, Kato K. Growth-hormone-induced changes in postheparin plasma lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase activities. *Metabolism*. 1984;33(2):129-31.
76. Riggs BL, Randall RV, Wahner HW, Jowsey J, Kelly PJ, Singh M. The nature of the metabolic bone disorder in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1972;34(6):911-8.
77. Aloia JF, Roginsky MS, Jowsey J, Dombrowski CS, Shukla KK, Cohn SH. Skeletal metabolism and body composition in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1972;35(4):543-51.

78. Bengtsson BA, Brummer RJ, Eden S, Bosaeus I. Body composition in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1989;30(2):121-30.
79. Ikkos DG, Ntalles K, Velentzas C, Katsichtis P. Cortical bone mass in acromegaly. *Acta Radiol [Diagn] (Stockh)*. 1974;15(2):134-44.
80. Tanner JM, Whitehouse RH. The effect of human growth hormone on subcutaneous fat thickness in hyposomatotrophic and panhypopituitary dwarfs. *J Endocrinol*. 1967;39(2):263-75.
81. Parra A, Argote RM, Garcia G, Cervantes C, Alatorre S, Perez-Pasten E. Body composition in hypopituitary dwarfs before and during human growth hormone therapy. *Metabolism*. 1979;28(8):851-7.
82. Collipp PJ, Thomas J, Curti V, Sharma RK, Maddaiah VT, Cohn SE. Body composition changes in children receiving human growth hormone. *Metabolism*. 1973;22(4):589-95.
83. Tanner JM, Hughes PC, Whitehouse RH. Comparative rapidity of response of height, limb muscle and limb fat to treatment with human growth hormone in patients with and without growth hormone deficiency. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1977;84(4):681-96.
84. Zachmann M, Fernandez F, Tassinari D, Thakker R, Prader A. Anthropometric measurements in patients with growth hormone deficiency before treatment with human growth hormone. *Eur J Pediatr*. 1980;133(3):277-82.
85. Rosenbaum M, Gertner JM, Leibel RL. Effects of systemic growth hormone (GH) administration on regional adipose tissue distribution and metabolism in GH-deficient children. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69(6):1274-81.
86. Cuneo RC, Salomon F, McGauley GA, Sonksen PH. The growth hormone deficiency syndrome in adults. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;37(5):387-97.
87. de Boer H, Blok GJ, Van der Veen EA. Clinical aspects of growth hormone deficiency in adults. *Endocr Rev*. 1995;16(1):63-86.
88. van der Veen EA, Netelenbos JC. Growth hormone (replacement) therapy in adults: bone and calcium metabolism. *Horm Res*. 1990;33(Suppl 4):65-8.
89. Jorgensen JO, Pedersen SA, Thuesen L, et al. Beneficial effects of growth hormone treatment in GH-deficient adults. *Lancet*. 1989;1(8649):1221-5.
90. Binnerts A, Deurenberg P, Swart GR, Wilson JH, Lamberts SW. Body composition in growth hormone-deficient adults. *Am J Clin Nutr*. 1992;55(5):918-23.
91. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *N Engl J Med*. 1989;321(26):1797-803.
92. Whitehead HM, Gilliland JS, Allen IV, Hadden DR. Growth hormone treatment in adults with growth hormone deficiency: effect on muscle fibre size and proportions. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1989;356:65-7.
93. Cuneo RC, Salomon F, Wiles CM, et al. Histology of skeletal muscle in adults with GH deficiency: comparison with normal muscle and response to GH treatment. *Horm Res*. 1992;37(1-2):23-8.
94. Doerga ME, Keizer HA, Geurten PGH, et al. Growth hormone deficiency may induce a decrease in type I fibres of the vastus lateralis. *Program of the Fourth International Meeting on growth hormone deficiency in adults, Cannes, France*. 1993:p50 (abstract).
95. Rutherford OM, Jones DA, Round JM, Buchanan CR, Preece MA. Changes in skeletal muscle and body composition after discontinuation of growth hormone treatment in growth hormone deficient young adults. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1991;34(6):469-75.
96. De Boer H, Blok GJ, Voerman HJ, De Vries PM, van der Veen EA. Body composition in adult growth hormone-deficient men, assessed by anthropometry and bioimpedance analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75(3):833-7.

97. Rosen T, Bosaeus I, Tolli J, Lindstedt G, Bengtsson BA. Increased body fat mass and decreased extracellular fluid volume in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993;38(1):63-71.
98. Bengtsson BA, Eden S, Lonn L, et al. Treatment of adults with growth hormone (GH) deficiency with recombinant human GH. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(2):309-17.
99. Peiris AN, Sothmann MS, Hoffmann RG, et al. Adiposity, fat distribution, and cardiovascular risk. *Ann Intern Med*. 1989;110(11):867-72.
100. Cuneo RC, Salomon F, Wiles CM, Sonksen PH. Skeletal muscle performance in adults with growth hormone deficiency. *Horm Res*. 1990;33(Suppl 4):55-60.
101. Cuneo RC, Salomon F, Wiles CM, Hesp R, Sonksen PH. Growth hormone treatment in growth hormone-deficient adults. I. Effects on muscle mass and strength. *J Appl Physiol*. 1991;70(2):688-94.
102. Whitehead HM, Boreham C, McIlrath EM, et al. Growth hormone treatment of adults with growth hormone deficiency: results of a 13-month placebo controlled cross-over study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;36(1):45-52.
103. Cunningham JJ. A reanalysis of the factors influencing basal metabolic rate in normal adults. *Am J Clin Nutr*. 1980;33(11):2372-4.
104. O'Sullivan AJ, Kelly JJ, Hoffman DM, Freund J, Ho KK. Body composition and energy expenditure in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;78(2):381-6.
105. Salomon F, Cuneo RC, Umpleby AM, Sonksen PH. Interactions of body fat and muscle mass with substrate concentrations and fasting insulin levels in adults with growth hormone deficiency. *Clin Sci (Colch)*. 1994;87(2):201-6.
106. Murphy WR, Daughaday WH, Hartnett C. The effect of hypophysectomy and growth hormone on the incorporation of labeled sulfate into tibial epiphyseal and nasal cartilage of the rat. *J Lab Clin Med*. 1956;47:715-722.
107. Daughaday WH, Reeder C. Synchronous activation of DNA synthesis in hypophysectomized rat cartilage by growth hormone. *J Lab Clin Med*. 1966;68(3):357-68.
108. D'Ercole AJ, Applewhite GT, Underwood LE. Evidence that somatomedin is synthesized by multiple tissues in the fetus. *Dev Biol*. 1980;75(2):315-28.
109. Ohlsson C, Bengtsson BA, Isaksson OG, Andreassen TT, Słooweg MC. Growth hormone and bone. *Endocr Rev*. 1998;19(1):55-79.
110. Liu JL, LeRoith D. Insulin-like growth factor I is essential for postnatal growth in response to growth hormone. *Endocrinology*. 1999;140(11):5178-84.
111. Nilsson A, Swolin D, Enerback S, Ohlsson C. Expression of functional growth hormone receptors in cultured human osteoblast-like cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(12):3483-8.
112. Ernst M, Froesch ER. Growth hormone dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum-free cultures via local synthesis of insulin-like growth factor I. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988;151(1):142-7.
113. Słooweg MC. Growth hormone and bone. *Horm Metab Res*. 1993;25(7):335-43.
114. Nishiyama K, Sugimoto T, Kaji H, Kanatani M, Kobayashi T, Chihara K. Stimulatory effect of growth hormone on bone resorption and osteoclast differentiation. *Endocrinology*. 1996;137(1):35-41.
115. Lewinson D, Shenzer P, Hochberg Z. Growth hormone involvement in the regulation of tartrate-resistant acid phosphatase-positive cells that are active in cartilage and bone resorption. *Calcif Tissue Int*. 1993;52(3):216-21.
116. Yeh JK, Chen MM, Aloia JF. Skeletal alterations in hypophysectomized rats: I. A histomorphometric study on tibial cancellous bone. *Anat Rec*. 1995;241(4):505-12.
117. Schiltz PM, Ohta T, Glass D, Mohan S, Baylink DJ. Growth hormone stimulates cortical bone formation in immature hypophysectomized rats. *Endocr Res*. 1992;18(1):19-30.



118. Wright NM, Renault J, Hollis B, Bell NH, Key LL. Effect of growth hormone on bone: bone mineral density, trabecular bone volume, and alkaline phosphatase improve or are restored in the dwarf rat treated with growth hormone. *J Bone Miner Res.* 1995;10(1):127-31.
119. Kotzmann H, Bernecker P, Hubsch P, et al. Bone mineral density and parameters of bone metabolism in patients with acromegaly. *J Bone Miner Res.* 1993;8(4):459-65.
120. Scillitani A, Chiodini I, Carnevale V, et al. Skeletal involvement in female acromegalic subjects: the effects of growth hormone excess in amenorrheal and menstruating patients. *J Bone Miner Res.* 1997;12(10):1729-36.
121. Melmed S. Acromegaly. *N Engl J Med.* 1990;322(14):966-77.
122. Halse J, Melsen F, Mosekilde L. Iliac crest bone mass and remodelling in acromegaly. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1981;97(1):18-22.
123. Lesse GP, Fraser WD, Farquharson R, Hipkin L, Vora JP. Gonadal status is an important determinant of bone density in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;48(1):59-65.
124. Diamond T, Nery L, Posen S. Spinal and peripheral bone mineral densities in acromegaly: the effects of excess growth hormone and hypogonadism. *Ann Intern Med.* 1989;111(7):567-73.
125. Rosen T, Hansson T, Granhed H, Szucs J, Bengtsson BA. Reduced bone mineral content in adult patients with growth hormone deficiency [see comments]. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1993;129(3):201-6.
126. Kaufman JM, Taelman P, Vermeulen A, Vandeweghe M. Bone mineral status in growth hormone-deficient males with isolated and multiple pituitary deficiencies of childhood onset. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(1):118-23.
127. Janssen YJ, Hamdy NA, Frolich M, Roelfsema F. Skeletal effects of two years of treatment with low physiological doses of recombinant human growth hormone (GH) in patients with adult-onset GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(6):2143-8.
128. Johansson AG, Engstrom BE, Ljunghall S, Karlsson FA, Burman P. Gender differences in the effects of long term growth hormone (GH) treatment on bone in adults with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(6):2002-7.
129. Rosen T, Wilhelmsen L, Landin-Wilhelmsen K, Lappas G, Bengtsson BA. Increased fracture frequency in adult patients with hypopituitarism and GH deficiency. *Eur J Endocrinol.* 1997;137(3):240-5.
130. Wuster C, Abs R, Bengtsson BA, et al. The influence of growth hormone deficiency, growth hormone replacement therapy, and other aspects of hypopituitarism on fracture rate and bone mineral density. *J Bone Miner Res.* 2001;16(2):398-405.
131. Hall R. Diagnosis and management of hypopituitarism. *J R Coll Physicians Lond.* 1972;7(1):19-33.
132. de Gennes JL, Turpin G, Heshmati HM, Lebrun A. [Hypopituitarism and hyperlipidemia. Protective effect of growth hormone deficiency against atherosclerosis (author's transl)]. *Ann Endocrinol.* 1979;40(6):557-8.
133. Rosen T, Bengtsson BA. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet.* 1990;336(8710):285-8.
134. Bulow B, Hagmar L, Mikoczy Z, Nordstrom CH, Erfurth EM. Increased cerebrovascular mortality in patients with hypopituitarism [see comments]. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997;46(1):75-81.
135. Bates AS, Van't Hoff W, Jones PJ, Clayton RN. The effect of hypopituitarism on life expectancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):1169-72.
136. Tomlinson JW, Holden N, Hills RK, et al. Association between premature mortality and hypopituitarism. West Midlands Prospective Hypopituitary Study Group. *Lancet.* 2001;357(9254):425-31.

137. Tomlinson JW HN, Hills R, Wheatley K, Clayton RN, Bates AS, Sheppard MC, Stewart PM. Excess mortality in 1014 patients with hypopituitarism: impact of underlying diagnosis, sex, endocrine status and radiotherapy [abstract]. *The Endocrine Society Meeting, Toronto 2000*. 2000.
138. Etxabe J, Gaztambide S, Latorre P, Vazquez JA. Acromegaly: an epidemiological study. *J Endocrinol Invest*. 1993;16(3):181-7.
139. Bengtsson BA, Eden S, Ernest I, Oden A, Sjogren B. Epidemiology and long-term survival in acromegaly. A study of 166 cases diagnosed between 1955 and 1984. *Acta Med Scand*. 1988;223(4):327-35.
140. Bates AS, Van't Hoff W, Jones JM, Clayton RN. An audit of outcome of treatment in acromegaly. *Q J Med*. 1993;86(5):293-9.
141. Alexander L, Appleton D, Hall R, Ross WM, Wilkinson R. Epidemiology of acromegaly in the Newcastle region. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1980;12(1):71-9.
142. Orme SM, McNally RJ, Cartwright RA, Belchetz PE. Mortality and cancer incidence in acromegaly: a retrospective cohort study. United Kingdom Acromegaly Study Group. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(8):2730-4.
143. Rajasoorya C, Holdaway IM, Wrightson P, Scott DJ, Ibbertson HK. Determinants of clinical outcome and survival in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;41(1):95-102.
144. Swearingen B, Barker FG, 2nd, Katznelson L, et al. Long-term mortality after transsphenoidal surgery and adjunctive therapy for acromegaly [see comments]. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(10):3419-26.
145. Wright AD, Hill DM, Lowy C, Fraser TR. Mortality in acromegaly. *Q J Med*. 1970;39(153):1-16.
146. Nabarro JD. Acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1987;26(4):481-512.
147. Markussis V, Beshyah SA, Fisher C, Sharp P, Nicolaides AN, Johnston DG. Detection of premature atherosclerosis by high-resolution ultrasonography in symptom-free hypopituitary adults [see comments]. *Lancet*. 1992;340(8829):1188-92.
148. Nichols WW, Pepine CJ, O'Rourke MF. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke. *N Engl J Med*. 1999;340(22):1762-3.
149. Pfeifer M, Verhovec R, Zizek B, Prezelj J, Poredos P, Clayton RN. Growth hormone (GH) treatment reverses early atherosclerotic changes in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(2):453-7.
150. Capaldo B, Patti L, Oliviero U, et al. Increased arterial intima-media thickness in childhood-onset growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(5):1378-81.
151. Simons PC, Algra A, Bots ML, Grobbee DE, van der Graaf Y. Common carotid intima-media thickness and arterial stiffness: indicators of cardiovascular risk in high-risk patients. The SMART Study (Second Manifestations of ARterial disease). *Circulation*. 1999;100(9):951-7.
152. Beshyah SA, Johnston DG. Cardiovascular disease and risk factors in adults with hypopituitarism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;50(1):1-15.
153. Rosen T, Eden S, Larson G, Wilhelmsen L, Bengtsson BA. Cardiovascular risk factors in adult patients with growth hormone deficiency. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1993;129(3):195-200.
154. Lapidus L, Bengtsson C, Larsson B, Pennert K, Rybo E, Sjostrom L. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984;289(6454):1257-61.
155. Larsson B, Svardsudd K, Welin L, Wilhelmsen L, Bjorntorp P, Tibblin G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year

- follow up of participants in the study of men born in 1913. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984;288(6428):1401-4.
156. Sanmarti A, Lucas A, Hawkins F, Webb SM, Ulied A. Observational study in adult hypopituitary patients with untreated growth hormone deficiency (ODA study). Socio-economic impact and health status. Collaborative ODA (Observational GH Deficiency in Adults) Group. *Eur J Endocrinol*. 1999;141(5):481-9.
157. Weaver JU, Monson JP, Noonan K, et al. The effect of low dose recombinant human growth hormone replacement on regional fat distribution, insulin sensitivity, and cardiovascular risk factors in hypopituitary adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(1):153-9.
158. Snel YE, Doerga ME, Brummer RM, Zelissen PM, Koppeschaar HP. Magnetic resonance imaging-assessed adipose tissue and serum lipid and insulin concentrations in growth hormone-deficient adults. Effect of growth hormone replacement. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(10):1543-8.
159. Taylor R. Insulin action 1991. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1991;34(2):159-71.
160. Landon J, Greenwood FC, Stamp TC, Wynn V. The plasma sugar, free fatty acid, cortisol, and growth hormone response to insulin, and the comparison of this procedure with other tests of pituitary and adrenal function. II. In patients with hypothalamic or pituitary dysfunction or anorexia nervosa. *J Clin Invest*. 1966;45(4):437-49.
161. Hopwood NJ, Forsman PJ, Kenny FM, Drash AL. Hypoglycemia in hypopituitary children. *Am J Dis Child*. 1975;129(8):918-26.
162. Johansson JO, Landin K, Tengborn L, Rosen T, Bengtsson BA. High fibrinogen and plasminogen activator inhibitor activity in growth hormone-deficient adults. *Arterioscler Thromb*. 1994;14(3):434-7.
163. Cuneo RC, Salomon F, Watts GF, Hesp R, Sonksen PH. Growth hormone treatment improves serum lipids and lipoproteins in adults with growth hormone deficiency. *Metabolism*. 1993;42(12):1519-23.
164. O'Neal D, Hew FL, Sikaris K, Ward G, Alford F, Best JD. Low density lipoprotein particle size in hypopituitary adults receiving conventional hormone replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(7):2448-54.
165. Bulow B, Hagmar L, Eskilsson J, Erfurth EM. Hypopituitary females have a high incidence of cardiovascular morbidity and an increased prevalence of cardiovascular risk factors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(2):574-84.
166. Hulthe J, Bokemark L, Wikstrand J, Fagerberg B. The metabolic syndrome, LDL particle size, and atherosclerosis: the Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(9):2140-7.
167. Sacca L, Cittadini A, Fazio S. Growth hormone and the heart. *Endocr Rev*. 1994;15(5):555-73.
168. Colao A, Baldelli R, Marzullo P, et al. Systemic hypertension and impaired glucose tolerance are independently correlated to the severity of the acromegalic cardiomyopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(1):193-9.
169. Pietrobelli DJ, Akopian M, Olivieri AO, et al. Altered circadian blood pressure profile in patients with active acromegaly. Relationship with left ventricular mass and hormonal values. *J Hum Hypertens*. 2001;15(9):601-5.
170. Terzolo M, Matrella C, Boccuzzi A, et al. Twenty-four hour profile of blood pressure in patients with acromegaly. Correlation with demographic, clinical and hormonal features. *J Endocrinol Invest*. 1999;22(1):48-54.
171. Moller J, Frandsen E, Fisker S, Jorgensen JO, Christiansen JS. Decreased plasma and extracellular volume in growth hormone deficient adults and the acute and prolonged effects of GH administration: a controlled experimental study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996;44(5):533-9.

172. Ogihara T, Hata T, Maruyama A, et al. Blood pressure response to an angiotensin II antagonist in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979;48(1):159-62.
173. Soszynski P, Slowinska-Srzednicka J, Zgliczynski S. Plasma concentrations of atrial natriuretic hormone in acromegaly: relationship to hypertension. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1991;125(3):268-72.
174. Moller J, Jorgensen JO, Moller N, Hansen KW, Pedersen EB, Christiansen JS. Expansion of extracellular volume and suppression of atrial natriuretic peptide after growth hormone administration in normal man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(4):768-72.
175. McKnight JA, McCance DR, Hadden DR, et al. Basal and saline-stimulated levels of plasma atrial natriuretic factor in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1989;31(4):431-8.
176. Cuneo RC, Salomon F, Wilmschurst P, et al. Cardiovascular effects of growth hormone treatment in growth-hormone- deficient adults: stimulation of the renin-aldosterone system. *Clin Sci (Lond).* 1991;81(5):587-92.
177. Hoffman DM, Crampton L, Sernia C, Nguyen TV, Ho KK. Short-term growth hormone (GH) treatment of GH-deficient adults increases body sodium and extracellular water, but not blood pressure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):1123-8.
178. Bohlooly YM, Carlson L, Olsson B, et al. Vascular function and blood pressure in GH transgenic mice. *Endocrinology.* 2001;142(8):3317-23.
179. Beck P, Schalch DS, Parker ML, Kipnis DM, Daughaday WH. Correlative studies of growth hormone and insulin plasma concentrations with metabolic abnormalities in acromegaly. *J Lab Clin Med.* 1965;66(3):366-79.
180. Bolinder J, Ostman J, Werner S, Arner P. Insulin action in human adipose tissue in acromegaly. *J Clin Invest.* 1986;77(4):1201-6.
181. Jaffrain-Rea ML, Moroni C, Baldelli R, et al. Relationship between blood pressure and glucose tolerance in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001;54(2):189-95.
182. Biering H, Knappe G, Gerl H, Lochs H. [Prevalence of diabetes in acromegaly and Cushing syndrome]. *Acta Med Austriaca.* 2000;27(1):27-31.
183. Sato K, Takamatsu K, Hashimoto K. Short-term effects of octreotide on glucose tolerance in patients with acromegaly. *Endocr J.* 1995;42(6):739-45.
184. Colao A, Ferone D, Marzullo P, et al. Long-term effects of depot long-acting somatostatin analog octreotide on hormone levels and tumor mass in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(6):2779-86.
185. Wasada T, Aoki K, Sato A, et al. Assessment of insulin resistance in acromegaly associated with diabetes mellitus before and after transsphenoidal adenomectomy. *Endocr J.* 1997;44(4):617-20.
186. Koop BL, Harris AG, Ezzat S. Effect of octreotide on glucose tolerance in acromegaly. *Eur J Endocrinol.* 1994;130(6):581-6.
187. Oscarsson J, Wiklund O, Jakobsson KE, Petruson B, Bengtsson BA. Serum lipoproteins in acromegaly before and 6-15 months after transsphenoidal adenomectomy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994;41(5):603-8.
188. Takeda R, Tatami R, Ueda K, Sagara H, Nakabayashi H, Mabuchi H. The incidence and pathogenesis of hyperlipidaemia in 16 consecutive acromegalic patients. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1982;100(3):358-62.
189. Aloia JF, Roginsky MS, Field RA. Absence of hyperlipidemia in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 1972;35(6):921-3.
190. Binnerts A, Swart GR, Wilson JH, et al. The effect of growth hormone administration in growth hormone deficient adults on bone, protein, carbohydrate and lipid homeostasis, as well as on body composition. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1992;37(1):79-87.
191. Baum HB, Biller BM, Finkelstein JS, et al. Effects of physiologic growth hormone therapy on bone density and body composition in patients with adult-onset growth

- hormone deficiency. A randomized, placebo-controlled trial [see comments]. *Ann Intern Med.* 1996;125(11):883-90.
192. Christ ER, Cummings MH, Westwood NB, et al. The importance of growth hormone in the regulation of erythropoiesis, red cell mass, and plasma volume in adults with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(9):2985-90.
193. Attanasio AF, Lamberts SW, Matranga AM, et al. Adult growth hormone (GH)-deficient patients demonstrate heterogeneity between childhood onset and adult onset before and during human GH treatment. Adult Growth Hormone Deficiency Study Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(1):82-8.
194. Degerblad M, Bengtsson BA, Brammert M, et al. Reduced bone mineral density in adults with growth hormone (GH) deficiency: increased bone turnover during 12 months of GH substitution therapy. *Eur J Endocrinol.* 1995;133(2):180-8.
195. Johansen JS, Pedersen SA, Jorgensen JO, et al. Effects of growth hormone (GH) on plasma bone Gla protein in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70(4):916-9.
196. Vandeweghe M, Taelman P, Kaufman JM. Short and long-term effects of growth hormone treatment on bone turnover and bone mineral content in adult growth hormone-deficient males. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993;39(4):409-15.
197. Beshyah SA, Kyd P, Thomas E, Fairney A, Johnston DG. The effects of prolonged growth hormone replacement on bone metabolism and bone mineral density in hypopituitary adults. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995;42(3):249-54.
198. Hansen TB, Brixen K, Vahl N, et al. Effects of 12 months of growth hormone (GH) treatment on calciotropic hormones, calcium homeostasis, and bone metabolism in adults with acquired GH deficiency: a double blind, randomized, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(9):3352-9.
199. Johannsson G, Rosen T, Bosaeus I, Sjostrom L, Bengtsson BA. Two years of growth hormone (GH) treatment increases bone mineral content and density in hypopituitary patients with adult-onset GH deficiency [see comments]. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(8):2865-73.
200. Holmes SJ, Whitehouse RW, Economou G, O'Halloran DJ, Adams JE, Shalet SM. Further increase in forearm cortical bone mineral content after discontinuation of growth hormone replacement. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995;42(1):3-7.
201. Nielsen HK, Jorgensen JO, Brixen K, Moller N, Charles P, Christensen JS. 24-h profile of serum osteocalcin in growth hormone (GH) deficient patients with and without GH treatment. *Growth Regul.* 1991;1(4):153-9.
202. Schlemmer A, Johansen JS, Pedersen SA, Jorgensen JO, Hassager C, Christiansen C. The effect of growth hormone (GH) therapy on urinary pyridinoline cross-links in GH-deficient adults. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1991;35(6):471-6.
203. Balducci R, Toscano V, Pasquino AM, et al. Bone turnover and bone mineral density in young adult patients with panhypopituitarism before and after long-term growth hormone therapy. *Eur J Endocrinol.* 1995;132(1):42-6.
204. Nielsen HK, Jorgensen JO, Brixen K, Christiansen JS. Serum osteocalcin and bone isoenzyme alkaline phosphatase in growth hormone-deficient patients: dose-response studies with biosynthetic human GH. *Calcif Tissue Int.* 1991;48(2):82-7.
205. Wollmann HA, Schonau E, Blum WF, Meyer F, Kruse K, Ranke MB. Dose-dependent responses in insulin-like growth factors, insulin-like growth factor-binding protein-3 and parameters of bone metabolism to growth hormone therapy in young adults with growth hormone deficiency. *Horm Res.* 1995;43(6):249-56.
206. Beshyah SA, Thomas E, Kyd P, Sharp P, Fairney A, Johnston DG. The effect of growth hormone replacement therapy in hypopituitary adults on calcium and bone metabolism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994;40(3):383-91.

207. Thoren M, Soop M, Degerblad M, Saaf M. Preliminary study of the effects of growth hormone substitution therapy on bone mineral density and serum osteocalcin levels in adults with growth hormone deficiency. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1993;128 Suppl 2:41-3.
208. Amato G, Carella C, Fazio S, et al. Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH)-deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(6):1671-6.
209. O'Halloran DJ, Tsatsoulis A, Whitehouse RW, Holmes SJ, Adams JE, Shalet SM. Increased bone density after recombinant human growth hormone (GH) therapy in adults with isolated GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(5):1344-8.
210. Degerblad M, Elgindy N, Hall K, Sjoberg HE, Thoren M. Potent effect of recombinant growth hormone on bone mineral density and body composition in adults with panhypopituitarism. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1992;126(5):387-93.
211. Holmes SJ, Whitehouse RW, Swindell R, Economou G, Adams JE, Shalet SM. Effect of growth hormone replacement on bone mass in adults with adult onset growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;42(6):627-33.
212. Kann P, Piepkorn B, Schehler B, et al. Effect of long-term treatment with GH on bone metabolism, bone mineral density and bone elasticity in GH-deficient adults. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;48(5):561-8.
213. Kotzmann H, Riedl M, Bernecker P, et al. Effect of long-term growth-hormone substitution therapy on bone mineral density and parameters of bone metabolism in adult patients with growth hormone deficiency. *Calcif Tissue Int*. 1998;62(1):40-6.
214. Rahim A, Holmes SJ, Adams JE, Shalet SM. Long-term change in the bone mineral density of adults with adult onset growth hormone (GH) deficiency in response to short or long-term GH replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;48(4):463-9.
215. Valimaki MJ, Salmela PI, Salmi J, et al. Effects of 42 months of GH treatment on bone mineral density and bone turnover in GH-deficient adults. *Eur J Endocrinol*. 1999;140(6):545-54.
216. Valk NK, Erdtsieck RJ, Algra D, Lamberts SW, Pols HA. Combined treatment of growth hormone and the bisphosphonate pamidronate, versus treatment with GH alone, in GH-deficient adults: the effects on renal phosphate handling, bone turnover and bone mineral mass. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;43(3):317-24.
217. Bravenboer N, Holzmann P, de Boer H, Roos JC, van der Veen EA, Lips P. The effect of growth hormone (GH) on histomorphometric indices of bone structure and bone turnover in GH-deficient men [published erratum appears in *J Clin Endocrinol Metab* 1997 Jul;82(7):2238]. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(6):1818-22.
218. Hayes FJ, Fiad TM, McKenna TJ. Gender difference in the response of growth hormone (GH)-deficient adults to GH therapy. *Metabolism*. 1999;48(3):308-13.
219. Rudling M, Norstedt G, Olivecrona H, Reihner E, Gustafsson JA, Angelin B. Importance of growth hormone for the induction of hepatic low density lipoprotein receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(15):6983-7.
220. Nolte W, Radisch C, Armstrong VW, Hufner M, von zur Muhlen A. The effect of recombinant human GH replacement therapy on lipoprotein(a) and other lipid parameters in adults with acquired GH deficiency: results of a double-blind and placebo-controlled trial [see comments]. *Eur J Endocrinol*. 1997;137(5):459-66.
221. Cuneo RC, Judd S, Wallace JD, et al. The Australian Multicenter Trial of Growth Hormone (GH) Treatment in GH- Deficient Adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(1):107-16.
222. Eden S, Wiklund O, Oscarsson J, Rosen T, Bengtsson BA. Growth hormone treatment of growth hormone-deficient adults results in a marked increase in Lp(a) and HDL cholesterol concentrations. *Arterioscler Thromb*. 1993;13(2):296-301.

- 
223. Hwu CM, Kwok CF, Lai TY, et al. Growth hormone (GH) replacement reduces total body fat and normalizes insulin sensitivity in GH-deficient adults: a report of one-year clinical experience. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(10):3285-92.
224. Beshyah SA, Henderson A, Niththyananthan R, et al. The effects of short and long-term growth hormone replacement therapy in hypopituitary adults on lipid metabolism and carbohydrate tolerance. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(2):356-63.
225. Olivecrona H, Johansson AG, Lindh E, Ljunghall S, Berglund L, Angelin B. Hormonal regulation of serum lipoprotein(a) levels. Contrasting effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(7):847-9.
226. Fowelin J, Attvall S, Lager I, Bengtsson BA. Effects of treatment with recombinant human growth hormone on insulin sensitivity and glucose metabolism in adults with growth hormone deficiency. *Metabolism.* 1993;42(11):1443-7.
227. Dorshkind K, Horseman ND. The roles of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor-I, and thyroid hormones in lymphocyte development and function: insights from genetic models of hormone and hormone receptor deficiency. *Endocr Rev.* 2000;21(3):292-312.
228. Smith P. The effect of hypophysectomy upon the involution of the thymus in the rat. *Anat Rec.* 1930;47:119-143.
229. Berczi I, Nagy E, Kovacs K, Horvath E. Regulation of humoral immunity in rats by pituitary hormones. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1981;98(4):506-13.
230. Weigent DA, Baxter JB, Wear WE, Smith LR, Bost KL, Blalock JE. Production of immunoreactive growth hormone by mononuclear leukocytes. *Faseb J.* 1988;2(12):2812-8.
231. Weigent DA, Riley JE, Galin FS, LeBoeuf RD, Blalock JE. Detection of growth hormone and growth hormone-releasing hormone-related messenger RNA in rat leukocytes by the polymerase chain reaction. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1991;198(1):643-8.
232. Wu H, Devi R, Malarkey WB. Localization of growth hormone messenger ribonucleic acid in the human immune system--a Clinical Research Center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):1278-82.
233. Theill LE, Karin M. Transcriptional control of GH expression and anterior pituitary development. *Endocr Rev.* 1993;14(6):670-89.
234. Stephanou A, Knight RA, Lightman SL. Production of a growth hormone-releasing hormone-like peptide and its mRNA by human lymphocytes. *Neuroendocrinology.* 1991;53(6):628-33.
235. Aguila MC, Dees WL, Haensly WE, McCann SM. Evidence that somatostatin is localized and synthesized in lymphoid organs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(24):11485-9.
236. Bhatena SJ, Louie J, Schechter GP, Redman RS, Wahl L, Recant L. Identification of human mononuclear leukocytes bearing receptors for somatostatin and glucagon. *Diabetes.* 1981;30(2):127-31.
237. Badolato R, Bond HM, Valerio G, et al. Differential expression of surface membrane growth hormone receptor on human peripheral blood lymphocytes detected by dual fluorochrome flow cytometry. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79(4):984-90.
238. Hansen BS, Hjorth S, Welinder BS, Skriver L, De Meyts P. The growth hormone (GH)-binding protein cloned from human IM-9 lymphocytes modulates the down-regulation of GH receptors by 22- and 20- kilodalton human GH in IM-9 lymphocytes and the biological effects of the hormone in Nb2 lymphoma cells. *Endocrinology.* 1993;133(6):2809-17.
239. Mercado M, DaVila N, McLeod JF, Baumann G. Distribution of growth hormone receptor messenger ribonucleic acid containing and lacking exon 3 in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78(3):731-5.
-

240. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G, et al. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature*. 1987;330(6148):537-43.
241. Rapaport R, Sills IN, Green L, et al. Detection of human growth hormone receptors on IM-9 cells and peripheral blood mononuclear cell subsets by flow cytometry: correlation with growth hormone-binding protein levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(9):2612-9.
242. Clark R. The somatogenic hormones and insulin-like growth factor-1: stimulators of lymphopoiesis and immune function. *Endocr Rev*. 1997;18(2):157-79.
243. Li S, Crenshaw EB, 3rd, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. *Nature*. 1990;347(6293):528-33.
244. Sornson MW, Wu W, Dasen JS, et al. Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature*. 1996;384(6607):327-33.
245. Murphy WJ, Durum SK, Anver MR, Longo DL. Immunologic and hematologic effects of neuroendocrine hormones. Studies on DW/J dwarf mice. *J Immunol*. 1992;148(12):3799-805.
246. Montecino-Rodriguez E, Clark R, Johnson A, Collins L, Dorshkind K. Defective B cell development in Snell dwarf (dw/dw) mice can be corrected by thyroxine treatment. *J Immunol*. 1996;157(8):3334-40.
247. Montecino-Rodriguez E, Clark RG, Powell-Braxton L, Dorshkind K. Primary B cell development is impaired in mice with defects of the pituitary/thyroid axis. *J Immunol*. 1997;159(6):2712-9.
248. Baroni CD, Scelsi R, Mingazzini PL, Cavallero A, Uccini S. Delayed hypersensitivity in the hereditary pituitary dwarf snell-bagg mouse. *Nat New Biol*. 1972;237(76):219-20.
249. Fabris N, Pierpaoli W, Sorkin E. Hormones and the immunological capacity. 3. The immunodeficiency disease of the hypopituitary Snell-Bagg dwarf mouse. *Clin Exp Immunol*. 1971;9(2):209-25.
250. Duquesnoy RJ. Immunodeficiency of the thymus-dependent system of the Ames dwarf mouse. *J Immunol*. 1972;108(6):1578-90.
251. Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, Bartke A. Dwarf mice and the ageing process. *Nature*. 1996;384(6604):33.
252. Schneider GB. Immunological competence in Snell-Bagg pituitary dwarf mice: response to the contact-sensitizing agent oxazolone. *Am J Anat*. 1976;145(3):371-93.
253. Donahue LR, Beamer WG. Growth hormone deficiency in 'little' mice results in aberrant body composition, reduced insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3), but does not affect IGFBP-2, -1 or -4. *J Endocrinol*. 1993;136(1):91-104.
254. Donahue LR, Watson G, Beamer WG. Regulation of metabolic water and protein compartments by insulin-like growth factor-I and testosterone in growth hormone-deficient lit/lit mice. *J Endocrinol*. 1993;139(3):431-9.
255. Beamer WH, Eicher EM. Stimulation of growth in the little mouse. *J Endocrinol*. 1976;71(1):37-45.
256. Hattori N, Shimatsu A, Sugita M, Kumagai S, Imura H. Immunoreactive growth hormone (GH) secretion by human lymphocytes: augmented release by exogenous GH. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990;168(2):396-401.
257. Varma S, Sabharwal P, Sheridan JF, Malarkey WB. Growth hormone secretion by human peripheral blood mononuclear cells detected by an enzyme-linked immunoplaque assay. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(1):49-53.
258. Kao TL, Harbour DV, Meyer WJ, 3rd. Immunoreactive growth hormone production by cultured lymphocytes. *Ann N Y Acad Sci*. 1992;650:179-81.



- 
259. Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell*. 1993;75(1):73-82.
260. Johnson RW, Arkins S, Dantzer R, Kelley KW. Hormones, lymphohemopoietic cytokines and the neuroimmune axis. *Comp Biochem Physiol A Physiol*. 1997;116(3):183-201.
261. Timsit J, Savino W, Safieh B, et al. Growth hormone and insulin-like growth factor-I stimulate hormonal function and proliferation of thymic epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75(1):183-8.
262. Montecino-Rodriguez E, Clark R, Dorshkind K. Effects of insulin-like growth factor administration and bone marrow transplantation on thymopoiesis in aged mice. *Endocrinology*. 1998;139(10):4120-6.
263. Landreth KS, Narayanan R, Dorshkind K. Insulin-like growth factor-I regulates pro-B cell differentiation. *Blood*. 1992;80(5):1207-12.
264. Jardieu P, Clark R, Mortensen D, Dorshkind K. In vivo administration of insulin-like growth factor-I stimulates primary B lymphopoiesis and enhances lymphocyte recovery after bone marrow transplantation. *J Immunol*. 1994;152(9):4320-7.
265. Clark R, Strasser J, McCabe S, Robbins K, Jardieu P. Insulin-like growth factor-1 stimulation of lymphopoiesis. *J Clin Invest*. 1993;92(2):540-8.
266. Auernhammer CJ, Strasburger CJ. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on the immune system. *Eur J Endocrinol*. 1995;133(6):635-45.
267. Inoue T, Saito H, Fukushima R, et al. Growth hormone and insulinlike growth factor I enhance host defense in a murine sepsis model. *Arch Surg*. 1995;130(10):1115-22.
268. Jarrar D, Wolf SE, Jeschke MG, et al. Growth hormone attenuates the acute-phase response to thermal injury. *Arch Surg*. 1997;132(11):1171-5; discussion 1175-6.
269. Serri O, St-Jacques P, Sartippour M, Renier G. Alterations of monocyte function in patients with growth hormone (GH) deficiency: effect of substitutive GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(1):58-63.
270. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease [see comments]. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.
271. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1994;89(5):2462-78.
272. Navab M, Berliner JA, Watson AD, et al. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16(7):831-42.
273. Griending KK, Alexander RW. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation*. 1997;96(10):3264-5.
274. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation*. 1997;96(11):4095-103.
275. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest*. 1976;58(3):731-41.
276. Rosenfeld ME, Ross R. Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis*. 1990;10(5):680-7.
277. Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS, Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis*. 1989;9(5):567-78.
-

278. Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(9):3893-7.
279. Mach F, Schonbeck U, Bonnefoy JY, Pober JS, Libby P. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation*. 1997;96(2):396-9.
280. Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res*. 1997;81(3):448-54.
281. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med*. 1995;332(10):635-41.
282. Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities [see comments]. *N Engl J Med*. 1997;337(19):1360-9.
283. Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice [editorial; comment]. *Circulation*. 1999;100(11):1148-50.
284. Ridker PM. Evaluating novel cardiovascular risk factors: can we better predict heart attacks? *Ann Intern Med*. 1999;130(11):933-7.
285. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 2001;158(3):1039-51.
286. Koenig W, Sund M, Frohlich M, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*. 1999;99(2):237-42.
287. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol*. 1996;144(6):537-47.
288. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men [published erratum appears in *N Engl J Med* 1997 Jul 31;337(5):356] [see comments]. *N Engl J Med*. 1997;336(14):973-9.
289. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women [see comments]. *Circulation*. 1998;98(8):731-3.
290. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1999;100(3):230-5.
291. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000;342:826-43.
292. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(6):1121-7.
293. Roivainen M, Viik-Kajander M, Palosuo T, et al. Infections, inflammation, and the risk of coronary heart disease. *Circulation*. 2000;101(3):252-7.

- 
294. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction [see comments]. *Circulation*. 1998;97(20):2007-11.
295. Ridker P. High-sensitivity C-reactive protein. Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103:1813-1818.
296. Hak AE, Stehouwer CD, Bots ML, et al. Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical atherosclerosis in healthy, middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(8):1986-91.
297. Ford ES. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults [see comments]. *Diabetes Care*. 1999;22(12):1971-7.
298. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1969;56(1):111-28.
299. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama*. 1995;274(13):1049-57.
300. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *Jama*. 1992;268(7):877-81.
301. Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM. Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention [see comments]. *Arch Intern Med*. 1998;158(8):862-7.
302. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet*. 1995;346(8987):1395-8.
303. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease [see comments]. *N Engl J Med*. 1997;337(4):230-6.
304. Stehouwer CD, Weijnenberg MP, van den Berg M, Jakobs C, Feskens EJ, Kromhout D. Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men: a 10-year follow-up. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(12):1895-901.
305. Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, et al. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: the Rotterdam Study. *Arch Intern Med*. 1999;159(1):38-44.
306. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol*. 1995;24(4):704-9.
307. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willett WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke*. 1994;25(10):1924-30.
308. Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, Cutler JA, Kuller LH. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(10):1947-53.
309. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, et al. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*. 1998;98(3):204-10.
310. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Jr., Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence [see comments]. *Ann Intern Med*. 1999;131(5):363-75.
311. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation*. 1999;100(11):1161-8.
-

312. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS. Acute hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction [letter] [see comments]. *Lancet*. 1998;351(9095):36-7.
313. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Obeid OA, Kooner JS. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia: an effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation*. 1999;99(9):1156-60.
314. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med*. 1974;291(11):537-43.
315. Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb Res*. 1980;18(1-2):113-21.
316. Blundell G, Jones BG, Rose FA, Tudball N. Homocysteine mediated endothelial cell toxicity and its amelioration. *Atherosclerosis*. 1996;122(2):163-72.
317. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest*. 1986;77(4):1370-6.
318. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium- derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest*. 1993;91(1):308-18.
319. Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia [see comments]. *J Clin Invest*. 1996;98(1):24-9.
320. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22(3):854-8.
321. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium- dependent vasodilation in humans. *Circulation*. 1997;95(5):1119-21.
322. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(14):6369-73.
323. Tsai JC, Wang H, Perrella MA, et al. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1996;97(1):146-53.
324. Frauscher G, Karnaukhova E, Muehl A, Hoeger H, Lubec B. Oral administration of homocysteine leads to increased plasma triglycerides and homocysteic acid-additional mechanisms in homocysteine induced endothelial damage? *Life Sci*. 1995;57(8):813-7.
325. Halvorsen B, Brude I, Drevon CA, et al. Effect of homocysteine on copper ion-catalyzed, azo compound-initiated, and mononuclear cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Lipid Res*. 1996;37(7):1591-600.
326. Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest*. 1986;77(6):1909-16.
327. Rodgers GM, Conn MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood*. 1990;75(4):895-901.
328. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest*. 1991;88(6):1906-14.
329. Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest*. 1993;92(3):1381-6.
330. Hajjar KA. Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor. *J Clin Invest*. 1993;91(6):2873-9.
331. Knekt P, Reunanen A, Alfthan G, et al. Hyperhomocystinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease? *Arch Intern Med*. 2001;161(13):1589-94.
332. Ubbink JB, van der Merwe A, Delport R, et al. The effect of a subnormal vitamin B-6 status on homocysteine metabolism [see comments]. *J Clin Invest*. 1996;98(1):177-84.

- 
333. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis [see comments]. *N Engl J Med.* 1998;338(15):1042-50.
334. Fonseca V, Guba SC, Fink LM. Hyperhomocysteinemia and the endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis [In Process Citation]. *Endocr Rev.* 1999;20(5):738-59.
335. Jacobsen DW. Determinants of hyperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture. *Am J Clin Nutr.* 1996;64(4):641-2.
336. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest J, Jr. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr.* 1996;64(4):587-93.
337. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Jama.* 1993;270(22):2693-8.
338. Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Cook HY. Total homocyst(e)ine in plasma and amniotic fluid of pregnant women. *Metabolism.* 1986;35(10):889-91.
339. Andersson A, Hultberg B, Brattstrom L, Isaksson A. Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1992;30(6):377-9.
340. Green TJ, Houghton LA, Donovan U, Gibson RS, O'Connor DL. Oral contraceptives did not affect biochemical folate indexes and homocysteine concentrations in adolescent females. *J Am Diet Assoc.* 1998;98(1):49-55.
341. van der Mooren MJ, Wouters MG, Blom HJ, Schellekens LA, Eskes TK, Rolland R. Hormone replacement therapy may reduce high serum homocysteine in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest.* 1994;24(11):733-6.
342. Walsh BW, Paul S, Wild RA, et al. The effects of hormone replacement therapy and raloxifene on C-reactive protein and homocysteine in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(1):214-8.
343. Anker G, Lonning PE, Ueland PM, Refsum H, Lien EA. Plasma levels of the atherogenic amino acid homocysteine in post-menopausal women with breast cancer treated with tamoxifen. *Int J Cancer.* 1995;60(3):365-8.
344. Hussein WI, Green R, Jacobsen DW, Faiman C. Normalization of hyperhomocysteinemia with L-thyroxine in hypothyroidism. *Ann Intern Med.* 1999;131(5):348-51.
345. Lien EA, Nedrebo BG, Varhaug JE, Nygard O, Aakvaag A, Ueland PM. Plasma total homocysteine levels during short-term iatrogenic hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(3):1049-53.
346. Nedrebo BG, Ericsson UB, Nygard O, et al. Plasma total homocysteine levels in hyperthyroid and hypothyroid patients. *Metabolism.* 1998;47(1):89-93.
347. Fonseca VA, Mudaliar S, Schmidt B, Fink LM, Kern PA, Henry RR. Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. *Metabolism.* 1998;47(6):686-9.
348. Burman P, Johansson AG, Siegbahn A, Vessby B, Karlsson FA. Growth hormone (GH)-deficient men are more responsive to GH replacement therapy than women [see comments]. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(2):550-5.
349. Burman P, Hetta J, Wide L, Mansson JE, Ekman R, Karlsson FA. Growth hormone treatment affects brain neurotransmitters and thyroxine [see comment]. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1996;44(3):319-24.
350. Johannsson G, Oscarsson J, Rosen T, et al. Effects of 1 year of growth hormone therapy on serum lipoprotein levels in growth hormone-deficient adults. Influence of gender and Apo(a) and ApoE phenotypes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(12):2142-50.
351. Jorgensen JO, Moller J, Laursen T, Orskov H, Christiansen JS, Weeke J. Growth hormone administration stimulates energy expenditure and extrathyroidal conversion of thyroxine to triiodothyronine in a dose-dependent manner and suppresses circadian
-

- thyrotrophin levels: studies in GH-deficient adults. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;41(5):609-14.
352. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations [see comments]. *N Engl J Med*. 1999;340(19):1449-54.
353. Sesmilo G, Biller BM, Llevadot J, et al. Effects of growth hormone administration on inflammatory and other cardiovascular risk markers in men with growth hormone deficiency. A randomized, controlled clinical trial. *Ann Intern Med*. 2000;133(2):111-22.
354. Sesmilo G, Biller BM, Llevadot J, et al. Effects of Growth Hormone (GH) Administration on Homocyst(e)ine Levels in Men with GH Deficiency: A Randomized Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(4):1518-1524.
355. Judd HL, Lucas WE, Yen SS. Effect of oophorectomy on circulating testosterone and androstenedione levels in patients with endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 1974;118(6):793-8.
356. Arlt W, Callies F, van Vlijmen JC, et al. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N Engl J Med*. 1999;341(14):1013-20.
357. Colao A, Merola B, Ferone D, Lombardi G. Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(9):2777-81.
358. Melmed S, Jackson I, Kleinberg D, Klibanski A. Current treatment guidelines for acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(8):2646-52.
359. Barkan AL, Halasz I, Dornfeld KJ, et al. Pituitary irradiation is ineffective in normalizing plasma insulin-like growth factor I in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(10):3187-91.
360. Thompson BJ, Shang CA, Waters MJ. Identification of genes induced by growth hormone in rat liver using cDNA arrays. *Endocrinology*. 2000;141(11):4321-4.
361. Bergad PL, Schwarzenberg SJ, Humbert JT, et al. Inhibition of growth hormone action in models of inflammation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;279(6):C1906-17.
362. Derfalvi B, Igaz P, Fulop KA, Szalai C, Falus A. Interleukin-6-induced production of type II acute phase proteins and expression of junB gene are downregulated by human recombinant growth hormone in vitro. *Cell Biol Int*. 2000;24(2):109-14.
363. Jakab L, Kalabay L. The acute phase reaction syndrome: the acute phase reactants (a review). *Acta Microbiol Immunol Hung*. 1998;45(3-4):409-18.
364. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):4196-200.
365. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina [see comments]. *N Engl J Med*. 1994;331(7):417-24.
366. Rifai N, Ridker PM. Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein and lipid screening. *Clin Chem*. 2001;47(1):28-30.
367. McGuffin WL, Jr., Sherman BM, Roth F, et al. Acromegaly and cardiovascular disorders. A prospective study. *Ann Intern Med*. 1974;81(1):11-8.
368. Mather HM, Boyd MJ, Jenkins JS. Heart size and function in acromegaly. *Br Heart J*. 1979;41(6):697-701.
369. Martins JB, Kerber RE, Sherman BM, Marcus ML, Ehrhardt JC. Cardiac size and function in acromegaly. *Circulation*. 1977;56(5):863-9.
370. Lie JT. Pathology of the heart in acromegaly: anatomic findings in 27 autopsied patients. *Am Heart J*. 1980;100(1):41-52.
371. Colao A, Spiezia S, Cerbone G, et al. Increased arterial intima-media thickness by B-M mode echodoppler ultrasonography in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54(4):515-524.

- 
372. Herrmann BL B-MK, Vogel E, Dagues N, Bockisch A, Erbel R, Mann K, Saller B. Evidence for myocardial microvascular perfusion abnormalities in acromegalic patients without overt cardiomyopathy. [Meeting Abstract]. *International Symposium GH and Growth Factors in Endocrinology and Metabolism. Boston, 1999.* 1999.
373. Otsuki M, Kasayama S, Yamamoto H, et al. Characterization of premature atherosclerosis of carotid arteries in acromegalic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54(6):791-6.
374. Diekman MJ, van der Put NM, Blom HJ, Tijssen JG, Wiersinga WM. Determinants of changes in plasma homocysteine in hyperthyroidism and hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54(2):197-204.
375. Rosenfalck AM, Maghsoudi S, Fisker S, et al. The effect of 30 months of low-dose replacement therapy with recombinant human growth hormone (rhGH) on insulin and C-peptide kinetics, insulin secretion, insulin sensitivity, glucose effectiveness, and body composition in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(11):4173-81.
376. Takano A, Haruta T, Iwata M, et al. Growth hormone induces cellular insulin resistance by uncoupling phosphatidylinositol 3-kinase and its downstream signals in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes*. 2001;50(8):1891-900.
377. Hansen PS, Kassem M, Brixen K, Klausen IC, Mosekilde L, Faergeman O. Effect of short-term treatment with recombinant human growth hormone on lipids and lipoproteins in women and men without growth hormone disturbances. *Metabolism*. 1995;44(6):725-9.
378. Garry P, Collins P, Devlin JG. An open 36-month study of lipid changes with growth hormone in adults: lipid changes following replacement of growth hormone in adult acquired growth hormone deficiency. *Eur J Endocrinol*. 1996;134(1):61-6.
379. Oscarsson J, Ottosson M, Wiklund O, et al. Low dose continuously infused growth hormone results in increased lipoprotein(a) and decreased low density lipoprotein cholesterol concentrations in middle-aged men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;41(1):109-16.
380. Cremer P, Nagel D, Labrot B, et al. Lipoprotein Lp(a) as predictor of myocardial infarction in comparison to fibrinogen, LDL cholesterol and other risk factors: results from the prospective Gottingen Risk Incidence and Prevalence Study (GRIPS). *Eur J Clin Invest*. 1994;24(7):444-53.
381. Jauhiainen M, Koskinen P, Ehnholm C, et al. Lipoprotein (a) and coronary heart disease risk: a nested case-control study of the Helsinki Heart Study participants [see comments]. *Atherosclerosis*. 1991;89(1):59-67.
382. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction [see comments]. *Jama*. 1993;270(18):2195-9.
383. Johannsson G, Marin P, Lonn L, et al. Growth hormone treatment of abdominally obese men reduces abdominal fat mass, improves glucose and lipoprotein metabolism, and reduces diastolic blood pressure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(3):727-34.
384. Finkelstein JS, Arnold AL. Increases in bone mineral density after discontinuation of daily human parathyroid hormone and gonadotropin-releasing hormone analog administration in women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(4):1214-9.
385. Massafra C, De Felice C, Agnusdei DP, Gioia D, Bagnoli F. Androgens and osteocalcin during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(3):971-4.
386. Weissberger AJ, Ho KK. Activation of the somatotrophic axis by testosterone in adult males: evidence for the role of aromatization. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(6):1407-12.
-