

Nivel de supresión de hormona de crecimiento con glucosa mediante ensayo ultrasensible en 30 sujetos sanos

Oded Stempa Blumenfeld,* Eduardo Díaz Ortiz,**

Fernando Diez Canseco López,** Gabriela Martínez Elizondo,** Joaquín Joya Galeana**

RESUMEN

Desde la década de los sesenta ha sido posible la determinación de concentraciones plasmáticas de hormona de crecimiento (GH). En la actualidad, se han desarrollado técnicas que gozan de gran sensibilidad y miden concentraciones de GH que antes se consideraban indetectables. Tal es el caso de la quimioluminiscencia y los métodos radioinmunoenzimáticos y radioinmunométricos (IRMA) llamados, en conjunto, ensayos ultrasensibles. En este estudio se realizaron curvas de supresión de GH con glucosa a 30 sujetos sanos con la finalidad de averiguar cuál es el valor nadir de GH con dicho estímulo. Mediante ensayo quimioluminiscente, se obtuvo una media de nadir de 0.11 ± 0.09 ng/mL, con lo que es posible proponer un límite de normalidad de hasta 0.29 ng/mL de GH tras la supresión con glucosa. Los resultados de este trabajo confirman lo establecido en publicaciones previas realizadas en grandes centros hospitalarios de Estados Unidos y Europa. Asimismo, apoyan el uso de ensayos ultrasensibles para la determinación de GH en plasma. El establecimiento de valores de corte más bajos para GH han demostrado tener relación con una morbilidad menor en pacientes con acromegalia bajo tratamiento.

Palabras clave: Hormona del crecimiento, quimioluminiscencia, GH.

INTRODUCCIÓN

La hormona de crecimiento (GH) es un péptido de 191 aminoácidos producido y liberado por las células somatotropas de la hipófisis anterior o adenohi-

ABSTRACT

Since the sixties, the determination of serum concentrations of growth hormone (GH) has been possible. New techniques have been developed that enjoy great sensitivity and measure concentrations of GH that before were considered undetectable. Those tests are named ultrasensitive assays. So it is the case of chemiluminescence and immunoradiometric assay (IRMA). In this study, GH suppression tests with glucose were performed to 30 healthy subjects in order to assess the nadir value of GH with said stimulus. Using chemiluminiscent assay, a nadir average of 0.11 ± 0.09 ng/mL was obtained, hence making possible to propose an upper normal limit of 0.29 ng/mL of GH after the suppression with glucose. The results of our study confirm previous publications of studies made in major medical centers of the USA and Europe. Also, they support the use of ultrasensitive assays for determination of GH in blood. Establishing lower cut values for GH has demonstrated a correlation with smaller morbidity and mortality in acromegalic patients under treatment.

Key words: Growth hormone, chemiluminescence assay, GH.

pófisis. La GH responde a una serie de influencias de tipo estimulatorio e inhibitorio que dan como resultado una secreción de carácter pulsátil.¹ Entre los estimuladores de la secreción de GH se encuentra la hormona hipotalámica liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), la ingesta de alimentos ricos en proteínas, los estados de estrés físico, el sueño, la pubertad y otros. Por el contrario, la regulación inhibitoria de la producción y liberación de GH se encuentra a cargo de la somatostatina, sintetizada en el hipotálamo y otros órganos, así como estados de hiperglucemia inducidos.¹

La gama de influencias mencionadas sobre el control de la síntesis de GH han logrado ser repro-

* Servicio de Endocrinología. Centro Médico ABC.

** Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (ISSSTE).

Recibido para publicación: 03/05/06. Aceptado: 18/06/06.

Correspondencia: Dr. Oded Stempa Blumenfeld

Sur 136 núm. 116, Consultorio 207, Col. Las Américas

Tels: 5272-3141, 5272-3062. Fax: 5272-2419

E-mail: oded_stempa74@yahoo.com.mx

ducidas en el contexto de la práctica clínica para descartar estados de exceso o déficit hormonal. En el enfoque específico de la sobreproducción de GH, como en el gigantismo o la acromegalía, se utilizan las pruebas de supresión para su diagnóstico y seguimiento. Es decir, para saber si un paciente con acromegalía, que ha sido sometido a tratamiento, ha logrado la remisión bioquímica de la enfermedad, es necesario realizar una prueba de supresión de GH mediante la instauración de una señal inhibitoria y la determinación de la hormona a diferentes intervalos de tiempo, de tal manera que pueda obtenerse una curva cuyo comportamiento pueda ser interpretado.

Para tal efecto se ha utilizado, a lo largo del tiempo, la determinación de GH tras la administración de una carga de glucosa, por vía oral (CTOG), que puede ser de 75 o 100 g.^{2,11} Las determinaciones plasmáticas de GH se han realizado mediante técnicas de radioinmunoanálisis (RIA) y, más recientemente, con ensayos que gozan de mayor sensibilidad y, por tanto, se les llama ensayos "ultrasensibles" como son el radioinmunométrico (IRMA), inmunoenzimático y quimioluminiscente.

El establecimiento de rangos de normalidad y, en el caso particular de GH, de un valor determinado para definir la ausencia de enfermedad por exceso hormonal, requiere de la evaluación del comportamiento de la GH tras la administración de glucosa en pacientes sanos. Los primeros estudios al respecto utilizaron radioinmunoanálisis (RIA) para la medición de GH. Peacey y colaboradores³ observaron que los valores de hormona de crecimiento, luego de la carga de glucosa, fluctuaban cercanos a 1 ng/mL y sugirieron un valor de corte de 2 ng/mL para considerar a un paciente sin exceso de GH. Freda y asociados⁴ observaron un valor nadir medio de 0.8 ng/mL ± 0.4. Posteriormente, se han realizado este tipo de estudios con ensayos ultrasensibles. Ejemplo de ello es la quimioluminiscencia utilizada por Chapman y su grupo⁵ con lo que observaron un valor nadir promedio menor en hombres que en mujeres (0.07 y 0.25 ng/mL, respectivamente). Un estudio adicional con ensayos ultrasensibles lo realizó Dimaraki⁶ en el que sugiere un valor de supresión cercano a 0.14 ng/mL. Los ejemplos expuestos muestran poca homo-

geneidad en los valores de GH y han sido objeto de controversias. En el consenso mexicano de acromegalía, realizado en 2004, se propuso un nivel de supresión de GH con glucosa de menos de 0.3 ng/mL, siempre y cuando se utilicen ensayos ultrasensibles.⁷ Existen varias series publicadas que comparan la supresión de GH con glucosa en poblaciones de pacientes sanos con pacientes acromegálicos sometidos a alguna modalidad de tratamiento.⁸⁻¹⁰

El objetivo principal de este estudio fue observar el comportamiento de las concentraciones de GH después de una carga, por vía oral, de 75 g de glucosa, así como determinar el valor nadir en individuos sanos. De esta manera, se podrá confirmar o modificar lo establecido por los autores en cuanto al valor de dicho nadir. Una vez establecidas y cumplidas dichas metas, se podrá hacer uso de los resultados para realizar otros estudios en los que se pueda determinar la proporción de pacientes acromegálicos en nuestro centro, que hayan sido ya sometidos a tratamiento, que cumplan con los criterios de remisión.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos. Fueron seleccionados, en forma aleatoria, 31 sujetos (15 hombres y 16 mujeres) con un promedio de edad ± desviación estándar de 28.9 ± 8.65 años, aparentemente sanos, con estatura mayor a 1.55 m e índice de masa corporal (IMC) de 25.1 ± 4.4 kg/m². Para ser sujetos de estudio, los individuos no debían tener rasgos físicos acromegaloideos, alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono, enfermedad hepática o renal o antecedentes familiares de trastornos de la hormona de crecimiento (como deficiencia de la misma o acromegalía). En el caso de mujeres, la presencia de embarazo se descartó por interrogatorio.

Protocolo. Los pacientes fueron citados a las 08:00 horas en ayuno de por lo menos 10 horas. Se canalizó una vena periférica para mantener permeable la vía y se administró una carga de 75 g de glucosa en 350 mL de agua al tiempo que se obtuvieron muestras para determinación basal de GH e IGF-1. Posteriormente, se colectaron muestras de sangre cada 30 minutos hasta completar 120 minu-

tos para determinación de GH y glucosa capilar. De obtener concentraciones de glucosa mayores a 140 mg/dL a los 120 minutos, el paciente debía ser eliminado del estudio.

Ensayos. Las determinaciones de GH fueron procesadas en el laboratorio de hormonas del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (ISSSTE) mediante técnica de quimioluminiscencia con referencia LKGH1 (IMMULITE®). La sensibilidad del método fue de 0.05 ng/mL.

El factor de crecimiento insulinoide tipo 1 (IGF-1) fue medido por quimioluminiscencia con referencia LKGF1 (IMMULITE®) con una sensibilidad de 0.1 ng/mL.

La quimioluminiscencia es un ensayo que se basa en la emisión lumínosa a través de una reacción química. Las principales ventajas que ofrece son: sensibilidad (límites de detección en el orden de picogramos) y velocidad (señal generada en pocos segundos y estable por varias horas). La

emisión de luz es causada por los productos de dicha reacción. En el caso de GH, la reacción es entre un antígeno (GH del paciente) y un anticuerpo (reactivo de la prueba) a lo que, además se añade un marcador (agente luminiscente) que, en contacto con la muestra y otros reactivos, proporcionan la reacción quimioluminiscente. Existe relación directa entre la concentración del antígeno en la muestra del paciente (GH) y la cantidad de luz emitida durante la oxidación del agente luminiscente. Finalmente, un fotodetector o fotomultiplicador detecta la luz emitida y la traduce a pulsos eléctricos que son leídos por el sistema y comparados con una curva preestablecida para cada ensayo, calculando la concentración, en este caso, de GH.

Las determinaciones de glucosa capilar se realizaron con glucómetro Accu-Chek previamente calibrado.

Análisis de datos. El nadir de hormona de crecimiento fue descrito como el valor más bajo en cualquier momento de la administración de una

Cuadro I. Nadir de hormona del crecimiento (GH), determinación basal de GH, factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) y glucosa máxima en 15 hombres sanos.

Paciente número	GH basal (ng/mL)	GH nadir (ng/mL)	IGF-1 (ng/mL)	Glucosa máxima (mg/dL)
1	0.078	0.05	242	106
2	0.05	0.05	189	141
3	0.4	0.05	184	120
4	0.061	0.05	236	132
5	0.416	0.05	197	107
6	0.056	0.05	203	151
7	0.11	0.05	396	115
8	2.42	0.062	242	119
9	0.062	0.05	219	132
10	0.086	0.05	248	98
11	0.167	0.14	330	144
12	0.08	0.05	287	137
13	0.922	0.236	143	131
14	0.05	0.05	142	162
15	0.05	0.05	160	172
Media	0.33	0.069	226.1	131.1
DE	0.62	0.051	64.9	20.97

Abreviaturas: GH = Hormona del crecimiento. IGF-1 = Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. DE = Desviación estándar.

Cuadro II. Nadir de hormona del crecimiento (GH), determinación basal de GH, factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) y glucosa máxima en 15 mujeres sanas.

Paciente número	GH basal (ng/mL)	GH nadir (ng/mL)	IGF-1 (ng/mL)	Glucosa máxima (mg/dL)
1	0.05	0.05	115	137
2	0.051	0.05	279	94
3	1.33	0.065	114	104
4	0.1	0.099	177	113
5	0.056	0.05	63	115
6	0.48	0.34	565	104
7	10.0	0.141	179	117
8	0.299	0.12	238	156
9	3.71	0.33	412	121
10	5.28	0.107	424	159
11	1.03	0.17	285	92
12	2.54	0.358	287	113
13	0.44	0.074	293	128
14	0.364	0.155	438	130
15	0.093	0.29	208	127
Media	1.72	0.159	278.5	120.6
DE	2.76	0.11	137.3	19.67

Abreviaturas: GH = Hormona del crecimiento. IGF-1 = Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. DE = Desviación estándar.

carga de glucosa por vía oral (CTOG) expresado en ng/mL. Valores por debajo de la sensibilidad del método fueron considerados de < 0.05 ng/mL. Los resultados de IGF-1 basal fueron expresados en ng/mL e interpretados con base en los valores establecidos para edad y sexo. La glucosa es expresada en mg/dL. Todos los resultados se exponen en términos de promedio ± desviación estándar (DE).

La propuesta de un valor nadir de corte de GH como criterio de normalidad fue definido arbitrariamente como la media aritmética de todos los valores nadir + 2 desviaciones estándar (DE). Dicho valor será el propuesto como criterio de remisión bioquímica en pacientes con acromegalía después de tratamiento.

RESULTADOS

Las concentraciones de GH fueron determinadas en todas las muestras obtenidas de los 31 sujetos de estudio. Un caso del grupo de pacientes del

sexo femenino fue eliminado del estudio por obtener una determinación de glucosa capilar mayor de 140 mg/dL a los 120 minutos (156 mL/dL).

De la totalidad de muestras, se obtuvo una determinación media de IGF-1 de 252.3 ± 108.8 ng/mL (rango 63–565 ng/mL). El promedio en mujeres fue de 278.5 ± 137.3 ng/mL, mientras que en hombres fue de 226.1 ± 64.9 ng/mL.

Mediante ensayo quimioluminiscente, se obtuvo una determinación media de GH basal de 1.027 ± 2.09 ng/mL con un rango de 0.05–10.0 ng/mL. Se observó una diferencia significativa entre hombres y mujeres (0.33 ± 0.62 versus 1.72 ± 2.76 ng/mL, respectivamente) ($p < 0.01$). El promedio de valor nadir de GH durante la CTOG fue de 0.11 ± 0.09 ng/mL con un rango de 0.05 – 0.36 ng/mL. En este parámetro, persistió la diferencia entre ambos sexos (0.069 ± 0.051 ng/mL en hombres versus 0.159 ± 0.11 ng/mL en mujeres) ($p < 0.01$) (Cuadros I y II).

Entre los valores basales y los valores nadir, existió una disminución del 89.3%. Dicho valor na-

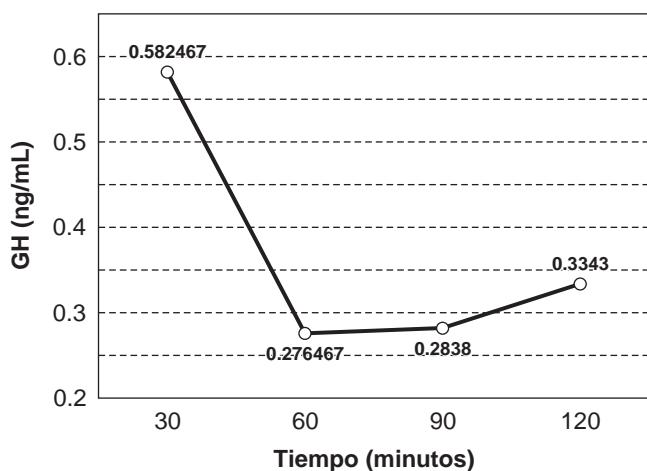


Figura 1. Promedio de valores de hormona del crecimiento durante la administración de una carga de glucosa por vía oral (CTOG). La cifra en cada punto de la curva representa el promedio de valores de hormona del crecimiento (GH) correspondiente a cada muestra. El valor más bajo se obtuvo a los 60 minutos, tanto en hombres como en mujeres.

dir fue indetectable (< 0.05 ng/mL) en 50% de los pacientes. Durante el desarrollo de la CTOG se obtuvo una determinación máxima de glucosa de 125 ± 20.7 mg/dL. Las diferencias entre sexos se muestran en los *cuadros I y II*.

En lo que corresponde al tiempo, durante la CTOG, en el que se alcanzó el nadir de GH; 13 (43%) pacientes lo presentaron a los 30 minutos, cinco (16%) a los 60 minutos, dos (6%) a los 90 minutos y nueve (30%) a los 120 minutos. Sin embargo, el promedio de determinaciones de GH fue menor a los 60 minutos (*Figura 1*), así como los rangos de variación a lo largo de la CTOG (*Figura 2*).

DISCUSIÓN

Los valores nadir de GH obtenidos en estos 30 sujetos sanos son similares a los expuestos en estudios realizados con el mismo tipo de ensayo (quimioluminiscencia),^{5,8,9} a pesar de que los rangos de edad son más estrechos en este trabajo que en los referidos previamente.

El cálculo de una cifra considerada de normalidad a partir de la media aritmética de los valores nadir de GH es de utilidad para proponer un corte

que pueda ser utilizado como criterio de remisión bioquímica en pacientes que hayan sido sometidos a alguna modalidad terapéutica para la acromegalía. Como se mencionó anteriormente, el valor normal alto para una variable determinada se calcula en términos del promedio + 2 desviaciones estándar.⁸ De esta manera, de acuerdo con los resultados expuestos, se obtuvo una cifra de 0.29 ng/mL como propuesta para ser considerada como indicador de ausencia de enfermedad, misma que resulta ser muy cercana a la que propone el Consenso Mexicano de Acromegalía en su publicación de 2004.⁷ Hasta el momento, el criterio oficial de remisión bioquímica de la acromegalía sigue siendo el de < 1 ng/mL.² Las cifras menores a ésta, continúan como propuestas. Las discrepancias expuestas con relación al nadir de GH entre ambos sexos, repercute en el valor propuesto. Así, en hombres es de 0.17 ng/mL, mientras que en mujeres es de 0.38 ng/mL. Este hallazgo confirma resultados previos.⁵ La mayoría de los sujetos de esta serie tuvieron un nadir de GH de 0.05 ng/mL, lo que indica que deben utilizarse los criterios más estrictos para la normalización de GH en pacientes con acromegalía que han sido tratados.

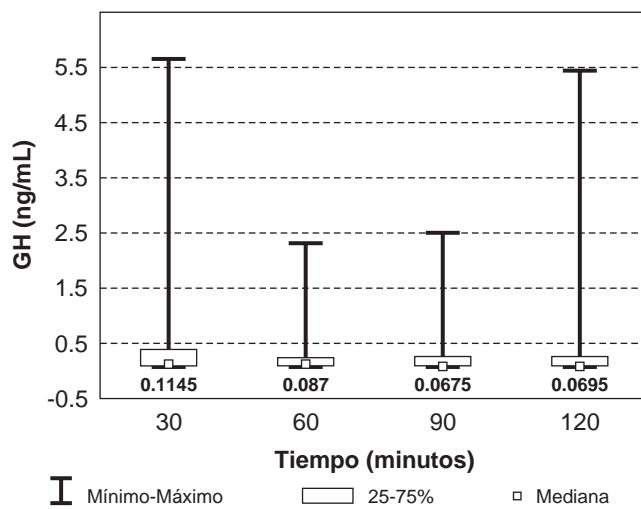


Figura 2. Rangos y valores medianos de hormona del crecimiento (GH) durante la administración de una carga de glucosa por vía oral (CTOG). Los valores medianos de hormona del crecimiento en las diferentes muestras fueron, en hombres y mujeres, más bajos a los 60 y 90 minutos, al igual que los intervalos entre valores máximos y mínimos.

Las determinaciones de GH tras la administración de una carga, por vía oral, de glucosa a pacientes sanos, ha sido posible a partir del desarrollo de técnicas ultrasensibles para la medición de esta hormona¹². Anteriormente, cuando sólo se utilizaba radioinmunoanálisis como método de laboratorio, pocos estudios lograron obtener una cifra específica,⁴ ya que muchos reportaron sus valores como "no detectables".

El resultado de las determinaciones de IGF-1 fue normal en todos los pacientes, para los rangos determinados para edad y sexo. La trascendencia de esto se encuentra en el hecho de que puede y debe utilizarse este parámetro como auxiliar en la evaluación de pacientes con acromegalía. Costa y colaboradores observaron que, cuando se alcanza un nadir de GH similar al expuesto en esta serie en pacientes con acromegalía, las concentraciones de IGF-1 se encuentran por debajo de su rango de normalidad hasta en 15% de los casos.⁸ Asimismo, la incidencia de panhipopituitarismo es mayor en pacientes acromegálicos cuando alcanzan un nadir de GH < 0.25 ng/mL, con reportes de 28.5%⁸ y 21%.¹³

En los estudios en los que se incluyen sujetos sanos y se realizan CTOG para la determinación de GH, se han empleado técnicas de laboratorio para la determinación de glucosa plasmática. No existe ningún trabajo en el que se utilice glucometría capilar como método de medición, seguramente por la mayor tasa de error que puede existir con este tipo de aditamentos. Sin embargo, no debe subestimarse el valor de la glucosa determinada por este método, toda vez que es ampliamente recomendado para el monitoreo de los pacientes diabéticos por la Asociación Americana de Diabetes. Por otra parte, la correlación entre valores de GH y de glucosa plasmática no fue, en ningún momento, un objetivo de estudio en este caso.

CONCLUSIONES

A lo largo del tiempo, el desarrollo de nuevas técnicas de laboratorio para la determinación de IGF-1 y GH ha permitido al clínico tener herramientas más útiles y, sobre todo, más sensibles para identificar a aquellos pacientes con tasas

mayores de morbimortalidad asociadas a la acromegalía. Las primeras técnicas de radioinmunoanálisis (RIA) concluyeron que, en sujetos sanos, la supresión normal de GH con glucosa se encontraba en el rango de 1.0–2.0 ng/mL. En tiempos más recientes, los ensayos ultrasensibles, como la quimioluminiscencia, han llegado a cifras en el orden de 0.05 ng/mL.

Con los resultados de esta serie, es posible proponer un límite normal alto de GH tras la administración oral de glucosa de 0.29 ng/mL, muy similar a estudios previos recientes. Asimismo, esta cifra es muy cercana a la propuesta por el Consenso Mexicano de Acromegalía en julio de 2004, de 0.3 ng/mL. Dicho valor puede ser utilizado como criterio de remisión bioquímica en pacientes con acromegalía que han sido sometidos a tratamiento. Como se ha expuesto en estudios previos, la supresión de GH con glucosa es mayor en hombres que en mujeres.

Finalmente, la determinación de IGF-1 por métodos ultrasensibles debe ser, también, parte del protocolo de todo paciente en el que se busca actividad secretora de GH. Estudios previos han propuesto que determinaciones de IGF-1 dentro de los rangos normales para edad y sexo, junto con la supresión descrita para GH, implican una dinámica secretora normal y reducen de manera importante la morbimortalidad en pacientes con acromegalía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kacsoh B. *Endocrine physiology*. New York, NY: Mc Graw-Hill, 2000; 251-274.
2. Giustina A, Barkan A, Casanueva F, Cavagnini F, Frohman L, Ho K, Veldhuis J, Wass J, Von Perder K, Melmed S. Criteria for cure of acromegaly: A consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 526–529.
3. Peacy SR, Shalet SM. IGF-1 measurement in diagnosis and management of acromegaly. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 297-303.
4. Freda P. Current concepts in the biochemical assessment of the patient with acromegaly. *Growth Horm IGF Res* 2003; 13: 171-184.
5. Chapman IM, Hartman MI, Straume M, Johnson ML, Veldhuis JD, Thorner MO. Enhanced sensitivity growth hormone chemiluminescence assay reveals lower post-glucose GH concentrations in men than women. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1312-1319.
6. Dimaraki EV, Jaffe CA, Demott-Friberg R, William F, Barkan AL. Acromegaly with apparently normal GH secretion. Implications for diagnosis and follow up. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3537-3542

7. Arellano S, Domínguez B, Espinoza de los Monteros AL, Gómez Cruz JR, Gómez MG, Guinto G et al. Consenso Nacional de Acromegalía: Guía para su diagnóstico, tratamiento y seguimiento. Posición de la Sociedad Mexicana de Endocrinología y Metabolismo. *Rev Endocrinol Nutr* 2004; 1 (supl): S63-S72.
8. Costa A, Rossi A, Martinelli C, Machado HR, Moreira AC. Assessment of disease activity in treated acromegalic patients using a sensitive assay: Should we achieve strict normal GH levels for a biochemical cure? *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 87: 3142-3147.
9. Freda UP, Post KD, Powell JS, Wardlaw SL. Evaluation of disease with sensitive measures of growth hormone secretion in 60 postoperative patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3808-3816.
10. Abosch A, Tyrrel B, Lanborn K, Hannegan LT, Applebury CB, Wilson CB. Transsphenoidal microsurgery for growth hormone secreting pituitary adenomas: Initial outcome and long term results. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3411-3418.
11. Melmed S, Jackson I, Kleinberg D, Klibanski A. Current treatment guidelines for acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2646-2652.
12. Hattori N, Shimatsu A, Kato Y. Growth hormone responses to oral glucose loading measured by highly sensitive enzyme immunoassay in normal subjects and patients with glucose intolerance and acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 771-776.
13. Sheaves R, Jenkins P, Blackburn P. Outcome of transsphenoidal surgery for acromegaly using strict criteria for surgical cure. *Clin Endocrinol* 45: 407-413.