

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

**Valores Normales y Anormales de Hormona
de Crecimiento en Plasma Humano**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
R I T A S U M A N O L O P E Z

MEXICO, D. F.

1972



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Al Dr. Adalberto Parra Covarrubias por su inestimable ayuda, orientación y dirección en la elaboración del presente trabajo.

Al Departamento de Investigación Científica del Centro Médico Nacional, por las facilidades otorgadas.

A mis padres

A mi esposo

A mis maestros

A la memoria de mis compañeros:

Wilfrido Ismael Bosch Sosa

Juan Antonio Cruz Cordero

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

I GENERALIDADES

II ACCIONES METABOLICAS

III ESTIMULOS PARA LA LIBERACION DE LA HHC

IV RADIOINMUNCENSAYO DE HHC

V OBJETIVO DEL ESTUDIO

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

DISCUSION

RESUMEN

GRAFICAS

BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

I - GENERALIDADES

La hormona humana de crecimiento (HHC) fue extraída por primera vez de pituitarias humanas en 1956 ⁽¹⁾ y dos años después, se empezó a administrar en humanos. A partir de entonces, dicha hormona ha sido estudiada en forma verdaderamente explosiva, desde diversos puntos de vista.

La HHC o somatotrofina es un agente promotor del crecimiento, que tiene además múltiples acciones, tales como: la síntesis de proteínas, la movilización de ácidos grasos no esterificados del tejido adiposo, la inhibición de la captación tisular de glucosa, etc. ⁽²⁾

Fisicoquímicamente la HHC es una cadena de polipéptidos de 188 aminoácidos con dos puentes disulfuro intramoleculares; en un extremo del polipéptido existe una fenilalanina unida a un radical $-COOH$ y en el otro extremo, el grupo fenilalanina se encuentra unido a un radical NH_2 . Su peso molecular a pH de 7.5 es de 21,000 ⁽³⁾. Si se hace reaccionar la HHC con un agente oxidante como el ácido perbórico, se conserva la antigenicidad de la hormona, pero la actividad biológica desaparece. Esto sugiere que la fracción responsable de la antigenicidad es diferente a la fracción responsable de la actividad biológica de la hormona. En cambio, si la hormona se trata con un agente reductor como el mercap-

toetanol o con un agente alquilante como la iodoacetamida, la actividad biológica se conserva, a pesar de que la molécula de HHC, se rompe. Esto parece indicar que la integridad de la molécula proteica no es esencial para que se lleven a cabo las acciones metabólicas de la hormona mencionada (3). Recientemente, ha sido posible conocer la secuencia de aminoácidos de una fracción de la molécula de HHC y se ha logrado sintetizar un polipéptido con actividad biológica (4).

Existen diversos tipos de hormona de crecimiento: de rata, de pescado, ovina, bovina, porcina, etc. Estos tipos de hormonas no tienen actividad biológica en los humanos; en cambio, las hormonas de crecimiento de primates y humanos sí tienen actividad biológica en los humanos. En otras palabras, existe especificidad al nivel de especie (3,5). Las diferencias en la actividad biológica de las diferentes hormonas de crecimiento, dependen de algunas variaciones en la estructura molecular de la hormona de crecimiento en cuestión.

II - ACCIONES METABOLICAS

Indudablemente, uno de los aspectos más interesantes en el estudio de la HHC, es el que se refiere a sus acciones metabólicas. Estas son múltiples y prácticamente no hay órgano o tejido que escape a la acción biológica de esta hormona (1). Se debe hacer énfasis en el hecho de que la HHC no ejerce sus acciones metabólicas en todos los órganos o tejidos al mismo tiempo, con la misma intensidad, ni en el mismo sen-

tido. Obviamente, su acción dependerá de la edad biológica del individuo y, por ende, de la de sus órganos; también dependerá del estado nutricional del individuo en un momento determinado, de su carga genética, de factores ambientales y, finalmente, del equilibrio que guarde, en un momento dado, con otras hormonas circulantes. Las acciones metabólicas que a continuación se describirán, son las que representan un mayor interés desde el punto de vista biológico:

A - Acción sobre el metabolismo de los carbohidratos. La HHC inhibe la utilización periférica de glucosa, lo cual es en parte atribuible a su acción antagonica con la insulina (1,6,7,8). En pacientes con deficiencia de HHC, con frecuencia se observa insulinopenia en estado de ayuno, así como en respuesta a la administración oral de glucosa (9,10). Contrariamente, cuando existe una producción excesiva de HHC, como en la acromegalia, existe una secreción exagerada de insulina en respuesta a diferentes estímulos (11). No obstante lo anterior, no es raro observar que estos pacientes desarrollen diabetes mellitus, aun en ausencia de antecedentes familiares de dicha enfermedad.

Acción sobre el metabolismo de las grasas. La HHC favorece la movilización de ácidos grasos no esterificados (AGNE) del tejido adiposo (2). Este efecto es fácilmente demostrable en el período post-prandial tardío y durante períodos de ayuno breves o prolongados (12,13). Este efecto de la HHC, tiene un significado fisiológico muy importante, puesto que

gracias a la movilización de AGNE, el organismo puede utilizarlos como combustible en muchas reacciones celulares y, en esta forma, evitar un consumo desproporcionado de las reservas de glucosa del organismo. Esta afirmación es particularmente cierta en situaciones de " stress ", donde hay un aumento brusco en los requerimientos energéticos del organismo. De lo anterior podemos concluir que en el metabolismo de las grasas, HHC e insulina tienen acciones antagónicas ⁽⁶⁾.

Acción sobre el metabolismo de las proteínas. Está perfectamente bien demostrado que la HHC favorece la síntesis de proteínas y, en este sentido, tiene una acción sinérgica con la insulina. El incremento en la síntesis de proteínas se debe a que existe no sólo un aumento en la retención de nitrógeno ⁽¹⁴⁾, sino también un aumento en la síntesis de ácido ribonucleico ribosomal y mensajero ⁽¹⁵⁾ y al parecer también del ácido desoxiribonucleico ^(16,17). Finalmente, la HHC también favorece el transporte celular de aminoácidos ⁽¹⁸⁾. De esta forma, el resultado final es un aumento en la síntesis de proteínas en diferentes tejidos y órganos, tales como músculo, hueso, hígado, cerebro, riñón, etc. Como consecuencia de esta acción, resulta obvio que la HHC favorecerá tanto el aumento en el número de células, como en el tamaño de las mismas en diferentes órganos o tejidos ^(16,17).

Tejido óseo. La HHC tiene también efectos sobre otros tejidos, como por ejemplo el tejido óseo, donde estimula la incorporación de sulfato y el depósito de calcio y fósforo en el cartílago en crecimiento

(1,7). Esto explica el por qué la persistencia de niveles plasmáticos excesivos de HHC, antes de que se efectúe la fusión de las epífisis de los huesos, produce un aumento exagerado en la estatura, con mínima distorsión de los huesos y sin avance de la maduración esquelética, lo cual conduce a la enfermedad conocida como gigantismo. En cambio, si el exceso de HHC se presenta después de efectuada la fusión de las epífisis, se tiene como resultado la acromegalia.

Sistema urinario. Aumenta la excreción de calcio, la filtración glomerular y el flujo plasmático renal (1,7).

Electrolitos. La HHC produce retención de fósforo, sodio y potasio (1). Además, aumenta la excreción urinaria de calcio, aun en pacientes con dieta baja en el mismo, gracias a su movilización del tejido óseo (1).

Secreción de insulina. Se ha demostrado que la HHC estimula directa e indirectamente (a través de la hiperglucemia) a las células β del páncreas y, por lo mismo, produce un aumento en la secreción pancreática de insulina (9,19).

Acción Sinérgica de la HHC y la Insulina en la Síntesis de Proteínas.

Se sabe que la HHC actúa sinérgicamente con la insulina en la síntesis de proteínas (18). Esto ha sido demostrado en algunos excelentes tra-

bajos realizados " in vivo " en el humano (8). La implicación fisiológica de este hecho, se encuentra elegantemente expuesta en trabajos publicados con anterioridad (20). Después de la ingestión de un alimento, es posible detectar tres fases en cuanto a la secreción de insulina y hormona de crecimiento se refiere: Fase I, está caracterizada por un predominio de insulina con niveles plasmáticos bajos de HHC. Durante esta fase la insulina actúa principalmente favoreciendo el almacenamiento de carbohidratos en el hígado, músculo y tejido adiposo fundamentalmente. Fase II, Caracterizada por la presencia tanto de insulina como de HHC. Durante esta fase, ambas hormonas actúan sinérgicamente en la síntesis de proteínas. Fase III. Caracterizada por un exceso de HHC e insulinopenia. Durante esta fase la HHC actúa principalmente para movilizar ácidos grasos, que se utilizan como combustible, así como para conservar proteínas y carbohidratos (20).

III - ESTIMULOS PARA LA LIBERACION DE LA HHC.

Las fases anteriormente mencionadas se han determinado mediante el uso de estímulos " fisiológicos " (comidas) para la liberación de la HHC. Sin embargo, se ha utilizado un gran número de estímulos no fisiológicos, para la secreción de HHC y éstos incluyen diversas formas de " stress " (13), ayuno (21), sueño (22), infusión de aminoácidos (23), hipoglucemia (24,25), administración endovenosa de pirógeno (26) o de catecolaminas (27), etc. En la actualidad se ha comprobado que la hipoglucemia inducida por insulina y la infusión de monoclóruo

de l-arginina (28) son los estímulos más sencillos, adecuados y confiables para la liberación de HHC. En años anteriores estas pruebas se hacían en dos días separados; sin embargo, recientemente se ha demostrado que la administración secuencial de ambos estímulos es igualmente efectiva para provocar la secreción de HHC. Además, dicha estimulación secuencial constituye una prueba sencilla y reduce la estancia del enfermo en el hospital (29).

IV - RADIOINMUNOENSAYO DE HHC.

A - GENERALIDADES

El radioinmunoensayo es una técnica desarrollada en 1960 por Yalow y Berson (30) que permite medir con exactitud concentraciones pequeñas (del orden de nanogramos o picogramos) de diferentes hormonas proteicas, en una gran variedad de líquidos biológicos. Las hormonas proteicas, debido a sus características estructurales y al hecho de que circulan en concentraciones pequeñísimas, resultan muy difíciles de detectar mediante bioensayos. El radioinmunoensayo vino a resolver este y otros problemas, y en la actualidad se pueden medir 20 hormonas proteicas, de 8-10 hormonas no proteicas, vitamina B12 y ácido fólico, mediante esta técnica (31). El radioinmunoensayo se basa en el hecho de que los anticuerpos, por su estructura complementaria, reaccionan en forma específica con el antígeno (en este caso la HHC) que estimula su producción. El radioinmunoensayo, en resumen, explota la capacidad de una hormona proteica determinada (presente en cualquier líquido biológico), para competir con la misma hormona proteica marcada con

un radioisótopo, por el anticuerpo específico.

El principio general del radioinmunoensayo puede esquematizarse en la siguiente ecuación (Figura 1):

La HHC marcada con el radioisótopo (Ag) se une al anticuerpo específico (Ac) para formar un complejo radioactivo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac). El radioinmunoensayo para la HHC se basa en la capacidad que tiene la HHC (Antígeno, Ag^x), presente en cualquier líquido biológico, o en la solución estándar, para competir con la HHC radioactiva (Ag) por el anticuerpo específico (Ac) y por lo tanto, inhibir su unión con dicho anticuerpo. Como consecuencia de esta inhibición competitiva, la proporción entre Ag-Ac (B) y la HHC radioactiva (Ag) no unida al anticuerpo (F) - relación que se expresa como B/F - va disminuyendo conforme va aumentando la concentración de HHC en el plasma o en una solución estándar (Figura 2).

B - Características del Radioinmunoensayo

Existen varios requisitos que todo radioinmunoensayo debe cumplir antes de ser aceptado definitivamente, para uso clínico. En primer lugar, debe ser específico para la hormona que se desea determinar y que no interfiera en ello ninguna otra hormona o sustancia presente en el líquido biológico examinado. Para ello se debe disponer de un anticuerpo específico y demostrar:

- 1.- Que la dilución progresiva de una misma muestra del plasma da por resultado valores de hormona proporcionalmente menores (Figura 3).
- 2.- Que los estudios de recuperación sean satisfactorios (Tabla 1).
- 3.- Que no sea posible detectar niveles apreciables de la hormona en el plasma de un paciente hipofisectomizado.

El segundo requisito es una gran sensibilidad. Se debe conocer con precisión cuál es la concentración máxima y cuál la mínima de la hormona que el sistema puede detectar. Para ello, no basta la curva estándar graficada en papel aritmético (Figura 4), es preciso presentar datos de la curva estándar tanto en papel semilogarítmico (Figura 5) (30), como en una hoja de transformación logística (Figura 6) (32). Los puntos de la curva estándar que quedan incluidos en la porción recta de la línea, son los que indican los límites de sensibilidad del sistema estudiado.

Un tercer requisito lo constituye la precisión o variabilidad intraensayo. Esta se investiga con diferentes soluciones que contengan concentraciones crecientes conocidas de la hormona. Los valores obtenidos para cada concentración se someten a análisis estadísticos y se obtiene el promedio y la desviación estándar, lo cual dará un índice de la precisión del sistema (Tabla 2).

Finalmente, es recomendable conocer la reproducibilidad o variabilidad interensayo. Para ello se debe contar con alicuotas de diferentes

muestras de plasma que contengan concentraciones bajas, medias y altas de la hormona. Se analiza una alícuota de cada muestra de plasma cada vez que se efectúa un ensayo, y en esta forma se puede observar la reproducibilidad de los valores obtenidos a lo largo de varios meses (Figura 7).

Con el objeto de tener una valoración global y objetiva de la calidad del radioinmunoensayo, se ha descrito detalladamente en qué consiste el control de calidad de un radioinmunoensayo ⁽³²⁾. Brevemente, dicho control de calidad consiste en el registro longitudinal de diferentes variables: actividad específica de la hormona radioactiva, cantidad de hormona radioactiva que se agrega a cada muestra, cuentas totales por minuto (cpm), porcentaje de hormona dañada, el punto de intersección al 50% en la hoja logit, variabilidad interensayo y la dilución inicial del anticuerpo. Mientras más constantes se mantengan dichas variables, la calidad de ensayo será mayor (Figura 7).

En la Sección de Estudios Clínicos de la División de Nutrición del Departamento de Investigación Científica, del Centro Médico Nacional, lugar donde se llevó a cabo el presente trabajo, el radioinmunoensayo para HHC presenta las siguientes características: La sensibilidad del sistema va de 1.0 a 25 ng/ml de plasma (Figura 5 y 6); los porcentajes de recuperación variaron entre 90.6 y 95.1 (Tabla 1); la variabilidad intraensayo fue de 0.5 a 0.9 ng/ml para niveles de HHC de 0.0 a 6.2 ng/ml y de 2.2 a 3.3 ng/ml para niveles entre 12.5 y 25.0

ng/ml (Tabla 2). La reproducibilidad o variabilidad interensayo fue de 0.6 y 7.5 ng/ml para niveles bajos y altos de HHC, respectivamente (Figura 7). El análisis de los diferentes volúmenes de plasma de una misma muestra, dió como resultado una excelente correlación lineal (Figura 3). (33)

V OBJETIVO DEL ESTUDIO

El objetivo del presente trabajo es determinar las concentraciones plasmáticas de HHC en individuos normales y en pacientes con síndrome de baja talla, con el fin de determinar los valores normales y anormales de HHC en respuesta a la administración endovenosa secuencial de monoclóruo de l-arginina e insulina.

MATERIAL Y METODOS

El material necesario para el radioinmunoensayo de HHC consiste en:

- 1.- HHC marcada con un radioisótopo; en este caso se utilizó I⁻¹²⁵ HHC (Iso-serve, Cambridge Nuclear Corporation, Billerica, Mass.).
- 2.- Un anticuerpo específico (en este caso el R-B-1238) en una dilución específica, que varía en cada laboratorio. En este estudio, se usó una dilución 1:135,000.
- 3.- HHC purificada para las soluciones estándar (HHC Wilhelmi NIH-GH-HS 1216) , con actividad de crecimiento de 1.45 UI/mg y actividad de prolactina de 6.5 UI/mg.

La HHC fue yodada según el método de Greenwood y Hunter ⁽³⁴⁾ usando un átomo de I^{125} por molécula de HHC. La actividad específica de la hormona varió entre 104-113 uCi/ug; el radioisótopo tuvo una concentración de 100 uCi/ml y la concentración de la hormona fue de 0.85 0.90 ug/ml. El porcentaje de HHC dañada, en ninguna ocasión fue superior a 7.3%.

La I-125 HHC se diluyó para obtener 0.125 ng/100 ul, lo que proporcionó entre 4200-6000 cuentas por minuto (cpm).

La curva estándar se preparó usando la HHC purificada, con una concentración inicial de 100 ng/ml y mediante diluciones sucesivas (1:1) con albúmina bovina al 5% en buffer de barbital (0.1 M, pH 8.4-8.6). Se obtuvieron concentraciones de 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1 y 1.5 ng/ml.

La curva estándar se hizo por triplicado de la siguiente manera:

Solución estándar	0.5 ml
I-125 HHC (0.125 ng/100 ul)	0.1 ml
Dilución de anticuerpo 1:135,000	0.1 ml

Lo anterior representa un volumen final de incubación de 0.7 ml. Además, se dispone de 2 tubos más, también por triplicado, los cuales se denominan NS y O, y se preparan de la siguiente forma:

	NS	O
Buffer barbital	0.6 ml	0.5 ml
HHC I^{125} (0.125 ng/100 ul)	0.1 ml	0.1 ml
Anticuerpo 1:135,000	---	0.1 ml

El tubo "NS" proporcionará un índice del daño, o sea la proporción de moléculas de hormona que han sido alteradas durante la yodación y/o el período de incubación, que se comportan como si ya estuvieran unidas al anticuerpo. El porcentaje de daño se obtiene de la relación:

$$NS \text{ (daño)} = \frac{\text{cpm B}}{\text{cpm B} + \text{cpm F}}$$

En los tubos O se obtendrá el " grado de unión " máximo o sea, la máxima relación B/F , donde B es la cantidad de hormona radioactiva unida al anticuerpo y F, la cantidad de hormona radioactiva no unida al anticuerpo y que no está dañada.

Preparación de las muestras desconocidas:

Las muestras de plasma por analizar se prepararon por duplicado de la siguiente forma:

Buffer barbital	0.450 ml
Plasma humano	0.050 ml
I-125 HHC (0.125 ng/100 ul)	0.100 ml
Anticuerpo	0.100 ml

El volumen final de incubación en todos los tubos, es de 0.7 ml. Tanto la curva estándar como las muestras desconocidas, se incubaron durante

5 días a 4°C. Posteriormente, se les agregaron 3 ml de una suspensión de carbón-dextran, a cada uno de los tubos y se centrifugaron a 3,000 rpm durante 30 minutos, en una centrífuga refrigerada PR-6 (International Equipment Co. Needham Hts, Mass.) Después, se separó el sobrenadante del precipitado y se contaron ambas fracciones en un contador automático para radiaciones gamma (Modelo 4221, Nuclear Chicago, Corp., Des Plaines, Illinois). (Figura 8) De lo anterior se obtuvo la relación B/F , en donde el valor de B es el número de cpm del sobrenadante y el valor F es el número de cpm del precipitado. La relación B/F obtenida en cada muestra de plasma, se compara con los valores obtenidos de la curva estándar y se obtiene la concentración de HHC en ng/ml en cada muestra analizada.

Material Clínico

Se estudiaron 7 individuos normales y 45 pacientes con síndrome de baja talla (más de 2 desviaciones estándar por abajo del promedio para su edad cronológica) ⁽³⁵⁾ que asistían a la consulta de crecimiento del Hospital de Pediatría, CMN, IMSS. De acuerdo con sus características clínicas, velocidad anual de crecimiento, edad ósea y pruebas de laboratorio (incluyendo estudios endocrinológicos), el material clínico se dividió en los siguientes grupos:

Grupo 1: Siete individuos sanos (cuatro hombres, tres mujeres), con estatura y peso corporal normales. Sus edades oscilaron entre 3.0 y 16.0 años y su velocidad de crecimiento era igual o superior a 6.1

cm/año. (Tabla 3)

Grupo 2: Catorce pacientes con retraso constitucional de crecimiento y desarrollo ⁽³⁶⁾ (once hombres, tres mujeres), cuyas edades oscilaron entre 5.0 y 13.5 años. El peso corporal era normal para su estatura y su velocidad de crecimiento era de 5.2 ± 0.9 cm/año (promedio \pm desviación estándar) (Tabla 4).

Grupo 3: Ocho pacientes con síndrome de mala absorción intestinal (todos hombres); sus edades oscilaron entre 2.5 y 15.2 años. Su peso era proporcional a su estatura y la velocidad de crecimiento era de 5.4 ± 0.8 cm/año (Tabla 5).

Grupo 4: Catorce pacientes con hipopituitarismo (nueve hombres, cinco mujeres), de acuerdo con el criterio de Brasel ⁽³⁷⁾. Sus edades oscilaron entre 6.0 y 14.6 años. Su velocidad de crecimiento era de 3.4 ± 0.8 cm/año (Tabla 6).

Grupo 5: Tres pacientes (hombres) cuyas edades fueron entre 2.7, 8.2 y 12.2 años, con peso corporal proporcional a su talla, en quienes se sospechaba clínicamente, una deficiencia selectiva de HHC. La velocidad de crecimiento era de 3.7 ± 0.6 cm/año (Tabla 7).

Grupo 6 : Seis pacientes (dos hombres y cuatro mujeres) con diversos tipos de diagnóstico. Sus edades oscilaron entre 2.4 y 13.4 años con pesos corporales normales para su estatura; las velocidades de crecimiento eran de 2.6 y 7.0 cm/año (Tabla 8).

Obtención de las muestras de plasma.

Todos los pacientes fueron hospitalizados en el Servicio de Endocrinología del Hospital de Pediatría. La prueba de la administración secuencial de monoclóruo de l-arginina e insulina, se realizó en la mañana del día siguiente a su hospitalización y después de 10-12 horas de ayuno y reposo absoluto en cama. Se canalizó una vena del dorso de la mano o del pliegue del codo con una aguja número 19, la cual se mantuvo permeable mediante el goteo lento de solución salina al 0.85%; por esta vía, se obtuvieron las muestras de sangre. La prueba se realizó de la siguiente forma:

Se tomaron dos muestras basales de sangre, a los 15 y a los 0 minutos. Inmediatamente después de haberse obtenido esta última muestra, se inició la administración de monoclóruo de l-arginina (0.5 g/kg peso corporal) en solución acuosa al 10%; dicha infusión duró treinta minutos. Durante esta etapa, se tomaron muestras de sangre a los 15, 30, 45 y 60 minutos. Inmediatamente después de haber obtenido esta última muestra, se administró rápidamente insulina de acción rápida (0.1 u/kg peso corporal). Se tomaron muestras de sangre a los 75, 90, 105 y 120 minutos (Figura 9).

Las muestras de sangre se centrifugaron inmediatamente después de haberse obtenido, y el plasma se separó y congeló a -20°C para su análisis posterior.

Para el análisis de los resultados se empleó una computadora Olivetti

Programa 203 y se utilizó la prueba student " t " para muestras independientes. Los valores expresados en el texto y en las figuras re presentan el promedio error estándar.

RESULTADOS

Los niveles plasmáticos basales de HHC fueron los siguientes:

Grupo 1	2.4 ± 0.6 ng/ml
Grupo 2	1.9 ± 0.6 ng/ml
Grupo 3	1.7 ± 0.6 ng/ml
Grupo 4	0.6 ± 0.2 ng/ml
Grupo 5	0.6 ± 0.3 ng/ml
Grupo 6	2.2 ± 0.6 ng/ml

Como puede observarse, los valores basales en los grupos 1,2,3 y 6 fueron similares. Sin embargo, se encontró una diferencia significativa entre los valores de los grupos anteriormente mencionados y el grupo 4 ($p < 0.05$ a $p < 0.005$).

En respuesta a la infusión de l-arginina y a la hipoglucemia, se observó un aumento en los niveles plasmáticos de HHC en los grupos 1, 2,3 y 6 (Figura 10). No hubo diferencias significativas entre estos grupos.

Al comparar los valores obtenidos en los grupos 1 y 4, se observó que los valores del grupo 1 fueron superiores a los del grupo 4 a lo

largo de toda la prueba ($p < 0.05$ a $p < 0.001$). Igualmente, los valores de HHC del grupo 1 fueron superiores a los del grupo 5, a los 75 minutos ($p < 0.05$), 90 minutos ($p < 0.025$), 105 minutos ($p < 0.025$) y 120 minutos ($p < 0.05$). Al comparar los niveles plasmáticos de HHC de los grupos 4 y 5, se observó que los niveles del grupo 5 fueron significativamente superiores a los observados en el grupo 4, a los 30 minutos ($p < 0.01$), 45 minutos ($p < 0.05$), 75 minutos ($p < 0.001$) y 90 minutos ($p < 0.001$) (Figura 11).

Los valores máximos de HHC obtenidos, en respuesta a la administración de l-arginina e insulina fueron:

GRUPO	L-ARGININA	INSULINA
1	7.8 ± 2.6 ng/ml	14.2 ± 2.6 ng/ml
2	9.2 ± 1.1 ng/ml	11.4 ± 1.0 ng/ml
3	8.2 ± 1.8 ng/ml	14.2 ± 2.4 ng/ml
4	0.9 ± 0.2 ng/ml	1.0 ± 0.2 ng/ml
5	3.2 ± 0.6 ng/ml	4.0 ± 0.2 ng/ml
6	8.5 ± 4.5 ng/ml	2.2 ± 5.7 ng/ml

Como puede observarse, en todos los grupos estudiados, los niveles máximos obtenidos durante la infusión de l-arginina son similares a los obtenidos durante la hipoglucemia ($p < 0.05$). Por otra parte, no hubo diferencias significativas entre los valores máximos obtenidos en los grupos 1,2,3 y 6; sin embargo, estos valores fueron significativamente superiores a los del grupo 4 ($p < 0.001$) y a los del grupo 5

($p < 0.05$ a $p < 0.005$). Además, los valores máximos del grupo 4 fueron significativamente inferiores a los del grupo 5, tanto durante la estimulación con l-arginina ($p < 0.005$), como durante la hipoglucemia ($p < 0.001$) (Figura 12).

Si se analizan los valores máximos individuales, obtenidos en respuesta a cualquiera de los dos estímulos, se observa que estos siempre fueron iguales o superiores a 6.0 ng/ml, en cada uno de los pacientes de los grupos 1,2,3 y 6. En contraste, el valor individual máximo observado en el grupo 4 fue de 3.0 ng/ml, y en el del grupo 5 fue 4.5 ng/ml. (Figura 13)

Entre los treinta y cinco individuos sin deficiencia de HHC, se encontraron cuatro tipos diferentes de respuestas normales, en relación con el aumento de los niveles plasmáticos de HHC durante la infusión de l-arginina y durante la fase hipoglucémica de la prueba:

- a.- Aumento claro en los niveles de HHC en respuesta a ambos estímulos.
- b.- Aumento en los niveles de HHC sólo durante la infusión de l-arginina y no durante la hipoglucemia.
- c.- Aumento en los niveles de HHC durante la hipoglucemia y sin incremento significativo durante la infusión de l-arginina.
- d.- No hubo aumento en los niveles de HHC con ninguno de los dos es

tímulos; sin embargo, los valores basales fueron superiores a 6.0 ng/ml (Figura 14).

En todos los pacientes estudiados, los niveles de glucosa plasmática, durante la fase hipoglucémica, tuvieron un descenso del $49.3 \pm 1.4\%$, en relación al nivel de glucemia observado a los 60 minutos. No hubo diferencias significativas en los valores absolutos de glucosa obtenidos durante la segunda fase de la prueba entre los diferentes grupos estudiados. Sin embargo, en los pacientes del grupo 4 se observó que el descenso en la glucemia fue seguido de una recuperación lenta hacia los valores basales (Figura 15).

DISCUSION

Tanto los valores basales como los niveles plasmáticos de HHC obtenidos en respuesta a la infusión de l-arginina y a la administración de insulina, observados en los grupos 1,2,3 y 6, son similares a los reportados por otros autores (24,28,29,38,39,40).

Los valores de HHC plasmática obtenidos en respuesta a la estimulación con l-arginina no fueron estadísticamente diferentes a los obtenidos estimulando con insulina (40). Sin embargo, del total de 35 individuos sin deficiencia de HHC, en 21 casos se obtuvo respuesta tanto a la l-arginina como a la hipoglucemia; 10 individuos no respondieron a la l-arginina pero sí a la hipoglucemia; tres pacientes respondieron sólo a la l-arginina; y un individuo tuvo niveles basales elevados de

HHC y no respondió a ninguno de los dos estímulos. Estos 4 tipos de respuesta son los mismos que registran otros autores (38,41) y todas estas respuestas pueden catalogarse como variaciones normales, de forma que no se puede diagnosticar deficiencia de HHC, hasta no demostrar una falta de respuesta en los niveles plasmáticos de HHC, cuando menos con dos estímulos (28,41,42).

El hecho de que algunos individuos respondan con aumento de HHC plasmática, con uno solo de los estímulos y no con ambos, lleva a considerar dos posibilidades:

a) Que la respuesta a sólo uno de los estímulos, sea el resultado de la variación individual en cuanto a sensibilidad a los dos estímulos se refiere.

b) Que ambos estímulos actúen por diferentes mecanismos (43).

Esta última posibilidad se ve apoyada por el hecho de que existe evidencia de que el estímulo hipoglucémico actúa, cuando menos en la rata, a nivel hipotalámico (44,45). Por otra parte, existe la hipótesis de que la l-arginina actúa directamente sobre el lóbulo anterior de la hipófisis. La hipótesis anterior se basa en el hecho de que tanto la hiperglucemia sistémica (45), como la hiperglucemia hipotalámica aun en presencia de hipoglucemia sistémica (44), ocasionan una disminución en los niveles plasmáticos de HHC. Sin embargo, la hiperglucemia sistémica producida por infusión de epinefrina o glucosa, no es capaz de bloquear el efecto estimulante de la l-arginina (43). Puesto

que ninguno de los dos estímulos usados puede considerarse como fisiológico, el significado clínico de este tipo de respuesta, se desconoce.

Todos los individuos sin deficiencia de HHC tuvieron, en algún momento de la prueba, valores mayores o iguales a 6.0 ng/ml. Debido a lo anterior, la presencia de ese valor, en cualquier momento de la prueba, descarta la posibilidad de deficiencia de HHC. Esta cifra es semejante a las registradas por otros autores en el extranjero (28,41).

En los pacientes del grupo 4, los niveles de HHC fueron siempre inferiores o iguales a 3.0 ng/ml, lo que indica que valores como los mencionados antes, sugieren indudablemente una deficiencia absoluta de HHC.

En los pacientes del grupo 5, el valor máximo obtenido fue de 4.5 ng/ml; los valores de HHC en este grupo fueron superiores a los del grupo 4 en distintos momentos de la prueba, lo que puede hacer pensar que cantidades de HHC mayores de 3.0 ng/ml pero inferiores a 6.0 ng/ml indican una deficiencia parcial de HHC (46).

Con base en los resultados obtenidos, se puede concluir que la administración endovenosa secuencial de monocloruro de l-arginina e insulina es un método sencillo y adecuado para detectar HHC en aquellos pacientes con síndrome de baja talla debido a una deficiencia, total o parcial de HHC.

RESUMEN

En el presente trabajo se determinaron los niveles plasmáticos de hormona humana de crecimiento (HHC), mediante radioinmunoensayo, en 52 individuos, durante la administración secuencial de monocloruro de l-arginina (0.5 g/kg peso) e insulina (0.1 u/kg peso). Los pacientes se clasificaron según sus características clínicas, pruebas endocrinológicas, edad ósea y velocidad de crecimiento, en los siguientes grupos:

Grupo 1: Siete niños normales

Grupo 2: Catorce pacientes con baja talla constitucional.

Grupo 3: Ocho pacientes con síndrome de mala absorción intestinal.

Grupo 4: Catorce pacientes con hipopituitarismo.

Grupo 5: Tres pacientes con diagnóstico provisional de deficiencia parcial de HHC.

Grupo 6: Seis pacientes con diversos diagnósticos.

Se observaron diferencias significativas en los niveles basales de HHC de los grupos 1,2,3 y 6, con respecto a los valores del grupo 4 ($p < 0.05$ a $p < 0.005$).

Los niveles máximos de HHC plasmática obtenidos durante la estimulación con arginina e insulina fueron, respectivamente, (ng/ml):

Grupo 1: 7.8 ± 2.6 y 14.2 ± 2.6 ; Grupo 2: 9.2 ± 1.1 y 11.4 ± 1.0 ; Grupo 3: 8.2 ± 1.8 y 14.0 ± 2.4 ; Grupo 4: 0.9 ± 0.2 y 1.0 ± 0.2 ; Grupo 5: $3.2 \pm$

0.6 y 4.0 ± 0.2 ; Grupo 6: 8.5 ± 4.5 y 22.0 ± 5.7 .

Los valores fueron similares entre los grupos 1,2,3 y 6. Sin embargo estos valores fueron estadísticamente superiores a los observados en los grupos 4 y 5 ($p < 0.005$ y $p < 0.001$). A su vez, los valores del grupo 5 fueron superiores a los del grupo 4 ($p < 0.005$).

La concentración individual de HHC más baja se observó en los grupos 1,2,3 y 6 fue de 6.0 ng/ml. En cambio, en los grupos 4 y 5, los valores de HHC más altos obtenidos, fueron de 3.0 y 4.5 ng/ml, respectivamente.

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir:

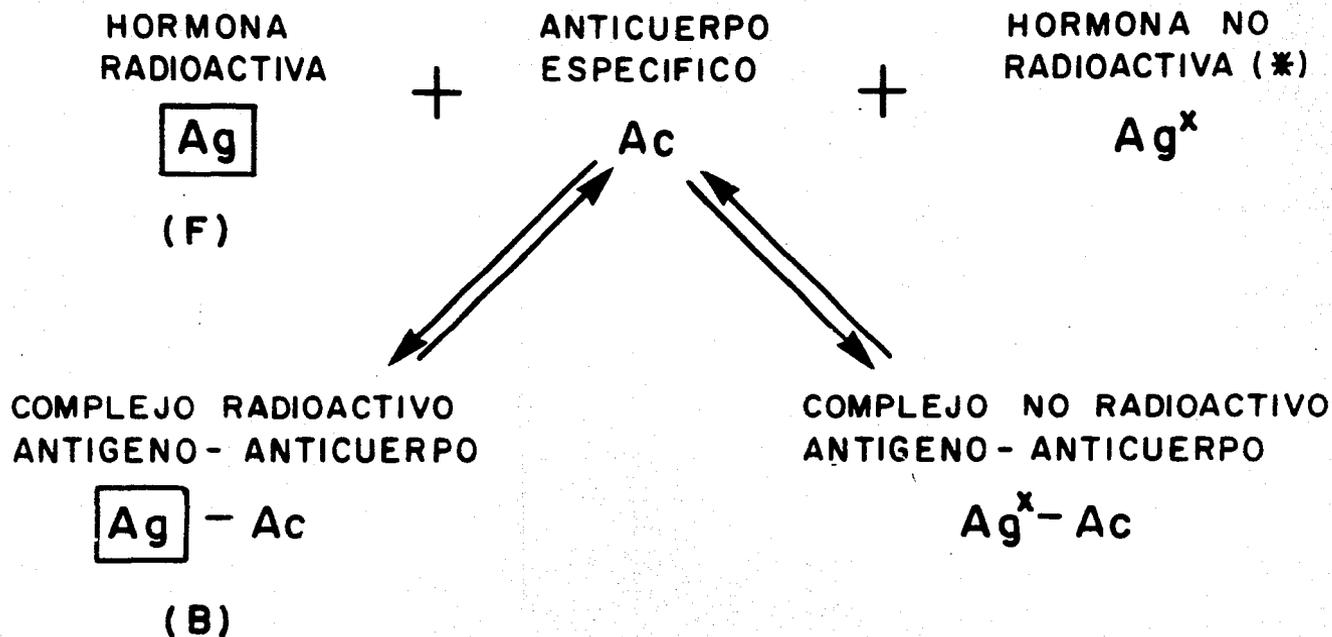
1.- Valores de HHC plasmática mayores o iguales a 6.0 ng/ml eliminan la posibilidad de diagnóstico de deficiencia de HHC. Los valores comprendidos entre 3.0 y 4.5 ng/ml indican una deficiencia parcial de HHC. Valores menores de 3.0 ng/ml sugieren una deficiencia absoluta de HHC.

2.- Para poder establecer un diagnóstico de deficiencia de HHC se debe demostrar que los valores de HHC nunca fueron iguales o superiores a 6.0 ng/ml y que no hubo respuesta a ninguno de los dos estímulos empleados.

3.- Finalmente, se puede afirmar que la prueba de administración en-

dovenosa secuencial de monocloruro de l-arginina e insulina, es un método sencillo y satisfactorio para detectar HHC en pacientes con síndrome de baja talla debida a una deficiencia total o parcial de HHC.

Fig. 1



(*) ESTANDAR O MUESTRA DE PLASMA

Fig. 2

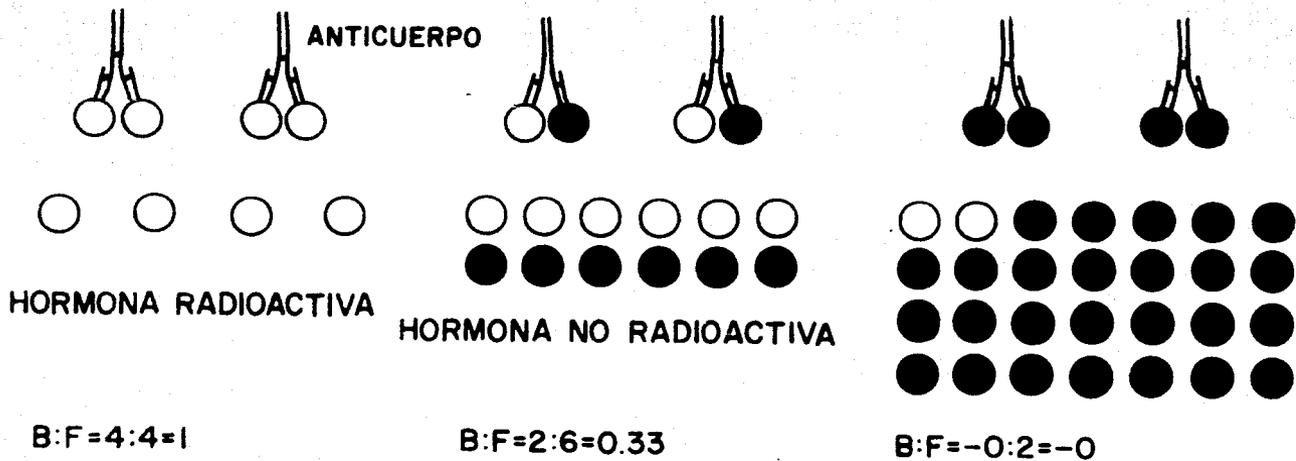
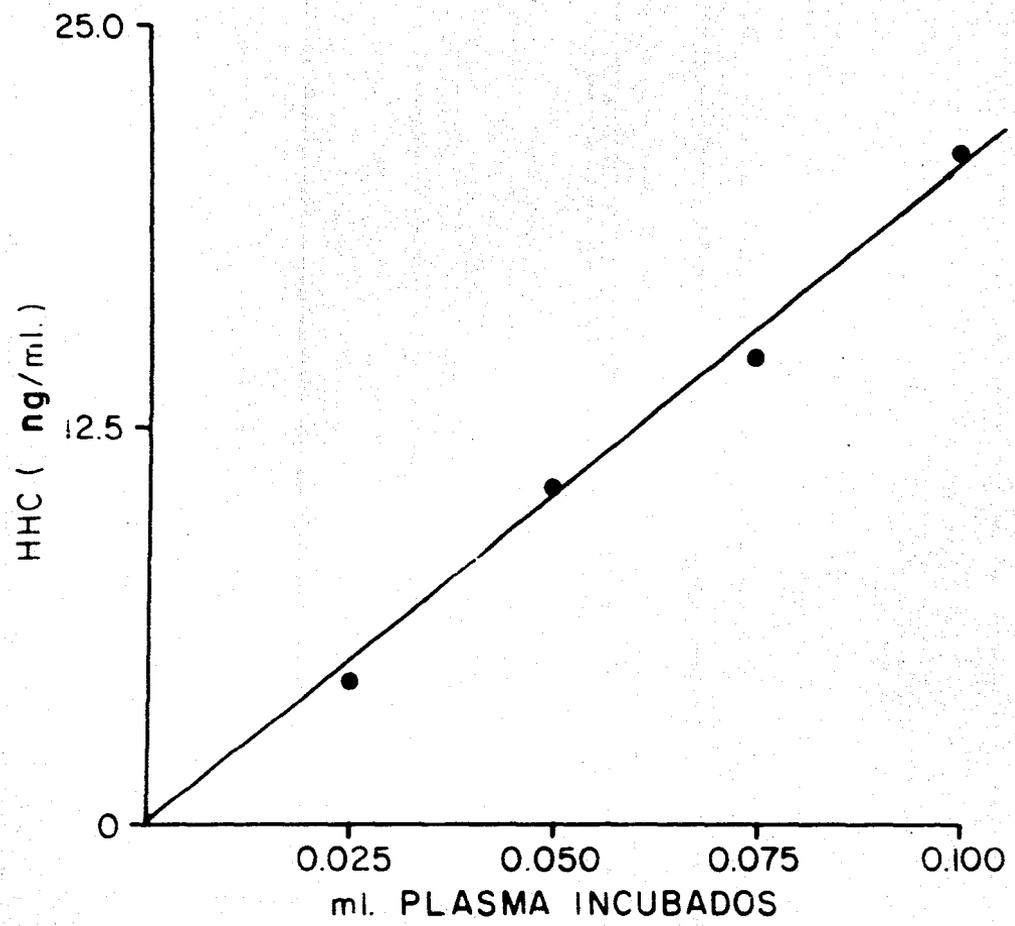
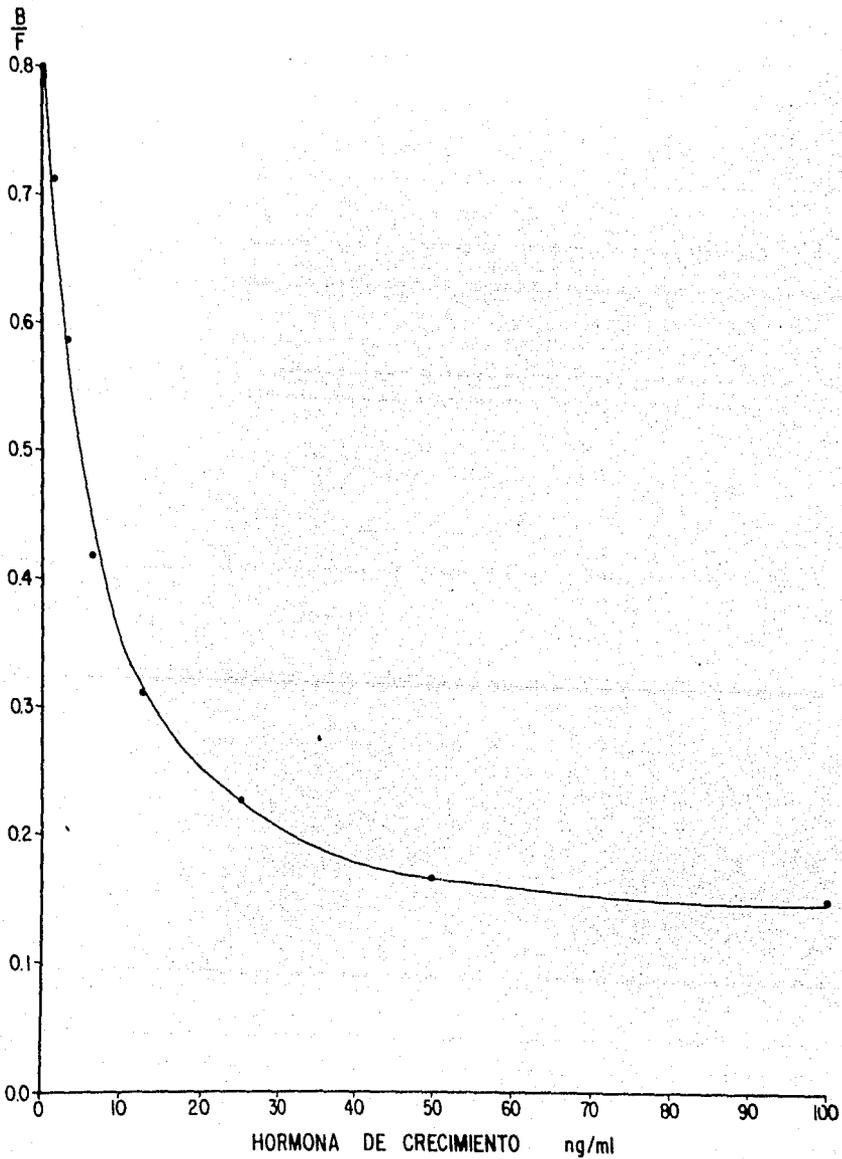


Fig. 3



INMUNOENSAYO HORMONA DE CRECIMIENTO

ANTICUERPO RB-238 1:135,000 HORMONA DE CRECIMIENTO- 1^{25} :0.1 ng/100 λ

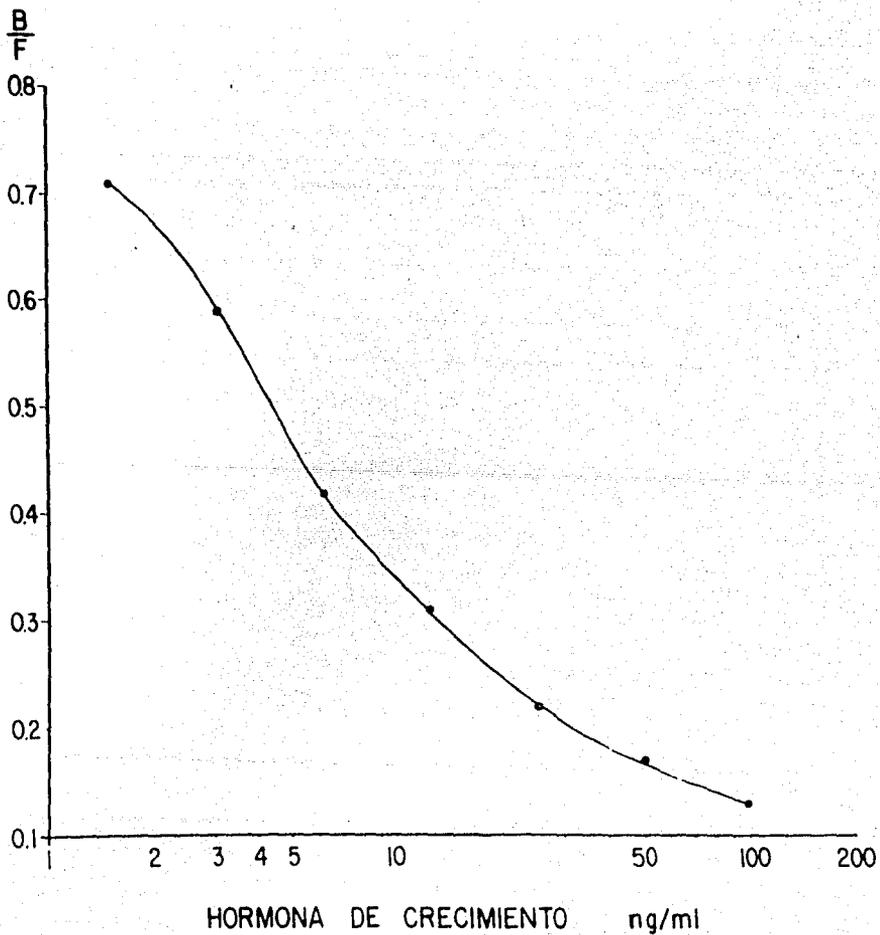


IMSS-DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA-DIVISION DE NUTRICION

Fig. 4

INMUNOENSAYO HORMONA DE CRECIMIENTO

ANTICUERPO RB-1238 1:135,000 HORMONA DE CRECIMIENTO-I¹²⁵: 0.1 ng/100λ

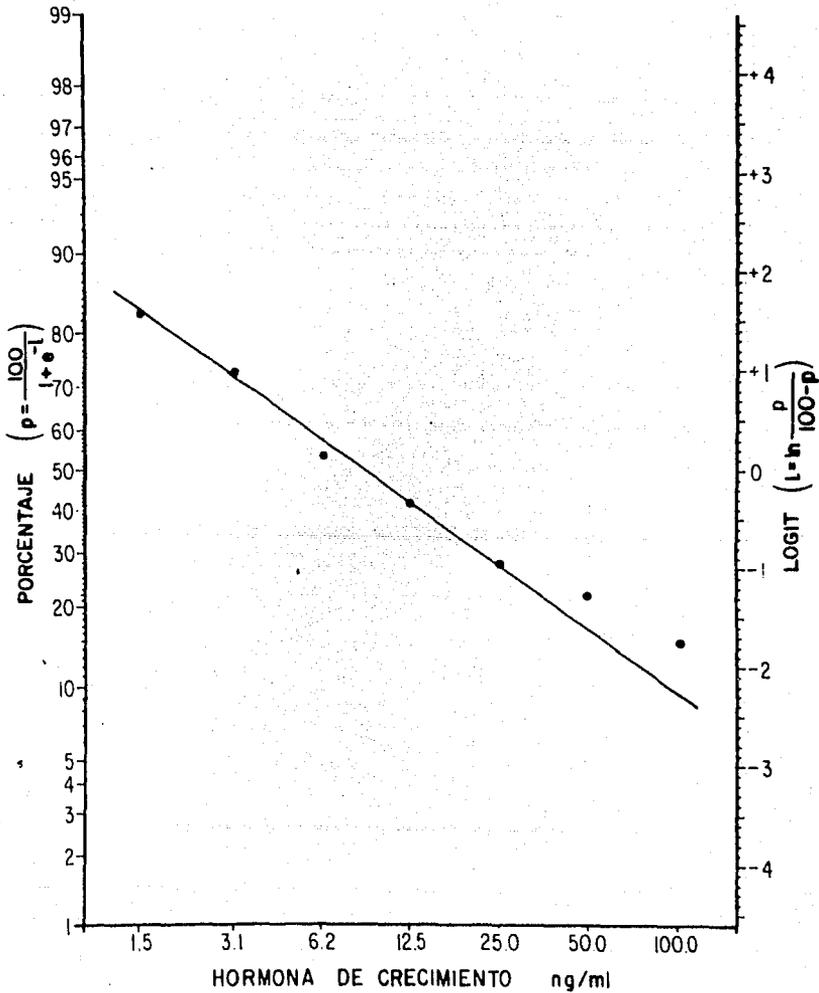


MSS—DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA—DIVISION DE NUTRICION

Fig. 5

INMUNOENSAYO HORMONA DE CRECIMIENTO

ANTICUERPO RB-1238 1:135,000 HORMONA DE CRECIMIENTO- I^{125} :0.1 ng/100 λ



IMSS-DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA-DIVISION DE NUTRICION

Fig. 6

RADIOINMUNOENSAYO DE HORMONA DE CRECIMIENTO

CONTROL DE CALIDAD

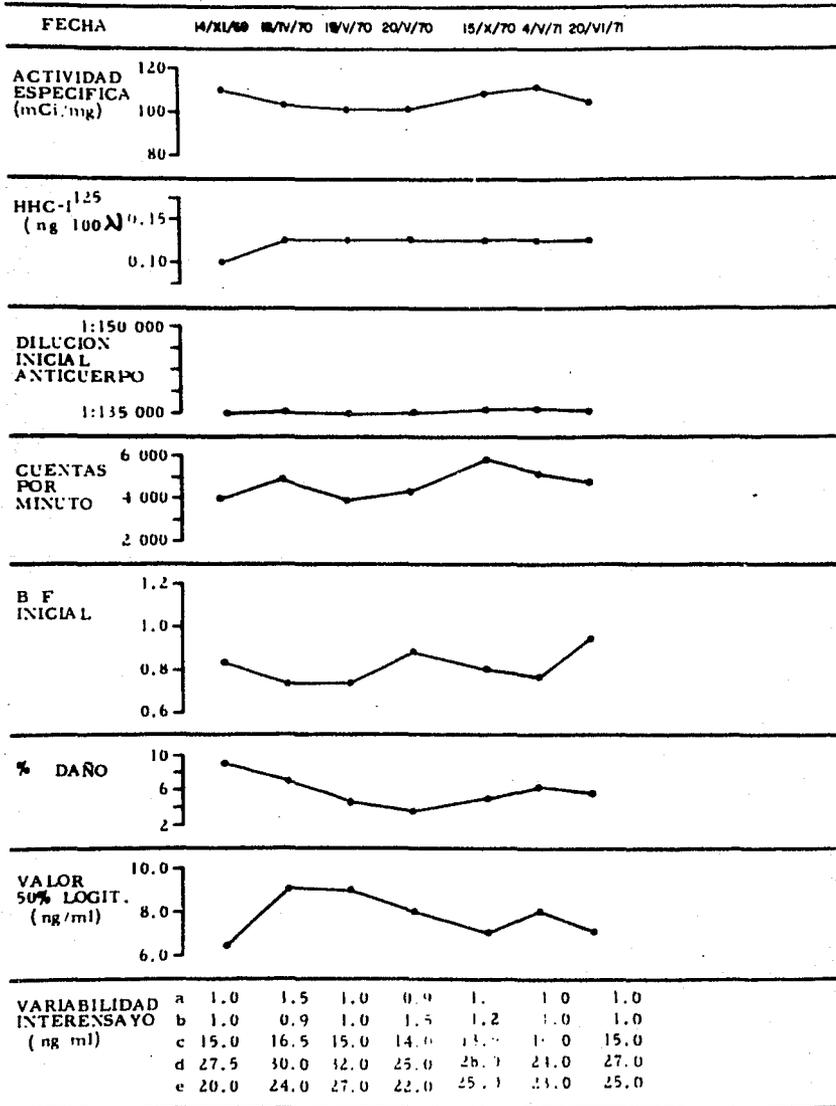


Fig.7

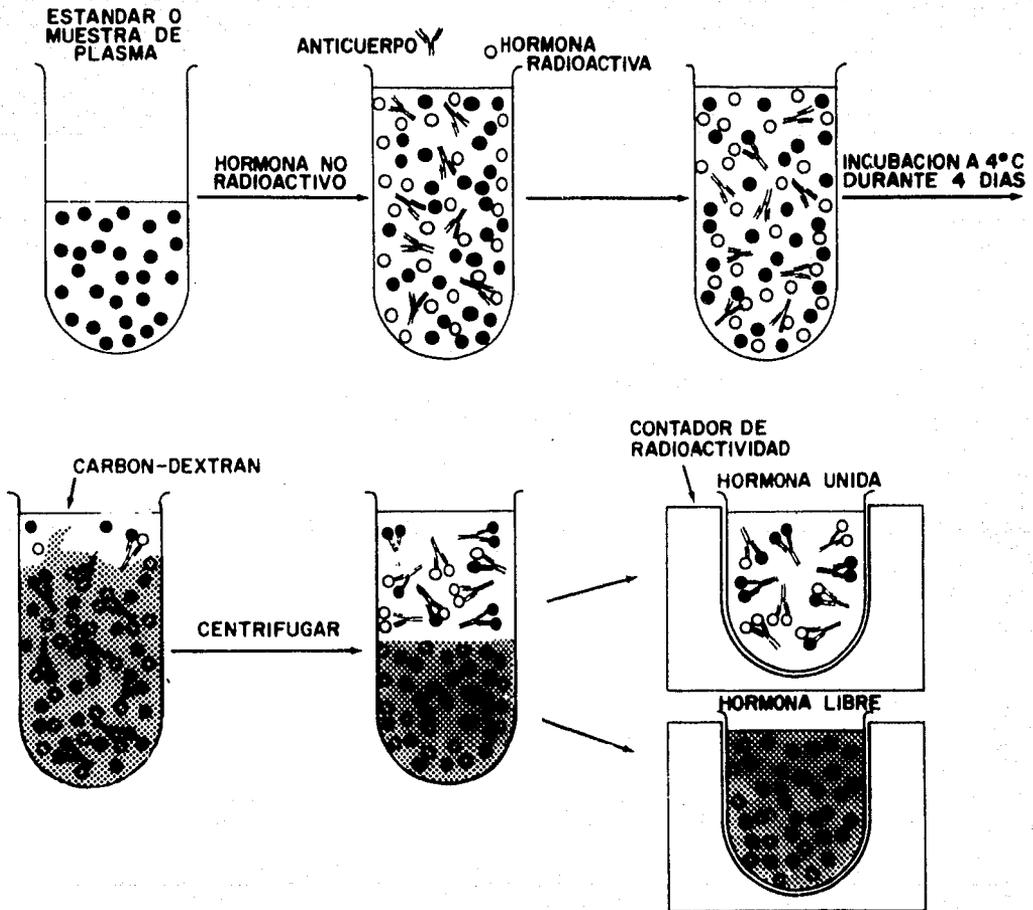


Fig. 8

Fig. 9

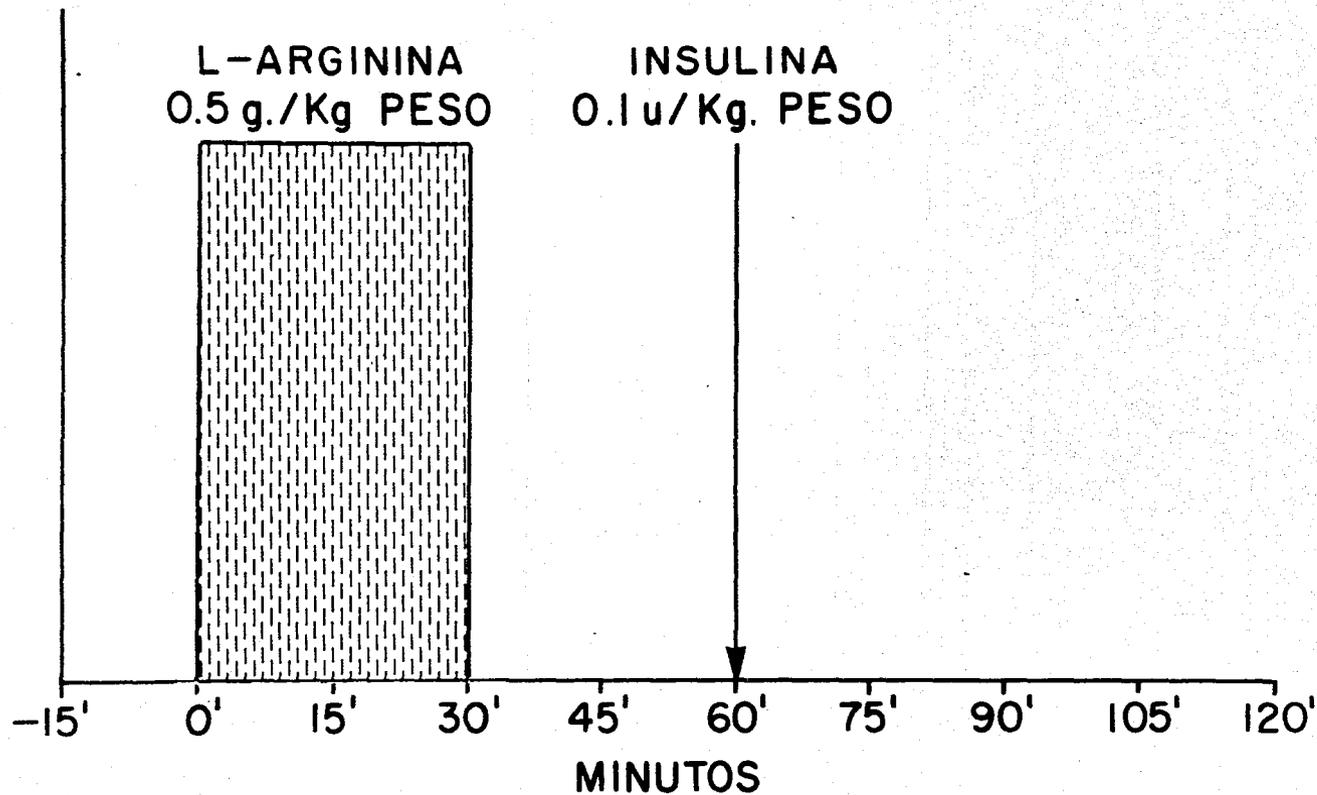
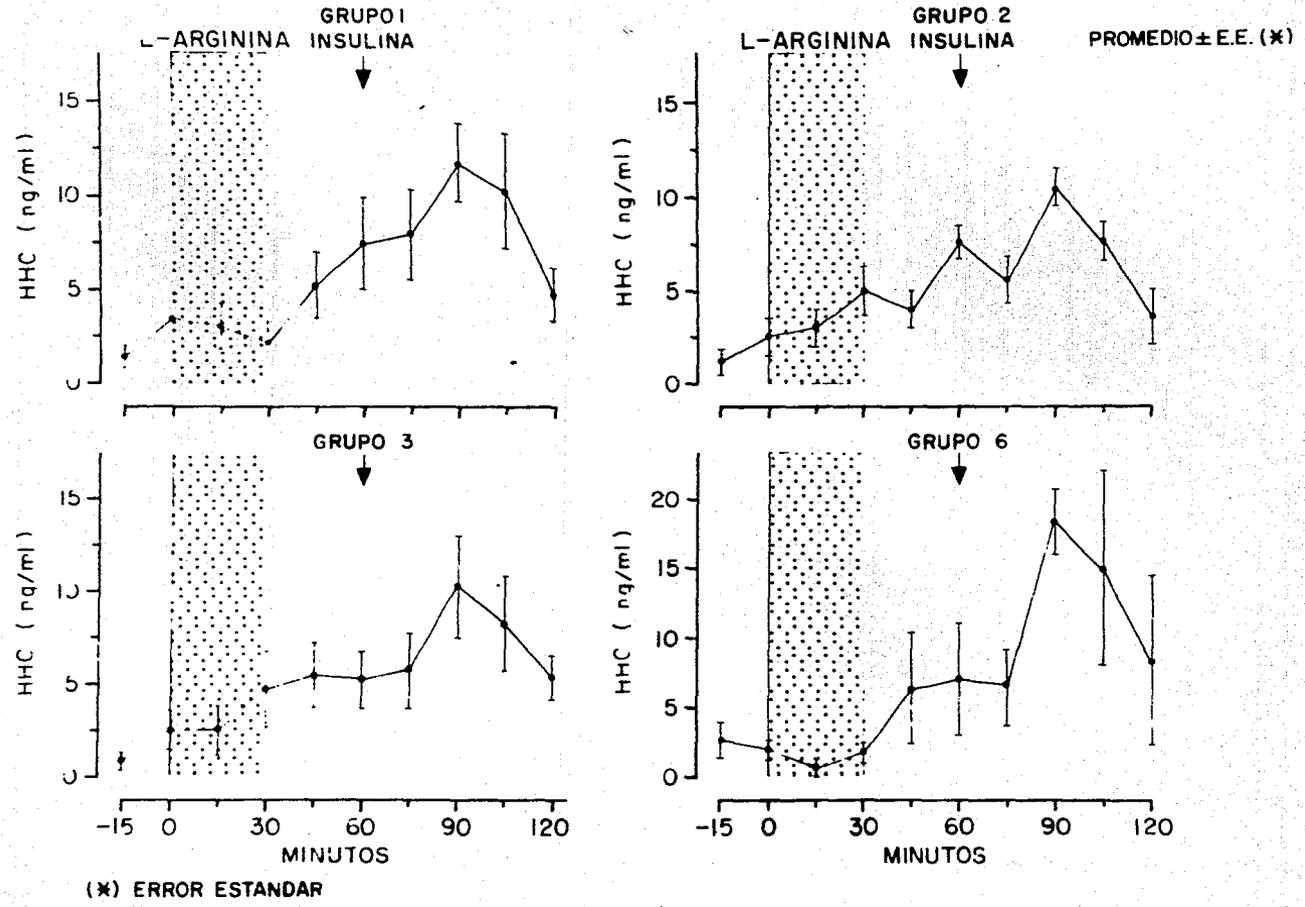


Fig. 10



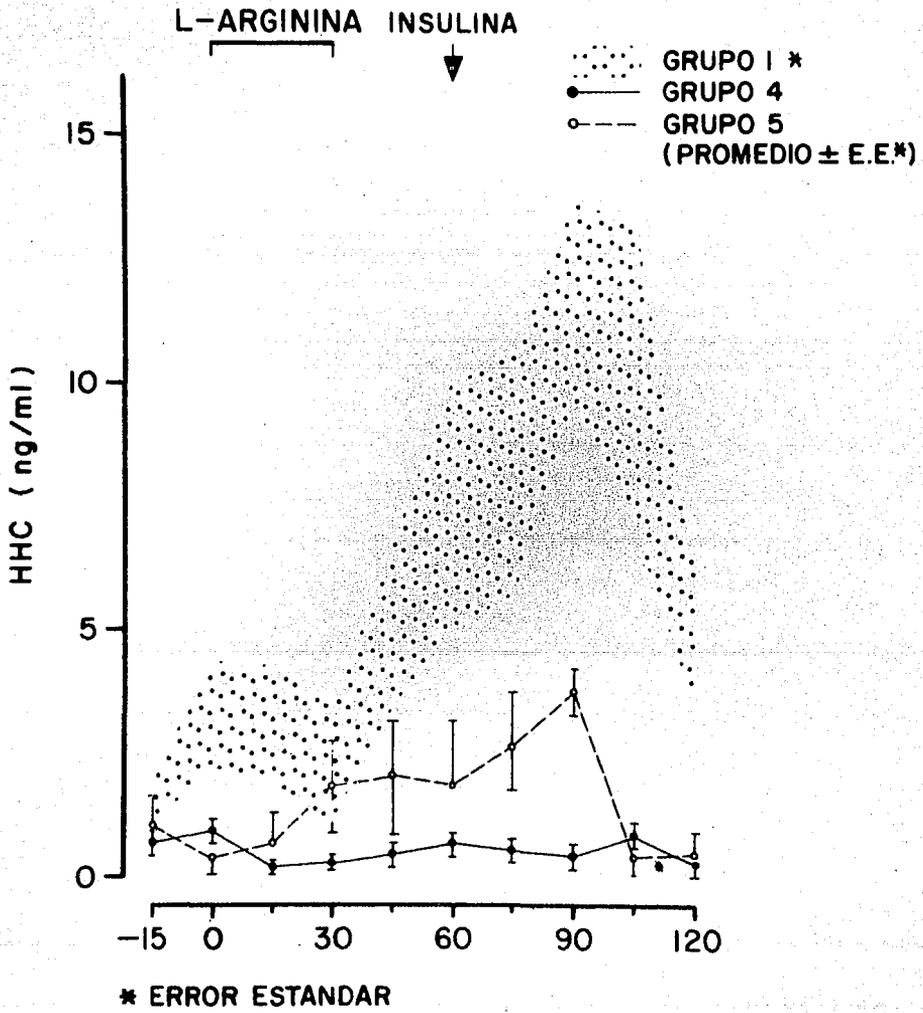


Fig. 11

NIVELES PLASMATICOS MAXIMOS DURANTE LA TOLERANCIA
 ENDOVENOSA A LA ARGININA E INSULINA
 (PROMEDIO \pm ERROR ESTANDAR)

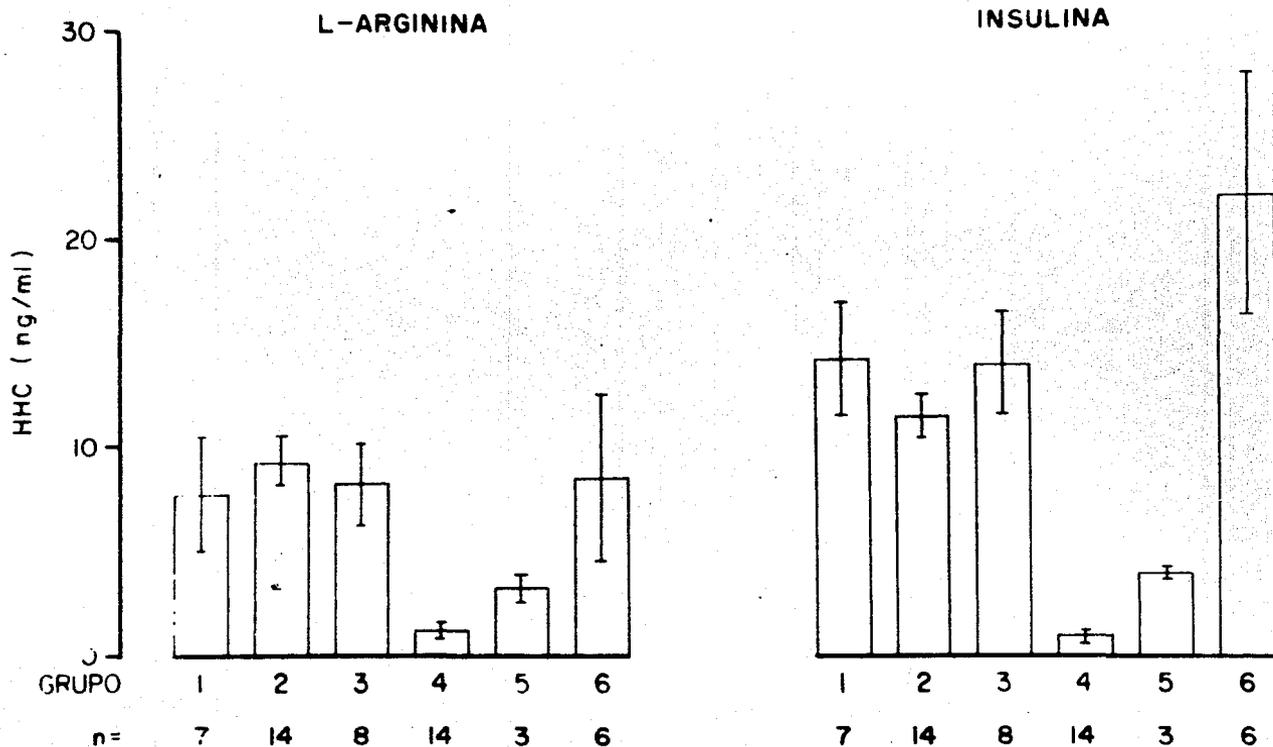


Fig. 12

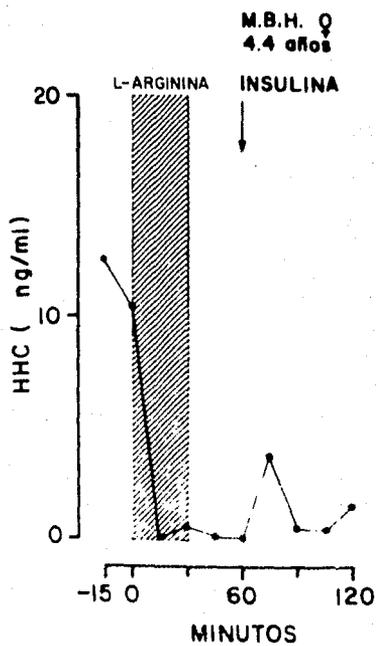
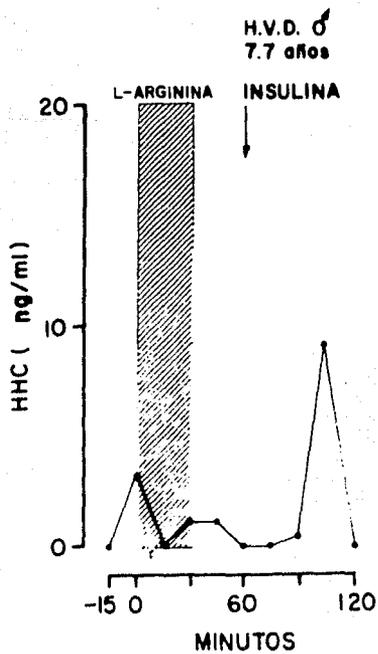
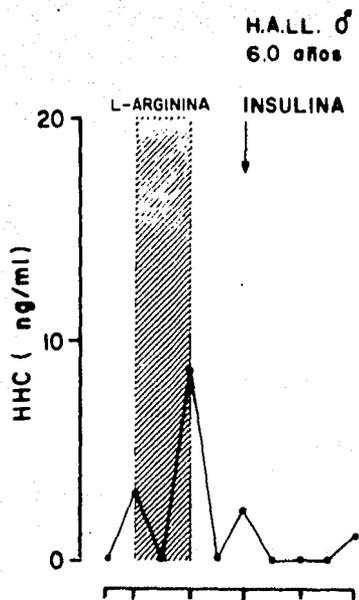
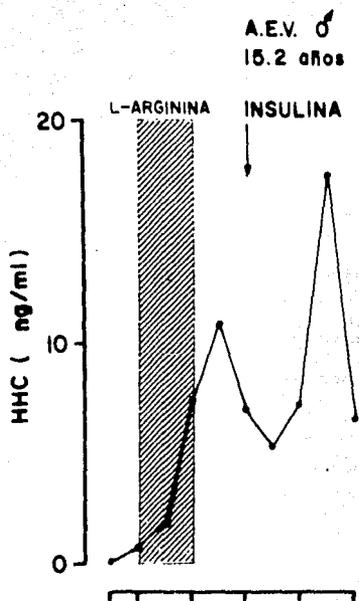


Fig. 14

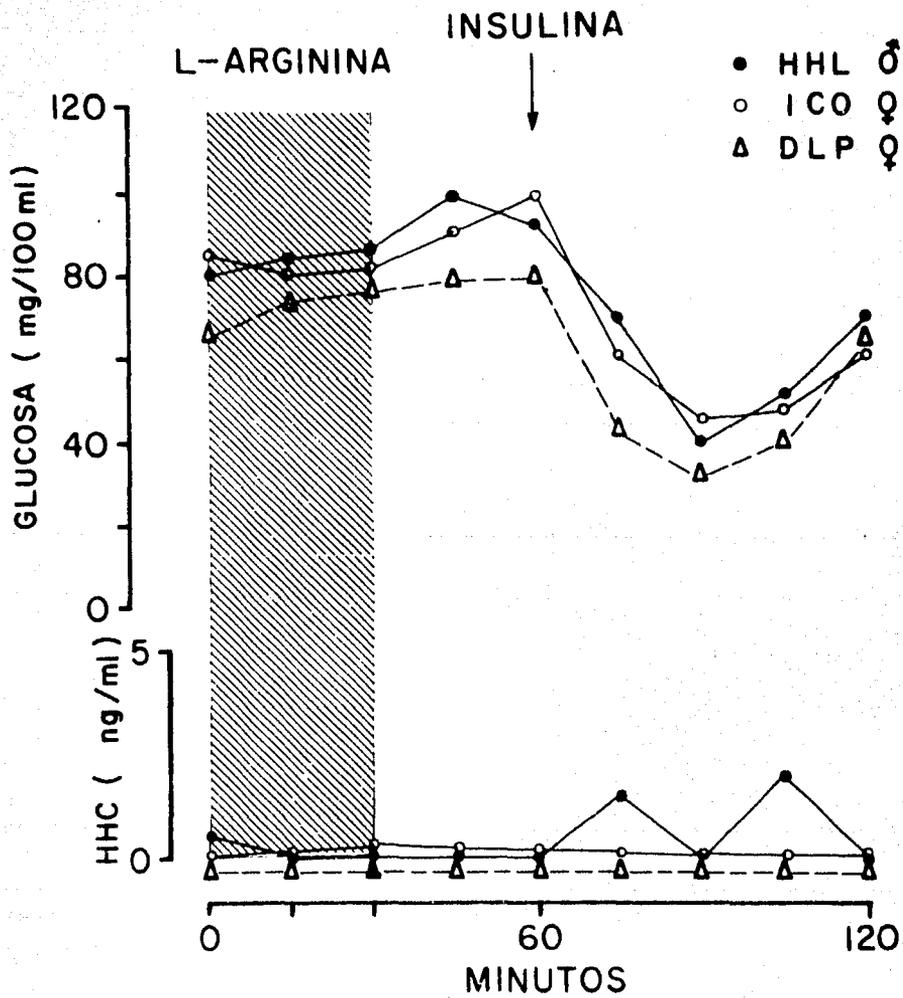


Fig. 15

TABLA 1

estudios de recuperación

plasma (μ l)	HHC ng/ml	resultado teórico	ng/ml real	recuperación (por ciento)	
50	-	-	6.0	-	
50	1.5	6.0+ 1.5=	7.5	6.8	90.6
50	3.1	6.0+ 3.1=	9.1	8.5	93.4
50	6.2	6.0+ 6.2=	12.2	11.5	94.2
50	12.5	6.0+12.5=	18.5	17.4	94.1
50	25.0	6.0+25.0=	31.0	29.5	95.1

Tabla 1

TABLA 2

variabilidad intraensayo

HHC ng/ml	muestra										\bar{x}	D.S
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	1.0	0.5	0.0	0.5	0.4±0.5	
3.1	2.0	1.7	4.5	3.5	3.1	3.1	4.0	2.5	4.0	3.5	3.2±0.9	
6.2	6.0	6.5	8.0	5.0	6.2	7.5	6.0	7.0	5.5	6.2	6.4±0.9	
12.5	10.0	11.5	11.5	15.0	12.0	12.5	17.5	12.0	15.0	12.5	13.0±2.2	
25.0	22.5	25.0	26.0	22.5	22.5	30.0	26.0	25.0	30.0	20.0	25.0±3.3	

Tabla 2

TABLA 3

GRUPO 1

Nombre	Sexo	Edad Cronológica (años)	Estatura (cm)	Edad por Talla (años)	Edad Osea (años)	Velocidad de Crecimiento (cm/año)	DIAGNOSTICO
J.P.A.	F	4 ⁵ / ₁₂	100.5	3 ⁸ / ₁₂	3 ⁶ / ₁₂	8.0	Normal
I.N.L.	M	10 ⁰ / ₁₂	130.0	9 ⁵ / ₁₂	---	6.0	Normal
M.G.A.	F	11 ⁶ / ₁₂	142.0	11 ¹ / ₁₂	---	7.2	Normal
I.V.D.	F	4 ⁵ / ₁₂	103.0	4 ¹ / ₁₂	---	6.1	Normal
O.E.T.	M	3 ⁰ / ₁₂	90.0	2 ³ / ₁₂	---	7.0	Normal
D.O.P.	M	16 ⁰ / ₁₂	165.0	16 ³ / ₁₂	---	---	Normal
D.F.B.	M	15 ¹⁰ / ₁₂	165.5	16 ⁴ / ₁₂	---	---	Normal

Tabla 3

TABLA 4

GRUPO 2							
Nombre	Sexo	Edad Cronológica (años)	Estatura (cm)	Edad por Talla (años)	Edad Osea (años)	Velocidad de Crecimiento (cm/año)	DIAGNOSTICO
R.R.F.	M	8 ⁴ / ₁₂	112.0	5 ⁵ / ₁₂	6 ⁶ / ₁₂	5.4	Síndrome baja talla constitucional
H.V.C.	M	10 ⁴ / ₁₂	116.0	6 ² / ₁₂	9 ⁰ / ₁₂	6.5	Síndrome baja talla constitucional
J.A.LL	M	6 ⁰ / ₁₂	100.5	3 ⁸ / ₁₂	3 ⁶ / ₁₂	4.0	Síndrome baja talla constitucional
E.A.LL	M	8 ³ / ₁₂	117.5	6 ⁵ / ₁₂	5 ⁵ / ₁₂	6.0	Síndrome baja talla constitucional
M.D.A.	M	10 ¹ / ₁₂	119.1	6 ⁹ / ₁₂	8 ⁰ / ₁₂	3.5	Síndrome baja talla constitucional
H.U.D.	M	7 ⁹ / ₁₂	111.0	5 ³ / ₁₂	5 ⁰ / ₁₂	6.0	Síndrome baja talla constitucional
R.P.P.	M	8 ⁴ / ₁₂	118.0	6 ⁶ / ₁₂	5 ⁰ / ₁₂	5.0	Síndrome baja talla constitucional
M.F.B.	F	9 ⁰ / ₁₂	118.0	7 ¹ / ₁₂	8 ⁰ / ₁₂	6.1	Síndrome baja talla constitucional
L.O.P.	M	13 ⁶ / ₁₂	134.7	9 ¹⁰ / ₁₂	11 ⁰ / ₁₂	4.5	Síndrome baja talla constitucional
L.H.C.	M	5 ⁰ / ₁₂	98.5	3 ³ / ₁₂	4 ⁰ / ₁₂	--	Síndrome baja talla constitucional
E.S.V.	M	12 ² / ₁₂	134.0	9 ⁹ / ₁₂	--	--	Síndrome baja talla constitucional
A.G.O.	M	11 ⁰ / ₁₂	129.0	8 ⁸ / ₁₂	--	--	Síndrome baja talla constitucional
R.A.W.	F	15 ⁵ / ₁₂	129.0	9 ² / ₁₂	10 ⁶ / ₁₂	5.3	Síndrome baja talla constitucional
E.P.T.	F	6 ⁶ / ₁₂	102.0	3 ¹¹ / ₁₂	3 ⁵ / ₁₂	5.8	Síndrome baja talla constitucional

TABLA 5

GRUPO 3							
Nombre	Sexo	Edad Cronológica (años)	Estatura (cm)	Edad por Talla (años)	Edad Osea (años)	Velocidad de Crecimiento (cm/año)	DIAGNOSTICO
A.E.V.	M	15 ³ / ₁₂	143.3	11 ⁹ / ₁₂	--	5.6	Síndrome de mala absorción intestinal.
A.M.B.	M	8 ¹ / ₁₂	107.0	4 ² / ₁₂	5 ⁰ / ₁₂	5.4	Síndrome de mala absorción intestinal.
J.D.M.	M	11 ³ / ₁₂	119.0	6 ⁹ / ₁₂	8 ⁰ / ₁₂	5.8	Síndrome de mala absorción intestinal.
O.T.T.	M	10 ⁶ / ₁₂	128.0	8 ⁶ / ₁₂	--	--	Síndrome de mala absorción intestinal.
M.H.G.	M	2 ⁶ / ₁₂	71.0		--	5.6	Síndrome de mala absorción intestinal.
M.H.S.	M	5 ¹¹ / ₁₂	98.5	3 ³ / ₁₂	4 ⁰ / ₁₂	6.5	Síndrome de mala absorción intestinal.
F.F.F.	M	11 ⁰ / ₁₂	132.0	9 ³ / ₁₂	9 ⁰ / ₁₂	4.0	Síndrome de mala absorción intestinal.
L.G.A.M.	M	5 ⁶ / ₁₂	93.8	2 ⁶ / ₁₂	3 ⁰ / ₁₂	4.6	Síndrome de mala absorción intestinal.

Tabla 5

Tabla 6

TABLA 6

GRUPO 4							
Nombre	Sexo	Edad Cronológica (años)	Estatura (cm)	Edad por Talla (años)	Edad Osea (años)	Velocidad de Crecimiento (cm/año)	DIAGNOSTICO
I.C.O.	F	14 ⁰ / ₁₂	123	8 ¹ / ₁₂	----	----	HIPOPITUITARISMO ORGANICO Panhipopituitarismo (Craneofaringioma operado)
D.L.P.	F	11 ⁰ / ₁₂	142.5	11 ¹ / ₁₂	11 ⁰ / ₁₂	3.0	Panhipopituitarismo (Adenoma cromóforo operado)
P.M.G.	M	16 ⁶ / ₁₂	150.0	12 ⁸ / ₁₂	14 ⁰ / ₁₂	3.0	Panhipopituitarismo (Adenoma cromóforo operado)
G.S.P.	F	11 ³ / ₁₂	120.4	7 ⁷ / ₁₂	9 ⁵ / ₁₂	3.2	Deficiencia selectiva de HHC (Toxoplasmosis)
A.H.M.	M	14 ⁵ / ₁₂	139	10 ⁹ / ₁₂	12 ⁰ / ₁₂	4.2	HIPOPITUITARISMO IDIOPATICO Panhipopituitarismo
G.R.P.	F	13 ⁸ / ₁₂	136	10 ⁴ / ₁₂	13 ⁶ / ₁₂	4.3	Panhipopituitarismo
A.O.S.	F	12 ⁰ / ₁₂	124	8 ³ / ₁₂	11 ⁰ / ₁₂	4.5	Panhipopituitarismo
R.G.O.	M	12 ⁴ / ₁₂	116	6 ² / ₁₂	7 ⁰ / ₁₂	4.7	Panhipopituitarismo
E.P.P.	M	11 ⁰ / ₁₂	123	7 ⁶ / ₁₂	8 ⁰ / ₁₂	3.0	Deficiencia Selectiva de HHC
G.F.F.	F	8 ⁰ / ₁₂	107	4 ¹⁰ / ₁₂	6 ⁰ / ₁₂	2.8	Deficiencia Selectiva de HHC
R.J.S.	M	12 ¹¹ / ₁₂	120.8	7 ¹ / ₁₂	12 ⁰ / ₁₂	3.4	Deficiencia Selectiva de HHC
G.F.G.	M	12 ⁶ / ₁₂	126	8 ¹ / ₁₂	9 ⁰ / ₁₂	4.0	Deficiencia de HHC y HTT
H.M.L.	M	14 ⁶ / ₁₂	115.6	6 ¹ / ₁₂	9 ⁰ / ₁₂	2.5	Deficiencia de HHC y HTT
A.R.V.	M	6 ⁰ / ₁₂	77	1 ² / ₁₂	2 ⁶ / ₁₂	1.9	Deficiencia de HHC y HTT

TABLA 7

GRUPO 5							
Nombre	Sexo	Edad Cronológica (años)	Estatura (cm)	Edad por Talla (cm)	Edad Osea (años)	Velocidad de Crecimiento (cm/año)	DIAGNOSTICO
H.H.E.	M	8 ¹⁰ / ₁₂	117.5	6 ⁵ / ₁₂	7 ⁰ / ₁₂	3.2	Deficiencia Selectiva Parcial de HHC.
L.H.C.	M	2 ⁹ / ₁₂	86	1 ¹⁰ / ₁₂	1 ⁶ / ₁₂	4.5	Deficiencia Selectiva Parcial de HHC.
S.N.L.	F	11 ² / ₁₂	127.2	8 ¹⁰ / ₁₂	10 ⁶ / ₁₂	3.5	Deficiencia Selectiva Parcial de HHC.

TABLA 8

GRUPO 6

Nombre	Sexo	Edad Cronológica (años)	Estatura (cm)	Edad por Talla (años)	Edad Osea (años)	Velocidad de Crecimiento (cm/año)	DIAGNOSTICO
C.B.R.	F	8 ² / ₁₂	101	3 ⁹ / ₁₂	7 ⁰ / ₁₂	3.3	Enano primordial
Z.P.A.	F	3 ² / ₁₂	81.4	1 ⁵ / ₁₂	2 ⁵ / ₁₂	4.8	Enano primordial
J.R.T.	M	2 ⁵ / ₁₂	68		--	3.4	Cistinosis
L.B.H.	F	4 ⁶ / ₁₂	91	2 ⁵ / ₁₂	4 ⁵ / ₁₂	7.0	Síndrome de niño golpeado
R.O.C.	F	13 ⁵ / ₁₂	115.4	6 ⁶ / ₁₂	9 ¹⁰ / ₁₂	2.6	Estenosis esofagica cicatricial
A.R.M.	F	5 ⁶ / ₁₂	95.8	3 ¹ / ₁₂	5 ⁰ / ₁₂	4.8	Enano genético

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Raiti, S., y Blizzard, R.M.: Human growth hormone: Current knowledge regarding its role in normal and abnormal metabolic states. *Adv. Pediat* :99, 1971.
- 2.- Weil, R.: Pituitary growth hormone and intermediary metabolism. *Acta Endocr. Suppl.* 98, 1965.
- 3.- Li, C.H.: The chemistry of human pituitary growth hormone. En: Pecile, E., and Muller E.E. (ed) *Growth Hormone. Excerpta Medica International Congress Series No. 158* pags. 3 1968.
- 4.- Li, C.H., y Yamashiro, D.: The synthesis of a protein possessing growth promoting and lactogenic activities. *J. Am. Chem. Soc.* 92: 7608, 1970.
- 5.- McGarry, E.: A comparison of the physiological and biochemical properties of human growth hormone and ovine prolactin. En: *Human pituitary growth hormone, 54th Ross Conference on Pediatric Research, Blizzard, R.M., ed., Columbus, Ohio* p. 81, 1966.
- 6.- Raben, M.S.: Growth hormone: Anabolic and Anticatabolic agent. *Diabetes* 14: 374, 1965.
- 7.- Root, A.: Growth hormone. *Pediatrics* 36: 940, 1965.
- 8.- Zierler, K.L., y Rabinowitz, D.: Roles of insulin and growth hormone based on studies on forearm metabolism in man. *Medicine* 42: 385, 1963.
- 9.- Frohman, L.A., MacGillivray, H.M., y Aceto, T.: Acute effects of human growth hormone on insulin secretion and glucose utilization in normal and growth hormone deficient subjects. *J. Clin. Endocr.* 27: 561, 1967.
- 10.- Menmee, J.T., Rabinowitz, D., Rimoin, D.L., y McKusick, V.A.: Isolated human growth hormone deficiency. III. Insulin secretion in sexual ateliotic dwarfism. *Metabolism* 17: 1005-1011, 1968.
- 11.- Beck, P., Schalch, D.S., Parker, M.L., Kipnis, D.M., y Daughaday, W.H.: Correlative studies of growth hormone and insulin plasma concentrations with metabolic abnormalities in

- acromegaly. *J. Lab. Clin. Med.* 66: 366, 1965.
- 12.- Rabinowitz, D., Merimee, T.J., Maffezzoli, R., y Burges, J.A.: Patterns of hormonal release after glucose, protein and glucose plus protein. *Lancet* 2: 454, 1966.
 - 13.- Muller, E.E., y Pecile, A.: Studies on the neural control of growth hormone secretion, In: Pecile, E., and Muller, E.E. (editors) *Growth Hormone. Excerpta Medica International Congress Series No. 158*, pags. 253-66, 1968.
 - 14.- Schultz, R.B., Blizzard, R.M.: A comparison of human placental lactogen (HPL) and human growth hormone (HGH) in hypopituitary patients. *The Journal of Clin. Endocr. and Metab.* 26, 921, 1966.
 - 15.- Earl, D.C.N., y Korner, A.: Effect of rat hypophysectomy and growth hormone treatment on cardiac polysomes and ribonucleic acid. *Arch. Bioch. Biophys.* 115: 445, 1966.
 - 16.- Cheek, D.B., y Graystone, J.E.: The action of insulin, growth hormone and epinephrine on cell growth in liver, muscle and brain of the hypophysectomized rat. *Pediat, Res.* 3: 77, 1969.
 - 17.- Cheek, D.B., Brasel, J.A., Elliott, D., y Scott, R.: Muscle cell size and number in normal children and in dwarfs (pituitary, cretins and primordial) before and after treatment. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 119: 46, 1966.
 - 18.- Snipes, C.A.: Effects of growth hormone and insulin on amino-acid and protein metabolism. *Quart. Rev. Biol.* 43: 127-47, 1968.
 - 19.- Bouman, P.R., Bosboom, R.S.: Effects of growth hormone and of hypophysectomy on the release of insulin from rat pancreas in vitro. *Acta Endocr.* 50: 202, 1965.
 - 20.- Rabinowitz, D., y Zierler, K.L.: The action of insulin in man in the post-absorptive and post-prandial states. *Post. Med. J.* 41: 67, 1965.
 - 21.- Hunter, W.M.: Radioimmunological assay of growth hormone in metabolic studies. *Proceedings of the ninth International Congress of Internal Medicine. Excerpta Medica International Congress Series No. 137*, 1966.
 - 22.- Parker, C.D., Sassin, J.F., Mace, J.W., Gotlin, R.W., y

- Rossmann, L.G.: Human growth hormone release during sleep. electroencephalographic correlation. *J. Clin. Endocr. & Metab.* 29: 871, 1969.
- 23.- Floyd, C.J., Fajans, S.S., Conn, J.W., Knopf, R.F., y Rull, J.: Stimulation of insulin secretion by amino acids. *J. of Clin. Invest.* 45: 1487, 1966.
- 24.- Kaplan, S.L., Abrams, C.A.L., Bell, J.J., Conte, F.A., y Grumbach, M.M.: Growth and growth hormone. *Pediat. Res* 2: 43, 1968.
- 25.- Wegienka, L.C., Grodsky, G.M., Karam, H.J., Grasso, S. G., y Forsham, P.H.: Comparison of insulin and 2-deoxy-d-glucose induced glucopenia as stimulators of growth hormone secretion. *Metabolism* 16: 245, 1967.
- 26.- Frohman, L.A., Horton, E.S., Lebovitz, H.E.: Growth hormone releasing action of a pseudomonas endotoxin (Piromen) *Metabolism* 16: 57, 1967.
- 27.- Parra, A., Schultz, R.B., Foley, T., y Blizzard, R.M.: The influence of epinephrine-propranolol infusions on growth hormone release in normal and hypopituitary children. *J. Clin. Endocrinol.* 30: 134, 1970.
- 28.- Raiti, S., Davis, W.T., y Blizzard, R.M.: A comparison of the effects of insulin hypoglycaemia and arginine infusion on release of human growth hormone. *Lancet* 2: 1182, 1967.
- 29.- Penny, R., Blizzard, R.M., y Davis, W.T.: Sequential arginine and insulin tolerance tests on the same day. *J. Clin. Endocrinol.* 29: 1499, 1969.
- 30.- Yalow, R.S., y Berson, S.A.: Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.* 39: 1157, 1960.
- 31.- Berson, S.A., y Yalow, R.S.: General principles of radioimmunoassay. *Clin. Chim. Acta* 22: 51, 1968.
- 32.- Rodbard, D., Rayford, P.L., Cooper, J.A., y Ross, G.T.: Statistical quality control of radioimmunoassay. *J. Clin. Endocr. & Metab.* 28: 1412, 1968.
- 33.- Parra, A.: Hormona de crecimiento I. Radioimmunoensayo. *Gac. Méd. Méx.* 101: 591, 1971.
- 34.- Greenwood, F.C. y Hunter, W.M.: The preparation of I¹³¹

- labeled human growth hormone of high specific radioactivity. Biochem. J. 89: 114, 1963.
- 35.- Ramos-Galván, R., y Luna Jaspe, H.: Somatometría. Tablas de peso y talla. Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.) 21: (Supl. 1) 143, 1964.
 - 36.- Wilkins, L.: The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence. 3a. Ed. Springfield I. Charles C Thomas 1965, p. 164.
 - 37.- Brasel, J.A., Wright, J.C., Wilkins, L., y Blizzard, R.M.: An evaluation of seventy five patients with hypopituitarism beginning in childhood. Amer. J. Med. 38: 484, 1965.
 - 38.- Root, W.A., Saenz Rodríguez, C., Bongiovanni, M.A., Eberlein, R.W.: The effect of arginine infusion on plasma growth hormone and insulin in children. J. of Pediat. 74: No. 2, pag. 187-197, 1969.
 - 39.- Root, A.W., Rosenfield, R.L., Bongiovanni, A.M., y Eberlein, W.R.: The plasma growth hormone response to insulin induced hypoglycemia in children with retardation of growth. Pediatrics 39: 844, 1967.
 - 40.- Frohman, L.A., Aceto, T., MacGillivray, H.M.: Studies of growth hormone secretion in children: normal, hypopituitary and constitutionally delayed. J. Clin. Endocr. 27: 1409, 1967.
 - 41.- Youlton, R., Kaplan, S.L., Grumbach, M.M.: Growth and growth hormone. IV. Limitations of the growth hormone response to insulin and arginine and the immunoreactive response to arginine in the assessment of growth hormone deficiency in children. Pediatrics 43: No. 6, 1969.
 - 42.- Parra, A., Rivera, I.R., Delfín, I.M.: Hormona de crecimiento. II. La administración secuencial de l-arginina e insulina en el diagnóstico de la deficiencia de hormona de crecimiento. Gác. Méd. Méx. 101: 607, 1971.
 - 43.- Rabinowitz, D., Merimee, T.J., Burgess, J.A., Riggs, L.: Growth hormone and insulin release after arginine indifference to hyperglycemia and epinephrine. The Journal of Clin. Endocr. & Metab. 26: No. 10, pag. 1170, 72, 1966.
 - 44.- Schalch, D.S., y Reichluis, S.: Stress and growth hormone release Proc. First International Symposium on Growth Hormone Pecile, A., Müller, E.E. (editores) Milan, Italia 1967 pag. 211.

- 45.- Glick, S.M., Roth, J., Yalow, R.S. y Berson, S.A.: The regulation of growth hormone secretion. *Rec. Progr. Hormone Res.* 21: 241, 1965.
- 46.- Goodman, H.G., Grumbach, M.M., Kaplan, S.L.: Growth and growth hormone. II. A comparison of isolated growth hormone deficiency and multiple pituitary hormone deficiencies in 35 patients with idiopathic hypopituitary dwarfism. *New Eng. J. Med.* 278: 57, 1968.