

11213

A
20
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

SUBDIRECCION GENERAL MEDICA
DELEGACION 3 SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
"DR. BERNARDO SEPULVEDA G."
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**EFFECTO DEL OCTREOTIDO SOBRE LOS NIVELES
DE PROTEINA LIGADORA DE HORMONA DE CRECIMIENTO
EN ACROMEGALIA**

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL DIPLOMA COMO ESPECIALISTA EN

E N D O C R I N O L O G I A

PRESENTA:

DRA. IRMA HERNANDEZ GARCIA

MEXICO, D.F.

ENERO, 1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

SUBDIRECCION GENERAL MEDICA
DELEGACION 3 SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
"DR. BERNARDO SEPULVEDA G."
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**EFFECTO DEL OCTREOTIDO SOBRE LOS NIVELES
DE PROTEINA LIGADORA DE HORMONA DE CRECIMIENTO**

TESIS DE POSTGRADO

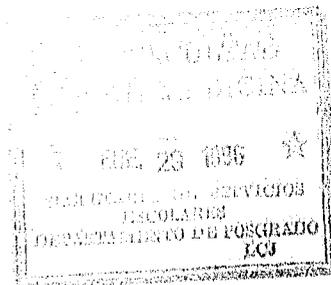
PARA OBTENER EL DIPLOMA COMO ESPECIALISTA EN

E N D O C R I N O L O G I A

PRESENTA:

DRA. IRMA HERNANDEZ GARCIA

MEXICO, D.F.



ENERO, 1996

DR. NIELS HANSEN WACHER RODARTE

JEFE DE LA DIVISION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G."
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

DR. ARTURO ZARATE TREVIÑO

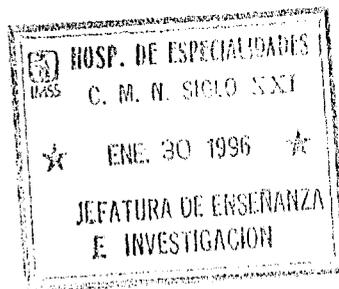
JEFE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION DE ENFERMEDADES ENDOCRINAS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN ENDOCRINOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G."
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

DR. MOISES MERCADO ATRI

JEFE DEL SERVICIO DE ENDOCRINOLOGIA
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN ENDOCRINOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G."
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

BIOL. RAQUEL OCHOA RESENDIZ

ADSCRITA A LA UNIDAD DE INVESTIGACION EN ENFERMEDADES ENDOCRINAS
ASESORA DE TESIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPULVEDA G."
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



A LOS PADRES Y TUTORALES
POR SU AFECTO Y COLABORACION

AL DR. FLECKENBOCK EN RELACION A SU DEDICACION

A LOS MEMBROS DEL SERVICIO
POR SU ENTENIMIENTO

A JAVIER
POR SU AFECTO Y DEDICACION

INDICE

I. ANTECEDENTES

- a) Heterogeneidad de GH
- b) Proteínas ligadoras de GH
- c). Secreción de GH
- d). Acromegalia
- e). Acromegalia y Octreótido

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

III. HIPOTESIS

IV.OBJETIVO

V. MATERIAL Y METODOS

- 1.- Diseño del estudio
- 2.- Universo de trabajo
 - Protocolo
- 3.- Selección de la muestra
 - a) Criterios de selección
 - b) Tamaño de la muestra

4.- Descripción de las variables

Variables independiente

Variables dependientes

5.- Metodología

6.- Consideraciones éticas

7.- Recursos para el estudio

8.- Análisis estadístico

VII. RESULTADOS

VII. DISCUSION

VII. CONCLUSIONES

VIII. TABLAS Y GRAFICAS

VIII. BIBLIOGRAFIA

ANTECEDENTES

La hormona del crecimiento humana (GH) representa una familia heterogénea de proteínas tanto en extractos hipofisarios, como en sangre periférica (1). Esta heterogeneidad molecular, resulta de fenómenos pretranscripcionales, pretraduccionales, postraduccionales y postsecretorios (1). El gen de GH, denominado GH-N, da lugar a dos isoformas mediante el empalme alternativo del RNA mensajero. Así, se generan GH 22 y 20 Kd (1). Más del 80% de la GH hipofisaria y circulante está constituida por la GH 22Kd, misma que se reconoce como la hormona activa y prototipo (1). Después de traducido el mensaje, la GH sufre modificaciones presecretoras, que consisten en glucosilación, fosforilación y acetilación (1). Una vez secretada, la GH tiende a agregarse, lo cual también contribuye a la variabilidad molecular de esta hormona (1), de esta forma, se reconocen básicamente tres isoformas moleculares de GH circulante en base a peso molecular: 1) GH monomérica, conocida como "little" GH, de peso molecular de 20-22 Kd que respresenta el 45-50% de la inmunorreactividad total de GH; 2) GH dimérica, conocida como "big" GH, de peso molecular de 40 Kd y que corresponde al 20% de la inmunorreactividad total de GH, 3) GH oligomérica, conocida como "big-big"

con peso molecular mayor de 60 Kd, que corresponde 30-35% de la inmunorreactividad total de GH (2-3).

La heterogenidad molecular de GH se hace todavía más compleja por la existencia de proteínas transportadoras (4,5). Estas proteínas ligadoras fueron descritas en 1985 en forma separada por Baumann y Herrington (6,7). Se conocen por lo menos dos proteínas ligadoras, una de alta y otra de baja afinidad (4-7). La proteína ligadora de alta afinidad (conocida como GHBP) representa la porción extracelular del receptor de GH, y sus niveles en plasma son un reflejo de las concentraciones tisulares del receptor (8-9). La proteína ligadora de baja afinidad, probablemente se trate de varias proteínas y no está relacionada con el receptor de GH (10). La GHBP transporta el 50% de la GH secretada por la hipófisis (4,5,11). No se conoce con precisión la regulación del receptor de GH, (y por lo tanto de GHBP), por la GH misma y por otras hormonas. El complejo GH/GHBP está contenido, desde el punto de vista de la cromatografía de exclusión molecular, en lo que se conoce como GH "big" y "big-big". (4-5).

La secreción de GH por el somatotropo es el resultado de la acción antagonista de dos hormonas hipotalámicas, la hormona liberadora de GH, (GHRH) y la somatostatina (17). Los picos de GH espontánea son el resultado

de la liberación pulsátil de GHRH. La somatostatina tiene un efecto inhibitorio directo mediado por receptores específicos de membrana, por lo que suprime la secreción de GH (18-19).

La acromegalia es un estado de exceso de GH, que generalmente resulta de un adenoma hipofisiario (12). La proporción de las isoformas de GH en suero de pacientes con acromegalia es diferente a la encontrada en sujetos normales, (2-3), así, la proporción de GH monomérica está incrementada, mientras que la de GH dimérica y oligomérica está disminuida en estos pacientes (2-3). La GHBP de alta afinidad se encuentra disminuida en el plasma de pacientes con acromegalia, aún después de corregir para las elevadas concentraciones de GH endógena (13-14).

Se ha logrado conseguir un análogo sintético de la somatostatina, (octreótido), el cual tiene varias aplicaciones clínicas, en particular para el tratamiento farmacológico de la acromegalia, (15,20-21). En pacientes en quienes la cirugía ha fracasado, el tratamiento con este análogo produce disminución importante de la hipersomatotropinemia y en algunos de ellos (cerca del 50%) también produce disminución del tamaño tumoral, entre 20 y 60% , (16). De manera más relevante, el octreótido mejora los síntomas de

acromegalia, en ocasiones independientemente de la normalización de los niveles de GH y del factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I) (15,16)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Si bien la curación clínica y bioquímica de la acromegalia mediante cirugía transesfenoidal restaura los niveles de GHBP y las proporciones de las distintas isoformas de GH (13), no se ha estudiado el efecto que tiene el octreótido en este sentido. Siendo la somatostatina un inhibidor general de la síntesis y secreción de hormonas, es interesante estudiar el efecto que tiene sobre el receptor de una de estas (receptor de GH). Este efecto pudiera ser simplemente secundario a la disminución de la concentración de GH o alternativamente, podría ser el resultado de un efecto directo del octreótido sobre el receptor de GH. y debido a su relación con el receptor de GH, la GHBP permite estudiar in vivo la regulación del receptor de GH, tanto en forma basal como en respuesta a estímulos, ya sea en condiciones normales o patológicas.

HIPOTESIS

La normalización de los niveles de GH mediante el uso de octreótido en pacientes con acromegalia, eleva los niveles de GHBP.

OBJETIVO

- Medir los niveles de GHBP, GH e IGF-I antes y después del tratamiento con octreótido en pacientes con acromegalia.
- Medir los niveles de GHBP después del tratamiento quirúrgico.
-

MATERIAL Y METODOS

1.-Diseño del estudio:

Estudio prospectivo, longitudinal, intervencionista y experimental.

2. Universo de trabajo

Pacientes con acromegalia de reciente diagnóstico, sin haber recibido tratamiento previo, que acudieron a la consulta del servicio de Endocrinología del Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepulveda G" del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social, en un periodo de doce meses (noviembre de 1994 a noviembre de 1995).

3. Protocolo

Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de acromegalia activa en base a datos clínicos de la enfermedad, ausencia de supresión de GH (< 2 ng/ml) después de una carga de glucosa oral, (75 g), niveles elevados de IGF-1, (normal 256 ± 80 ng/ml) y presencia de tumor hipofisiario por resonancia magnética. En la primera entrevista se llenó hoja de recolección de datos.

. El estudio hormonal incluyó determinaciones de GH, IGF-1 y GHBP en diferentes tiempos, al momento del diagnóstico, después de recibir tratamiento con octreótido a dosis de 300 μ g al día por dos meses y un mes después de la cirugía hipofisiaria.

De esta manera se incluyeron 7 pacientes con acromegalia activa, cinco mujeres y dos hombres, con edad promedio de 38.5 años de edad.

4. Criterios de no inclusión

- Presencia de enfermedades que alteren los niveles de GHBP (hipotiroidismo, insuficiencia renal, insuficiencia hepática, diabetes tipo I, desnutrición).
- Edad menor de 20 años y mayor de 60 años.
- Pacientes acromegálicos que hayan recibido tratamiento previo (cirugía,

radioterapia, bromocriptina, etc).

- Pacientes con síndrome quiasmático progresivo, que requieran de tratamiento quirúrgico descompresivo de urgencia.

5. Criterios de exclusión:

- Falta de adherencia al tratamiento.
- Desarrollo de colecistitis litiasica (no lodo biliar) por el octreótido.
- Intolerancia al octreótido que requiera la suspensión del mismo.
- Desarrollo de síndrome quiasmático agudo que requiera de descompresión quirúrgica.

4. Descripción de las variables.

a) Según la metodología:

- Variable independiente: Octreótido

Variables dependientes: Niveles de GHBP

Niveles de GH

Niveles de IGF-1.

METODOLOGIA

Se tomó sangre de la vena antecubital , para determinación de IGF-1 y GHBP, los pacientes se encontraban en ayuno de 8 horas La GH se midió en ayuno y a

los 30, 60, 90 y 120 minutos después de una carga de 75 g de glucosa oral. Las muestras de sangre se dejaron coagular al medio ambiente y el suero se terminó de separar mediante centrifugación a 3000 rpm. Las muestras se mantuvieron almacenadas a -35° C hasta el momento de su procesamiento.

Ensayos:

a) GH

- La determinación de GH se hizo mediante radioinmunoanálisis (RIA) de doble anticuerpo, utilizando un estuche comercial de Diagnostic Products Corporation (DPC, Los Angeles California, USA), el cual tiene una sensibilidad de 0.9 ng/ml y un coeficiente de variación (CV) ,intra e interensayo de 2.7 y 4.2 % respectivamente.

b) IGF-1

Se realizó con análisis inmunoradiométrico de dos sitios (IRMA), el cual incluye una extracción para separar la proteína de unión (IGF-BPs) y después continuar con el protocolo proporcionado por Diagnostic Systems Laboratories (DSL, Webster Texas, USA). La sensibilidad con este método es de 0.80 ng/ml y el CV intra e interensayo de 2.6 y 4.4 % respectivamente.

c) GHBP

La determinación de actividad ligadora de GH (porcentaje de GHBP), se realizó mediante la técnica de Baumann (7), que consiste en incubar por una hora 800 µl de plasma con 50 000 - 100 000 cpm de GH I¹²⁵ durante sesenta minutos a 37°C, posteriormente se separa la GH I¹²⁵ de GHBP en columna de sephadex G-100 de 90 x 1.5 cm, se realiza conteo de radioactividad en contador gamma y finalmente se grafican los distintos picos de radioactividad, (pico I, proteína ligadora de baja afinidad, pico II y meseta, proteína ligadora de alta afinidad, pico III, GH monomérica)

Se hicieron correcciones de los niveles de GHBP cuando la GH estaba por arriba de 7 ng/ml.

5. Consideraciones Éticas

El estudio cumple las normas de investigación de la institución y los pacientes dieron su consentimiento para participar en el estudio.

6. Recursos para el estudio

a) Recursos humanos.

Residentes y médicos de base de los servicios de Endocrinología y Neurocirugía, así como personal del laboratorio de la Unidad de Investigación en Enfermedades Endócrinas

b) Material.

Octreótido, solución de glucosa al 50 %, jeringas, torundas, tubos de ensaye, reactivos de laboratorio, I¹²⁵, GH, columna de sephadex G-100, PBS, etc.

Hoja de recolección de datos y expedientes de los pacientes

.c) Financiero

No se requiere.

7. Análisis estadístico.

Se realizó prueba estadística de Friedman, tomando como nivel de significancia estadística una $p < 0.05$

RESULTADOS

Todos los pacientes mostraron disminución de los niveles de GH e IGF-1 después del tratamiento con octreótido, excepto en dos casos. El promedio de GH pre-octreótido fué de 18.1 vs 12.6 ng/ml post-octreótido ($p = 0.018$) y de IGF-1 de 731 vs 586 ng/ml ($p = 0.028$) respectivamente (Tabla 1).

En lo que se refiere al porcentaje de actividad de GHBP en acromegalia, los pacientes presentaron un porcentaje de actividad de GHBP de 13.4-21.6%, promedio 17.1%, después de haber recibido tratamiento con octreótido esta cifra se elevó a 14.5-23.5%, promedio 19.3%. Sin embargo, los niveles aumentaron aún más después del tratamiento quirúrgico (12.4- 33.5%, promedio 22.8%) ($p= 0.05$) figura: 1.

En los dos casos en que el porcentaje de actividad de la GHBP disminuyó después de la cirugía, se demostró que los pacientes no curaron (niveles mayores de 2 ng/dl después de la carga de glucosa oral), Fig 2..

No se observó correlación de los niveles de GH con los niveles de GHBP en los valores individuales, sin embargo, al estudiar los promedios, se encuentra una correlación inversa entre las concentraciones de GH y el porcentaje de actividad de GHBP, donde $r^2= -0.9$. Lo anterior se muestra en la figura 3.

DISCUSION

El presente estudio mostró que el octreótido produce un aumento en la actividad de la proteína ligadora de GH. Sabemos que este efecto resulta de la acción del octreótido sobre la secreción de GH e IGF-1. Sin embargo podría ser que este análogo de la somatostatina tenga in efecto directo sobre el

receptor de GH, dado que los niveles de GHBP se incrementaron en todos los pacientes durante el tratamiento con octreótido, de manera independiente a las concentraciones de GH, las cuales no disminuyeron en todos los casos.

Existe controversia respecto a si la regulación del receptor de GH y de GHBP es positiva o negativa. En pacientes con hipopituitarismo (con GH disminuida), se han reportado niveles normales y bajos de GHBP (22-23). Por otro lado, en acromegalia la GHBP parece estar disminuida (13, 24). En niños con deficiencia de GH, el tratamiento con GH exógena parece modificar los niveles de GHBP. No obstante lo anterior, hay autores que reportan que la administración exógena de GH produce un aumento en la actividad de GHBP (25-26).

Nuestros resultados apoyan la idea de que la regulación del receptor de GH puede ser independiente de las concentraciones de GH.

Cabe mencionar que los dos casos en que los niveles de GHBP no aumentaron después de cirugía, corresponden a los pacientes que no mostraron supresión de GH a menos de 2 ng/ml.

CONCLUSIONES

Se considera que el octreótido produce disminución de las concentraciones de GH e IGF-1. Este análogo de la somatostatina produce un aumento en los niveles de GHP y dado que este incremento no parece depender de la disminución de las concentraciones endógenas de GH, se puede pensar que tiene un efecto directo sobre el receptor de GH y por tanto tener un papel importante en su regulación

TABLA 1. VALORES INDIVIDUALES DE GH, IGF-I Y GHBP EN DIFERENTES TIEMPOS.

	<u>Preoc</u>			<u>Postoc</u>			<u>Postop</u>		
	<u>GH</u>	<u>IGF-I</u>	<u>GHBP</u>	<u>GH</u>	<u>IGF-I</u>	<u>GHBP</u>	<u>GH</u>	<u>IGF-I</u>	<u>GHBP</u>
	<u>ng/ml</u>	<u>ng/ml</u>	<u>%</u>	<u>ng/ml</u>	<u>ng/ml</u>	<u>%</u>	<u>ng/ml</u>	<u>ng/ml</u>	<u>%</u>
1	14	411	18.4	2.1	585	21	3.3	513	25.5
2	9.4	744	21.6	17.8	602	23.5	0.75	300	26
3	9.5	463	13.4	5.2	394	15.7	2.9	371.7	14.7
4	14.7	1073	20.9	11.7	761	27	0.7	1051	33.5
5	3.5	596	14.5	4.6	413	15.7	1.17	351	12.4
6	64	764	18.5	25.8	755	18.2	0.63	528	26.7
7	12.2	1072	12.5	21.4	597	14.5	0.3	388	17.2
P	18.1	731	17.1	12.6	586	19.3	1.35	500	22.8
D	20.5		3.65	9.2		4.6	1.24		7.6

P= Promedio.

D= Desviación standard

Preoc= Pre-octreótido

Postoc= Post-octreótido

Postop= Post-operatorio.

FIGURA 1

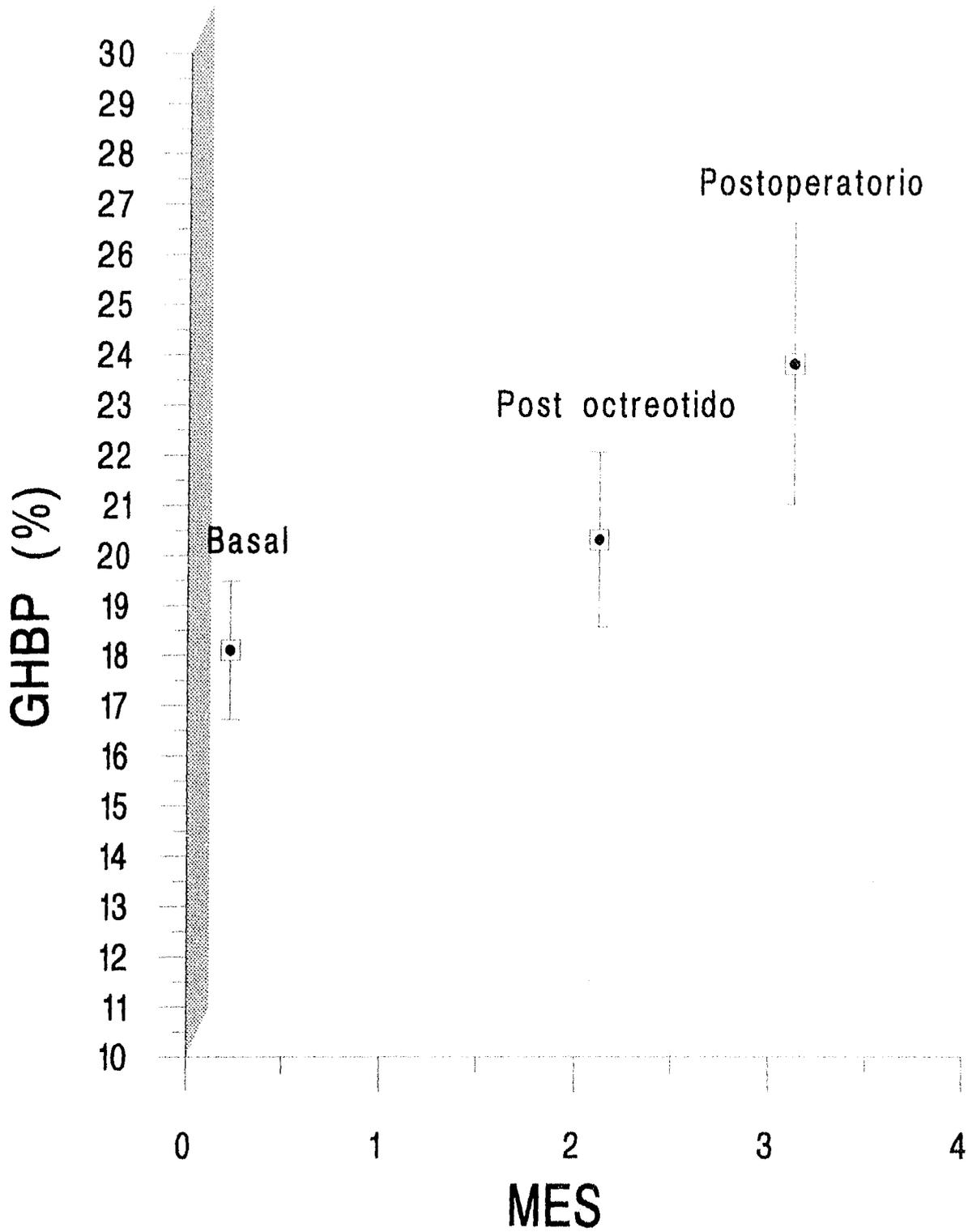


Fig. 1: Porcentaje de actividad de GHBP en los diferentes tiempos.

FIGURA 2

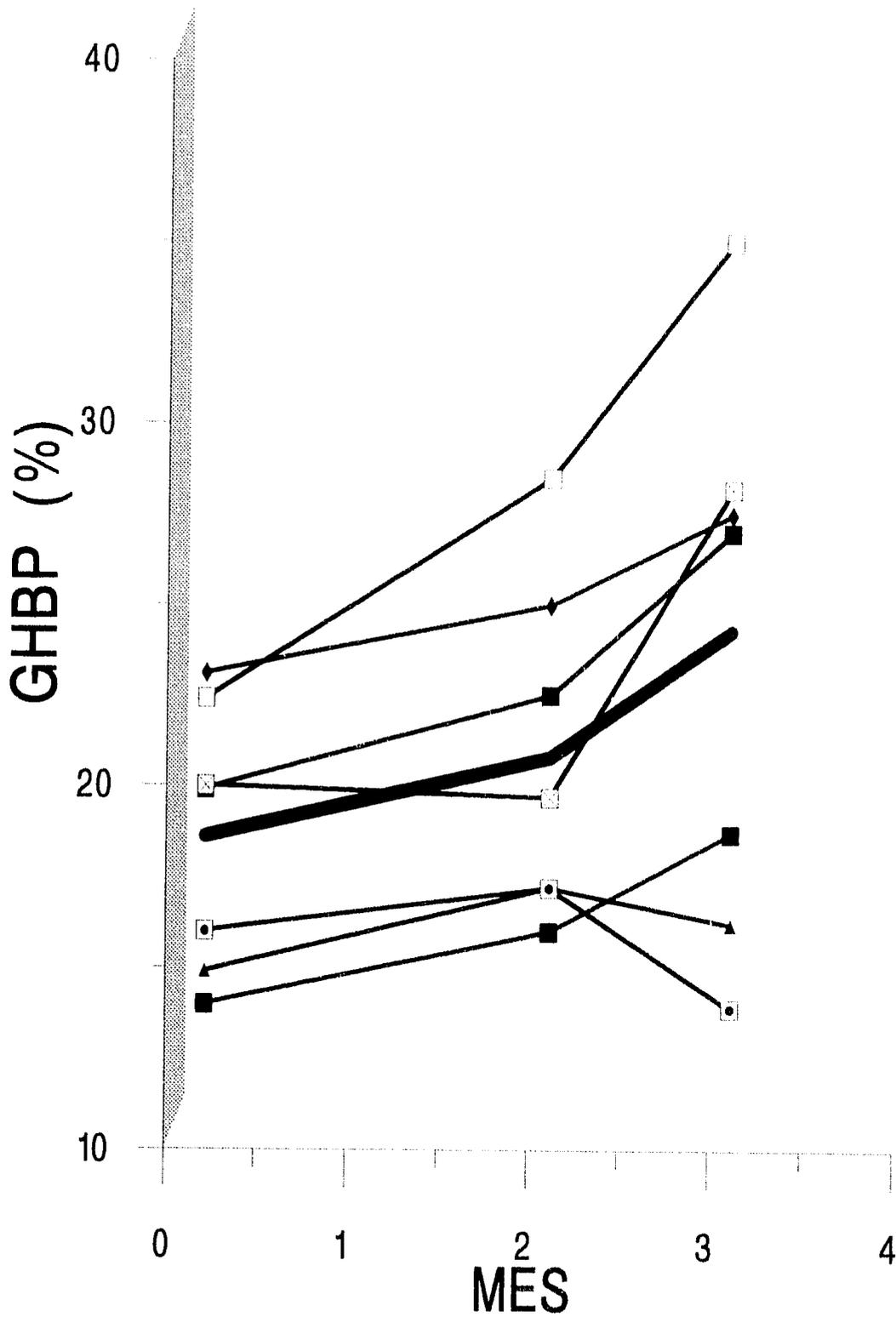


Fig. 2: Porcentaje de actividad de GHBP en los diferentes tiempos (valores individuales).

FIGURA 3

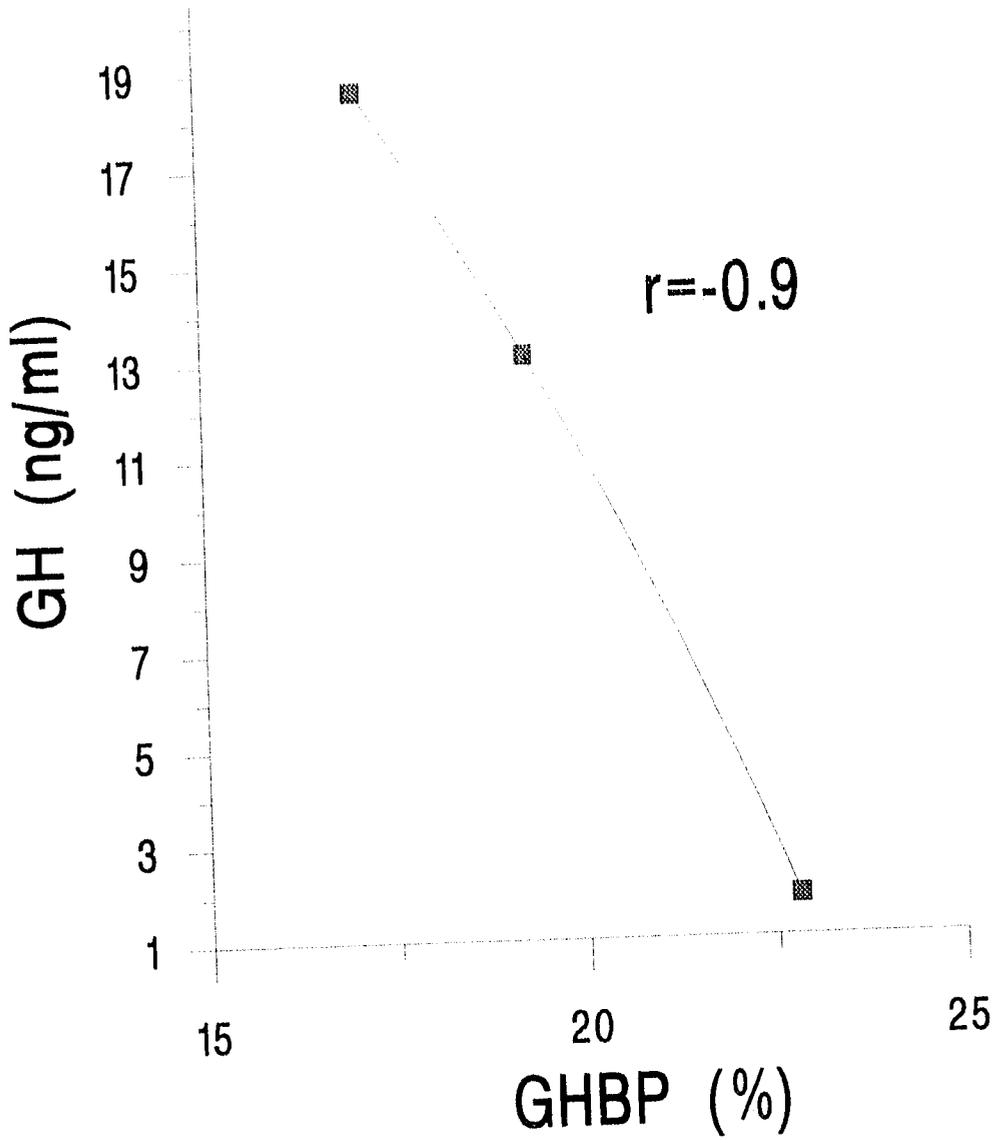


Fig. 3: Correlación de GH y GHBP (<0.9)

BIBLIOGRAFIA.

1. Baumann G. Growth hormone heterogeneity: Genes, isohormones, variants and binding proteins. *Endocr Rev* 1991;4:424.
2. McFarlane IA, Stafford S, Wright AD. Circulating growth hormone forms in type 1 diabetic subjects: Comparison with normal subjects and acromegalics. *Acta Endocrinol (Copenhag)* 1986;112:547.
3. Baumann G, MacCart JC, Amburn K. The molecular nature of circulating growth hormone in normal and acromegalic men: Evidence for a principal and minor monomeric forms. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:946.
4. Mercado M, Baumann G. Growth hormone binding proteins. *The Endocrinologist* 1993;4:268.
5. Baumann G, Mercado M. Growth hormone binding proteins in plasma. *Nutrition* 1993;6:546.
6. Herrington AC, Ymer S, Stevenson J. Identification and characterization of specific binding proteins for growth hormone in normal human sera. *J Clin Invest* 1986;77:1817.

7. Baumann G, Stolar MW, Amburn K, et al. A specific growth hormone binding protein in human plasma: initial characterization. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:134.
8. Baumann G, Shaw MA. Immunochemical similarity of the human plasma growth hormone binding protein and the rabbit liver growth hormone receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;152:573.
9. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G, et al. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature* 1987;330:537.
10. Baumann G, Shaw MA. A second, lower affinity growth hormone binding protein in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:680.
11. Veldhuis JD, Johnson ML, Faunt LM, et al. Influence of the high affinity growth hormone binding protein on plasma profiles of free and bound GH and on the apparent half life of GH. *J Clin Invest* 1993;91:629.
12. Melmed S. Acromegaly. *N Engl J Med* 1990;322:966.
13. Kratzsch J, Blum W, Vantz M, et al. Growth hormone binding protein-related immunoreactivity in the serum of patients with acromegaly is regulated inversely by growth hormone concentration. *Eur J Endocrinol* 1995;132:306.

14. Mercado M, Carlsson L, Vitangeol B, et al. Growth hormone binding protein determination in plasma: a comparison of immunofunctional and growth hormone binding assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:129.
15. Frohman LA. Therapeutic options in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:1175.
16. Newman CB, Melmed S, Snyder PJ, et al. Safety and efficacy of long term octreotide therapy of acromegaly: Results of a multicenter trial in 103 patients-A clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2768.
17. Hall R, Besser GM, Schally AV, et al. Action of growth hormone release inhibitory hormone in healthy men and in acromegaly. *Lancet* 1973; 2:571.
18. Ikuyama S, Nawara H, Kato KI, et al: Specific Somatostatin receptors on human pituitary adenoma cells membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;6: 666.
19. Miller G, Alexander J, Bikkal H. Somatostatin Receptor Subtype Gene Expression in Pituitary Adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1386.
20. Vance ML, Harris A, et al Long-term Treatment of 189 Acromegalic Patients With the Somatostatin Analog Octreotide. *Arch Intern Med* 1991;151:1573.

21. Ezzat S, Snyder PJ, Young WF, et al: Octreotide treatment of Acromegaly: A randomized, multicenter study. *Ann Intern Med* 1992; 117: 711.
22. Baumann G, Shaw M.A, Amburn K. Regulation of plasma growth hormone-binding proteins in health and disease :*Metabolism* 1989 ;38. 683.
23. Ho KY, Valiontis E, Waters M.J, Rajkovic Y A. Regulation of growth binding protein in man: A comparison of gel chromatography and immunoprecipitation methods. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1993;76: 302.
24. Amit T, Ishshalom S, Glaser, et al. Growth hormone-binding protein in patients with acromegaly. *Horm Res* 1992; 37: 205.
25. Postel-Vinay M-C, Tar A, Hocquette J-F, et al. Human growth (GH) binding proteins are regulated by GH and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:197.
26. Hochberg Z, Barkey RJ, Even L, et al. The effect of Human growth hormone therapy on GH binding protein in GH-deficient children. *Acta Endocrinol* 1991; 125. 23.