



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA

**Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-
infantili (DINOEMI)**

DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE PEDIATRICHE

Curriculum: ENDOCRINOLOGIA E DIABETOLOGIA

XXIX ciclo (A.A. 2014-2016)

Titolo Della Tesi Di Dottorato

DIAGNOSIS OF GROWTH HORMONE DEFICIENCY IN THE TRANSITION PERIOD:

**"profilo endocrinometabolico in soggetti con disfunzione ipofisaria insorta in età
pediatrica"**

Relatore: Chiar.mo Prof. M. Maghnie

Correlatrice: Prof.ssa N. Di Iorgi

Candidata: dr.ssa Nadia Fratangeli

INDICE

1.	ORMONE DELLA CRESCITA: NOTIZIE DALLA FISIOLOGIA.....	5
1.1.	Regolazione della secrezione	5
1.1.1.	Regolazione stimolatoria	
1.1.2.	Regolazione inibitoria	
1.2.	Modalità di secrezione e fattori influenti.....	6
1.3.	Meccanismo di trasduzione del segnale	7
1.4.	Effetti periferici	8
1.5.	Alterazione della secrezione in senso iper o ipo	9
2.	RIDOTTA SECREZIONE DI GH: LE CAUSE	10
2.1.	Forme congenite.....	10
2.1.1.	Carenza multipla di ormoni ipofisari.....	11
2.1.2.	Deficit isolato di GH	12
2.2.	Forme acquisite	15
2.3.	Deficit idiopatico e altri tipi di difetto di GH.....	16
2.4.	Manifestazioni cliniche	16
2.4.1.	Deficit di GH congenito	16
2.4.2.	Resistenza all'azione del GH	17
2.4.3.	Deficit di GH acquisito	18
3.	DIAGNOSI DI DIFETTO DI ORMONE DELLA CRESCITA NEL BAMBINO.....	19
3.1.	Criteri clinici ed auxologici.....	19
3.2.	Assetto biochimico.....	21
3.3.	Valutazione radiologica	22
3.4.	Valutazione di disordini genetici.....	23
3.5.	Valutazione della secrezione del GH	23
4.	DIAGNOSI DI GHD IN ETA' ADULTA e DI TRANSIZIONE.....	30
4.1.	Diagnosi di GHD nell'età adulta.....	30
4.1.1.	Test diagnostici per il GHD e markers biochimici dell'azione del GH nell'adulto ..	31

4.2. Pazienti in età di transizione.....	33
4.2.1. Retesting: chi e come	35
4.2.2. Cosa fare quando risulti confermata la diagnosi di GHD permanente	37
4.2.3. Interazioni ormonali che meritano una considerazione.....	38
4.2.4. Monitoraggio dell'efficacia	39
4.2.5. Obiettivi del trattamento.....	40
4.2.6. Sicurezza	40
4.3. Importanza della diagnosi di GHD in età di transizione	41
4.3.1. Metabolismo, BMI e composizione corporea	41
4.3.2. Rischio cardiovascolare.....	44
4.3.3. Stato e mineralizzazione dell'osso	46
5. LO STUDIO	50
5.1. INTRODUZIONE: la valutazione della funzione ipofisaria GH-dipendente.....	51
5.2. RAZIONALE.....	53
5.3. SCOPO dello STUDIO	53
5.3.1. Obiettivi	54
5.4. MATERIALI E METODI.....	54
5.4.1. Disegno dello studio.....	54
5.4.2. Popolazione: definizioni	55
5.4.3. Descrizione del disegno sperimentale	56
5.4.4. Metodi	57
5.4.5. Calcolo della numerosità del campione e Analisi statistiche	59
5.4.6. Valutazione dei risultati	60
5.5. I RISULTATI: PARTE DESCRITTIVA.....	61
5.5.1. Popolazione in studio	61
5.5.2. Dati antropometrici, clinici, bioumorali	66
5.5.3. Profilo biochimico e metabolico.....	73
5.5.4. Popolazione dei GHD secondari.....	77
5.6. RISULTATI: LA STATISTICA.....	80
5.6.1 Correlazioni.....	81
5.6.2. Regressioni multiple.....	86
5.6.3 Analisi ROC.....	87

5.7. DISCUSSIONE.....	95
5.7.1. Dati preliminari dal punto di vista clinico e biochimico	96
5.7.2. Ruolo dell'IGF-1	97
5.7.3. Test di Stimolo e ricerca dei cut-off ottimali.....	99
5.8. CONCLUSIONI	102
BIBLIOGRAFIA	104
<i>Ringraziamenti</i>	115

1. ORMONE DELLA CRESCITA: NOTIZIE DALLA FISIOLOGIA

L'ormone della crescita (growth hormone, GH), detto anche ormone somatotropo o somatotropina, è una proteina semplice, cioè non glicosilata, formata da una sequenza di 191 aminoacidi, con un peso molecolare di circa 22 kDa. E' l'ormone presente in quantità più abbondante nell'ipofisi anteriore e le cellule somatotrope acidofile PAS-negative che lo secernono costituiscono circa il 50% della popolazione cellulare dell'adenoipofisi. E' sintetizzato nel reticolo endoplasmatico rugoso come pro-ormone e, una volta trasformato, in ormone vero e proprio nell'apparato di Golgi, è immagazzinato nei granuli di secrezione.

Lo sviluppo delle cellule somatotrope e la trascrizione del GH sono determinate dall'espressione di una serie di fattori di trascrizione di cui tratteremo più avanti. Cinque geni distinti localizzati sul cromosoma 17q22 codificano per i tre membri della famiglia degli ormoni dell'accrescimento, che sono appunto la Somatotropina (GH), la Prolattina (PRL) e l'ormone Lattogeno Placentare (hPL). Benchè ciascuno abbia un proprio recettore, tutti posseggono, anche se in maniera differente, attività di promozione della crescita organismica e della produzione di latte.

1.1. Regolazione della secrezione

La secrezione di GH è controllata da una serie di fattori ipotalamici e periferici, con attività stimolatoria o inibitoria.

Regolazione stimolatoria

Tra quelli stimolatori, il ruolo più importante è senz'altro quello del GHRH (Growth Hormone Releasing Hormone), detto anche Somatoliberina, un peptide di 44 aminoacidi secreto dall'ipotalamo. Esso è rilasciato a livello dell'eminenza mediana e attraverso il circolo venoso portale ipotalamo-ipofisario, prende rapporto con le cellule somatotrope dell'adenoipofisi.

Un altro importante fattore di rilascio è la grelina, peptide secreto dalla mucosa dello stomaco in condizioni di digiuno, ma anche da alcuni nuclei ipotalamici, che agisce come ligando endogeno dei recettori per GHRP (GH releasing peptides, oppioidi analoghi dell'enkefalina con potentissimo effetto positivo sul rilascio di GH).

Condizioni sempre associate ad un aumentato rilascio di GH sono anche l'ipoglicemia, l'aumento dei livelli plasmatici di alcuni aminoacidi, come arginina e ornitina, il digiuno e la diminuita concentrazione plasmatica di grassi liberi, estrogeni e testosterone, lo stress psico-fisico, come quello da esercizio intenso, traumi o sepsi, agonisti α -adrenergici ed antagonisti β -adrenergici, il sonno profondo NREM, oppioidi e dopamina.

Regolazione inibitoria

Tra quelli inibitori, citiamo la somatostatina o SRIH (Somatotrope Release Inibiting Hormone), sintetizzata anch'essa nell'ipotalamo.

L'IGF-1, ormone periferico dell'asse dell'accrescimento, bersaglio proprio del GH, regola attraverso un feedback negativo la secrezione del GH, sia direttamente, con l'aumento della sua concentrazione ematica, sia indirettamente, attraverso la liberazione di somatostatina.

Condizioni associate ad un diminuito rilascio di GH sono invece l'iperglicemia, l'aumentata concentrazione plasmatica di grassi liberi, l'obesità, la gravidanza e la senescenza, la fase REM del sonno, gli antagonisti α -adrenergici, serotoninergici, dopaminergici e colinergici, gli agonisti β -adrenergici ed il GABA.

Il trattamento con glucocorticoidi dimostra di avere un effetto bifasico sulla secrezione di GH. Infatti nelle tre ore successive alla somministrazione del farmaco si assiste ad una GH-stimolazione, mentre nelle dodici ore successive ad una GH-soppressione. Pertanto, il trattamento cronico con glucocorticoidi può compromettere il processo di accrescimento del bambino.

1.2. Modalità di secrezione e fattori influenti

La secrezione di GH avviene in modo pulsatile, secondo un ritmo ultradiano caratterizzato da un pulso ogni 2-3 ore in relazione all'attività del sistema GHRH/Grelina/Somatostatina. Lo zenit è nelle ore notturne, in particolare nelle fasi

III e IV del sonno, mentre picchi più modesti si succedono durante la giornata. Tra un picco e l'altro, invece, l'ormone risulta quasi indosabile (spesso valori $<0.1 \mu\text{g/L}$). La secrezione totale

dell'ormone nelle 24 ore risulta maggiore nelle donne e, come già citato sopra, viene ulteriormente incrementata dall'assunzione di terapia estrogenica.

Il tipo di secrezione del GH influenza la risposta a livello dei tessuti.

La maggiore intermittenza si osserva nei maschi, mentre le donne mostrano una secrezione tipicamente più continua: questo potrebbe essere un fattore biologico importante per spiegare le differenze nei due sessi nel quadro di crescita lineare e nell'induzione degli enzimi epatici.

Il tasso di secrezione dell'ormone decresce marcatamente con l'avanzare dell'età, tanto che verso i 50 anni si riscontra circa il 15% di quelli dei livelli ormonali durante la pubertà. Tale riduzione avviene in concomitanza con quella della massa muscolare magra.

La secrezione di GH subisce, inoltre, delle variazioni individuali: in particolare, risulta minore negli individui obesi, sebbene in questi soggetti la produzione di IGF-1 possa essere mantenuta normale, lasciando quindi ipotizzare un'anomalia nel controllo a feedback.

1.3. Meccanismo di trasduzione del segnale

Sulla superficie delle cellule somatotrope sono presenti dei recettori che regolano la sintesi ed il rilascio di GH. Il recettore per il GHRH è legato alle proteine G e il segnale viene tradotto tramite la via mediata dal cAMP intracellulare. L'attivazione di questo recettore stimola sia la proliferazione cellulare degli elementi somatotropi, sia la secrezione ormonale. Mutazioni inattivanti il gene per il recettore del GHRH provocano un quadro di grave nanismo. Un diverso tipo di recettore lega la grelina.

La somatostatina ipotalamica si lega invece a cinque diversi sottotipi di recettori (SSTR1-SSTR5), di cui il 2 e il 5 agiscono inibendo in modo selettivo la secrezione di GH e di TSH.

Il recettore del GH è un membro della super famiglia citochine/ematopoietine. Un frammento del dominio extracellulare del recettore dà origine ad una proteina solubile legante il GH (GH-binding protein, GHBP), che interagisce con l'ormone circolante. Il fegato e la cartilagine contengono il maggior numero di recettori. Il legame del GH con il recettore è seguito dalla trasduzione del segnale attraverso la via JAK/STAT, con il risultato di ottenere la fosforilazione di numerose proteine funzionali, tra cui attivatori della trascrizione e della proliferazione, a cui spetta l'elicitazione delle funzioni GH-specifiche, in primis la sintesi di IGF-1, glicogenosintetasi ed enzimi della sintesi proteica.

Livelli elevati e prolungati di GH inibiscono l'espressione dei recettori adenoipofisari ("down regulation"), con conseguente riduzione della secrezione GHRH-mediata di GH. Al contrario, l'infusione endovenosa di GHRH raddoppia l'espressione dei GH-recettori ed incrementa di 10 volte i livelli circolanti di GH.

1.4. Effetti periferici

L'attività fisiologica dell'ormone della crescita si esprime con effetti morfogenetici (indiretti) ed effetti metabolici (diretti).

- **Effetti diretti:** sono effetti sul metabolismo dell'individuo, a sostegno degli effetti trofici, gestiti dal GH mediante il legame ai suoi recettori, ampiamente diffusi nell'organismo. Orienta il ricambio azotato in senso anabolizzante (processi di crescita) e facilita il risparmio di glicogeno a scapito dei grassi: infatti provoca la liberazione di acidi grassi non esterificati da parte del tessuto adiposo e ne facilita la conversione in AcetilCoA, inducendo quindi un risparmio di protidi, che possono quindi essere utilizzati per fini accrescitivi. Inoltre il GH influenza il metabolismo dei carboidrati in maniera complessa e peraltro non ancora completamente chiarita: rapidi aumenti di GH migliorano l'utilizzazione del glucosio da parte dei tessuti, mentre un eccesso cronico dell'ormone stesso ha effetto diabetogeno, riducendo l'ingresso di glucosio nelle cellule e favorendo la comparsa di insulino-resistenza e di iperglicemia, a cui consegue un'iperincretione insulinica.

- **Effetti indiretti:** detti anche trofici, sono mediati dall'intervento di un mediatore prodotto soprattutto dal fegato, e in misura nettamente inferiore anche da osso, cuore, muscoli e reni, chiamato Insuline Growth Factor 1 (IGF-1). Si tratta di un peptide a basso peso molecolare, con emivita plasmatica di circa 3 ore, molto simile alla struttura della proinsulina, da cui il nome.

Esso circola nel plasma legato ad una proteina di trasporto (IGFBP). Il legame alla proteina di trasporto fa sì che l'emivita del complesso si allunghi notevolmente. L'IGF-1 promuove a sua volta i processi di accrescimento mediante il legame con i suoi recettori (IGF-1R). Attraverso IGF-1, il GH aumenta le sintesi proteiche e riduce il catabolismo proteico, in modo particolare a livello delle cartilagini della crescita e delle masse muscolari: promuove la captazione di aminoacidi dal circolo ematico ed accelera la

trascrizione e la traduzione dell'mRNA. Esercita inoltre effetti insulino-simili sul ricambio glucidico e lipidico, poichè è in grado di interagire con i recettori dell'insulina.

Riassumendo il GH:

- stimola la crescita, anche quando, per l'età raggiunta dall'individuo, essa diviene documentabile solo a livello cellulare e non più organismica. Tale ormone non influisce sulla crescita del feto né su quella del neonato, ma è essenziale nel corso dell'infanzia e dell'adolescenza. Il GH accelera la differenziazione delle cellule staminali, soprattutto precondrociti cartilaginei e cellule stellate muscolari, mentre IGF-1 promuove la proliferazione delle cellule differenziate, ottenendo ispessimento della cartilagine delle ossa lunghe e allungamento dei muscoli striati (aumenta la statura).
- favorisce la ritenzione di Sodio, Potassio, Fosfati e Calcio, mettendo così a disposizione di ossa, muscoli e cartilagine un maggior contenuto di sali minerali
- ha effetti su tutti i metabolismi: *proteico*, favorendo la sintesi ed inibendo il catabolismo delle proteine, dunque positivamente il bilancio azotato; *lipidico*, mobilizzando gli acidi grassi dal tessuto adiposo (quindi riduzione della massa grassa viscerale e aumento della massa magra); *glucidico*, stimolando la produzione di glicogeno da parte del fegato e rendendo le cellule muscolari e gli adipociti resistenti all'azione dell'insulina, permettendo dunque di mantenere integri i depositi di glicogeno epatico e funzionali i livelli di glicemia.

Nei soggetti acromegalici, o trattati con GH esogeno, sia l'insulinemia sia la glicemia aumentano, fino a configurarsi un quadro compatibile con quello del diabete mellito di tipo II.

1.5. Alterazione della secrezione in senso iper o ipo

- Nei bambini e negli adolescenti, un'eccessiva secrezione di GH prima della saldatura delle epifisi delle ossa lunghe porta allo sviluppo del *gigantismo*. Se, al contrario, l'ipersecrezione si instaura dopo tale evento, si ottiene il quadro clinico dell'*acromegalia*.

Nella maggioranza dei casi, l'ipersecrezione è dovuta ad adenomi ipofisari, che possono produrre solo GH, GH e prolattina o, in una minoranza di casi, GH, ACTH e TSH.

In una minima percentuale di casi si assiste invece ad una secrezione di GH ectopica, per esempio da carcinoidi, o ancora ad una ipersecrezione di GHRH, da cui stimolazione delle

cellule somatotrope ed iperproduzione di GH, anch'esse generalmente riconducibili a carcinoidi o tumori ipotalamici.

- Una riduzione della secrezione di ormone della crescita prende invece il nome di **deficit di GH**, che potrà essere più o meno grave a seconda di:
 - entità del deficit (totale o parziale),
 - periodo di insorgenza (congenito o acquisito),
 - concomitante presenza di deficit ormonali (isolato/multiplo/panipopituitarismo).

2. RIDOTTA SECREZIONE DI GH: LE CAUSE

La riduzione della produzione di somatotropina può essere isolata od associata ad altri deficit di ormoni ipofisari. In quest'ultimo caso si parla di ipopituitarismo, mentre il deficit di produzione di tutte le tropine ipofisarie prende il nome di panipopituitarismo. L'eziologia della ridotta produzione di ormone della crescita può poi essere genetica o acquisita, di seguito brevemente riportate.

2.1. Forme congenite

Il deficit di ormone è presente già alla nascita, anche se il peso e la lunghezza sono solitamente nella norma, a conferma del fatto che la somatotropina non è fondamentale per lo sviluppo fetale. Già nei primi mesi, tuttavia, si assiste ad episodi di ipoglicemie a digiuno e la crescita avviene lentamente. La massa muscolare è spesso ridotta, mentre il pannicolo adiposo sovrarappresentato. L'età ossea è tipicamente molto ritardata rispetto all'età anagrafica, ma è sempre superiore all'età staturale, che risulta spesso particolarmente compromessa.

Esistono due diversi gruppi di patologie congenite che causano riduzione di somatotropina: il deficit di GH associato a deficit di altri ormoni ipofisari e la forma isolata.

2.1.1. Carenza multipla di ormoni ipofisari

L'incidenza dell'ipopituitarismo in età pediatrica varia tra 1:4000 e 1:10000 nati.

Ad oggi, si conoscono meglio i geni che regolano lo sviluppo ipofisario e la produzione ormonale ipofisaria e proprio per questo motivo si riesce ad identificare un numero sempre crescente di patologie genetiche di un MPPHD (Multiple Pituitary Hormone Deficiency).

Una serie di fattori di attivazione trascrizionale espressi sequenzialmente orientano la differenziazione e la proliferazione dei vari tipi cellulari dell'ipofisi anteriore. Le mutazioni di queste proteine producono forme diverse di carenze multiple di ormoni ipofisari. Inoltre, i suddetti fattori di trascrizione possono essere espressi anche da altri tessuti e loro eventuali alterazioni tendono a produrre fenotipi che, oltre al deficit endocrinologico, comprendono anomalie di altri organi.

Di seguito, la rappresentazione schematicadi alcuni di questi fattori di trascrizione, importanti per la formazione delle strutture ipofisarie e per la differenziazione cellulare (**Figura 1**) e dei fattori causativi di difetti endocrini multipli (Figura 2).

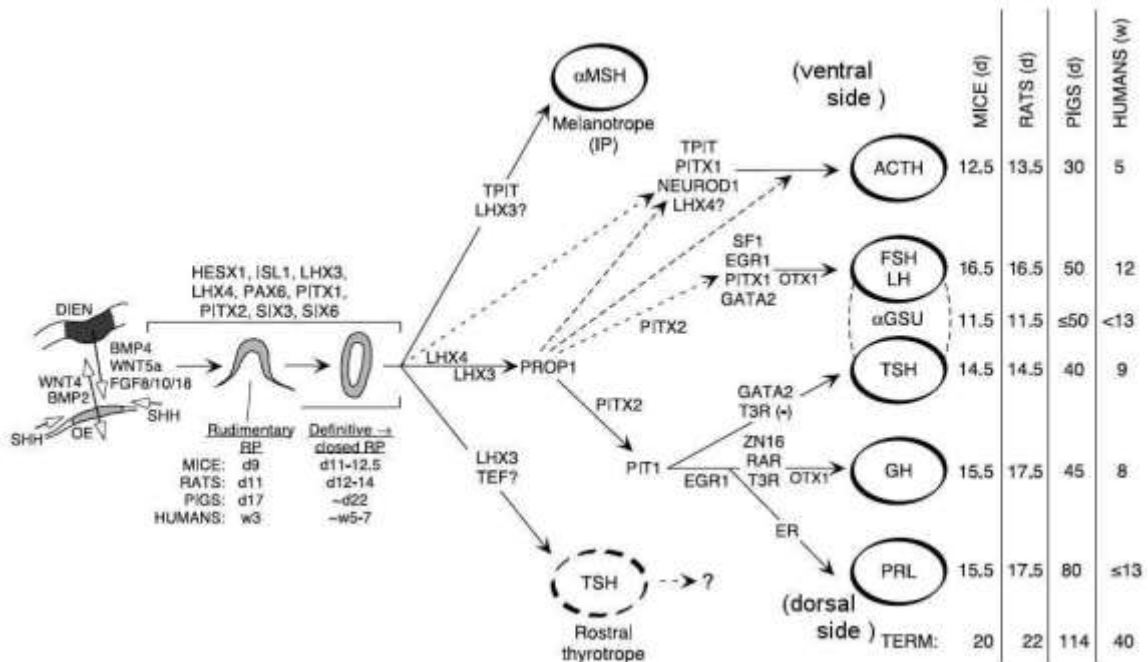


Fig.1: Regolazione trascrizionale dello sviluppo del lobo anteriore dell'ipofisi (adenoipofisi). Una serie di fattori di trascrizione coinvolge, da parti opposte, porzioni limitate di diencefalo ventrale (DIEN) e dell'ectoderma orale (OE), poi, nella tasca di Rathke (primordio dell'adenoipofisi) definitiva si vanno a differenziare i cinque tipi cellulari secondo un preciso ordine spaziale e temporale (giorni sulla destra della figura). Tratto da Savage et al., in Gene 2003.

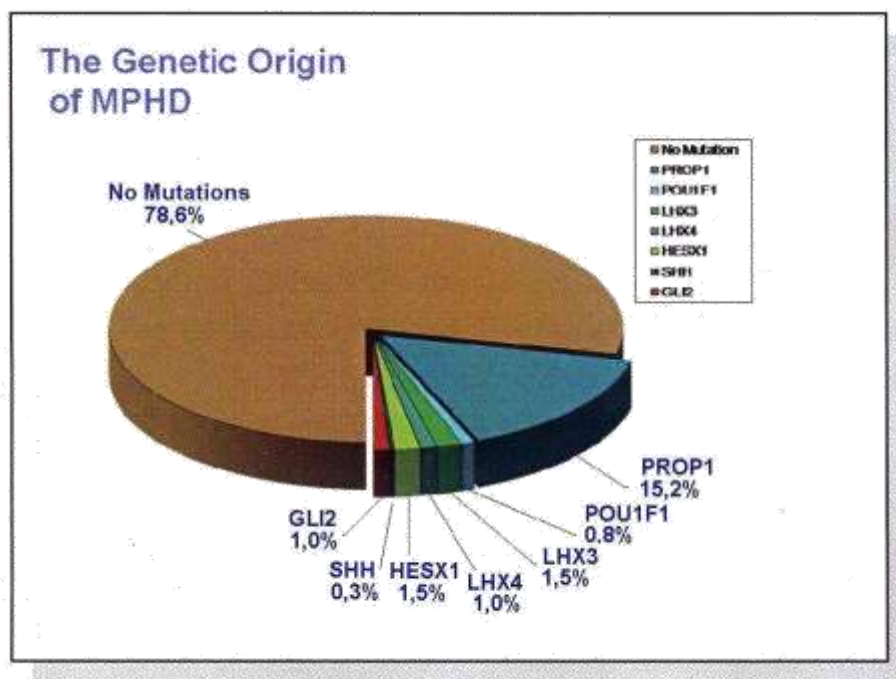


Figura 2. Diagramma a torta illustrante una stima dei fattori genetici e non, alla base di una serie di analisi in soggetti panipopituitarici. Presentato al convegno internazionale di endocrinologia pediatrica ESPE del 2007 dal gruppo Pfaffle RW.

2.1.2. Deficit isolato di GH

Il termine IGHD (Isolated Growth Hormone Deficiency) si usa quando è carente o assente il solo ormone della crescita. Nel caso dell'IGHD di origine genetica, una o più mutazioni interferiscono direttamente sulla sintesi della somatotropina o sulla trasmissione del segnale. Pertanto le mutazioni coinvolgono i geni codificanti per il recettore del GHRH, i geni del GH e geni presenti sul cromosoma X.

- **Recettore del GHRH:** Mutazioni recessive che conducono a perdita di funzione del GHRH interferiscono con la proliferazione delle cellule somatotrope durante lo sviluppo ipofisario ed interrompono i segnali più importanti per il rilascio di GH. L'ipofisi appare di dimensioni ridotte, la crescita fetale è diminuita ed è seguita da grave deficit dello sviluppo postnatale.

- **GH1:** Il gene GH1 è uno dei cinque geni presenti sul cromosoma 17q22-24. Un crossing-over diseguale produce una varietà di delezioni del gene: piccole delezioni (<10kb) rimuovono solo il gene GH1, mentre quelle più ampie (45kb) rimuovono anche uno o più geni adiacenti (CSL, CS1, GH2, CS2). Il fenotipo invece risulta identico. La perdita di CS1, GH2 e CS2 senza perdita di GH1 provoca invece un deficit di somatomammotropina cronica e di GH placentare nella circolazione materna, ma non comporta ritardo nella crescita fetale o postnatale. La bassa statura da GH biologicamente inattivo è caratterizzata da livelli di GH circolante da normali ad alti, se si utilizza un dosaggio immunologico, ma bassi se si utilizza l'analisi della proliferazione cellulare, del legame con il recettore o dell'attivazione del recettore.

- **IGHD associata al cromosoma X:** Due loci sul cromosoma X sono stati associati a deficit isolato di GH. Il primo si trova a livello della timidina chinasi di Bruton (BTK): mutazione di questa regione causano ipogammaglobulinemia associata a GHD. Il secondo locus si localizza in una regione che contiene il gene del fattore di trascrizione SOX2 e le mutazioni che lo coinvolgono sono state associate a GHD, ritardo mentale o ad ipopituitarismo con la triade costituita da ipoplasia ipofisaria, mancanza del peduncolo ipofisario ed ectopia dell'ipofisi posteriore. I casi di deficit isolato di GH di origine genetica sono stati classificati, a seconda del gene mutato, in quattro sottogruppi, come illustrato in **Tabella 1**.

Tabella 1. Classificazione degli IGHD di origine genetica.

Tipo IGHD	Ereditarietà	Gene/Mutazione	Proteina corrispondente	Fenotipo
IA	AR	GH1: ampia delezione, microdelezioni o sostituzioni puntiformi di diversi aa	Del tutto assente.	Severa bassa statura, necessità di utilizzare Ab neutralizzanti gli Ab antiGH
IB	AR	GH1 o GHRHR: mutazioni del sito di splicing, perdita di esoni	Tronca, con attività carente.	Bassa statura, buona risposta alla tp con GH.
II	AD	Mutazioni del sito di splicing, mutazioni puntiformi di diversi aa	Con attività carente.	Bassa statura, buona risposta alla tp con GH.
III	X-linked rec	Meccanismo ancora sconosciuto		Maschi con ipogammaglobulinemia.

2.2. Forme acquisite

Qualsiasi lesione che danneggi l'ipotalamo, il peduncolo ipofisario o l'ipofisi anteriore può provocare un deficit di ormoni ipofisari. Vista la non selettività delle lesioni, si osservano di solito deficit ormonali multipli. L'eziologia dell'insulto alla ghiandola pituitaria può essere di varia natura:

- irradiante, esito di radioterapia;
- infiammatorio o infiltrativo: istiocitosi, sarcoidosi, encefalite, meningite, tbc;
- autoimmune: ipofisite autoimmune isolata/associata ad altra patologia di natura autoimmune;
- post-chirurgico: lesione del peduncolo o compromissione vascolare del circolo portale;
- neoplastico: craniofaringioma, glioma, pinealoma, adenoma, germinoma, glioma ottico;
- traumatico: incidenti automobilistici, sindrome del bambino battuto, trazione da parto;
- vascolare: infarto emorragico.

L'asse del GH è il più suscettibile a patologie acquisite e, spesso, il deficit di GH si manifesta come sintomo d'esordio di un ipopituitarismo secondario.

Bambini sottoposti a radioterapia per tumori del SNC, o per prevenire infiltrazioni del SNC da parte di neoplasie ematologiche, corrono il rischio di sviluppare deficit di ormoni ipofisari, tra cui quello di GH è il più comune, potendosi però anche manifestare quelli di TSH ed ACTH. La pubertà tende ad essere precoce più che ritardata. La dose e la frequenza della radioterapia sono importanti fattori determinanti dell'ipopituitarismo.

Il deficit di GH è praticamente certo 5 anni dopo la terapia con una dose totale superiore od uguale a 35 Gy, mentre dosi intorno ai 20 Gy comportano deficit più lievi.

La crescita rallenta tipicamente durante la radioterapia o la chemioterapia, migliora per 1-2 anni ed in seguito declina, con il manifestarsi del deficit di GH. Anche l'irradiazione della colonna contribuisce ad una crescita scarsa e sproporzionata del tronco, indipendentemente dalla secrezione di GH.

2.3. Deficit idiopatico e altri tipi di difetto di GH

Oltre alle congenite e alle acquisite, esistono molte altre forme in cui l'eziologia del deficit di GH non è ben determinata. Tra queste, le forme idiopatiche sono le più comuni ma anche le meno definite dal punto di vista diagnostico.

Esiste poi una particolare condizione di deficit di GH, detta "disfunzione neurosecretoria", che deve essere sospettata nel caso di bambini con caratteristiche fortemente indicative di deficit di GH ma con normale risposta ai test di stimolo. Questi soggetti, pur rispondendo in modo normale ad un test acuto, hanno una produzione giornaliera di GH inferiore alle loro necessità, come si evince dal dosaggio totale del GH sierico nelle 24 ore. Questi bambini rispondono in modo positivo alla terapia.

2.4. Manifestazioni cliniche

2.4.1. Deficit di GH congenito

Il neonato con deficit congenito di GH ha generalmente una lunghezza ed un peso normali alla nascita, sebbene quelli con carenze adenoipofisarie multiple e difetti genetici del gene GH1 o GHR possano presentare alla nascita una lunghezza di 1 DS inferiore alla norma. Già durante il primo anno di vita, comunque, si può iniziare a notare un progressivo appiattimento della curva di accrescimento ed i bambini con gravi difetti della produzione di GH possono risultare inferiori di 4 DS rispetto alla media. Quelli con deficit meno gravi crescono ad una velocità inferiore del 25% per l'età e gradualmente si allontanano dai normali percentili di altezza.

I neonati con difetti congeniti dell'ipofisi e dell'ipotalamo manifestano normalmente emergenze neonatali come apnea, cianosi, sepsi neonatale e grave ipoglicemia, con o senza crisi convulsive. Può essere presente nel raccordo anamnestico la presenza di parto mediante taglio cesareo, per esempio a causa di presentazione podalica del feto. Nei maschi la presenza di micropene e/o di criptorchidismo costituisce un ulteriore indizio diagnostico. E' frequente un ittero prolungato, dovuto ad un incremento della bilirubina coniugata e non coniugata, che può essere confuso con un'epatite neonatale. Anche la presenza di nistagmo può rappresentare un campanello d'allarme in merito a deficit di ormone della crescita.

Nella prima infanzia e nella fanciullezza il sospetto di deficit di GH deve essere posto in presenza di un bambino con sproporzione cranio-facciale e caratteri del volto immaturi, la cosiddetta "faccia di bambola". La testa è rotonda e la faccia corta e larga; l'osso frontale è prominente e la radice del naso, depressa, presenta una tipica forma a sella. Il naso è piccolo e le pieghe nasolabiali appaiono ben sviluppate; gli occhi sono un po' sporgenti; la mandibola ed il mento sono iposviluppati e i denti, ad eruzione tardiva, mostrano un affollamento caratteristico. Il timbro della voce è acuto e tale rimane anche dopo la pubertà. Gli arti sono ben proporzionati (bassa statura armonica), con mani e piedi piccoli. Il peso è assolutamente normale in rapporto all'altezza, ma si ha nel complesso un sovrappeso per eccesso di tessuto adiposo e carenza di massa muscolare. I genitali sono di solito piccoli per l'età e la maturazione sessuale può essere ritardata o assente. I peli ascellari, facciali e pubici normalmente sono scarsi ed i capelli fini.

Nel 10-15% dei bambini con panipopituitarismo ed in quelli con GHD compare ipoglicemia sintomatica, in genere postprandiale. L'intelligenza è di solito normale.

2.4.2. Resistenza all'azione del GH

Esistono poi alcune situazioni in cui la secrezione dell'ormone della crescita risulta normale, ma sono presenti difetti che ne impediscono la corretta azione fisiologica a livello dei tessuti. Questa "insensibilità" all'azione del GH (GHI) si manifesta nei bambini come un ritardo di crescita e la sua forma più grave si accompagna anche ad anomalie metaboliche e tratti dismorfici.

Le mutazioni possono essere

- "*recettoriali*"^[1] (es Mutazioni del recettore del GH che esitano in l'insensibilità all'azione del GH, come accade nella *Sindrome di Laron* ^[2]),
- "*postrecettoriali*" (forme post-recettoriali di insensibilità *al GH* ^[3]: *es mutazioni JAK/STAT*),
- "*Mutazioni del gene IGF-1*" o "*Mutazioni del gene del recettore per IGF-1*";
- anomalie genetiche causative di "*Anticorpi anti-GH*"^[4] (rara forma di insensibilità all'azione del GH è dovuta alla presenza di anticorpi acquisiti inibenti il GH in gruppi soggetti con deficit isolato di GH familiare. Si tratta di IGHD autosomico recessivo, causato da una grossa delezione del gene GH1, con produzione impercettibile di GH. Questi pazienti vanno frequentemente incontro alla produzione di autoanticorpi contro il GH durante la terapia con ormone della crescita ricombinante, a causa dell'intolleranza immunologica, anche se grande è la variabilità sia della formazione anticorpale, sia della risposta alla terapia, anche all'interno della stessa famiglia).

Data comunque la vastità e la complessità dell'argomento, le forme elencate in questo sottocapitolo non saranno oggetto di dissertazione nel contesto di questa tesi di Dottorato, che si incentra invece sul difetto di GH in età di transizione.

2.5. Deficit di GH acquisito

Le manifestazioni cliniche in corso di deficit di ormone della crescita acquisito sono logicamente influenzate dall'epoca di insorgenza della carenza ormonale. Nei casi di distruzione completa o quasi dell'ipofisi sono presenti segni di insufficienza pituitarica. L'atrofia di surrene, tiroide e gonadi è responsabile di perdita di peso, astenia, sensibilità al freddo, torpore mentale ed assenza di sudorazione. Si evidenzia la mancata comparsa di maturazione sessuale o la sua regressione se questa fosse già presente. Ci può essere atrofia delle gonadi e del tratto genitale, con amenorrea e perdita di peli pubici o ascellari. Si manifesta tendenza all'ipoglicemia. La crescita diminuisce drammaticamente. Può essere presente diabete insipido, che tende però a migliorare spontaneamente in rapporto alla progressiva distruzione dell'adenoipofisi. Se la lesione è rappresentata da un tumore in espansione si possono verificare sintomi come cefalea, vomito, disturbi visivi, modificazioni patologiche del sonno, calo della performance scolastica, crisi epilettiche, poliuria e deficit di crescita. Il rallentamento della crescita può anticipare i segni neurologici e i vari sintomi, specialmente in caso di craniofaringiomi, ma i sintomi ormonali ammontano solo ad un 10% dei disturbi presenti.

Dopo un intervento chirurgico si evidenziano i primi sintomi di insufficienza ipofisaria. Nei bambini con craniofaringiomi sono comuni difetti del campo visivo, atrofia ottica, papilledema e paralisi dei nervi cranici.

3. DIAGNOSI DI DIFETTO DI ORMONE DELLA CRESCITA NEL BAMBINO

La diagnosi di deficit di GH è basata su:

- anamnesi
- bassa statura
- età scheletrica ritardata (>1 anno)
- dosaggio dei fattori di crescita appartenenti al sistema IGF-1
- risposta insufficiente di GH dopo due test di stimolo farmacologici
- RMN
- analisi molecolare

3.1. Criteri clinici ed auxologici

La valutazione per GHD in un bambino che presenti bassa statura, definita come un'altezza inferiore di oltre 2 DS rispetto alla media della popolazione, non dovrebbe prescindere comunque dall'indagare primariamente altre e più frequenti cause di difetto della crescita, come per esempio ipotiroidismo, malattie sistemiche, nonchè includere anche esclusione di Sindrome di Turner (e altre sindromi geniche) o disordini scheletrici.

Fatti particolarmente significativi ricavati dall'anamnesi e/o dall'esame obiettivo che potrebbero indicare un deficit di GH includono:

1. presenza, in età neonatale, di ipoglicemia, ittero prolungato, micropene o parto distocico;
2. irradiazione cranica pregressa;
3. trauma cranico e/o infezioni a carico del SNC;

4. consanguineità e/o membri della famiglia affetti;
5. anomalie della linea mediana a livello cranio-facciale o nistagmo.

E' frequente che la bassa statura sia l'unico sintomo presente all'inizio.

I criteri, compendati nella *nota 39 dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA)* pubblicata sulla *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n° 270 del 18.11.2010 e successive modifiche del 2014 (G.U. 616/2014, modifica alla Nota AIFA 39)* per avviare le indagini alla ricerca di un deficit di GH sono:

- Bassa statura severa, definita come un'altezza < 3 DS;
- Altezza $< 1,5$ DS al target genetico;
- Altezza < 2 DS con una velocità di crescita annua inferiore a 1 DS rispetto alla norma per età cronologica e sesso, oppure una riduzione dell'altezza $> 0,5$ DS/anno in bambini di età superiore ai due anni;
- Velocità di crescita < 2 DS/anno o $< 1,5$ DS per due anni consecutivi in assenza di bassa statura;
- Sintomi suggestivi di una lesione intracranica;
- Sintomi e segni di difetti ipofisari multipli;
- Sintomi neonatali suggestivi di difetto di ormone della crescita.

L'interpretazione dei dati relativi all'accrescimento staturale deve far riferimento agli standard di accrescimento più recenti (possibilmente aggiornati ogni 10-20 anni, dal momento che dipendono dai trend secolari di popolazione) e deve tener conto della velocità di crescita calcolata su un intervallo temporale di almeno sei mesi, misurata con le medesime modalità.

Con l'utilizzo sempre più diffuso della risonanza magnetica, è aumentato anche il riscontro casuale di anomalie a carico della regione ipotalamo-ipofisaria: ciò richiede la valutazione clinica del bambino e, possibilmente, la valutazione della crescita.

All'interno di un appropriato contesto clinico, anche una visita oftalmologica potrebbe essere necessaria.

3.2. Assetto biochimico

Esami necessari per un buon iter diagnostico comprendono un panel generale, che includa, tra le altre, anche funzione epato-renale, screening per la celiachia, funzione tiroidea e surrenalica e dosaggio dell'IGF-1.

Escluse altre eventuali patologie sistemiche sottese, si passa ad indagare l'asse ipotalamo-ipofisi-GH attraverso i test di stimolo per la secrezione dell'ormone della crescita.

Valori di IGF-1 e IGFBP3 al di sotto di 2 DS, valutati secondo i range di riferimento, standardizzati per età e sesso, sono fortemente suggestivi di un'anomalia a carico dell'asse del GH, anche se valori normali di questi parametri non consentono di escludere la diagnosi. Tuttavia, anche valori patologici, da soli, non sono indicativi di GHD, dal momento che molti sono i fattori confondenti, in primis la malnutrizione, condizioni psicosociali e alcune terapie in atto (come i glucocorticoidi).

I livelli circolanti di GH invece, data la natura pulsatile e la complessità della regolazione secretoria dell'ormone, sono reperti laboratoristici assai poco specifici e poco utili per la diagnosi di GHD. Al contrario, il dosaggio di GH basale isolato risulta molto utile quando si riscontri particolarmente elevato, facendo pensare in questo caso ad una resistenza nei confronti dell'ormone della crescita. Sarà in quest'ultimo caso accompagnato da ridotti livelli di IGF-1 e di IGFBP3. E' inoltre possibile valutare la risposta della produzione di IGF-1 da parte del fegato e degli altri tessuti attraverso il Test di generazione di IGF-1 o IGFGT (IGF-1 Generation Test). Questo consiste nel dosaggio dei livelli di IGF-1 e IGFBP3 dopo ripetute somministrazioni endovena di GH esogeno (modalità, dosi e durata non sono codificate). Nei casi di insensibilità all'ormone della crescita non si rileverà alcun incremento di tali valori

Tradizionalmente, nei bambini che soddisfino i criteri clinici di GHD, un picco di GH inferiore a 8 µg/L dopo stimolo supporta fortemente il sospetto di difetto di ormone di crescita.

La diagnosi definitiva però richiede necessariamente la dimostrazione di una risposta scarsa o assente del GH a due diversi test di stimolo, eseguiti in giorni differenti. Nei pazienti con storia

di patologia del SNC, irradiazione cranica, MPHD o difetti genetici, un solo test può essere sufficiente.

Tra questi test ricordiamo la somministrazione di insulina, arginina, clonidina, glucagone, levodopa, GHRH e GHRH potenziato con arginina. I test di stimolazione della secrezione del GH verranno trattati successivamente in maniera più approfondita.

Nei bambini sani questi stimoli sono in grado di determinare un rapido incremento dei livelli di GH. Tuttavia occorre rimarcare che in circa 20% dei casi si possono ottenere valori di GH dopo stimolo patologici (falsi negative) in bambini con crescita normale.

3.3. Valutazione radiologica

L'età scheletrica viene stimata attraverso la lettura di una radiografia del polso e della mano sinistri, che viene fatta a bambini di età superiore ad un anno. Per quelli più piccoli, può essere invece utile eseguire una radiografia dell'anca o del ginocchio.

La RM o la TC del sistema nervoso centrale vengono richieste, in Italia, sempre dopo due test di secrezione del GH risultati patologici, per poter escludere o confermare la presenza di lesioni/malformazioni, note o sospette, dell'area ipotalamo-ipofisaria e sopra-sellare, che includono tumori cerebrali, ipoplasia del nervo ottico, displasia setto ottica o altre anomalie strutturali o di sviluppo.

La risonanza magnetica viene preferita alla TC per la possibilità di sezioni multiplanari ad eccellente risoluzione e per l'assenza di radiazioni ionizzanti; la TC è però più precisa per quel che riguarda la patologia tumorale associata a calcificazioni (craniofaringioma) e per il riscontro di anomalie ossee (ad esempio le erosioni che accompagnano l'istiocitosi).

Dalla risonanza magnetica si possono desumere informazioni importanti, quali altezza e volume dell'adenoipofisi, anatomia del peduncolo, posizione dell'ipofisi posteriore e presenza/assenza di anomalie encefaliche o della linea mediana, utili non solo nella valutazione dei pazienti citati precedentemente, ma anche in tutti coloro presentino un difetto isolato di ormone della crescita o ipopituitarismo, con o senza difetti genetici noti associati.

Nelle forme idiopatiche e genetiche di GHD è frequente un'altezza dell'ipofisi anteriore inferiore alla norma. E' necessario comunque tener conto che la ghiandola ipofisaria va incontro a numerosi cambiamenti di dimensione e forma nel corso della vita.

Le tecniche di imaging encefaliche presentano inoltre un ruolo, non solo nella diagnosi di GHD, ma anche nella prognosi di questi pazienti, in quanto, a seconda del tipo e dell'entità delle malformazioni riscontrate a carico della regione ipotalamo ipofisaria, è possibile differenziare pazienti a rischio di sviluppare multipli difetti ipofisari da quelli candidati ad un persistente, ma isolato, difetto di GH. Pazienti ad esempio con ectopia della neuroipofisi sono a maggior rischio di MPHD.

L'assorbiometria a doppio raggio fotonico (dual X-ray absorptiometry, DXA) evidenzia carenza di mineralizzazione ossea, deficit di massa corporea magra e corrispondente incremento di quella grassa, tutti riscontri conseguenti ad una ridotta secrezione di ormone somatotropo. Tale indagine è da considerarsi al momento di complemento alla diagnosi di GHD nella definizione delle anomalie della composizione corporea.

3.4. Valutazione di disordini genetici

Dal momento che le mutazioni genetiche determinanti deficit di GH si conoscono sempre meglio, appare appropriata anche una valutazione in questo senso. Appaiono particolarmente eleggibili a questo tipo di indagini coloro che presentano ^[5]:

- 1) esordio precoce di deficit di GH
- 2) storia familiare positiva e/o possibile consanguineità
- 3) altezza < 3 DS
- 4) GH particolarmente basso in risposta ai test di provocazione e bassi livelli di IGF-1 e di IGF-binding-protein-3.

3.5. Valutazione della secrezione del GH

Dal momento che il problema della bassa statura è estremamente frequente, si rende necessario distinguere in maniera definitiva un bambino di bassa statura "fisiologica" rispetto ad uno con patologia a carico dell'asse del GH. Da qui l'esigenza di test per la valutazione della secrezione dell'ormone somatotropo che, all'interno di un contesto anamnestico ed obiettivo, possa o meno confermare il deficit di GH.

E' ormai assodato che, come accennato sopra, il dosaggio dell'ormone della crescita mediante un unico prelievo venoso è quasi del tutto inutile a questo scopo, per la natura pulsatile della

secrezione di GH (prevalentemente notturna), i livelli dell'ormone spesso inferiori a 0.1 µg/L tra un picco e l'altro.

Fanno eccezione i neonati, che mostrano picchi molto ampi e frequenti.

Come già accennato in precedenza, una misurazione isolata di GH risulta diagnostica unicamente nei casi di resistenza all'ormone della crescita, dal momento che solo in quest'ultima circostanza i livelli di GH si riveleranno particolarmente elevati.

Sono stati adottati, anche per mancanza di valide alternative, diversi test di stimolo, semplici o potenziati, che mirano ad indagare la capacità di risposta delle cellule adenoipofisarie alle condizioni che fisiologicamente richiedono un incremento della produzione ormonale. Questi test sono entrati ormai nella pratica quotidiana per la diagnosi di deficit di GH, anche se non risultano scevri da obiezioni, soprattutto relativamente alla riproducibilità e alla sicurezza.

Si discute inoltre sul fatto che la risposta ai test sia sottoposta a cut-off del tutto arbitrari e variabili nel tempo, che sia condizionata da parametri fisiologici (età, sviluppo puberale e peso corporeo) e che esistano pochi dati riguardo individui normali, dal momento che è eticamente opinabile sottoporre a test non privi di effetti collaterali bambini sani, al solo scopo di ottenere cut-off di riferimento. Ciononostante, i test di stimolo per la secrezione dell'ormone della crescita rimangono un elemento essenziale e non prescindibile per la diagnosi di GHD e, per ovviare almeno parzialmente alle critiche mosse, si è introdotta nella prassi l'esecuzione di due test di stimolo per confermare il sospetto di GHD.

L'adozione di questa strategia in un bambino che "fallisce" il primo test serve soprattutto ad evitare che, bambini con asse del GH pienamente funzionante (che passano quindi il secondo test) vengano sottoposti ad una terapia con GH, piuttosto che ad aggiungere credibilità al primo test e, quindi, a rafforzare la diagnosi di deficit dell'ormone somatotropo ^[6].

Alcuni autori nel 1997 hanno analizzato 6373 test di stimolazione eseguiti in Francia dal 1973 al 1989. Sono stati usati 11 test farmacologici diversi e 62 associazioni tra questi test, la più frequente delle quali era ornitina più insulina. L'affidabilità è stata misurata comparando i risultati di due test nello stesso paziente ed è risultata nel complesso bassa, risultando abbastanza buona per bassi picchi di GH, ma decrescente all'aumentare dei valori di GH. Analisi multivariate hanno poi identificato diversi parametri positivamente o negativamente correlati con i picchi di GH: epoca di inizio del trattamento, eziologia del deficit di GH, altezza e peso SDS, target di altezza genetico SDS, età ossea SDS, stadio puberale e natura dei test utilizzati. Alcuni agenti sono risultati più potenti di altri nello stimolare la secrezione di GH. Gli autori concludevano che bisognerebbe identificare un ristretto numero di test di stimolazione o anche

solo uno tra quelli più potenti, al fine di ottenere più dati sia nei bambini con secrezione patologica che in quelli con valori normali. Per migliorare l'affidabilità, infine, ripetere due volte lo stesso test nello stesso paziente è meglio che eseguire due test diversi ^[7].

Ad oggi, in più dell'80% dei casi, è proprio il risultato di questi test che dà, o meno, l'indicazione per iniziare il trattamento con la terapia sostitutiva.

Non c'è una chiara definizione di cosa determini un rialzo dei valori del GH nel plasma dopo la stimolazione. Dal momento che la secrezione dell'ormone rappresenta un continuum dall'assoluta mancanza, all'insufficienza, ai valori normali, qualsiasi cut-off applicato risulta essere arbitrario e si pone il problema di overlap tra bambini con secrezione normale e bambini appena insufficienti.

Oggi, nei soggetti pediatrici, viene generalmente considerata patologica una risposta GH < 8 µg/L per quanto riguarda i test semplici e < 20 µg/L per quelli potenziati, ma questi cut-off sono cambiati spesso negli ultimi quarant'anni.

I test vengono effettuati al mattino, nei pazienti a digiuno: questa accortezza permette di rafforzare, attraverso una condizione fisiologica quale il digiuno, la stimolazione delle cellule somatotrope ^[5].

I test semplici sono:

- Test di tolleranza insulinica (insuline tolerance test, ITT) da molti anni il gold standard per la diagnostica del GHD e ha il vantaggio aggiuntivo di stimolare anche la secrezione dell'ACTH. Questo utilizzo iniziò dopo che divenne assodato che l'ipoglicemia rappresentava un potente stimolo alla secrezione di ormone della crescita. Kaplan et al. hanno confrontato 91 bambini senza GHD (controlli) e 53 con GHD (casi), appurando che il picco di GH dopo la somministrazione di insulina era ≥ 5 ng/ml in 80 dei controlli (88%), mentre era sempre < 5 ng/ml nei casi ^[8, 9]. Simili risultati sono stati riportati anche da altri studi. Nei soggetti senza GHD, Frohman ^[10] ha riportato un picco di GH dopo ITT > 7 ng/ml nell'82%, mentre Stimmler ^[11] ≥ 10 ng/ml nell'86%. Tutti gli autori concordavano nel riportare un fallimento di risposta all'ITT nei soggetti GHD.

La risposta al test si considera positiva laddove si verifichi una riduzione del 50% della glicemia, o almeno del 40%. Questo presupposto obbliga ad effettuare il test solo in centri specializzati, con personale altamente qualificato per risolvere eventuali crisi ipoglicemiche, e richiede che il

soggetto venga sottoposto ad una continua ed accurata supervisione. L'ITT è tuttavia controindicato in soggetti con storia di cardiopatia, epilessia, trauma cranico o convulsioni da ipoglicemia; particolari attenzioni devono inoltre essere assunte in bambini con sospetto di ipotiroidismo. Non va comunque mai eseguito in pazienti di età inferiore ai due anni.

- Test con L-Arginina: agisce inibendo il tono dopaminergico sulle cellule adenoipofisarie.
- Test con Levodopa
- Test con GHRH: riproduce il naturale stimolo della somatoliberina ipotalamica.
- Test con Glucagone
- Test con Clonidina

I test potenziati sono:

- Test GHRH + Arginina
- Test GHRH + Piridostigmina

Tabella 2. Sintesi delle tecniche per effettuare i test di stimolo per il GH

STIMOLO	Dosaggio	Tempi di dosaggio	Effetti indesiderati
Insulina	0.1 µg/L ev insulina rapida (max 4 UI)	GH, cortisolo, glicemia: -30, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120	Ipoglicemia per cui si richiede controllo glicemico costante
L-Arginina	0.5 g/kg ev da somministrare in 30 minuti (dose max 30 gr)	GH, insulina: -30, 0, 30, 45, 60, 90, 120	Flushing
Levodopa	A seconda del peso: <15 kg: 125 mg <35 kg: 250 mg >35 kg: 500 mg (per os)	GH: -30, 0, 30, 60, 90, 120	nausea raramente emesi
GHRH	1 µg/L in bolo ev (max 50 µg)	GH: -30, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120	Flushing, Sapore metallico
Glucagone	30 µg/kg im (dose max 1 mg)	GH, Glicemia: 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180; Cortisolo: 0, 120, 150, 180	Nausea, occasionalmente emesi
Clonidina	150 µg/m ² per os (dose max 150 µg)	GH: -30, 0, 30, 60, 90, 120, 150	Astenia, ipotensione posturale
GHRH+Arginina	GHRH: 1 µg/kg bolo ev (dose max 50 µg) Arginina: 0.5 g/kg ev da somministrare in 30 minuti (dose max 30 g)	in GH: -30, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120	

Le criticità di maggiore peso che devono essere prese in considerazione nel valutare la risposta ai vari test rimangono comunque le seguenti:

- Nessuno dei test di stimolo farmacologico è in grado di riprodurre in maniera fedele il pattern secretorio del GH da parte delle cellule ipofisarie. Anche quando vengono utilizzate molecole di origine naturale, il dosaggio, le modalità di somministrazione e le interazioni di queste con gli altri fattori di regolazione risultano comunque tutt'altro che fisiologiche.
- La definizione di "risposta subnormale" ai test di stimolo è alquanto arbitraria. Non esiste infatti un valore di GH universalmente riconosciuto come cut-off dei test di stimolo. Inizialmente si è utilizzato un valore di 2.5 µg/L che è stato poi incrementato a 7 µg/L e successivamente, con l'avvento del GH ricombinante, a 10 µg/L^[12, 13]. Su quest'ultimo valore non vi è uniformità di pensiero a livello internazionale. Le linee guida tedesche, ad esempio, identificano come "inadeguata" una risposta inferiore ad 8 µg/L dopo stimolazione con arginina, clonidina, glucagone o insulina. In Belgio la situazione è più complessa. I valori di cut-off dipendono dal test utilizzato: per confermare un sospetto GHD sono necessari due picchi di GH dopo stimolazione inferiori a 10 µg/L o a 4 µg/L a seconda del test. I Paesi nordici europei sembravano aver raggiunto un accordo su un valore di 10 µg/L, ma recentemente in Danimarca si è utilizzato un cut-off pari a 7 µg/L. In Italia il cut off è stato recentemente abbassato da 10 a 8 µg/L^[14].
Il nocciolo di tale questione risiede nella carenza di documentazione scientifica sulla risposta normale ai test di stimolo.
- La risposta adenoipofisaria è influenzata dall'età dei soggetti e dall'utilizzo di steroidi sessuali. La concentrazione ematica di ormone della crescita aumenta infatti durante la pubertà: in questo periodo il ritmo pulsatile subisce una modifica più in ampiezza che in frequenza^[15, 16]. Nel periodo immediatamente antecedente la pubertà, e durante le fasi iniziali della stessa, i livelli ormonali possono invece essere talmente ridotti da non consentire un'agevole discriminazione tra un deficit di GH ed un ritardo costituzionale di crescita e sviluppo^[17]. Numerosi bambini esaminati prima dello spurt puberale, che presentavano una risposta patologica ai test di stimolo, rivalutati dopo la pubertà o dopo somministrazione di steroidi sessuali esogeni, dimostravano di avere una risposta ormonale normale^[18, 19, 20, 21].

- Le tecniche laboratoristiche di dosaggio del GH non sono uniformi, limitando così il potere discriminatorio del test. Numerosi studi hanno dimostrato un'ampia variabilità tra le misurazioni sieriche di differenti laboratori ^[22, 23]. Questo bias si riesce a giustificare, almeno in parte, per la presenza nel circolo ematico di numerose e diverse forme molecolari di GH e per l'introduzione di anticorpi monoclonali per il dosaggio dell'ormone che hanno sostituito i precedenti e meno specifici policlonali. A questo va aggiunta la variabilità tra le tecniche e gli standards propri di ciascun laboratorio. Può succedere dunque che un bambino, etichettato come GHD da un laboratorio, risulti invece normale se rivalutato da un altro.
- I test di stimolo per il GH sono molto costosi, a causa dei farmaci utilizzati per lo stimolo segretagogo, e risultano inoltre gravati da notevole discomfort per il soggetto che vi è sottoposto, specie se pediatrico, proprio a causa della loro tecnica di esecuzione (somministrazione parenterale del farmaco seguita da prelievi venosi seriali).
- I test di stimolo per il GH posseggono una scarsa riproducibilità. A questo proposito, occorre ricordare che il valore di picco raggiunto sembrerebbe essere determinato anche dal pattern secretorio di GH che precede l'inizio del test: se lo stimolo farmacologico viene somministrato in un momento di picco dell'ormone produrrà un risultato differente rispetto a se somministrato in un momento in cui i livelli di GH sono fisiologicamente bassi ^[24].

4. DIAGNOSI DI GHD IN ETA' ADULTA e DI TRANSIZIONE

La carenza dell'ormone della crescita è un'entità clinica nota anche nell'adulto. Essa causa alterazioni nel metabolismo, nella composizione corporea ed una più generale riduzione delle funzioni fisiche e psichiche, e richiede pertanto un trattamento con GH esogeno [25, 26, 27]. Vi è oggi una recente e forte evidenza che, in pazienti con GHD persistente, la piena maturazione somatica non venga raggiunta laddove la terapia con GH sia interrotta subito dopo il raggiungimento della statura definitiva.

La decisione di continuare il trattamento dovrebbe essere presa nell'età di transizione, che si considera compresa tra i 15 e i 25 anni, al termine della crescita staturale.

Nell'aprile del 1997 la GH Research Society (GRS) ha riunito un gruppo di lavoro internazionale allo scopo di formulare linee guida per la diagnosi ed il trattamento degli adulti con deficit di ormone somatotropo, che sono quindi state adottate in tutto il mondo [28]. A dieci anni di distanza, nel marzo del 2007, la GRS ha convocato un altro meeting per rivedere ed aggiornare quanto precedentemente decretato, alla luce delle nuove scoperte intercorse. I temi affrontati riguardavano sia la diagnosi [28, 29] sia la terapia [30] degli adulti con GHD.

4.1. Diagnosi di GHD nell'età adulta

Il deficit di GH severo è definito tramite la clinica e gli esami ematochimici.

Le attuali raccomandazioni [28, 31], che superano quelle del 1997, stabiliscono che i pazienti da indagare in merito ad un deficit di ormone della crescita sono quelli con evidenza di disfunzione ipotalamo-ipofisaria nei quali vi sia intenzione di procedere con il trattamento. Vengono quindi inclusi pazienti appartenenti ad una di queste tre classi:

- 1) pazienti con segni e sintomi di disfunzione ipotalamo-ipofisaria (per cause endocrine, strutturali e/o genetiche);
- 2) pazienti irradiati a livello cerebrale o sottoposti a terapie antitumorali;
- 3) pazienti con danno cerebrale traumatico(*) o emorragia subaracnoidea.

(*) Il danno cerebrale traumatico (TBI) è solo ora accettato come causa di ipopituitarismo, ma la severità del danno non appare ben correlata con il grado di disfunzione pituitaria. Dal

momento che però l'asse del GH può ristabilirsi spontaneamente dopo un TBI, per la diagnosi di GHD è necessario lasciar trascorrere almeno 12 mesi.

E' provato esserci continuità tra valori di GH normali e patologici. La diagnosi biochimica di GHD è chiara, ma un deficit parziale di GH è un'entità clinica ancora mal definita nell'adulto. La presenza di bassi livelli plasmatici di IGF-1 aumenta le probabilità di GHD, ma il solo dosaggio di IGF-1 non consente di discriminare adulti normali o con GHD [29, 30, 31]. I test potrebbero anche indicare un deficit isolato di GH. Tuttavia un deficit di ormone della crescita isolato ed idiopatico ad insorgenza *de novo* nell'adulto non è un'entità diagnostica riconosciuta, ecco perché non ha senso sottoporre ai test persone che non ricadano in uno dei tre gruppi sopraccitati. E' pur vero che pazienti con evidenza obiettiva di disfunzione ipotalamo-ipofisaria potrebbero inizialmente manifestare soltanto il deficit di GH, destinato nel tempo a sommarsi a quello dei restanti ormoni ipofisari, circostanza questa non rara (pari a circa il 25% di casi di GHD nell'adulto).

4.1.1. Test diagnostici per il GHD e markers biochimici dell'azione del GH nell'adulto

In passato sono stati utilizzati diversi test di stimolazione ma nel 1997 sono stati proposti l'ITT, come prima scelta, e la somministrazione combinata di GHRH + Arginina, come la sua più promettente alternativa.

Per l'ITT, valgono le stesse controindicazioni dell'età infantile, alle quali si deve aggiungere l'impossibilità di effettuare il test nelle persone più anziane ed in quelle con malattia ischemica coronarica [32].

Uno studio del 1998 ha comparato la risposta all'ITT e al GHRH + Arginina in un gruppo di 40 adulti con ipopituitarismo, potendo verificare che in tutti i pazienti i risultati forniti dai due test (GHD o non-GHD) erano concordi ($P < 0.0001$). Inoltre, emergeva che il picco di GH in risposta a GHRH + Arginina, ma non all'ITT, risultava positivamente associato ai valori di IGF-1 ($P < 0.03$). Gli autori concludevano pertanto che la sensibilità dei due test di stimolazione è sovrapponibile, pur con valori di cut-off differenti (superiori per il GHRH + Arginina, dal momento che risulta essere uno stimolo più potente per la secrezione di GH) [33].

Altri autori, invece, hanno indagato 21 pazienti con TBI, sottoponendoli a GHRH + Arginina (cut-off ≥ 9 ng/ml) e ad ITT (cut-off > 3 ng/ml), osservando un tasso di discordanza tra i due test del 61.9%. In particolare, il GHRH + Arginina individuava 12 pazienti patologici, considerati

invece normali dall'ITT. Analizzando questi soggetti, hanno però scoperto che in tutti il BMI era ≥ 28 e, correggendo i cut-off in relazione al BMI, la discordanza tra i due test si riduceva al 14.3%. Sostenevano quindi che la concordanza tra i due test può valere solo se i cut-off del GHRH + Arginina sono corretti in base ai valori di BMI ^[34].

Anche GHRH+GHRP (GH releasing peptide) ^[35] o il solo glucagone ^[36] trovano oggi una conferma nell'adulto, mentre la sola arginina, che pure potrebbe essere presa in considerazione, mostra un valore diagnostico meno definito.

Più recentemente Toogood et al, a partire dal KIGS database hanno studiato 4867 pazienti di età media di 44.7 anni, in trattamento con GH, confrontando la risposta picco di GH a 3 differenti test di stimolo: ITT, arginina, glucagone. Gli autori concludevano che i 3 test conducevano a risposte sovrapponibili, quindi utilizzabili invariabilmente per la diagnosi di GHD in età adulta ^[37].

I mimetici della grelina sono ancora in corso di valutazione. I test con clonidina e l-DOPA non sono invece utili.

Mentre nei bambini si preferisce l'esecuzione di due test di stimolo per confermare la diagnosi di GHD, negli adulti può bastarne uno solo.

E' altresì vero, comunque, che non tutti i pazienti con il sospetto di GHD devono necessariamente sottoporsi a questo test per confermare la diagnosi. Infatti, adulti con tre o più deficit di ormoni ipofisari e livelli di IGF-1 al di sotto del range di normalità hanno più del 97% di probabilità di avere un deficit di GH e, pertanto, non vengono sottoposti ai test di stimolo ^[38].

E' stato riconsiderata anche una certa utilità nel solo dosaggio dell'IGF-1, dal momento che è molto ben riproducibile nell'individuo e che risulta positivamente associato con il picco di GH secondario a stimolazione ^[39].

I cut-off per confermare la diagnosi di deficit di ormone somatotropo nell'adulto differiscono da quelli del bambino e variano a seconda del test utilizzato. In particolare:

- per ITT, glucagone ed arginina, diagnosi di GHD con picco di GH $< 3 \mu\text{g/L}$
- per GHRH + arginina, il cut-off varia a seconda del BMI ^[40]:

- A) BMI $< 25 \text{ kg/m}^2$, diagnosi di GHD con picco di GH $< 11 \mu\text{g/L}$
- B) BMI tra 25 e 30 kg/m^2 , diagnosi di GHD con picco di GH $< 8 \mu\text{g/L}$
- C) BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$, diagnosi di GHD con picco di GH $< 4 \mu\text{g/L}$

Questi valori di cut-off al GHRH + Arginina sono stati confermati da analisi ROC su una popolazione di 322 pazienti suddivisi appunto in queste fasce di BMI. I risultati mostravano che le migliori sensibilità e specificità si ottenevano con valori differenti di cut-off a seconda dei gruppi considerati, in particolare, per il primo gruppo: cut-off 11.5 µg/L, SE 98.7%, SP 83.7%; per il secondo: cut-off 8.0 µg/L, SE 96.7%, SP 75.5%; per il terzo: cut-off 4.2 µg/L, SE 93.5%, SP 78.3% ^[40].

Il limite più grande degli altri test potenzialmente eseguibili, sopracitati, rimane la mancanza di valori standardizzati suddivisi per età, sesso e BMI.

Dal punto di vista biochimico, l'IGF-1 è un buono screening per il GHD negli adulti più giovani e magri (<40 anni, BMI <25 kg/m²) con evidenza di ipopituitarismo, anche se livelli normali di IGF-1 non escludono a priori il deficit di GH. I livelli di IGF-1 non dipendono solo dai valori di GH, per esempio nell'obesità la secrezione del GH è soppressa, mentre l'IGF-1 è normale, al contrario nei pazienti denutriti i livelli di IGF-1 sono bassi.

Ciononostante, secondo la Consensus del 1997, non esistono al momento markers indicativi dell'azione del GH alternativi e superiori all'IGF-1 ed anche quella del 2007 conferma l'importanza della valutazione dell'IGF-1 in un adulto con sospetto di GHD. La valutazione della secrezione spontanea di GH nelle 24 ore non presenta attendibilità diagnostica in età adulta, dal momento che risulta decisamente ridotta nei pazienti con il deficit, ma anche nei soggetti normosecernenti c'è una sovrapposizione tra valori normali e patologici.

4.2. Pazienti in età di transizione ^[41]

Il gruppo di lavoro del 1997 non si è occupato della valutazione dei pazienti nell'età di transizione, per i quali vi sono oggi molte evidenze che la piena maturazione somatica non venga raggiunta se non si continua la terapia con GH anche dopo la cessazione della crescita staturale, che avviene di solito entro i vent'anni.

La nota 39 dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) pubblicata sulla Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n° 270 del 18.11.2010, definisce come *età di transizione* quella compresa tra il momento del raggiungimento della statura definitiva del soggetto trattato e l'età di 25 anni.

Dal punto di vista endocrinologico, questa fase si può definire come un momento della vita con caratteristiche di secrezione ormonale differenti, sia da quelle del bambino sia da quelle

dell'adulto, che necessita quindi di un approccio specifico per quanto riguarda gli aspetti diagnostici e quelli terapeutici.

Questo periodo solitamente può durare dai 3 ai 10 anni e può essere considerato anche periodo dell'età post-adolescenziale o del giovane adulto.

Dal momento che, un deficit di GH insorto nell'infanzia (COGHD) potrebbe persistere, o meno, in età adulta, ma dato che al momento non disponiamo di elementi sicuri in grado di indicare tale persistenza, per tutti questi pazienti si impone necessaria una rivalutazione dell'asse GH-IGF-1 dopo il raggiungimento della statura definitiva, utilizzando per la diagnosi i test di stimolazione della secrezione di GH, come accade per l'adulto.

Il problema è clinicamente rilevante in un adolescente o in un giovane adulto, anche perché la diagnosi di GHD permanente comporta la necessità di continuare un trattamento basato, al momento, su una terapia iniettiva quotidiana da continuare per alcuni decenni.

Allo stato attuale, gli unici pazienti in cui la terapia con GH può essere proseguita senza ulteriori rivalutazioni (NOTA 39 dell'AIFA), poiché ritenuta molto probabile (se non certa) la persistenza del deficit di GH, sono quelli con:

- deficit di GH causato da mutazione genetica documentata;
- panipopituitarismo con difetto di secrezione ormonale multiplo di almeno tre ormoni ipofisari.

A questi possiamo quasi certamente accostare i pazienti con GHD da causa organica severa. Per i pazienti con Sindrome di Turner o nati piccoli per età gestazionale (SGA), non esistono evidenze di benefici alla prosecuzione del trattamento con GH nell'adulto, perciò non vi sono indicazioni al ridosaggio in età di transizione, come pure questo non si rende necessario nei pazienti con Sindrome di Prader Willi o insufficienza renale cronica.

Quanto detto trova riscontro in numerosi studi, nati proprio con l'obiettivo di individuare criteri che potrebbero far pensare ad una permanenza del deficit di GH e, quindi, fornire un'indicazione sui pazienti da monitorare a lungo termine. Tra questi, quello del 1999 condotto al Policlinico S. Matteo di Pavia ^[42].

I 35 pazienti coinvolti, tutti con diagnosi di deficit di GH fatta durante l'infanzia, avevano un'età media di 19.2 ± 3.2 anni. Sono stati suddivisi in quattro gruppi: 1° gruppo 11 pazienti con *GHD isolato* (IGHD); 2° gruppo 7 pazienti con *IGHD e ipofisi di piccole dimensioni*; 3° gruppo 13 pazienti con *anomalie congenite ipotalamo-ipofisarie* (di cui 5 con IGHD e 8 con deficit multipli); 4° gruppo 4 pazienti con deficit ormonali multipli secondari a *craniofaringioma*.

Dopo tre mesi di sospensione del trattamento con GH, questi pazienti sono stati rivalutati, mediante risonanza magnetica e test di stimolazione (arginina, ITT e arginina+insulina). Inoltre, IGF-1 e IGFBP-3 sono stati dosati al tempo zero e, successivamente, dopo 6, 12 e 24 mesi dalla sospensione della terapia.

I risultati mostravano che tutti i pazienti dei primi due gruppi avevano una normale secrezione dell'ormone, mentre i pazienti dei gruppi III e IV avevano ancora un picco inferiore a 3 µg/L ad ogni test. Le dimensioni ipofisarie si presentavano entro i limiti normali nei pazienti del 2° gruppo, mentre in quelli del 3° gruppo la situazione era invariata. Infine, i livelli di IGF-1 erano notevolmente calati nei soggetti degli ultimi due gruppi dopo appena sei mesi di sospensione della terapia, e quelli di IGFBP-3 dopo 12 mesi.

Gli autori hanno quindi concluso che pazienti con anomalie congenite dell'ipofisi non hanno bisogno di una rivalutazione, poiché appare certa la permanenza del deficit, mentre i pazienti con IGHD o piccola ghiandola ipofisaria meritano una rivalutazione, in quanto probabile l'avvenuta normalizzazione dell'asse ^[42].

Successivamente alcuni di questi stessi autori, approfondendo il rapporto tra RM della regione ipotalamo-ipofisaria ed il test di stimolazione con GHRH + Arginina, hanno appurato che pazienti con deficit congeniti associati ad alterazioni morfologiche della zona ipotalamo-ipofisaria (ectopia della neuroipofisi, alterazioni della linea mediana, displasia setto-ottica, ecc), specialmente se con deficit multiplo della secrezione ipofisaria, mostrano una maggiore possibilità di persistenza del deficit di GH, anche isolato ^[43].

Pazienti sottoposti ad interventi di neurochirurgia e/o radioterapia della zona diencefalo-ipofisaria per patologie neoplastiche o infiltrative devono essere sottoposti a retesting durante la fase di transizione, per rivalutare la possibilità di persistenza del difetto di secrezione del GH. In particolare, più piccolo sarà il paziente e maggiori i dosaggi di radiazioni utilizzati, più concreto sarà il rischio di persistenza del GHD nel periodo di transizione ed in età adulta^[44].

Il deficit di GH non viene comunque confermato alla fine dell'accrescimento in una percentuale che oscilla dal 20 all'88%, a seconda dei vari studi, in particolare in riferimento al deficit idiopatico, che interessa la maggior parte dei bambini trattati con l'ormone durante l'infanzia ^[20, 45].

4.2.1. Retesting: chi e come ^[46, 47]

Per tutti i soggetti che non ricadono nelle clausole di esclusione espressamente indicate dalla nota 39 dell'AIFA, si rende necessaria una rivalutazione.

I test di stimolazione vanno effettuati dopo un periodo da 1 a 3 mesi di sospensione della terapia con GH, al fine di evitare una soppressione della secrezione endogena da parte del farmaco ^[41, 48].

Nella stessa occasione, vanno rivalutati anche gli altri ormoni ipofisari, così come l'IGF-1, per il quale valgono le stesse considerazioni fatte per l'adulto. Si devono indagare inoltre composizione corporea, densità minerale ossea, livelli di lipidi plasmatici e di insulina basale. Un'attenzione particolare si deve rivolgere alla qualità di vita con strumenti appropriati a seconda dell'età e della malattia.

Se la diagnosi di GHD permane, è opportuno continuare la terapia con GH, ma con apposite cautele nei pazienti a rischio di sviluppare diabete o neoplasie.

Un'ulteriore valutazione al momento del completamento della crescita somatica (verso i 25 anni), potrebbe essere presa in considerazione nei pazienti con esordio infantile isolato di GHD prima di impegnarsi in un trattamento a lungo termine con GH. Analoga strategia sembrerebbe utile anche nei pazienti con test discordanti nell'età di transizione che non sono stati trattati con GH.

Il problema della mancanza di valori standardizzati non è stato preso in considerazione fino al 1997. I metodi analitici influenzano i risultati dei test di stimolazione e dovrebbero essere stabiliti valori di cut-off specifici per ogni test. Esiste una sostanziale eterogeneità tra i saggi attualmente utilizzati, che potrebbe essere ridotta dall'adozione di una misurazione standard del GH.

Problemi analoghi si riscontrano anche per la misurazione di IGF-1, dal momento che esiste una tecnica per un'accurata e standardizzata misurazione di IGF-1, che dovrebbe essere adottata per tutti i saggi. L'utilità dell'IGF-1 sarebbe poi aumentata dall'adozione di range specifici per età e sesso. Gelwane et al. hanno osservato che, standardizzando l'IGF-1 SDS per età, sesso e BMI, si osservavano valori decrescenti in controlli sani (picco GH >10 µg/L), in pazienti con anomalie strutturali dell'asse ipotalamo-ipofisario (picco GH compreso tra 5 e 10 µg/L) ed in pazienti con ectopia della neuroipofisi (picco di GH <5 µg/L). Tuttavia, in alcuni dei soggetti con COGHD non riconfermato dai test di stimolazione in età di transizione, si osservavano valori di IGF-1 SDS che, pur aumentati rispetto all'epoca della diagnosi, non raggiungevano i livelli delle persone normali ^[49].

Riguardo i test di stimolazione, si tratta anche di individuare giusti e specifici cut-off per l'età di transizione.

Nonostante alcuni studi abbiano suggerito un cut-off di 4.1 µg/L per l'Arginina e di 5.1 µg/L per l'ITT ^[50], altri dimostrerebbero che i cut-off nell'adolescente, e nel giovane adulto, dovrebbero essere maggiori di quelli utilizzati nell'adulto, fissandoli a 19 µg/L e tra 5.6 e 6.1 µg/L, rispettivamente, per il test di stimolo con GHRH + Arginina e ITT ^[51,52].

Al momento, comunque, per l'ITT (che è il gold standard) il cut-off suggerito è < 6 µg/L, ma tale decisione meriterà una riconsiderazione, visto che per estrapolare questo valore ci si è basati su di un campione di soli 39 controlli sani.

Addizionalmente, recenti studi hanno rivelato che giovani adulti con esordio di GHD in età infantile e anomalie strutturali ipotalamo-ipofisarie mostravano picchi di GH in risposta all'ITT superiori rispetto a 6 µg/L, ponendo quindi il dubbio sul fatto che tale valore potrebbe essere troppo restrittivo per la diagnosi di permanenza di deficit di ormone somatotropo. C'è invece accordo sul fatto che un valore <3 µg/L sia indice di un grave deficit di GH, senza dubbio meritevole di terapia con GH ricombinante.

Il test di stimolo al glucagone (GST) è un test utilizzato come opzione alternativa all'ITT per la diagnosi di GHD, sia nel bambino, come da noi dimostrato in 48 bambini sotto i 6 anni ^[53], sia negli adulti ^[36, 54, 55, 56, 57, 58] in considerazione della sua estrema maneggevolezza, riproducibilità e sicurezza, ma anche accuratezza diagnostica, affidabilità e capacità di discriminare tra soggetti sani e soggetti GHD, soprattutto con valori di picco <6 ng/dl ^[55, 56].

L'uso del GST per la valutazione della riserva di GH è stato descritto per la prima volta nel 1969 da Mitchell e collaboratori [*Mitchell ML, Byrne MJ, Silver J. Growth-hormone release by glucagon. The Lancet. 1969;1(7589):289–290*]. Da allora, i ricercatori hanno dimostrato che il GST esercita un potere sulla secrezione del GH simile o leggermente inferiore all'ITT, il che suggerisce che è più affidabile di altri agenti classici come Arginina o clonidina per individuare i pazienti GHD rispetto ai soggetti normali. ^[58]. Il vero meccanismo attraverso il quale il glucagone induce il rilascio di GH rimane poco chiaro. Alcuni dei meccanismi ipotizzati comprendono le fluttuazioni glicemiche durante il test in cui i livelli di glucosio nel sangue aumentano inizialmente prima di diminuire successivamente nel test, la generazione di un frammento peptidilico associato all'attività di rilascio di GH e ACTH e l'induzione della secrezione di noradrenalina nella stimolazione del rilascio di GH attraverso i recettori α ^[58].

4.2.2. Cosa fare quando risulti confermata la diagnosi di GHD permanente

Tutti i pazienti con documentato e severo deficit di GH sono candidabili alla terapia sostitutiva con GH, ma sono da definire le indicazioni in merito a dosaggi, interazioni ormonali, efficacia e sicurezza.

L'obiettivo della terapia sostitutiva è quello di correggere le anomalie metaboliche, funzionali e psicologiche associate con il deficit di GH dell'adulto, massimizzando i benefici e riducendo al minimo gli effetti collaterali.

La secrezione di GH è maggiore nei giovani rispetto agli adulti, e nelle donne rispetto agli uomini: sulla base di questa differenza fisiologica e di una vasta esperienza clinica, si raccomanda di iniziare la terapia sostitutiva alla dose di 0.2 mg/die nei ragazzi e di 0.3 mg/die nelle ragazze, mentre nei più vecchi 0.1 mg/die. Non appare utile differenziare le dosi del farmaco a seconda del peso corporeo, poiché esiste una grande differenza interindividuale nell'assorbimento e nella sensibilità al GH e, inoltre, la mancanza di evidenza che per gli adulti più pesanti sia necessaria una dose maggiore di terapia.

L'importante è che il GH sia somministrato alla sera, per mimare la secrezione naturale dell'ormone, che è appunto maggiore nelle ore notturne. L'aumento della dose dovrebbe essere graduale nel tempo, personalizzata e guidata dalla risposta clinica e biochimica. Sono in corso di valutazione per sicurezza ed efficacia le preparazioni di GH a lungo termine. Le dosi utilizzate nell'età di transizione sono intermedie tra le dosi richieste per la fascia pediatrica e quella adulta.

4.2.3. Interazioni ormonali che meritano una considerazione

L'equilibrio degli ormoni sessuali, in particolare gli estrogeni, dovrebbe essere ottimizzato prima di dosare il GH e, soprattutto, prima di iniziare la terapia sostitutiva. Studi sull'interazione tra le due terapie ormonali hanno dimostrato che gli estrogeni somministrati per os diminuiscono l'azione del GH e conducono quindi alla necessità di aumentare la dose. E' allora preferibile somministrare gli estrogeni in un'altra modalità, così da poter diminuire la dose del GH, altrimenti ricordarsi di modificare la dose di GH ogni qualvolta vi siano incrementi della terapia estrogenica. Il GH e l'IGF-1 influenzano il metabolismo dei glucocorticoidi, regolando l'attività della 11-β-idrossi-deidrogenasi di tipo 1, enzima che converte il cortisone inattivo in cortisolo. La terapia sostitutiva con GH, riducendo l'attività di questo enzima, potrebbe quindi smascherare in alcuni pazienti un'insufficienza surrenalica secondaria. Nei pazienti con insufficienza surrenalica centrale, l'inizio della terapia con GH richiede generalmente l'aumento della dose di idrocortisone.

Dal momento che il GH aumenta la conversione periferica da T3 a T4, il trattamento con GH potrebbe smascherare un preesistente ipotiroidismo centrale, che è identificato dalla caduta dei

livelli sierici di T4 in un range subnormale. Nei pazienti in terapia sostitutiva con L-tiroxina, l'introduzione del GH potrebbe richiedere aggiustamenti nei dosaggi dell'ormone tiroideo.

4.2.4. Monitoraggio dell'efficacia

Prima di iniziare la terapia con GH dovrebbe essere condotta un'attenta valutazione clinica, registrando il peso, l'altezza e il BMI. Si dovrebbero utilizzare parametri obiettivi come quelli della composizione corporea per monitorare la risposta alla terapia sostitutiva con GH. La composizione corporea può essere indagata a partire dalle misure antropometriche, come ad esempio la circonferenza della vita, che dovrebbero essere eseguite almeno una volta all'anno. Dove possibile, conviene ricorrere alla DXA per quantificare con precisione i cambiamenti nella composizione corporea, dal momento che questo esame fornisce una dettagliata misurazione della massa magra e grassa. E' inoltre un affidabile strumento per stabilire la densità ossea, importante parametro che trae giovamento dalla terapia sostitutiva con GH, sebbene durante il primo anno potrebbe paradossalmente diminuire a causa di un aumentato rimodellamento osseo. Si consiglia allora di eseguire una DXA al tempo zero e, in seguito, due anni dopo. Se non si raggiungono benefici in termini di BMD, dovrebbero essere prese in considerazione modificazioni delle dosi di GH ed eventualmente altre terapie.

I livelli sierici di IGF-1 sono un valido indicatore dell'azione epatica di GH e vanno misurati una volta all'anno. Nel caso di un cambiamento della dose del GH, la valutazione non può essere fatta prima di sei settimane. I livelli di IGF-1 dovrebbero essere mantenuti al di sotto dei limiti superiori del normale, standardizzati per età e sesso.

I pazienti con ipopituitarismo presentano un aumentato rischio cardiovascolare. Non esistono ancora correlazioni scientifiche tra terapia con GH ed eventi cardiovascolari, ma alcune metanalisi (controlli con placebo) mostrano un miglioramento di alcuni parametri come ad esempio PAD, massa grassa, massa totale e colesterolo LDL in corso di terapia sostitutiva con GH, che vanno pertanto indagati. Gli obiettivi del trattamento cardiovascolare per i pazienti con GHD dovrebbero essere gli stessi della popolazione generale, con tutti i valori mantenuti nel range di normalità a seconda di età e sesso. I livelli di glicemia a digiuno vanno monitorati una volta all'anno a causa della prevalenza di obesità in questi pazienti.

La qualità di vita nei pazienti con deficit di GH è ridotta. L'attenzione ai livelli di energia, soddisfazione sessuale, giorni di malattia e benessere è di estrema importanza nel monitoraggio

della risposta al trattamento e dovrebbe essere sondata mediante questionari specifici per misurare la qualità di vita (QoL).

4.2.5. Obiettivi del trattamento

Gli effetti benefici della terapia sostitutiva con GH sono stati ampiamente dimostrati per tutte le età. L'obiettivo del trattamento, dopo la fine della crescita lineare, è raggiungere il pieno sviluppo somatico, compresa la piena maturazione ossea e muscolare. Il trattamento con GH va proseguito in tutti i giovani adulti con persistente deficit di GH anche dopo il raggiungimento della statura definitiva. Gli adolescenti che rifiutano la terapia dovrebbero essere attentamente monitorati e la comparsa di anomalie nella composizione corporea dovrebbe costituire una forte indicazione a riprendere il trattamento. E' molto importante che nell'età di transizione vi sia una stretta collaborazione tra gli endocrinologi pediatrici e quelli dell'età adulta, per un graduale passaggio di consegne che garantisca la continuità delle cure.

A testimonianza di quanto il GH e la terapia sostitutiva con tale ormone siano importanti a qualsiasi età, è dimostrato un vantaggio anche nel trattamento dei pazienti con insorgenza di GHD in età adulta. In questi pazienti, infatti, l'ormone sostitutivo serve a migliorare la composizione corporea, preservare la massa scheletrica, ridurre i fattori di rischio cardiovascolare, mantenere livelli adeguati di IGF-1 e, nel complesso, un soddisfacente funzionamento fisico e psicologico.

Il declino fisiologico età-correlato di GH e IGF-1 non richiede un trattamento sostitutivo, ma i pazienti anziani con un vero e proprio deficit di GH dovrebbero essere messi in terapia, anche se a dosi inferiori, in analogia con la fisiologica riduzione dell'ormone.

4.2.6. Sicurezza

L'aumentata conoscenza della fisiologia del GH ha portato ad aggiustamenti delle dosi che hanno ridotto di molto gli effetti collaterali della terapia, che ad oggi viene considerata sicura, quando vengono rispettate le indicazioni.

- Insulino-resistenza: la terapia sostitutiva con GH non è associata a un aumento dell'incidenza di diabete mellito di tipo 1 o 2, ma può aumentare l'insulino-resistenza e peggiorare la tolleranza glucidica. Perciò, individui predisposti al diabete di tipo 2, o per familiarità o perché obesi o anziani, richiedono un attento monitoraggio. Se insorge diabete di tipo 2, va trattato normalmente e si deve continuare la terapia con GH.
- Ricomparsa di tumore ipotalamico o ipofisario: non vi sono evidenze che la ricomparsa di questi tumori sia legata alla terapia con GH. E' necessario eseguire esami radiologici prima di iniziare la terapia, ma la terapia con GH non costituisce, da sola, indicazione ad intensificare il follow-up.
- Rischio di malignità: non vi sono evidenze che la terapia sostitutiva con GH nell'adulto aumenti l'incidenza di tumori *de novo*. Il trattamento con GH durante l'infanzia o nei sopravvissuti ad un precedente tumore aumenta di poco il rischio di una seconda neoplasia. Il trattamento dovrebbe invece essere interrotto in tutti i pazienti con tumore maligno attivo fino a che non sia stato curato. E' consigliabile attuare le misure di prevenzione e diagnosi precoce presenti nella popolazione generale.

4.3. Importanza della diagnosi di GHD in età di transizione

4.3.1. Metabolismo, BMI e composizione corporea ^[41]

Il GH ha un ruolo importante nel mantenimento della normale composizione corporea e del corretto metabolismo nell'individuo adulto. Anche per questo, si pensa che sia importante proseguire il trattamento con l'ormone ricombinante durante il periodo di transizione. Le anomalie metaboliche più direttamente riconducibili alla carenza di ormone somatotropo sono la dislipidemia, l'insulino-resistenza e l'intolleranza al glucosio. Inoltre sembra assodato un aumento dell'adiposità viscerale, e in generale della massa grassa, a discapito di quella magra. Questo, unitamente ad altri fattori, contribuisce ad incrementare il rischio cardiovascolare dei pazienti GHD e può contribuire a spiegarne la mortalità precoce.

Alcuni autori giapponesi hanno condotto uno studio su pazienti adulti con diagnosi infantile di deficit di GH per varie cause (le più ricorrenti: trauma alla nascita, germinoma soprasellare e

craniofaringioma), analizzandone le comorbidità metaboliche. Questo perché in Giappone, fino al 2006, la terapia sostitutiva era riservata unicamente ai bambini fino al raggiungimento della crescita staturale. Lo studio ha coinvolto 42 pazienti, in cui la diagnosi è stata riconfermata da un valore $<3 \mu\text{g/L}$ ad un test di stimolazione, soprattutto l'ITT.

I parametri esaminati sono stati: *ipertrigliceridemia* (trigliceridi $>150 \text{ mg/dl}$), *epatopatia non alcolica o NASH* (transaminasi elevate, immagine di "fegato grasso" all'ecografia, consumo alcolico $<200 \text{ ml/die}$), *ipercolesterolemia* (colesterolo totale $>220 \text{ mg/dl}$ o HDL $<42 \text{ mg/dl}$ negli uomini e $<50 \text{ mg/dl}$ nelle donne), *diabete mellito* (criteri standard), ed *ipertensione arteriosa* (criteri non specificati). Risultavano positivi a questi reperti, rispettivamente, 15, 11, 10, 4 ed 1 pazienti. Il 32% degli uomini e il 30% delle donne, poi, mostrava più di due comorbidità. Per quanto riguarda ipertrigliceridemia e NASH, il BMI dei pazienti risultava significativamente più alto al momento dell'insorgenza di tali complicanze rispetto allo stop della terapia ($P < 0.05$ e $P = 0.05$, rispettivamente). Mentre tutte si presentavano entro un anno dall'interruzione della terapia sostitutiva, il diabete compariva mediamente tre anni dopo.

Gli autori concludevano rivendicando l'importanza della terapia sostitutiva con ormone della crescita anche in età adulta ^[59].

Già nel 1998 un gruppo di autori si era impegnato ad effettuare uno studio per valutare gli effetti dell'interruzione della terapia con ormone della crescita sulla composizione corporea e sul dispendio energetico. Gli strumenti utilizzati sono stati la plicometria, la DXA, il bone mineral content (BMC, contenuto minerale osseo) ed il resting metabolic rate (RMR, tasso metabolico a riposo). I pazienti valutati sono stati 11 adolescenti con deficit di GH e trattati con terapia sostitutiva durante l'infanzia, 5 adolescenti trattati ma non GHD e 10 controlli sani. I pazienti non-GHD, pur trattati con GH, erano rappresentati da tre soggetti con Sindrome di Turner, uno con Sindrome di Leri-Weill ed uno con bassa statura idiopatica: lo scopo del loro inserimento nello studio era impedire che i cambiamenti metabolici eventualmente riscontrati potessero essere attribuiti al persistere dell'endocrinopatia e non all'interruzione della terapia. Le misurazioni sono state fatte quando i soggetti stavano ancora ricevendo il trattamento (in media, nove mesi prima dell'interruzione), al momento dello stop e, successivamente, due settimane, sei mesi ed un anno dopo.

Al tempo -9 mesi, non vi erano sostanziali differenze fra i tre gruppi di ragazzi in termini di composizione corporea, BMC o RMR.

Per quanto concerne il resting metabolic rate, significative riduzioni ($P < 0.01$) sono state osservate già dopo due settimane e, consensualmente, dopo sei mesi ed un anno, esclusivamente nei soggetti con deficit di ormone somatotropo, mentre negli altri due gruppi tale valore si manteneva costante.

Anche la composizione corporea si dimostrava alterata nei pazienti GHD, con aumento della massa grassa, sia alla plicometria che alla DXA, sei mesi ed un anno dopo la sospensione del trattamento, sempre in maniera statisticamente significativa ($P < 0.05$). I soggetti non GHD non mostravano cambiamenti, mentre nei controlli sani si registrava un incremento di massa grassa alla plicometria ($P < 0.05$), ma senza cambiamenti di composizione corporea alla DXA. Solamente per il BMC non venivano evidenziate sostanziali differenze rispetto a non-GHD e controlli sani: questo dato è in accordo con alcuni studi ^[60] ed in disaccordo con altri, che invece hanno dimostrato una riduzione considerevole del BMC in pazienti GHD non trattati ^[61].

Gli autori sostenevano dunque che i parametri da loro presi in considerazione potrebbero servire per identificare precocemente i pazienti in cui la sospensione della terapia con GH provoca le alterazioni metaboliche più severe e che sarebbero pertanto candidabili per la prosecuzione del trattamento ^[62].

Un reciproco ed interessante punto di vista viene invece considerato da un gruppo di lavoro italiano, che studia i parametri metabolici in bambini con diagnosi di deficit di ormone della crescita prima del trattamento e dopo dodici mesi di terapia ^[63].

Alla luce di quanto visto sopra, non ci stupisce che i valori alterati, presenti in questo caso prima dell'inizio della terapia, siano gli stessi riscontrati negli adulti GHD in cui si sospende il trattamento e che conducono ad aterosclerosi prematura ed aumento del rischio cardiovascolare, a riprova che la mancanza di GH nei bambini non determina solo problemi nell'accrescimento staturale, ma anche gli stessi squilibri metabolici. Infatti, con la terapia sostitutiva, diminuiscono in misura significativa il colesterolo totale e quello LDL ($P < 0.001$), i trigliceridi ($P < 0.005$) e la leptina ($P < 0.001$); aumentano il colesterolo HDL ($P < 0.003$), l'insulina ($P < 0.001$) e l'HOMA-IR ($P < 0.001$), oltre che naturalmente l'IGF-1. ^[63]

Nell'obesità si assiste ad una riduzione della secrezione del GH: maggiore è il BMI, minore è la risposta agli stimoli farmacologici ^[64, 65].

E' anche vero il contrario, e cioè che perdendo peso aumenta la produzione di GH ^[66]. Lo studio di Cordido et al. ha ritrovato un'associazione inversa molto forte tra BMI, o indici di adiposità centrale, e picchi di GH dopo stimolazione. Lo stato di ridotta secrezione risultava associato con un pessimo profilo cardiovascolare, in particolare con colesterolo totale e LDL aumentati ^[67].

Il BMI si rivela inversamente correlato anche con il valore di IGF-1, oltre che con il picco di GH successivo ai test di stimolazione, in particolare al GHRH + Arginina. Lo studio di Utz et al. [68] ha indagato proprio questo aspetto, ottenendo i risultati mostrati in Figura 3.

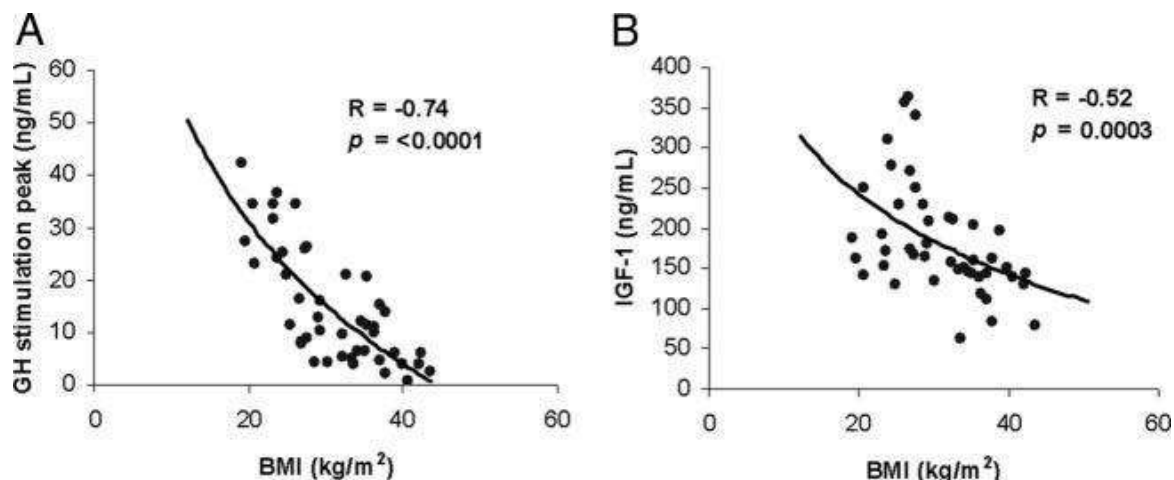


Figura 3. Il picco di GH dopo stimolazione con GHRH + Arginina (A) e IGF-1 (B) risultavano inversamente associati con il BMI.

4.3.2. *Rischio cardiovascolare*

Molti studi, sebbene non la totalità, hanno riportato un'aumentata prevalenza di fattori di rischio cardiovascolare laddove il trattamento con GH venga interrotto subito dopo il raggiungimento della statura definitiva in pazienti con grave GHD, mostrando al contrario come la terapia sostitutiva protratta con GH abbia un impatto positivo su questo aspetto.

Abs et al., a partire dal KIMS database, hanno analizzato le concentrazioni totali di colesterolo (totale, HDL e LDL) e trigliceridi, al tempo zero (2589 pazienti) e dopo 12 e 24 mesi di terapia (1206 pazienti); hanno contemporaneamente valutato i valori di BMI, circonferenze vita e fianchi, pressione arteriosa e composizione corporea.

Inizialmente gli effetti sfavorevoli del GHD erano maggiormente evidenti nel profilo lipidico, che vedeva aumentati i valori di colesterolo totale e LDL, di CV e di BMI. La concentrazione di colesterolo totale, il BMI e la composizione corporea erano associati negativamente ed in maniera significativa con svariati fattori, tra cui i principali erano rappresentati dal sesso, dall'età e dall'assunzione di terapie anti-epiletiche. La terapia sostitutiva si dimostrava efficace nel ridurre significativamente il colesterolo totale (P < 0.0001) e LDL (P < 0.0001), la circonferenza vita (P = 0.0002) e la massa grassa (P < 0.0001) e questo effetto positivo rimaneva ancora

presente due anni dopo. Non si registravano invece effetti significativi su colesterolo HDL e trigliceridi ^[69]. Analoghe conclusioni emergono dallo studio condotto da Johannsson et al, che hanno confrontato soggetti sani e soggetti con diagnosi di COGHD; questi ultimi, giunti alla rivalutazione in età di transizione dopo due anni dalla sospensione della terapia con GH, si mostravano per circa un 50% GHD permanenti e per il restante 50% non più GHD. L'IGF-1 dei GHD permanenti risultava ridotto, di pari passo con la permanente riduzione della secrezione di GH, e così pure risultavano peggiori i parametri metabolici, in particolare quelli indicativi di adiposità viscerale rispetto ai soggetti che avevano ristabilito una normale secrezione ormonale o ai controlli sani. Questo dato conferma quanto già ipotizzato da altri studi, secondo i quali il GHD permanente in età adulta si riflette nell'accumulo di fattori di rischio cardiovascolari ^[70].

Considerati nel complesso, questi risultati suggeriscono che la terapia sostitutiva con GH potrebbe essere importante non solo a migliorare le condizioni di salute fisica e psichica di queste persone, ma anche a ridurre il rischio di mortalità prematura ^[71].

I dati riguardanti i tassi di mortalità di pazienti con GHD, trattati o meno con GH, sono limitati, ma paiono in ogni caso aumentati nei pazienti con GHD permanente e la causa cardiovascolare sembra essere quella predominante, nelle femmine in modo maggiore rispetto ai maschi ^[72]. Colao et al., invece, sottolineano il ruolo importante che la terapia sostitutiva ha nel ridurre il rischio cardiovascolare globale, ma non riportano differenze di genere ^[73].

Di parere contrario, invece, Lanes et al. ^[76], che hanno condotto uno studio per valutare se la funzione cardiaca e i lipidi sierici fossero alterati nei pazienti con GHD. Posto che il trattamento con GH mostra effetti benefici sull'obesità viscerale, il colesterolo LDL e la funzione cardiaca, come dimostrato da diversi gruppi^[74,75], non esistono ancora prove evidenti che la terapia con GH possa ridurre il tasso di mortalità per cause cardiache in questi pazienti. Inoltre essi affermavano che nel loro studio gli adolescenti GHD, indipendentemente dal fatto che fossero o meno stati trattati con GH, non mostravano alterazioni della massa o funzionalità cardiaca né una precoce aterosclerosi. Tuttavia facevano riferimento alla necessità di seguire nel tempo questi pazienti perché già portatori di rischi cardiovascolari, come la dislipidemia, in grado di accrescere la morbilità cardiovascolare precoce ^[76].

Più recentemente, Carroll et al. hanno analizzato gli effetti del proseguimento o dell' interruzione della terapia con GH sulla composizione corporea valutata tramite DXA, sulla sensibilità insulinica e sul profilo lipidico in 24 adolescenti GHD che avevano raggiunto la statura definitiva. Dopo la conferma del GHD, 12 hanno proseguito la terapia e 12 l'hanno interrotta. I dati valutati a distanza di 6 e 12 mesi indicavano che non vi erano differenze tra i due gruppi in

relazione a sensibilità insulinica e profilo lipidico, ma che i soggetti che avevano continuato la terapia mostravano un incremento di massa magra, che invece rimaneva stazionaria nell'altro gruppo. Concludevano affermando la necessità di proseguire le valutazioni con studi longitudinali per valutare l'impatto (negativo) che questo mancato raggiungimento del picco di massa magra potrebbe avere sulla salute psicofisica dei soggetti in età adulta e se esista una durata temporale critica di sospensione della terapia dopo la quale la risposta al GH si riduca ^[77]. In un altro studio, si promuove la necessità di proseguire la terapia sostitutiva per molto tempo prima di poter osservare un reale miglioramento nei parametri metabolici, dal momento che, dopo solo un anno di trattamento, si osservavano sì un aumento di IGF-1 ($P < 0.0001$) e colesterolo HDL ($P = 0.04$) e una diminuzione di colesterolo totale ($P < 0.0001$), LDL ($P < 0.0001$), trigliceridi ($P < 0.0001$) e fibrinogeno ($P = 0.01$) rispetto ai valori iniziali pre-terapia, ma tutti questi comunque rimanevano alterati rispetto ai controlli sani ^[78].

Un'altra interessante prospettiva proviene da Juul et al. ^[79] e da Böger et al. ^[80], che focalizzano l'attenzione sulla correlazione inversa esistente tra livelli di IGF-1 sierico e malattia ischemica coronarica. In particolare Juul sostiene che individui senza storia di malattia ischemica coronarica ma con ridotti livelli di IGF-1 hanno un rischio aumentato in maniera significativa (RR 0.75) di svilupparla nel giro di 15 anni, che risulta addirittura comparabile con quello introdotto da fattori di rischio più collaudati quali ipertensione arteriosa od ipercolesterolemia ^[79]. Böger aggiunge una spiegazione a questo dato e cioè il fatto che l'IGF-1 esplica un'azione vasodilatante NO-dipendente sulle cellule endoteliali, che risulta ridotta in presenza di quantità insufficienti di IGF-1. Questo sarebbe confermato dal fatto che, durante terapia con GH, aumenta l'escrezione urinaria di nitriti/nitrati e cGMP, markers della produzione di NO ^[80].

4.3.3. Stato e mineralizzazione dell'osso

I bambini e gli adulti con deficit di GH mostrano una riduzione della densità minerale ossea (BMD) se comparati con una popolazione di soggetti sani. In particolare, i giovani adulti con meno di trent'anni, con esordio infantile di GHD, mostrano una significativa riduzione dello spessore corticale, della sezione trasversale corticale (intorno al 23%) e del contenuto corticale totale (di circa il 25%), in associazione a dimensioni ossee inferiori, che risultano in un BMD minore rispetto ai controlli sani appaiati per sesso ed età ^[81, 82, 83, 84].

Tutto questo contribuisce ad aumentare il loro rischio di fratture ^[85]. Infatti, alcuni studi hanno dimostrato che la prevalenza di fratture è 2.7-3 volte superiore negli adulti con ipopituitarismo rispetto a persone standardizzate per età e sesso ^[86].

I dati a nostra disposizione suggeriscono che l'aumento del rischio sia dovuto al GHD piuttosto che agli altri deficit ipofisari o alle loro terapie sostitutive ^[87]. Normalmente circa il 40% della massa ossea è accumulata entro la pubertà, ma tale acquisizione prosegue per un periodo da 1 a 7 anni dopo la fine della crescita staturale ^[88, 89]. Infatti il raggiungimento della statura definitiva precede di molti anni quello del picco di massa ossea e forza muscolare, in entrambi i sessi ed in particolare nei maschi, dove tutte queste tappe sono più tardive rispetto alle femmine. Vi sono due tipi di ormoni che collaborano al fine di garantire una corretta crescita dell'osso: l'ormone somatotropo, appunto, e quelli gonadici. Entrambi risultano fondamentali durante le fasi finali dell'infanzia e la pubertà, ma, mentre l'attività sull'osso degli ormoni sessuali si riduce dopo la saldatura delle epifisi, il GH continua a rivestire un ruolo importante. Questo spiega come mai i pazienti con deficit di tale ormone manifestino problemi a livello osseo ed, in che modo, la terapia con ormone ricombinante possa essere d'aiuto anche in età di transizione.

Un grosso studio, condotto in 22 centri di 12 Paesi diversi (Australia, Belgio, UK, Francia, Germania, Ungheria, Nuova Zelanda, Norvegia, Polonia, Spagna, Svezia e Svizzera) ha voluto analizzare l'impatto del trattamento con GH sull'osso in 160 giovani adulti (tra 18 e 25 anni) con deficit di tale ormone insorto e già trattato in età infantile, partendo dall'assunto che l'interruzione della terapia dopo il raggiungimento della statura definitiva interferisce significativamente con l'acquisizione di una normale densità minerale ossea. I pazienti sono stati randomizzati in due gruppi, di 109 e 51 unità, rispettivamente trattati e non, e sono stati seguiti per due anni. I parametri considerati sono stati principalmente la BMD della colonna lombare, dell'anca e total body; secondariamente, sono stati esaminati anche la fosfatasi alcalina ossea (BAP, marker del metabolismo osseo), valori di IGF-1, IGF-1 SDS e IGFBP 3 è stata valutata tramite DXA, eseguita al tempo zero e, successivamente, dopo 6, 12, 18 e 24 mesi. Dopo due anni, la BMD della colonna lombare risultava significativamente aumentata nei pazienti trattati con GH ($P<0.001$), così come quella dell'anca ($P=0.015$), mentre quella total body non presentava differenze significative ($P=0.315$) rispetto ai controlli. Conformemente alle attese, una netta riduzione di BMD si è verificata nei primi sei mesi di terapia, per poi risalire bruscamente nei successivi 18 mesi, come si evidenzia in Figura 4.

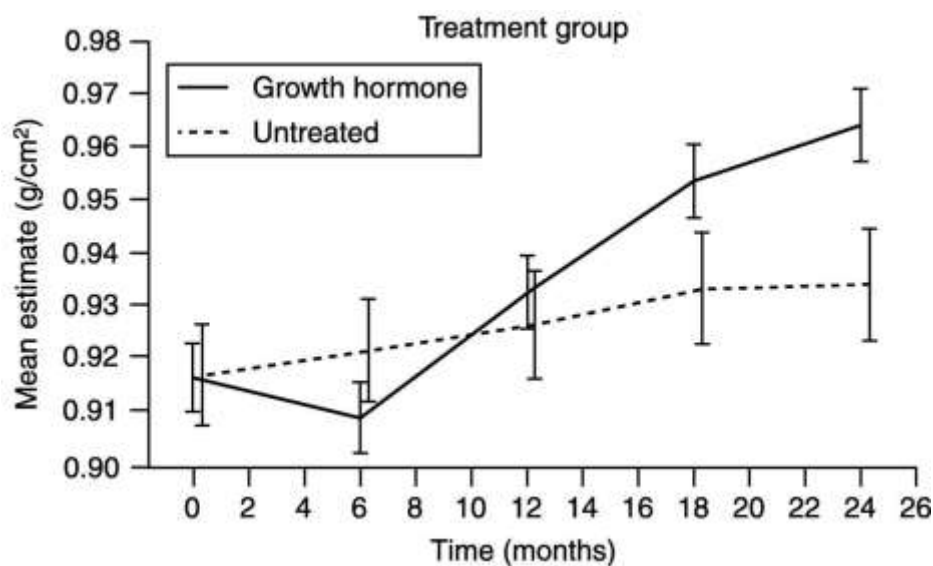


Figura 4. Andamento della BMD alla DXA in una popolazione di pazienti GHD in terapia e non trattati, seguiti per 24 mesi.

In modo reciproco si è comportata la fosfatasi alcalina, aumentata di molto nei primi sei mesi e poi scesa bruscamente, attestandosi a 24 mesi su valori statisticamente significativi rispetto ai controlli ($P=0.012$), come si evince dalla Figura 5.

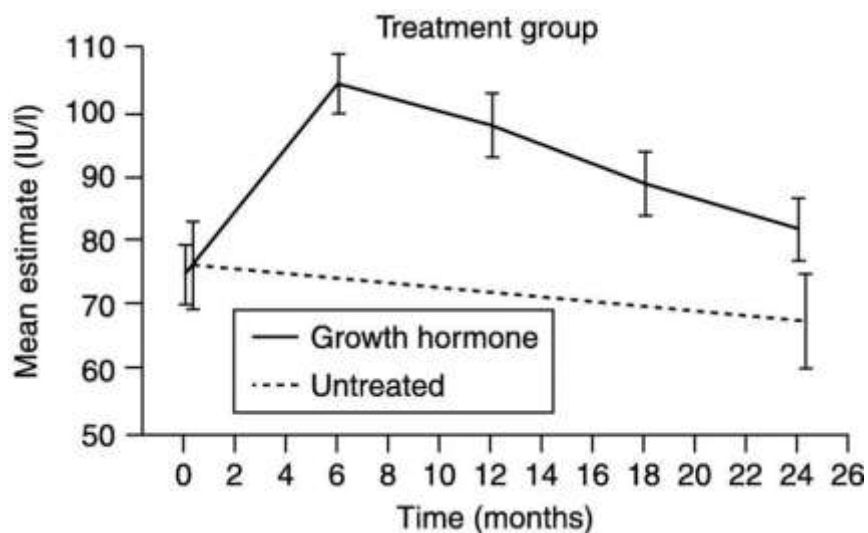


Figura 5. Cambiamenti nei livelli di fosfatasi alcalina durante i 24 mesi di osservazione nei pazienti GHD trattati e non trattati.

Questo comportamento "bifasico" della BMD e della fosfatasi alcalina riflette un primo periodo in cui il riassorbimento minerale osseo predomina sulla deposizione (riduzione BMD ed aumento BAP), ed un successivo in cui i fenomeni s'invertono (aumento BMD e diminuzione BAP).

Gli autori hanno anche evidenziato che i valori di IGF-1 al tempo zero non differivano tra i due gruppi, ma nei pazienti trattati con GH aumentavano nei primi sei mesi di terapia, per poi rimanere costanti. A due anni, l'IGF-1 di queste persone appariva significativamente maggiore rispetto ai controlli ($P < 0.0001$). Se espresso come SDS, si assisteva ad una normalizzazione da -2.25 (tempo zero) a 1.39 (ventiquattro mesi), mentre nei controlli l'IGF-1 SDS rimaneva inferiore ai livelli normali.

Una precisazione appare doverosa: l'aumento di BMD a livello lombare e dell'anca, ma non total body, non deve stupire, poiché esistono differenti tipi di osso e differente è l'azione del GH su ognuno di questi (maggiore sulla componente trabecolare, che costituisce infatti le regioni in cui la BMD è aumentata in maniera significativa). Ciononostante, il risultato ottenuto è di notevole impatto clinico, dal momento che la regione lombare costituisce una delle sedi maggiormente interessate da fratture di natura osteoporotica in età più avanzata.

Alla luce dei risultati ottenuti gli autori concludevano che esiste effettivamente un vantaggio nel trattare con GH i giovani adulti nel periodo di transizione fino al raggiungimento del picco di massa ossea, con l'intenzione di prevenire osteopenia ed osteoporosi di età successive e, come diretta conseguenza, un'aumentata incidenza di fratture ^[90].

Gli stessi autori hanno successivamente valutato gli effetti benefici del GH sulle dimensioni dell'osso corticale analizzando la stessa popolazione mediante la *digital x-ray radiogrammetry* delle ossa metacarpali ogni sei mesi. Dopo 24 mesi, lo spessore corticale risultava aumentato in misura significativa rispetto ai controlli ($P < 0.001$), mentre il diametro endostale ridotto ($P < 0.001$).

Concludevano che la somministrazione di GH è importante per il raggiungimento del picco di massa ossea e che potrebbe contribuire a ridurre il rischio di fragilità corticale delle età successive ^[91].

Questo ed altri studi suggeriscono come sia importante procedere con una terapia con GH ricombinante anche durante l'età di transizione, al fine di consentire l'accumulo di massa ossea necessaria a garantire una situazione di normalità in età adulta ^[92, 93]. Sembra inoltre che gli adolescenti con GHD severo potrebbero non raggiungere il loro picco di massa ossea, giunti in età adulta, qualora il trattamento con GH sia anche solo discontinuo nel tempo, rafforzando il ruolo che questo ormone gioca in questo delicato periodo di consolidamento osseo ^[94].

5. STUDIO

**DIAGNOSIS OF GROWTH HORMONE DEFICIENCY IN THE TRANSITION PERIOD:
"profilo endocrinometabolico in soggetti con disfunzione ipofisaria insorta in età
pediatrica"**

5.1. INTRODUZIONE: Valutazione della funzione ipofisaria GH dipendente

La carenza dell'ormone della crescita (GHD) è una condizione clinica ben nota dal bambino all'adulto. Essa determina un arresto o un rallentamento della velocità di crescita in epoca pediatrica, nonché alterazioni del metabolismo, della composizione corporea ed una più generale riduzione della forza muscolare e alterazione della qualità di vita in assenza di trattamento sostitutivo [Clayton PE et al. *European Journal of Endocrinology*, 2005; Ken Ho et al. *European Journal of Endocrinology*, 2007].

Vi è oggi una forte evidenza che in pazienti con GHD persistente la piena maturazione somatica non venga raggiunta laddove la terapia con GH sia interrotta dopo il raggiungimento della statura definitiva. Pertanto, la decisione di continuare il trattamento dovrebbe essere attentamente valutata durante l'età di transizione (giovani adulti), che si considera compresa tra i 15 e i 25 anni, al termine della crescita staturale come da consensus internazionali, prima nel 2005 e in seguito nel 2007 [Clayton PE et al. *European Journal of Endocrinology*, 2005; Ken Ho et al. *European Journal of Endocrinology*, 2007].

Alcuni pazienti con GHD trattati con ormone della crescita in età pediatrica risultano, dopo la rivalutazione, difetti transitori e non richiedono terapia dopo il raggiungimento della statura definitiva. Pertanto è necessario identificare i pazienti con difetto permanente che necessita, al contrario, di terapia continuativa che non andrebbe mai interrotta.

L'ultima "consensus statement" internazionale raccomanda di rivalutare la funzione ipofisaria GH-dipendente in tutti i soggetti trattati con ormone della crescita in età pediatrica dopo il raggiungimento della statura definitiva ad eccezione dei pazienti con 1) anomalie genetiche/mutazioni dei fattori trascrizionali (es POU1F1, PROP-1, HESX-1, LHX-3, LHX); 2) in cui siano evidenziati 3 o più difetti ipofisari; 3) quei pazienti con GHD isolato associato a mutazioni note (es GH-1, GHRH-R). In tali condizioni è prevista la prosecuzione della terapia con GH senza necessità di ulteriori rivalutazioni.

La valutazione della funzione ipofisaria GH dipendente è notoriamente caratterizzata da una specificità e una sensibilità dei test dinamici estremamente variabile. A tutt'oggi non esistono dei valori di picco di GH dopo arginina, insulina (ITT), clonidina, glucagone, GHRH più arginina, stratificati per età, sesso, stadi puberali e indice di massa corporea. Pertanto, i cut-offs utilizzati nella pratica clinica per la diagnosi di difetto di ormone della crescita in età pediatrica sono inferiori a 8 µg/L dopo arginina, insulina, clonidina, glucagone e inferiori a 20 µg/L dopo GHRH più arginina, indipendentemente dal sesso e dalle variabili sopra specificate.

Per quanto riguarda l'età adulta il valore di cut-off diagnostico di GHD è inferiore a 3 µg/L dopo insulina; vengono tuttavia utilizzati anche altri stimoli di secrezione non standardizzati con riferimento allo stesso valore di cut-off dell'insulina.

Per quanto riguarda l'età di transizione, in cui notoriamente la secrezione di GH è fisiologicamente maggiore rispetto a quella dell'età adulta, ma inferiore a quella dell'epoca puberale (picco), la diagnosi di difetto di GH risulta a tutt'oggi più complessa e meno standardizzata.

La consensus del 2007 fornisce come indicazione per porre diagnosi di GHD permanente in età di transizione, un picco di GH al test dell'ITT inferiore a 6.0 µg/L, valore ottenuto da un lavoro pubblicato dal nostro gruppo [*Mohamad Maghnie et al. European Journal of Endocrinology* 152 589–596, 2005].

Nel 2010 sempre il nostro gruppo ha dimostrato che il valore di 6 µg/L dopo insulina potrebbe essere restrittivo per diagnosticare un deficit di GH permanente in alcuni giovani adulti, confermando la complessità della diagnosi in questa fase di vita ^[59]. Pertanto nella pratica clinica la diagnosi di GHD in età post adolescenziale utilizza dei cut-offs variabili compreso quello di 6 µg/L ottenuto dopo insulina (ITT) pur utilizzando anche altri test di stimolo quali glucagone, arginina, clonidina.

Sebbene l'ITT rappresenti il **gold-standard** con un cut-off accettato a livello internazionale per la diagnosi di GHD permanente, resta, tuttavia, un test dinamico controindicato sia nei bambini che negli adulti affetti da epilessia e/o cardiopatia. Pertanto, altri test dinamici, come il glucagone, devono essere presi in considerazione in alternativa all'ITT quando controindicato.

Il test di stimolo al glucagone (GST) è un test utilizzato come opzione alternativa all'ITT per la diagnosi di GHD, sia nel bambino, come da noi dimostrato in 48 bambini sotto i 6 anni ^[53], sia negli adulti ^[36, 54, 55, 56, 57, 58] in considerazione della sua estrema maneggevolezza, riproducibilità e sicurezza, accuratezza diagnostica e affidabilità.

In tal senso quindi il **test al Glucagone** sembrerebbe costituire una valida alternativa, ma è necessario proporre e validare il cut-off più appropriato per discriminare i GHD meritevoli di terapia in età di transizione rispetto a quelli che possono definirsi risolti al completamento della crescita staturale.

5.2. Razionale:

Sulla base di quanto finora esposto, in considerazione della necessità di standardizzare la risposta ai test di stimolo per il GH in età di transizione (che al momento attuale fa riferimento ad un cut-off disponibile solo per l'ITT, per altro derivato da una ristretta popolazione), il razionale dello studio è trovare l'eventuale conferma del picco di 6.0 µg/L dopo stimolo insulinico e la validazione di un nuovo cut-off per il test al Glucagone.

Dal momento che molti altri fattori influenzano la secrezione del GH, l'interpretazione dei risultati terrà inoltre conto di parametri metabolici dipendenti dal GH, identificati come contributori complementari alla decisione definitiva di proseguire o sospendere il trattamento con GH in età di transizione.

5.3 Scopo dello Studio:

Lo scopo di questo studio è identificare il migliore cut-off per il GST rispetto all'ITT in grado di discriminare tra pazienti con GHD permanente e quelli con GHD transitorio durante l'età di transizione al fine di poter porre diagnosi e trattare adeguatamente soggetti in cui l'ITT non può essere effettuato.

Addizionalmente, lo studio si propone di:

- valutare i parametri clinico-biochimico-metabolico che correlino in modo più significativo alla risposta del GH dopo GST;
- individuare i modelli più predittivi del picco di GH dopo GST.

5.3.1 Obiettivi:

Primario:

Identificare il migliore cut-off per il GST rispetto all'ITT in grado di discriminare tra pazienti con GHD permanente e quelli con GHD transitorio durante l'età di transizione.

Secondari:

Valutare la relazione fra risposta al GST e quella all'ITT ed altri parametri clinico-chimico-metabolici indicativi dell'azione biologica del GH. In particolare, saranno oggetto di valutazione:

- Rapporto vita/fianchi e rapporto vita/altezza
- IGF-1
- Metabolismo glucidico: insulina, glicemia, HOMA IR
- Metabolismo lipidico: profilo lipidico (colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi, rapporto colesterolo totale/HDL)
- Densità minerale ossea
- Composizione corporea (massa magra, massa grassa)

5.4 MATERIALI E METODI

5.4.1. Disegno dello studio

Studio osservazionale trasversale multicentrico.

5.4.2 Popolazione In Studio:

A) CRITERI di INCLUSIONE:

Soggetti con deficit di GH insorto in età pediatrica (COGHD) che:

- Abbiamo richiesto trattamento con GH durante l'età infantile-adolescenza
- Abbiamo raggiunto l'altezza definitiva (definita come velocità di crescita inferiore a 2 cm nell'anno precedente)
- Abbiamo un'età compresa tra 15-25 anni
- Abbiamo raggiunto la completa maturazione puberale (Tanner: stadio 5)
- Abbiamo interrotto il trattamento con GH da almeno 4 settimane prima di ripetere i test di stimolo

B) CRITERI di ESCLUSIONE

Soggetti con deficit di GH insorto in età pediatrica (COGHD) in associazione a:

- Anomalie cromosomiche
- Patologie cardiache e/o epilessia

DEFINIZIONI

- GHD idiopatici: soggetti con diagnosi di GHD in età pediatrica, RM encefalo suggestiva di asse ipotalamo-ipofisario integro e GHD transitorio (con risposta di GH normale alla rivalutazione, ovvero ≥ 8 ng/ml). Questi soggetti saranno considerati “non casi/controlli”.
- GHD secondari: soggetti con diagnosi di GHD in età pediatrica e anomalie dell'asse ipotalamo-ipofisario secondarie a tumori del SNC o ad altre alterazioni malformative della regione stessa, o precedentemente trattati con radioterapia craniale. Questi soggetti saranno considerati “casi”.

5.4.3 Descrizione Del Disegno Sperimentale:

- Tutti i soggetti eleggibili, che rispondano ai criteri di inclusione, sono stati testati per la secrezione di GH in età di transizione dopo il raggiungimento della statura definitiva, dopo almeno 1 mese di "wash-out" dalla precedente terapia con GH e dopo acquisizione di consenso informato scritto.
- Soggetti con deficit ipofisari multipli hanno assunto adeguata terapia sostitutiva per i deficit ormonali presentati; femmine ipogonadiche dovevano essere trattate con terapia ormonale estro-progestinica sostitutiva prima della rivalutazione del GH.
- Ogni soggetto è stato sottoposto alle procedure valutative standard come da **good clinical practice e come previsto dalla NOTA AIFA 39** [*Gazzetta Ufficiale 2014*]. **Tali procedure diagnostiche sono previste indipendentemente dalla partecipazione allo studio.**
- In particolare, nel caso di adesione alla partecipazione allo studio, anamnesi, esame obiettivo, valutazione clinica ed auxologica, esami ematici, test di stimolo per la valutazione della secrezione del GH e DXA sono state condotte previo consenso informato del paziente/famiglia.
- In soggetti che non hanno potuto sottoporsi ad ITT, è stato eseguito solo il GST; in caso di rilievo di ipoglicemia il giorno dell'esecuzione del GST il test è stato re-inviato ad altra data. In caso di impossibilità ad eseguire GST, è stato utilizzato il test GHRH+arginina tenendo conto delle difficoltà interpretative del test in base a quanto pubblicato in letteratura ^[51].

5.4.4 Metodi:

1. Dati demografici e rilievi antropometrici

- Data di nascita
- Diagnosi primaria
- Data della diagnosi primaria
- Data della diagnosi di GHD
- Data di STOP GH
- Data del GH re-testing
- Peso e lunghezza alla nascita
- Altezza
- Peso
- Body mass index (BMI;kg/m²)
- Circonferenza vita e circonferenza fianchi, per il calcolo dei seguenti rapporti: rapporto vita/fianchi (R V/F); rapporto vita/altezza (R V/A)
- Stadio puberale di Tanner

2. Valutazioni Biochimiche:

I soggetti sono stati sottoposti a GST e ITT in giornate separate entro le ore 8 del mattino, dopo adeguato digiuno notturno. In particolare durante i due test di stimolo sono stati eseguiti dosaggi per:

A) GST (glucagone: 30 µg/kg i.m. – max 1 mg-): GH, cortisolo e glicemia secondo lo schema:

- GH e glicemia: 0', 30', 60', 90', 120', 150', 180';
- Cortisolo: 0', 120', 150', 180';

B) ITT (insulina 0.1UI/kg ev al Tempo0): GH, cortisolo e glicemia ai tempi 0', 15', 30', 45', 60', 90', 120' minuti.

In caso il paziente presenti al tempo basale una glicemia di partenza ≤ 50 mg/dl, i test GST e ITT non sono stati eseguiti.

Sono stati inoltre dosati al tempo basale: IGF-I, glicemia, insulinemia, trigliceridi, colesterolo totale, LDL, HDL.

Usando la formula dell'Homeostasis Model Assessment (HOMA-IR- $\text{insulina [mU/l]} \times \text{glucosio [mmol/l]} / 22.5$) è stata calcolata la resistenza insulinica; il rapporto tra colesterolo totale/HDL sarà calcolato come surrogato di dislipidemia.

I dati clinici, biochimici e DXA sono stati estrapolati dalle relazioni compilate in regime di day hospital il giorno dell'esecuzione del primo dei due test di stimolo.

Qualora alcuni tra questi dati non fossero stati disponibili al tempo zero, sono stati considerati validi quelli raccolti in una visita avvenuta non più di 6 mesi prima o dopo la data del primo test.

2. Valutazione densitometrica mediante DXA:

Tutti i pazienti sono stati infine, sottoposti ad una valutazione densitometrica mediante DXA Lunar Prodigy per lo studio di massa ossea e composizione corporea, per la misurazione di:

- Densità minerale ossea, contenuto minerale ossea (BMD, BMC)
- Massa magra e massa grassa (kg, %)

Follow- Up Standard E Rivalutazione Al Completamento Della Crescita Somatica:

I pazienti affetti da GHD permanente e i pazienti con risposte di GH discordanti al primo retesting (intesi come soggetti con picco di GH dopo stimolo con ITT > 6 ng/ml ma valori di IGF1 < -1.7 sds) e che non sono stati trattati con GH, verranno ulteriormente rivalutati per la funzione GH-dipendente all'età di 24-25 anni.

5.4.5 CALCOLO DELLA NUMEROSITA' DEL CAMPIONE E RANDOMIZZAZIONE.

Calcolo della numerosità del campione: Assumendo che l'area stimata sotto la curva ROC deve essere ≥ 0.75 , e al fine di ottenere una curva con uno "standard error" (SE) di area ≤ 0.0356 , saranno arruolati 60 soggetti per ciascun gruppo (casi vs non-casi) (campione complessivo pari a 120 soggetti). Sono state calcolate la sensibilità e la specificità del GST e la capacità discriminante per determinati valori di cut - off della risposta al GST attraverso l'uso di analisi ROC, considerando all'interno della coorte di soggetti GHD, quelli con precedente diagnosi di GHD idiopatico che hanno normalizzato la loro risposta al GH (vedi definizioni) dopo il raggiungimento della statura definitiva (forma transitoria, "non casi"), rispetto ai soggetti con difetto permanente secondario ("casi").

Randomizzazione: non applicabile

Analisi dei dati: L'analisi descrittiva dei pazienti è eseguita al momento del reclutamento. Le variabili qualitative sono riportate in termini di frequenze assolute e percentuali; le variabili quantitative espresse in termini di medie e di deviazioni standard (SD) in caso di dati normalmente distribuiti e in termini di mediane e quartili (1° e 3° quartili) in caso di dati o variabili asimmetriche semi-quantitative.

Peso e BMI sono standardizzati prima dell'analisi dei dati, secondo il metodo LMS [Cole, T.J., 1990], per la realizzazione di standard di crescita normalizzati [European Journal of Clinical Nutrition 44, 45-60]; per la valutazione dell'altezza, abbiamo utilizzato le tabelle di crescita di Tanner, fino ai 18 anni [95]. Il confronto dei dati quantitativi è stato fatto il t-test per dati appaiati (in caso di dati distribuiti normalmente) o con il test di Wilcoxon per dati appaiati. Un valore di p inferiore a 0.05 è considerato statisticamente significativo. Sono state eseguite analisi di correlazioni tra i picchi di GH dopo stimolo con GST/ITT e parametri antropometrici, biochimici, attraverso le medie di Pearson o il coefficiente di correlazione di Spearman. Sono state inoltre costruite Curve ROC al fine di analizzare sensibilità e specificità del miglior cut-off di GH dopo GST discriminante tra GHD permanente e transitorio. Per la realizzazione di ciò, sono stati utilizzati programmi statistici (Statview software®; MedCalc statistical software®).

5.4.6 VALUTAZIONE dei RISULTATI:

Le informazioni ottenute dall'analisi dei dati da ciascun partecipante allo studio sono state raccolte, discusse e confrontate al solo scopo dello studio stesso.

I risultati dello studio saranno oggetto di divulgazione scientifica e pubblicazioni su riviste di settore medico-scientifiche, per conoscenza ad altri medici e ricercatori. I benefici attesi da questa ricerca potranno essere immediati e/o futuri e sono volti essenzialmente ad individuare un test di stimolo per la funzione GH-dipendente alternativo all'ITT, così da estendere la rivalutazione dell'asse ipofisario durante il periodo di transizione anche a quei soggetti che non possono essere sottoposti al test con insulina.

5.5 I RISULTATI: PARTE DESCRITTIVA

5.5.1 POPOLAZIONE IN STUDIO

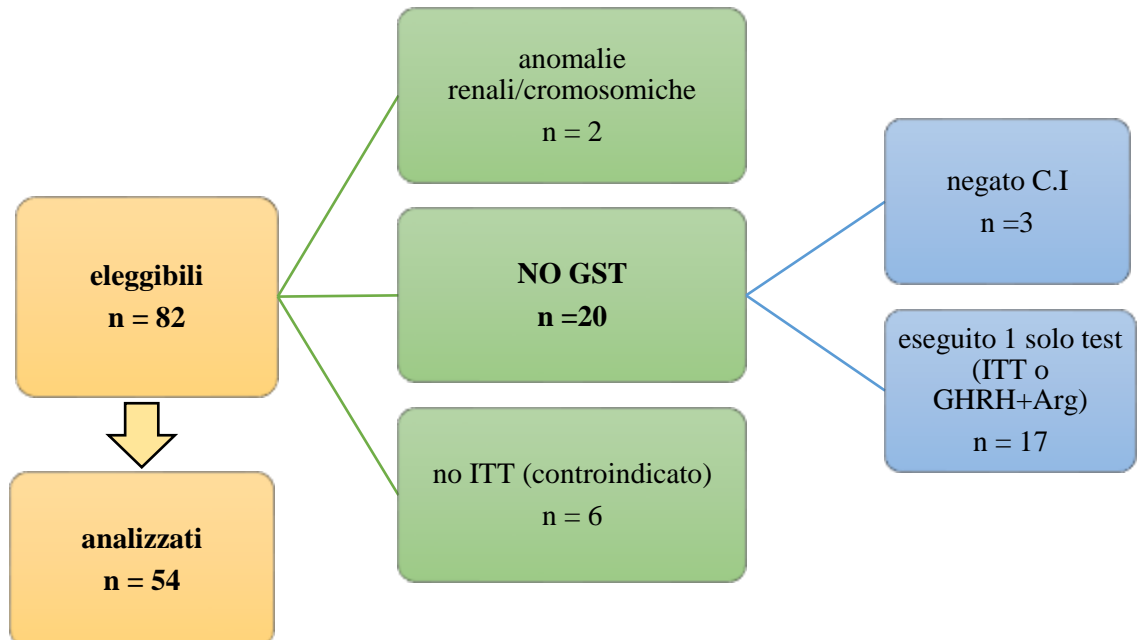
L'arruolamento dei soggetti in esame è iniziato il 01 Gennaio 2014.

Alla data del 30 novembre 2017, n=82 soggetti sono stati giudicati eleggibili:

- n=20 non sono stati indagati con GST (n=3 pazienti hanno negato il consenso informato all'esecuzione del test; n=17 dei restanti sono stati testati o solo con ITT o solo con GHRH+Arginina).

Dei 62 pazienti rimanenti, n=6 presentavano controindicazioni all'esecuzione di ITT e n=2 sono stati esclusi per anomalie renali/cromosomopatie.

Alla fine n= 54 pazienti (19 F e 35 M) sono stati ritestati per la funzione GH-dipendente sia con ITT sia con GST.



Sulla base della patogenesi del GHD insorto in età pediatrica, n=27 soggetti sono stati classificati come GHD secondari a tumori cerebrali (vedi **Tabella 3** per dettaglio sui tipi di tumore) e n=27 classificati come GHD idiopatici.

In quest'ultimo gruppo, n= 7 soggetti mostravano anomalie congenite dell'asse ipotalamo-ipofisario, In **tabella 2** sono elencate le principali anomalie riscontrate all'indagine di neuroimaging dell'encefalo e della sella turcica.

Le principali diagnosi di tumore cerebrale riscontrate tra i GHD secondari sono:

- Medulloblastoma (n=8)
- Craniofaringioma (n=5)
- Germinoma (n=4)
- Glioma chiasmatico (n=2)
- Istiocitosi (n=2)

Tab.2 Distribuzione dei GHD idiopatici per caratteristiche RM encefalo-sellare

	TOT (n)	F (n)	M (n)
Ipoplasia adenoipofisaria	4	0	4
Ipoplasia adenoipofisaria e del peduncolo	1	0	1
Empty sella parziale	1	0	1
Regione sellare normale	18	5	14
Altro (*)	3	0	2
Totale	27	5	22

(*) **altro:** 1 DNET al di fuori della linea ipotalamo-ipofisaria, 2 pineale cistica

Tab.3 Distribuzione dei GHD secondari a tumore cerebrale per tipo di tumore/anomalie congenite

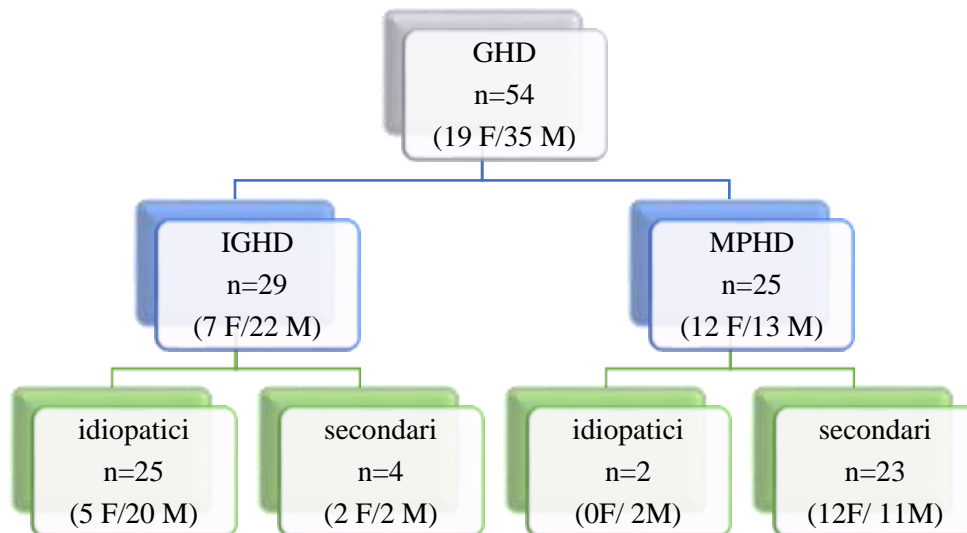
	TOT (n)	F (n)	M (n)
Medulloblastoma	8	5	3
Craniofaringioma	5	3	2
Germinoma	4	1	3
Glioma	2	0	2
Istiocitosi	2	1	1
Ectopia Neuroipofisi	3	1	2
Altro (*)	3	2	1
Totale	27	13	14

(*) **altro:** 1 rabomiosarcoma, 2 ispessimento del peduncolo

I difetti ormonali considerati associati al GHD sono stati l'ipotiroidismo, l'insufficienza surrenalica centrale, l'ipogonadismo e il diabete insipido.

Rispetto al totale dei pazienti, il deficit di GH si presentava isolato in 29 soggetti, combinato o multiplo in 25; di questi, 4 pazienti avevano un quadro di panipopituitarismo, 12 difetti endocrini multipli di 2 o più ormoni, 6 pazienti associavano al GHD un solo altro difetto ormonale e, solamente 1 paziente non associava altro deficit a quello dell'ormone di crescita.

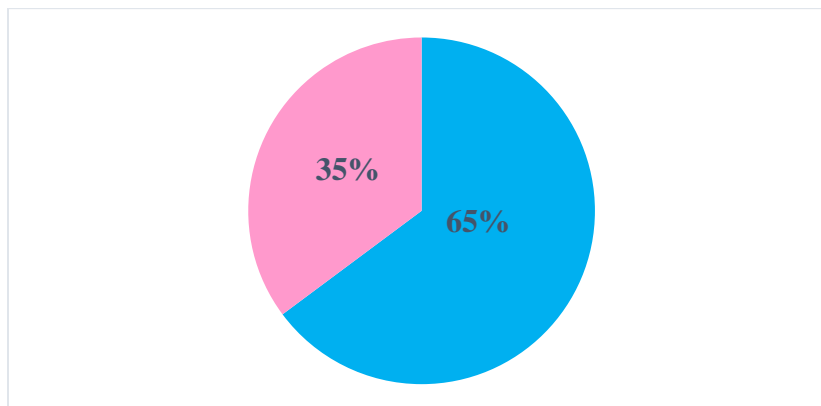
In **Figura 6**, la rappresentazione schematica della popolazione suddivisa per numero ed eziologia di GHD (dove IGHD indica i difetti di GH isolate e MPHD i difetti endocrini multipli).



□ **Generalità**

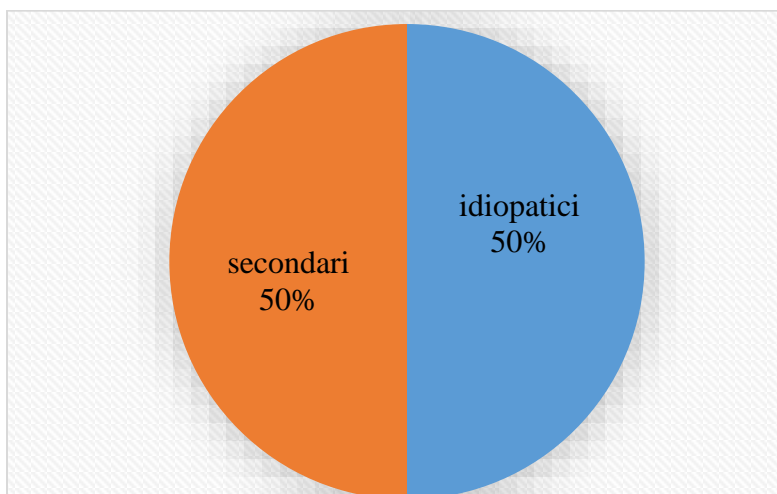
Nel periodo in esame, sono stati analizzati 54 pazienti (19 di sesso femminile e 35 di sesso maschile, rispettivamente 35% e 65%) (Figura 7), con età media alla rivalutazione di $17.51 \pm 1,99$ anni di età (range 12 – 23,92).

Fig 7. Distribuzione della popolazione generale in base al sesso



In base alla distribuzione per eziologia del difetto, come da definizioni, la popolazione era rappresentata per il 50% (n=27) da GHD idiopatico e per il 50% (n=27) da GHD secondario (vedi Figura 8).

Fig 8: distribuzione in base alla patologia



5.5.2. Dati antropometrici, clinici e bioumorali

□ *Popolazione generale*

Lo stadio puberale di Tanner ^[95] è stato rilevato in tutti soggetti esaminati: l'85% (n= 46) dei pazienti era in stadio 5 di Tanner (di cui F n= 14 e M n= 32); il 15% (n= 8) in stadio 4 (di cui F n= 5 3 M n= 3). Dei 46 soggetti in stadio 5 di Tanner, il 39% (n= 18) era rappresentato da soggetti con GHDs.

L'età media alla rivalutazione dell'asse ipotalamo-ipofisario è stata di 17,5 anni (12 ÷ 23,9); le femmine, con un'età di 16,5 anni \pm 2,67 DS, sono risultate significativamente più giovani rispetto ai maschi (P= 0,0041).

Questi ultimi avevano una altezza media pari a 170,4 cm \pm 7,55 DS, confermandosi significativamente più alti rispetto alle femmine in termini assoluti (P <0,0001) ma non in SDS (P=0,1).

I soggetti presentavano un BMI medio di 23,35 \pm 4.14 kg/m², omogeneamente rappresentato nei due sessi, ove non esistevano differenze significative, né in termini di BMI assoluto (P= 0.41) né SDS, calcolato sulla base delle curve dei centili del BMI di Rolland-Cachera (P= 0.4)^[96].

La sintesi dei dati antropometrici è illustrata in **Tabella 4**.

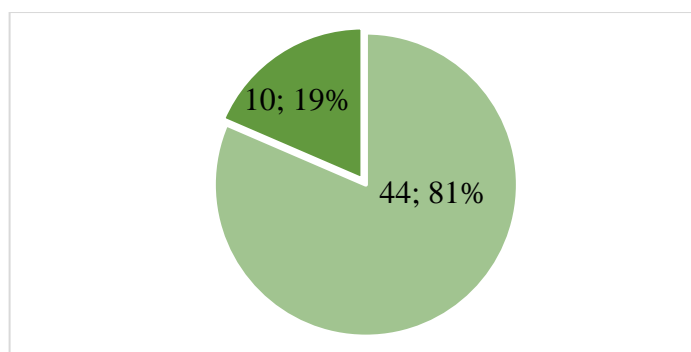
Tab 4. Parametri Antropometrici e clinici nella popolazione generale

	TOTALE (n= 54)	MASCHI (n= 35)	FEMMINE (n= 19)
ETA'***	17,52 (12 ÷ 23,9)	18,07 (15,08 ÷ 21,5)	16,48 (12 ÷ 23,9)
BMI SDS	-0,68 (-2,6 ÷ 3,1)	0,57 (-2,6 ÷ 3,1)	- 0,88 (-2,1 ÷ 3)
BMI kg/mq**	23,35 (16,6 ÷ 35,4)	23 (16,8 ÷ 35,4)	23,98 (16,6 ÷ 34,7)
Altezza cm ***	166,5 (-147,6 ÷ 189,3)	170,4 (-157,2 ÷ 189,3)	159,3 (-147,6 ÷ 189,3)
Altezza SDS	0,35 (-2,6 ÷ 3,1)	0,27 (-2,6 ÷ 3,1)	0,51 (-2,1 ÷ 2,8)

*P <0.05; **P <0.01; ***P <0.0001

Il 18,5% (n=10) dei pazienti era affetto da obesità presentando un BMI SDS >2; tra questi, 5 femmine e 5 maschi; rispetto alla diagnosi di deficit di GH, tra i soggetti obesi, ben il 90% (n=9) erano GHD secondari (figura 9).

Fig 9: percentuale di soggetti obesi nella popolazione in studio



Dall'analisi dei parametri bioumorali, è emerso che dopo ITT e dopo GST i picchi medi di GH sono stati rispettivamente $11,96 \pm 1,72$ ng/ml e $9,16 \pm 1,19$ ng/ml.

Non sono state evidenziate significative differenze nella risposta al test insulinico dei maschi rispetto alle femmine ($P=0,05$), mentre queste ultime hanno avuto una risposta dopo glucagone significativamente ridotta rispetto ai maschi ($P=0,02$).

Le femmine mostrano infine una secrezione di IGF-1 lievemente ridotta rispetto ai maschi ($P=0,02$), ma non significativa in termini di IGF1 SDS ($P= 0,051$) (vedi tabella 5).

Tab 5. Parametri bioumorale nella popolazione generale

	TOTALE (n= 54)	MASCHI (n= 35)	FEMMINE (n= 19)
IGF-1 ng/ml *	272,19 (26,9 ÷ 635) (n=53)	303,38 (75,6 ÷ 635)	211,55 (26,9 ÷ 514,1)
IGF-1 SDS	-1,26 (-8,13 ÷ 2,23)	0,57 (-2,6 ÷ 3,1)	- 0,88 (-2,1 ÷ 3)
Picco ITT	11,96 (0,03 ÷ 52,8)	14,47 (0,03 ÷ 52,8)	7,32 (0,03 ÷ 31,55)
Picco GST *	9,16 (0,03 ÷ 31,5)	11,06 (0,03 ÷ 31,5)	5,68 (0,03 ÷ 24,25)

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

Popolazione divisa per etiologia del difetto di GH

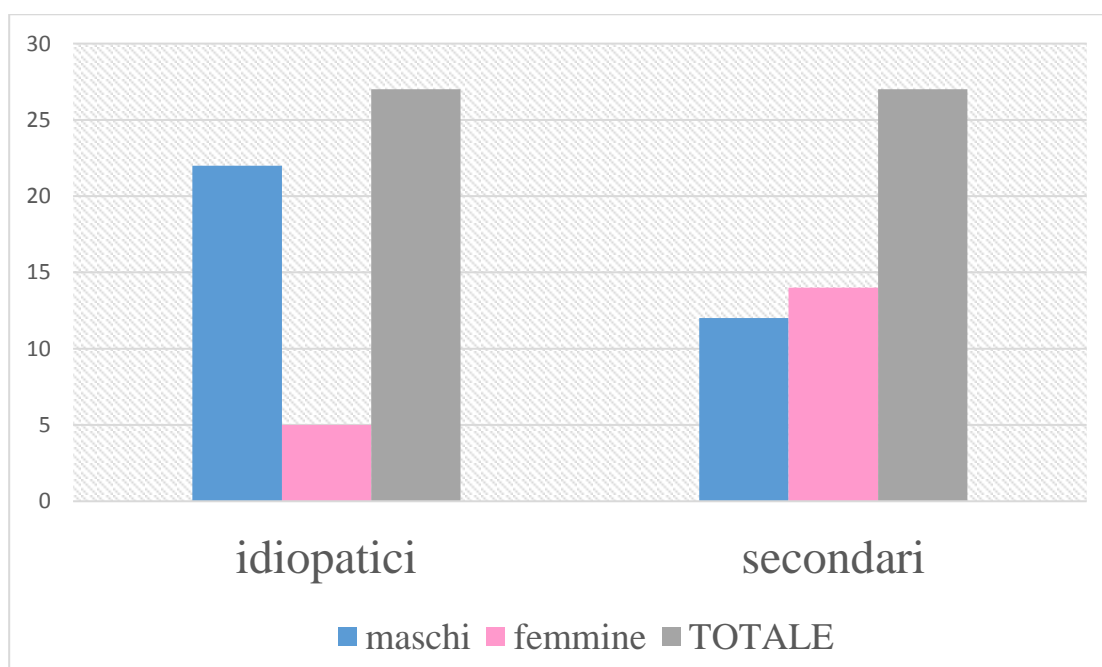
Come già anticipato nelle premesse, la popolazione era composta in maniera omogenea, 50% (n=27) da GHD idiopatico e 50% (n=27) da GHD secondario (vedi Figura 3), così ripartita tra i sessi:

- 35% (n=19) Femmine, di cui n=5 con difetto idiopatico e n=14 secondario
- 65% (n=35) Maschi, di cui n=22 con difetto idiopatico e n=13 secondario (tabella 6 e figura 10).

Tab. 6: distribuzione in base alla patologia e al sesso

	<i>TOTALE</i>	<i>Femmine</i>	<i>Maschi</i>
<i>GHDi</i>	27	5	22
<i>GHDs</i>	27	14	13
<i>TOTALE</i>	54	19	35

Fig 10: distribuzione in base alla patologia e al sesso



I soggetti con GHDI avevano un'età media alla rivalutazione è stata di 17,7 anni \pm 0,27 DS ed un'altezza media di 168 cm \pm 8,78 DS.

I soggetti con GHDs avevano un'età media alla rivalutazione è stata di 17,3 anni \pm 2,45 DS ed un'altezza media di 165 cm \pm 11,2 DS.

Nessuna differenza significativa è stata riscontrata tra GHDI e GHDs in termini di età ($P = 0,43$), di altezza assoluta ($P=0,27$) e di altezza in SDS ($P=0,29$).

I soggetti con difetto secondario presentavano, invece, un BMI significativamente più alto rispetto ai soggetti con deficit idiopatico, confermandosi più pesanti sia in termini assoluti (BMI 25,6 kg/m² \pm 4,3 DS; $P < 0,0001$) sia in termini di SDS (BMI SDS 1,34 \pm 1 DS; $P < 0,0001$).

Tab 7 Parametri Antropometrici e clinici nella popolazione GHDI vs GHDs

	TOTALE (n= 54)	SECONDARI (n= 27)	IDIOPATICI (n= 27)
ETA'	17,52 (12,0 ÷ 23,9)	17,29 (12 ÷ 23,92)	17,73 (14,75 ÷ 19,9)
BMI SDS ***	0,68 (-2,6 ÷ 3,1)	1,34 (-1,90 ÷ 3,1)	0,03 (-2,6 ÷ 2,4)
BMI kg/mq***	23,4 (16,6 ÷ 35,4)	25,6 (16,9 ÷ 35,4)	21 (16,6 ÷ 26,4)
Altezza cm	166,5 (147,6÷189,3)	165 (147,6÷189,3)	168 (148,6÷189,3)
Altezza SDS	-0,73 (-3,8 ÷ 2,2)	-0,55 (-2,8 ÷ 2,2)	- 0,91 (-3,8 ÷ 0,9)

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

Nel confronto con i GHDI, i pazienti con GHDs hanno avuto:

- a. una secrezione di IGF-1 sia in termini assoluti ($175,5 \text{ ng/ml} \pm 94,5 \text{ DS}$) sia in SDS ($-2,6 \pm 2,1$) e
- b. una risposta ai test di stimolo più bassa, sia dopo ITT (picco medio $3,43 \text{ ng/ml} \pm 1,02 \text{ DS}$) sia dopo GST (picco medio $2,22 \text{ ng/ml} \pm 2,55 \text{ DS}$),
con livelli di significatività pari a $P < 0,0001$ per tutti i parametri esaminati.

Tab. 8 Parametri biumorali nella popolazione GHDi vs GHDs

	TOTALE (n= 54)	SECONDARI (n= 27)	IDIOPATICI (n= 27)
IGF-1 ng/l ***	272,2 (26,9 ÷ 635) (n=53)	175,5 (26,9 ÷ 345,4)	372,6 (221,4 ÷ 635) (missing n=1)
IGF-1 SDS ***	-1,26 (-8,13 ÷ 2,23) (n=53)	-2,64 (-8,13 ÷ -0,5)	0,18 (-1,42 ÷ 2,23) (missing n=1)
Picco GH dopo ITT ***	11,96 (0,03 ÷ 52,8)	3,43 (0,03 ÷ 24,6)	20,5 (3,95 ÷ 52,8)
Picco GH dopo GST***	9,16 (0,03 ÷ 31,5)	2,22 (0,03 ÷ 10,78)	16,1 (6,44 ÷ 31,5)

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

Fig. 11: picchi di GH dopo ITT e GST nella popolazione generale

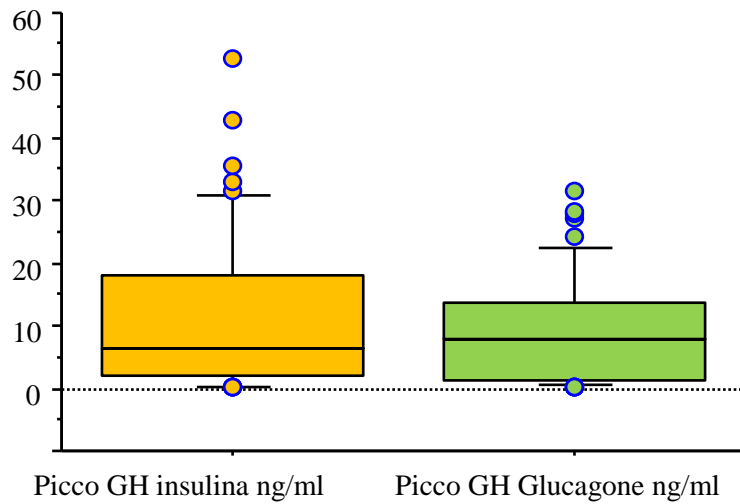
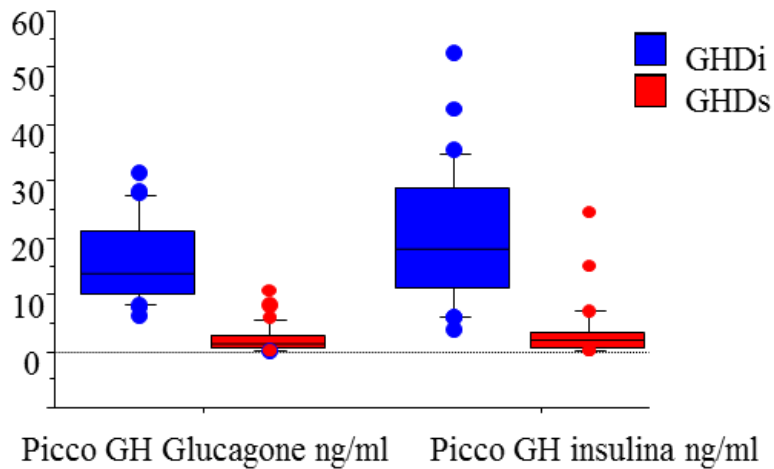


Fig. 12 picchi di GH dopo ITT e GST nella popolazione GHDi vs GHDs



5.5.3. Profilo biochimico e metabolico

○ *Popolazione generale*

Per la valutazione della omeostasi glucidica, sono stati eseguiti dosaggi di glicemia sulla totalità della popolazione, insulina (su n= 52 pazienti) ed emoglobina glicata (n= 51).

I valori medi sono stati rispettivamente: glicemia 90 mg/dl \pm 7,73 DS, insulina 11,14 U/ml \pm 5,43 DS ed emoglobina glicata 4,98% \pm 0,3 DS. (tabella 11)

Nessuna differenza significativa è stata riscontrata tra M e F per i parametri sopra menzionati (glicemia P = 0,14; insulina P = 0,09; HbA1C P = 0,42).

Tab. 11: omeostasi glucidica suddivisa per sesso

	TOTALE (n= 54)	MASCHI (n= 35)	FEMMINE (n=19)
Glicemia mg/dl	90 (73 ÷ 108)	91 (76 ÷ 108)	88 (73 ÷ 104)
Insulina U/ml	11,1 (1,5 ÷ -30,2) Missing = 2	10,2 (3,4 ÷ 20,3) Missing = 2	12,8 (1,5 ÷ -30,2)
HbA1C %	4,98 (4,4 ÷ 5,7) Missing = 3	5 (4,4 ÷ 5,7) Missing = 3	4,93 (4,5 ÷ 5,6)

Per la valutazione della *omeostasi lipidica*, sono stati dosati: Trigliceridi e Colesterolo su tutti i pazienti arruolati; HDL ed LDL su 53 dei 54 pazienti screenati.

I valori medi sono osservati sono stati: Trigliceridi 76,9 mg/dl \pm 29,5 DS; Colesterolo totale mg/dl 161,18 \pm 39,25 DS; HDL mg/dl 55,55 \pm 19,5 DS; LDL mg/dl 91,43 \pm 31,2 DS. (tabella 12)

Anche in questo caso, nel confronto tra Maschie Femmine, non vi era differenza significativa per tutti i parametri (TG P = 0,17; Colesterolo P = 0,09; HDL P = 0,81; LDL P = 0,085)

Tab. 12: omestasi lipidica della popolazione suddivisa per sesso

	TOTALE (n= 54)	MASCHI (n= 35)	FEMMINE (n=19)
TG mg/dl	76,9 (27 ÷ 160)	72,9 (27 ÷ 160)	84,3 (35 ÷ 145)
Colesterolo mg/dl	161,18 (100 ÷ 338)	154,6 (103 ÷ 247)	173,3 (100 ÷ 338)
HDL mg/dl	55,5 (30 ÷ 160) Missing = 1	56 (30 ÷ 160) Missing = 1	54,7 (35 ÷ 80)
LDL mg/dl	91,4 (46 ÷ 215) Missing = 1	85,9 (46 ÷ 171) Missing = 1	101,3 (50 ÷ 215)

- *Popolazione divisa per etiologia del difetto di GH*

Analogamente, sono stati studiati gli stessi parametri, suddividendo la popolazione in base alla condizione di deficit idiopatico vs secondario.

Valutazione della *omeostasi glucidica*: i GHDs hanno avuto una secrezione media di glucosio pari a 87 mg/dl ($\pm 8,2$ DS) significativamente ridotta rispetto ai GHDi (95,6 mg/dl $\pm 6,3$ DS) (P = 0,01).

Tale significatività non trovava conferma relativamente alla produzione di Insulina (GHDs 11,97 $\pm 6,6$ vs GHDi 10,25 $\pm 3,78$; P = 0,25) e di Emoglobina glicata (GHDs 5 $\pm 0,32$ vs GHDi 4,95 $\pm 0,27$; P = 0,44). (Tabella 13)

Tab. 13: omeostasi glucidica della popolazione suddivisa per etiologia

	TOTALE (n = 54)	SECONDARI (n = 24)	IDIOPATICI (n = 30)
Glicemia mg/dl *	90 (73 ÷ 108)	87 (73 ÷ 104)	92 (81 ÷ 108)
Insulina U/ml	11,1 (1,5 ÷ -30,2) Missing = 2	11,9 (1,5 ÷ 30,2)	10,2 (1,5 ÷ 17,3) Missing = 2
HbA1C %	4,98 (4,4 ÷ 5,7) Missing = 3	5 (4,5 ÷ 5,7)	4,95 (4,4 ÷ 5,4) Missing = 3

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

Valutazione della *omeostasi lipidica*: i soggetti con GHDs hanno avuto valori medi di colesterolo totale e di colesterolo LDL significativamente più elevati rispetto ai soggetti con GHDI (CT: GHDs 171,8 mg/dl \pm 48 DS vs GHDI 150,6 mg/dl \pm 26,4 DS, P = 0,04; LDL: GHDs 101 mg/dl \pm 39,2 DS vs GHDI 82,1 mg/dl \pm 16,9 DS, P = 0,02).

Il trend non si confermava per quanto concerne i Trigliceridi (P = 0,51) ed il colesterolo HDL (P = 0,73). (Tabella 14)

Tab. 14: omeostasi lipidica della popolazione suddivisa per sesso

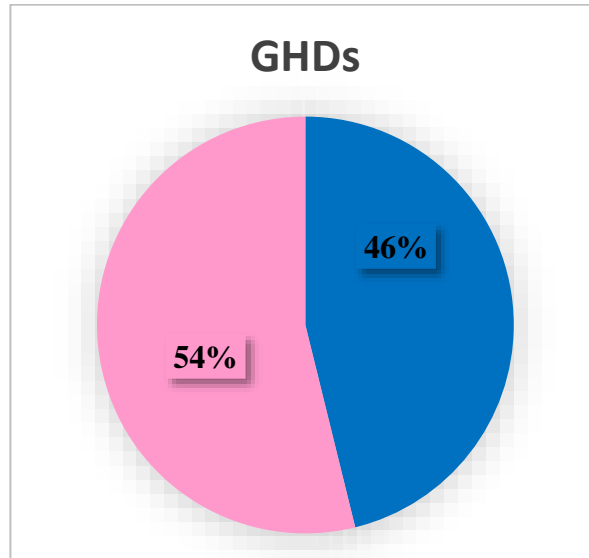
	TOTALE (n= 54)	SECONDARI (n = 27)	IDIOPATICI (n = 27)
TG mg/dl *	76,9 (27 ÷ 160)	75,3 (27 ÷ 145)	79,5 (35 ÷ 160)
Colesterolo mg/dl	161,18 (100 ÷ 338)	171,8 (100 ÷ 338)	150,6 (103 ÷ 225)
HDL mg/dl	55,5 (30 ÷ 160) Missing = 1	56,5 (35 ÷ 91) Missing = 1	54,6 (30 ÷ 160)
LDL mg/dl *	91,4 (46 ÷ 215) Missing = 1	101 (46 ÷ 215) Missing = 1	82,1 (46 ÷ 124)

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

Popolazione dei GHD secondari

- *Dati antropometrici e clinici*

Come anticipato, i soggetti con GHDs rappresentano il 50% (n= 27 pazienti) della popolazione in studio, composta in maniera pressoché eterogenea da Femmine (n= 14) e Maschi (n= 13).



I soggetti con difetto secondario avevano un'età media alla rivalutazione di 17,29 anni \pm 2,45 DS, un BMI medio di 25,64 kg/mq \pm 4,29 DS ed un BMI SDS pari a 1,34 \pm 1,08 DS.

Nessuna differenza significativa è stata riscontrata tra Maschi e Femmine GHDs in termini di età (P = 0,28), BMI kg/mq (P = 0,78) e BMI SDS (P = 0,80).

L'altezza media dei GHDs era di 165 cm \pm 11,2 DS.

I Maschi sono risultati più alti in termini assoluti (172,6 cm \pm 9,28 DS) rispetto alle femmine (157,9 cm \pm 7,67 DS) con una differenza statisticamente significativa (P = 0,0001).

Tale dato non si confermava in termini di altezza SDS (P = 0,27).

Si veda tabella 9

Tab. 9 Dati antropometrici e clinici nel gruppo dei GHDs, divisi per sesso

	TOTALE (n= 27)	MASCHI (n= 13)	FEMMINE (n=14)
ETA'	17,3 (12 ÷ 23,92)	17,8 (15,08 ÷ 21,5)	16,8 (12 ÷ 23,9)
BMI SDS	1,34 (-1,9 ÷ 3,1)	1,39 (0,29 ÷ 3,1)	1,29 (-1,9 ÷ 3)
BMI kg/mq	25,64 (16,9 ÷ 35,4)	25,9 (20,9 ÷ 35,2)	25,4 (16,9 ÷ 34,7)
Altezza cm **	164,99 (147,6 ÷ 189,3)	172,64 (157,2 ÷ 189,3)	157,9 (147,6 ÷ 168,6)
Altezza SDS	-0,4 (-0,9 ÷ 0,5)	-0,57 (-0,9 ÷ 0)	- 0,15 (-0,8 ÷ 0,5)

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

- **Dati biumorali**

Riguardo ai parametri biochimici, secrezione media di IGF-1 è stata di 175,5 ng/ml \pm 94,49 DS, mentre il valore in SDS era di -2,64 \pm 2,1; nessuna differenza tra i sessi è stata evidenziata (rispettivamente IGF-1 P = 0,89; IGF-1 SDS P = 0,63).

Il picco medio di GH dopo ITT era di 3,43 ng/dl (\pm 5,3 DS), mentre dopo GST era di 2,22 ng/dl \pm (2,5 DS). Non sono state evidenziate differenze di risposta ai test di stimolo tra i due sessi (P= 0,74 per ITT; P = 0,93 per GST).

Infatti le risposte sono state:

- Per ITT: M picco 3,07 ng/dl \pm 4,16 DS; F picco 3,76 ng/dl \pm 6,32 DS;
- Per GST: M picco 2,27 ng/dl \pm 2,4 DS; F picco 2,18 ng/dl \pm 2,76 DS). (Tabella 10)

Tab. 10 Dati biumorali nel gruppo dei GHDs, divisi per sesso

	TOTALE (n= 27)	MASCHI (n= 13)	FEMMINE (n=14)
IGF-1 ng/l	175,5 (26,9 \div 345,4)	178,15 (75,6 \div 312,4)	173,06 (26,9 \div 345,4)
IGF-1 SDS	-2,64 (-8,13 \div 0,5)	-2,43 (-6,1 \div -0,16)	-2,83 (-8,13 \div 0,5)
Picco GH dopo ITT	3,43 (0,03 \div 24,6)	3,74 (0,0,3 \div 24,6)	3,07 (0,03 \div 15,1)
Picco GH dopo GST	2,22 (0,03 \div 10,78)	2,27 (0,03 \div 8,4)	2,18 (0,03 \div 10,78)

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

5.6 I RISULTATI: la STATISTICA

5.6.1 CORRELAZIONI

I pazienti con difetto di GHD secondario presentano picchi di GH significativamente inferiori, sia dopo ITT sia dopo GST, e valori di IGF-1 più bassi, rispetto ai pazienti con GHD idiopatico (tabella 8).

Al fine di verificare l'ipotesi di una relazione tra il picco di GH e l'adiposità, abbiamo valutato le correlazioni tra la risposta del GH dopo stimolo e il BMI.

- *Popolazione generale:*

Nella popolazione generale, abbiamo trovato:

a) Per ITT:

- Una correlazione moderata tra ITT e IGF-1 ($R = 0,49$; $P = 0,0002$) e IGF-1 SDS ($R = 0,53$; $P < 0,0001$);
- Una correlazione moderata ma inversa per BMI ($R = -0,41$; $P = 0,002$) e BMI SDS ($R = -0,38$; $P = 0,0041$).

b) Per GST:

- Una correlazione forte tra i picchi ai due test di stimolo ($R = 0,84$; $P < 0,0001$) (figura 13);
- Una correlazione moderata tra picco di GST e IGF1 ($R = 0,52$, $P < 0,0001$) e picco di GST e IGF1-SDS ($R = 0,57$, $P < 0,0001$) (figure 14);
- Tra picco di GH dopo GST e BMI, esiste una relazione moderata e inversa ($R = -0,49$; $P = 0,0001$ per BMI kg/mq; $R = -0,47$, $P = 0,0003$ per BMI SDS) (figure 15).

Fig. 13: Correlazione tra ITT e GST nella popolazione generale

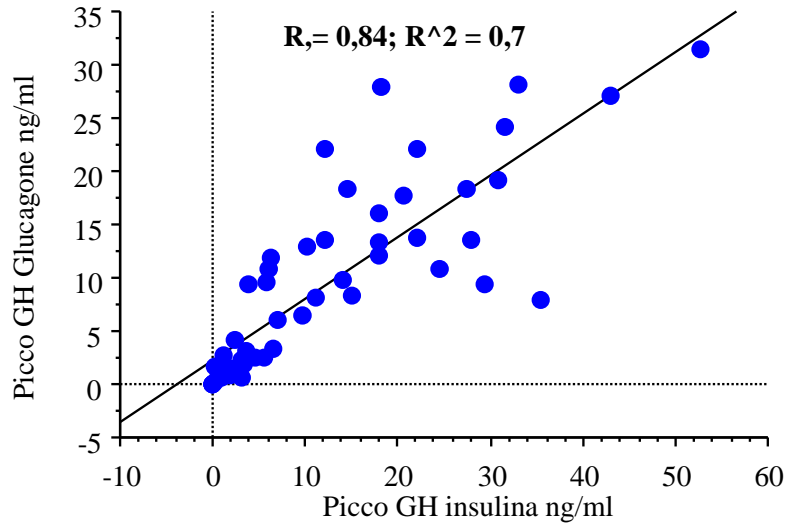


Fig.14 Correlazione tra GST e IGF-1 e IGF-1 SDS nella popolazione generale

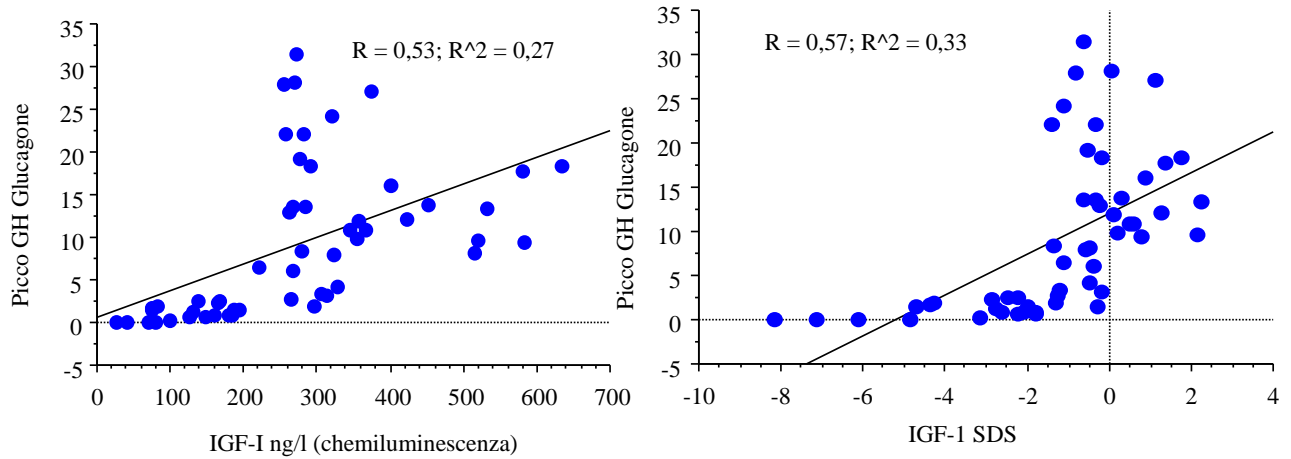
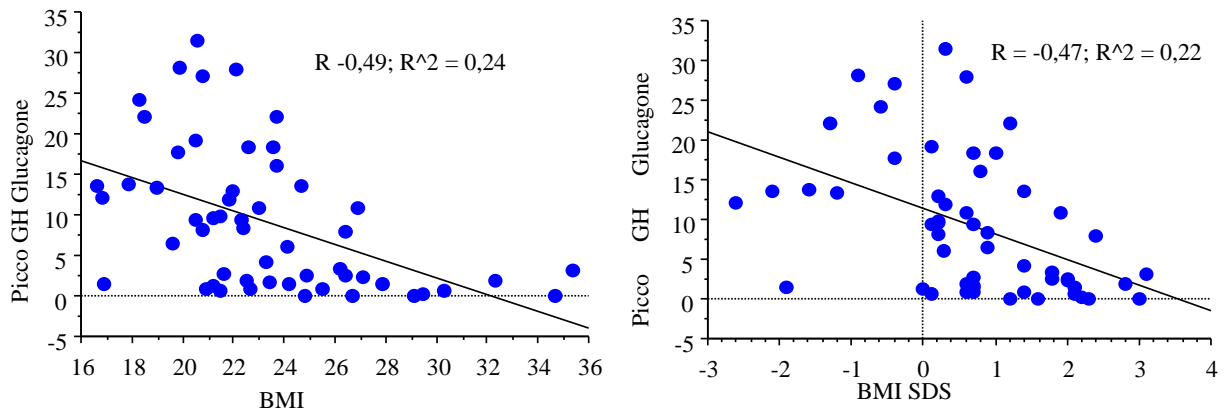


Fig.15 Correlazione tra GST e BMI e BMI SDS nella popolazione generale



- *Popolazione divisa per etiologia del difetto di GH*

E' stata successivamente eseguita l'analisi della popolazione, suddividendola in base all'etiologia del GHD (GHDs vs GHDi).

Anche in questo caso, abbiamo dimostrato che i picchi di GH ad entrambi i test di stimolo sono fortemente correlati ($r > 0.9$) nei pazienti con GHD secondario e moderatamente nei soggetti con GHD idiopatico ($r = 0,4$). (Figura 16)

Il picco di GH al Glucagone ha una correlazione positiva e moderata con i valori di IGF-1 e positiva e forte con IGF-1 SDS, solo nei pazienti con GHD secondario.

La correlazione con picco GST diventa inversa nel gruppo degli idiopatici: moderata per l'IGF-1, debole per l'IGF-1 SDS. (Figura 17)

Analogamente, la correlazione diventa negativa tra picco al GST vs BMI e GST vs BMI SDS nei pazienti di ambedue i gruppi. (Figura 18)

Risultati analoghi sono stati osservati anche dopo lo stimolo con ITT.

In tabella 15 sono rappresentate le correlazioni tra picco di GH dopo ITT o picco di GH dopo GST e valori di IGF-1e BMI SDS e i valori di P ed R per tutti i parametri analizzati

Tali relazioni risultavano significative solo nei GHDS.

Fig 16: correlazione tra picco ITT e picco GST

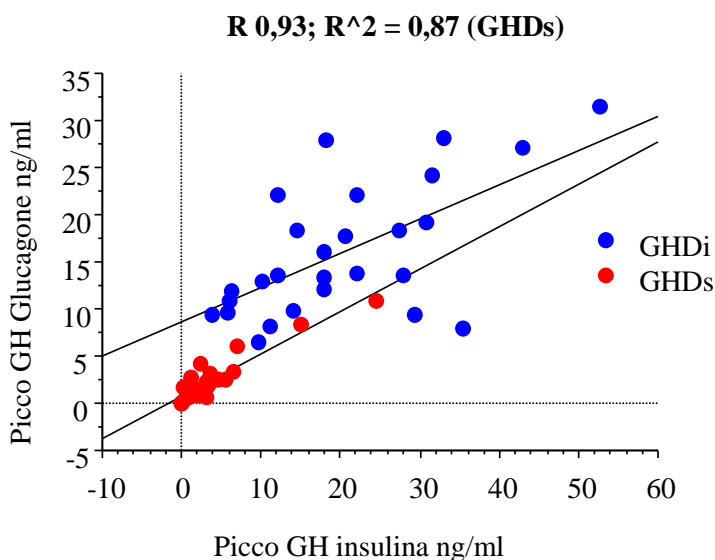


Fig 17: correlazioni picco GST con IGF-1 e IGF-1 SDS

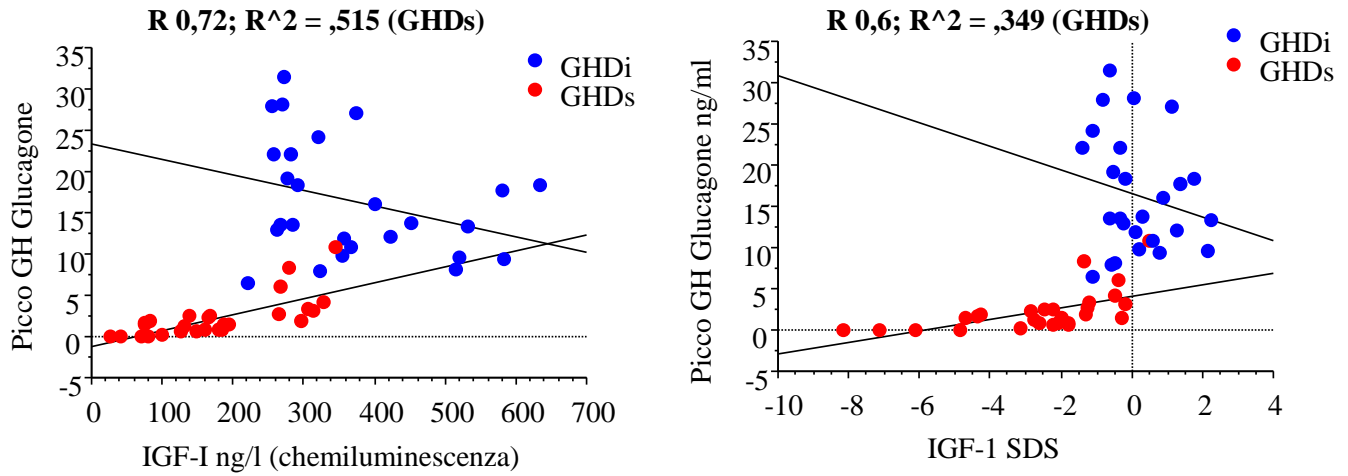
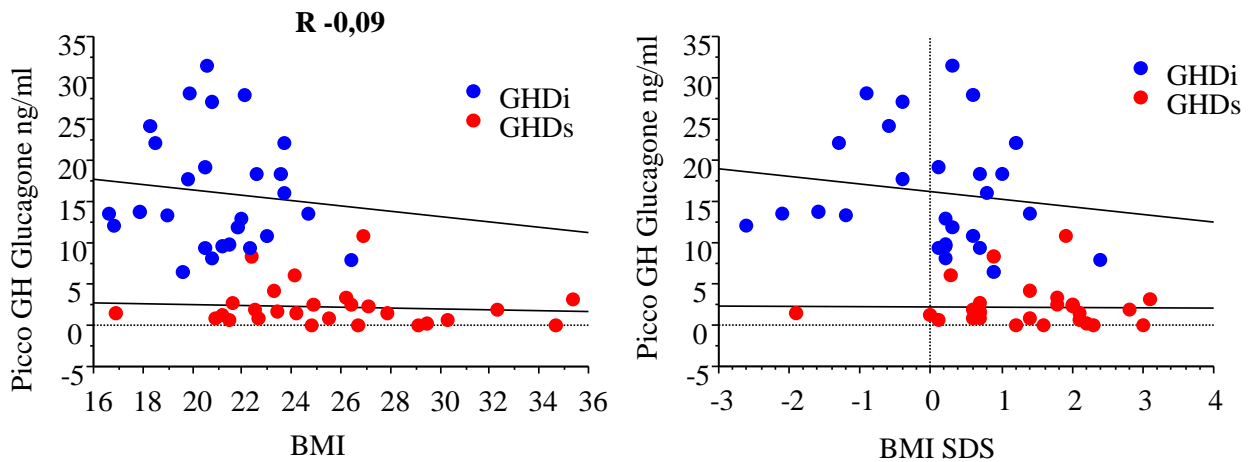


Fig. 18: correlazioni picco GST con BMI e BMI SDS



Tab. 15 Correlazioni semplici tra picco di GH all' ITT e al GST, IGF-1, IGF-1 SDS e BMI

	R		P value	
	SECONDARI (n=24)	IDIOPATICI (n=30)	SECONDARI (n=24)	IDIOPATICI (n=30)
Picco GH all'ITT/ Picco GH al GST	0,933^{##}	0,623	<0,0001***	0,0003**
Picco GH all'ITT/ IGF-1 SDS	0,5[#]	-0,17	0,005*	0,4
Picco GH all'ITT/ IGF-1	0,6[#]	-0,198	0,0006*	0,3
Picco GH all'ITT/ BMI SDS	0,16	-0,11	0,6	0,58
Picco GH all'ITT/ BMI kg/mq	0,02	-0,11	0,92	0,57
Picco GH al GST/IGF-1 SDS	0,6[#]	-0,2	0,0009*	0,3
Picco GH al GST/IGF-1	0,72^{##}	-0,32	<0,0001***	0,11
Picco GH al GST/BMI SDS	-0,008	- 0,14	0,97	0,48
Picco GH al GST/BMI kg/mq	-0,09	-0,11	0,65	0,59

*P <0.05; **P <0.001; ***P <0.0001

^{##}R ≥ 0,7 (relazione forte); [#]R 0,3-0,7 (relazione moderata)

5.6.2. Regressioni multiple

Sono state successivamente eseguite analisi di regressione multipla per valutare i modelli più predittivi dei picchi di GH dopo ITT e GST.

All'analisi di regressione multipla si è evidenziato che il picco di GH dopo ITT risultava significativamente predittivo del picco di GH al GST, sia analizzando la popolazione in toto (β 0.58, $P < 0.0001$, R^2 0.7), sia suddivisa per diagnosi (GHDS β 0.455, $P < 0.0001$; GHDI β 0.36, $P = 0.0005$). Tale predittività si confermava significativa anche dopo correzione per IGF-1 SDS e BMI SDS (R^2 0.9 nei GHDS vs 0.4 nei GHDI) e dopo correzione per IGF-1 ng/dl e BMI kg/mq (R^2 0.93 nei GHDS vs R^2 0.4 nei GHDI), soprattutto per il gruppo dei GHDS.

Nelle tabelle 16 e 17 sono elencati dettagliatamente i valori.

Tab. 16: regressione semplice ad una sola variabile indipendente (ITT)

<i>Picco GST</i>	β	<i>P</i>	<i>R</i>	R^2
<i>Popolazione in toto</i>	0,58	<0,0001	0,84	0,7
<i>GHD idiopatici</i>	0,36	0,0005	0,62	0,4
<i>GHD secondari</i>	0,45	< 0,0001	0,93	0,87

Tab. 17: regressione multipla a 3 variabili indipendenti (ITT, IGF-1, BMI)

<i>Picco GST</i>		β	<i>P</i>	<i>R</i>	R^2
<i>Dopo correzione per IGF-1SDS e BMI SDS</i>	<i>GHD idiopatici</i>	0,34	0,003	0,62	0,4
	<i>GHD secondari</i>	0,42	<0,0001	0,95	0,9
<i>Dopo correzione per IGF-1 e BMI</i>	<i>GHD idiopatici</i>	0,33	0,003	0,64	0,4
	<i>GHD secondari</i>	0,37	<0,0001	0,96	0,93

5.6.3 Analisi ROC

A completamento, sono state analizzate sensibilità e specificità del miglior cut-off di GH dopo GST, discriminante tra GHD permanente e transitorio, attraverso al costruzione di curve ROC.

Le analisi ROC per ITT identificano come migliore cut-off per la discriminazione tra soggetti con deficit idiopatico vs secondario il valore di 5.65 $\mu\text{g/L}$ (Figura 19), con una sensibilità dell'85% ed una specificità superiore al 90%.

L'ITT tende ad identificare con soggetti con diagnosi di GHD idiopatico vs secondario con una precisione prossima all'82%. (Tabella 18).

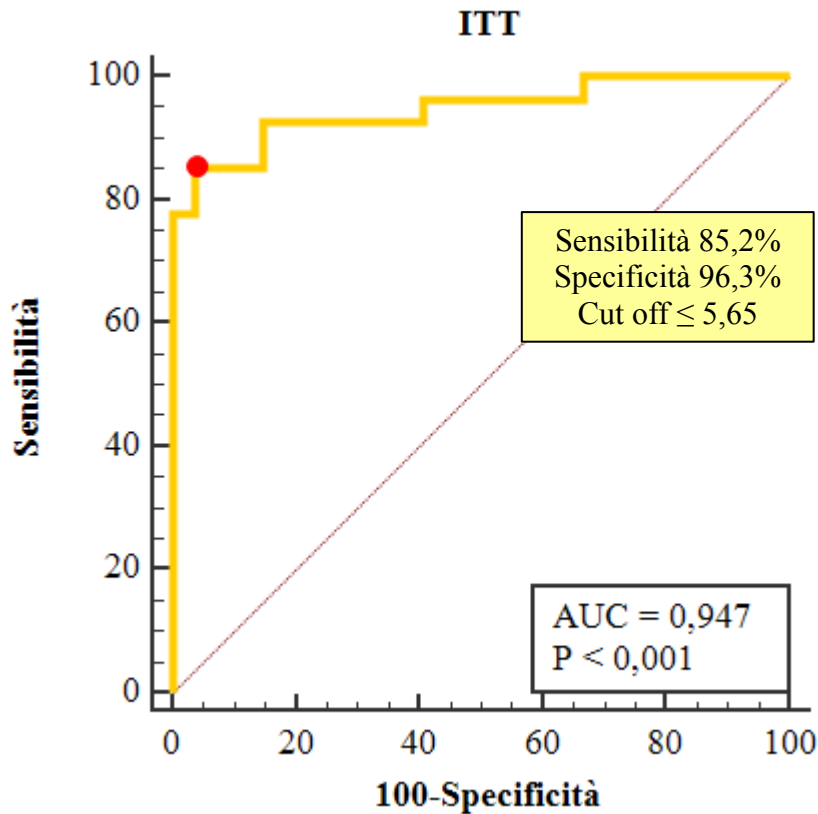


Figura 19. ROC per ITT: confronto tra GHD secondari ed idiopatici

Tab 18: riassunto delle caratteristiche della ROC per ITT

Estimated specificity at fixed sensitivity			
Sensitivity	Specificity	95% CI ^a	Criterion
80,00	96,30	44,44 to 100,00	≤4,358
90,00	85,19	28,08 to 100,00	≤6,671
95,00	59,26	9,63 to 92,59	≤14,8825
97,50	33,33	7,41 to 59,26	≤22,87875
99,00	33,33	7,41 to 59,26	≤23,9115
Estimated sensitivity at fixed specificity			
Specificity	Sensitivity	95% CI ^a	Criterion
80,00	92,59	74,07 to 100,00	≤9,826
90,00	85,19	62,96 to 96,30	≤5,937
95,00	85,19	66,67 to 96,30	≤5,7235
97,50	77,78	0,00 to 0,00	≤3,86225
99,00	77,78	0,00 to 0,00	≤3,7529

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

Le analisi ROC per GST identificano come miglior cut-off, per la discriminazione tra soggetti con deficit idiopatico vs secondario, il valore di GH di 5,94 $\mu\text{g/L}$, con una sensibilità superiore al 90%, una specificità pari al 100% ed una capacità diagnostica pari al 93% (vedi Figura 21 e tabella 19).

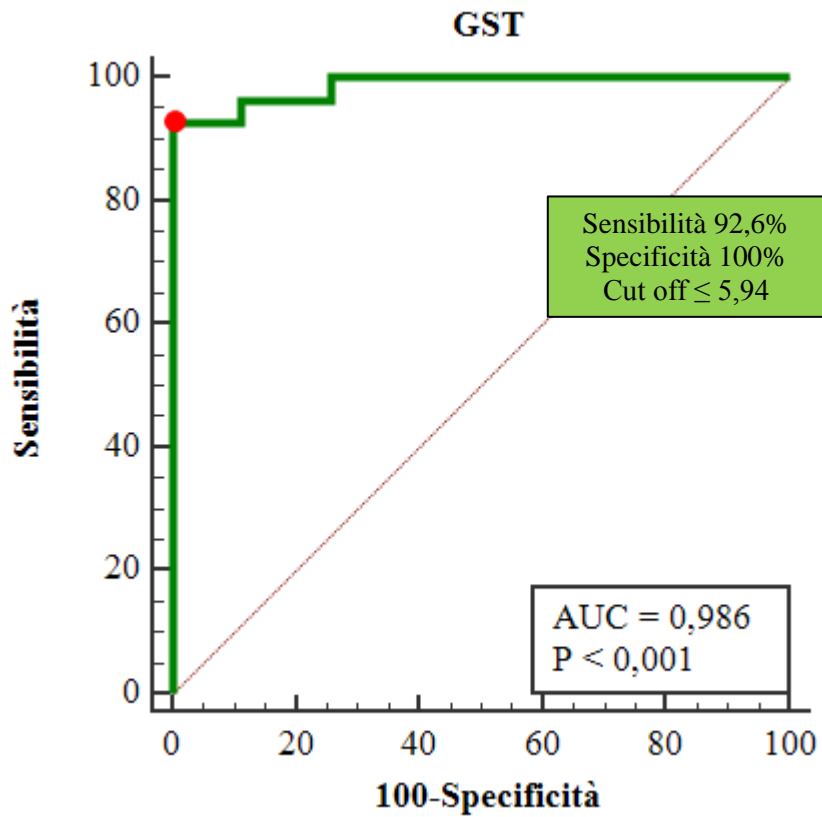


Figura 21 ROC per GST: confronto tra GHD secondari ed idiopatici

Tab. 19: riassunto delle caratteristiche della ROC per GST

Estimated specificity at fixed sensitivity			
Sensitivity	Specificity	95% CI ^a	Criterion
80,00	100,00	100,00 to 100,00	≤2,898
90,00	100,00	85,19 to 100,00	≤4,68
95,00	88,89	42,27 to 100,00	≤8,309
97,50	74,07	40,74 to 88,89	≤10,1725
99,00	74,07	40,74 to 88,89	≤10,537
Estimated sensitivity at fixed specificity			
Specificity	Sensitivity	95% CI ^a	Criterion
80,00	96,30	74,07 to 100,00	≤9,486
90,00	92,59	74,07 to 100,00	≤8,056
95,00	92,59	74,76 to 100,00	≤6,937
97,50	92,59	0,00 to 0,00	≤6,2775
99,00	92,59	0,00 to 0,00	≤6,075

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

Tab 20. Dati analisi ROC

Discrimination Power	AUC (standard error)	Sensibilità %	Specificità %	Ref cut-off (µg/L)	Youden index	P (Area=0.5)	LR+	LR-
<i>ITT</i>								
GHDs vs GHDi	0,947 (0,0308)	85,2	96,3	≤ 5,65	0,82	<0,0001	23	0,15
<i>GST</i>								
GHDs vs GHDi	0,986 (0,0114)	92,6	100	≤ 5,94	0,93	<0,0001	100	0,074

Nell'interpretazione del **rapporto di verosimiglianza** (LR, *likelihood ratio*), dai nostri dati è emerso che il GST ha valori di LR + estremamente elevati (*likelihood ratio* > 10) e LR- estremamente bassi (*likelihood ratio* < 0,1), confermandosi pertanto un test molto efficace nell'identificare soggetti affetti da GHD in età di transizione. (Tabella 20).

Analoghi risultati per l'ITT.

Nella tabella 21 e in figura 22 sono indicati i valori predittivi (rispettivamente VPP= valore predittivo positivo; VPN= valore predittivo negativo) del test al Glucagone, nella nostra popolazione in studio.

Tali dati, calcolati sulla base della Sensibilità e della Specificità del test ottenute con la curva ROC, indicano che nei nostri pazienti, la probabilità che un soggetto sia effettivamente deficitario (VPP) per il GH utilizzando il GST è 100% (ovvero che, dato il cut off a 5,94 ng/dl, esista una probabilità pari allo 0% che quel paziente, indagato con GST, non sia realmente un GHD, nonostante il test dica il contrario).

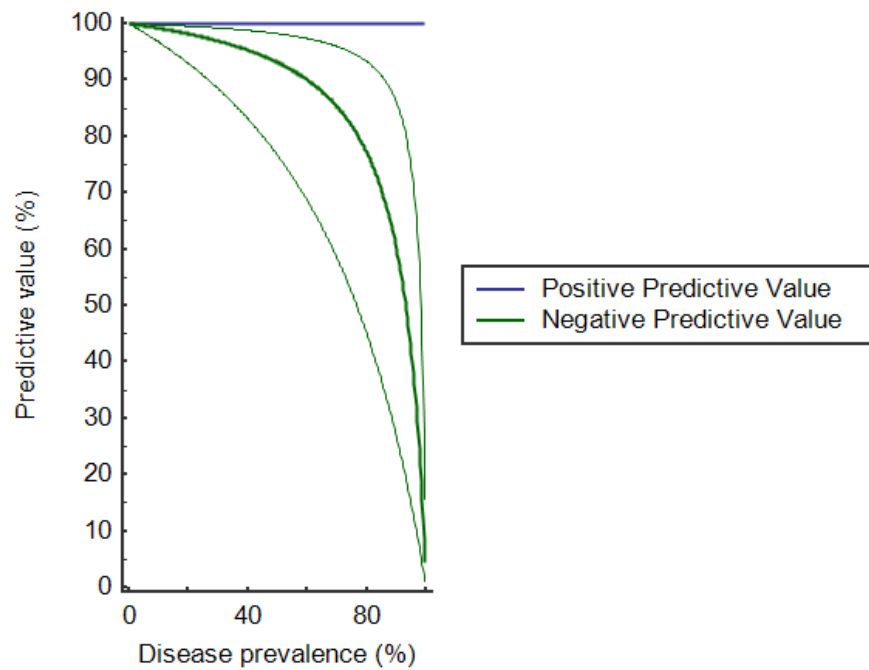
In questo caso la predittività del test è alta non solo perché il test presenta una buona specificità, ma anche perché la prevalenza della malattia nel campione di popolazione esaminata è alta (50%).

Analogamente, il VPN (valore predittivo negativo) pari a 93 del GST indica che la probabilità che il deficit di GH sia assente in un soggetto con un test al Glucagone negativo è del 93%. (Tabella 21), ovvero, un risultato positivo al GST (picco di GH ≤5.94 ng/dl) predice una persistenza di GHD con una probabilità del 100%, mentre d'altra parte, un risultato negativo al GST (picco di GH ≥ 5.94 ng/dl) predice con il 93,1% che la malattia non è presente (non si conferma) in età di transizione.

Tab 21: valori predittivi del GST

Valore predittivo positivo (%)	100
Valore predittivo negativo (%)	93,1

Fig. 22: rappresentazione grafica del valore predittivo del GST. Le linee verdi meno marcate indicano il 95% di intervallo di confidenza per il VPP.



Confrontando le curve ROC dell'ITT e del GST nei soggetti che avevano effettuato entrambi i test, emergeva un potere discriminatorio pressoché comparabile, con apparente maggior specificità e sensibilità del test al Glucagone. (Tabella 22 e Figura 23).

Tab. 22 confronto tra ROC

Test	AUC	S.E. ^a	95% C.I. ^b		
<i>GST</i>	0,986	0,0114	0,909 to 1,000		
<i>ITT</i>	0,947	0,0308	0,849 to 0,989		
Pairwise comparison of ROC curves	Differenza tra le AUC	S.E. ^a	95% C.I. ^b	Z statistic	P
<i>GST vs ITT</i>	0,0389	0,0222	-0,00369 to 0,0832	1,794	0,07

^a DeLong et al., 1988; ^b Binomial exact

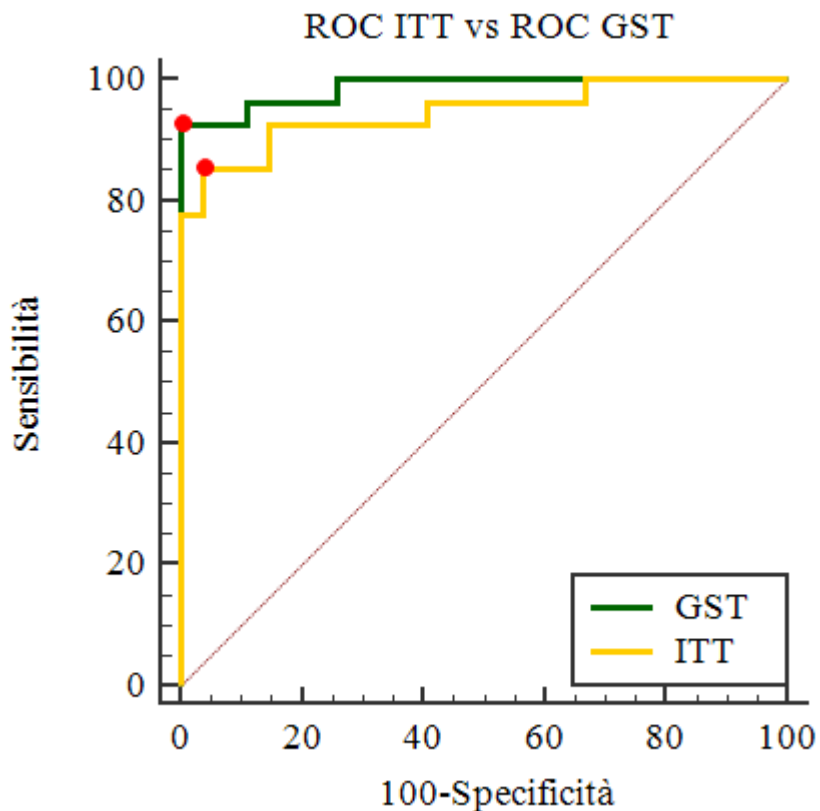


Fig. 23 ROC per ITT vs GST: confronto tra GHD secondari ed idiopatici

Applicando il calcolo del coefficiente statistico di Cohen, l'indice di K per la concordanza tra i due test è risultato pari a 0,82 (con S.E. di 0,079 e 95% intervallo di confidenza compreso tra 0,66 0,97).

Infine, per visualizzare meglio il rapporto tra i picchi di ITT e GST e l'accuratezza diagnostica di quest'ultimo, ho fatto ricorso all'indice di Youden, che corrisponde proprio alla misura sintetica dell'accuratezza di un dato test diagnostico.

L'indice di Youden (Y.I), infatti, esprime la massima efficacia potenziale di un test diagnostico, quando specificità e sensibilità assumono lo stesso peso. Pertanto lo Youden Index (noto anche come J), i cui valori sono compresi tra 0 (= test inefficace) e 1 (= test perfettamente efficace), permette di ottenere il valore soglia che minimizza la probabilità di trovare falsi positivi e falsi negativi.

Nel grafico sotto allegato (figura 24), è possibile visualizzare il plot tra i due test di stimolo: il cerchio identifica il 95% della probabilità di copertura tra i due picchi di GH dopo stimolo nella popolazione in studio.

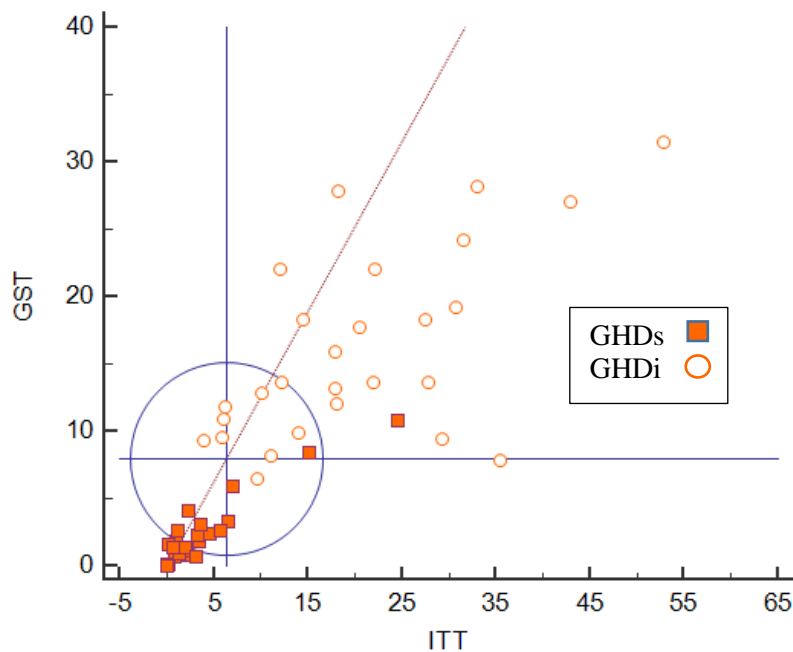


Fig. 24 Youden plot per GST vs ITT: confronto tra GHDi e GHDs

5.7. DISCUSSIONE

Il deficit di GH nel bambino tende a manifestarsi pressoché sempre in modo molto evidente, attraverso la bassa statura o una velocità di crescita patologica. La terapia intrapresa precocemente riesce ad intervenire in modo efficace relativamente a questo aspetto, in particolare nelle forme di difetto severo, permettendo ai piccoli pazienti di recuperare una statura spesso normale e di raggiungere il potenziale genetico.

Si arriva pertanto ad un'età, quella di *transizione*, in cui vi può essere la forte tentazione di abbandonare la terapia, dal momento che l'obiettivo apparentemente primario (ossia l'ottimizzazione della crescita in altezza) è stato raggiunto.

In una sottopopolazione preminente di soggetti affetti da COGHD idiopatico, il difetto di ormone di crescita si rivela transitorio nell'età successiva, garantendo una produzione ormonale compatibile con i livelli necessari in età adulta.

Sappiamo però che in età adulta, soggetti con difetto permanente di ormone della crescita insorto in età pediatrica e non più sostituito dopo l'epoca di transizione (15-25 anni), manifestano effetti deleteri secondari al difetto del GH con un impatto negativo su metabolismo, composizione corporea e stato di mineralizzazione ossea.

Ciò determina un aumentato rischio di malattie cardiovascolari e di morte precoce per accidenti cardiovascolari, maggiore di circa il 50% rispetto all' atteso secondo alcuni studi (60 vs 30.8 attese) [97, 98, 99], presente ma ridotto secondo altri (ratio morti osservate vs attese 1.35) [100] nonché una riduzione della qualità di vita). [101]

Analogamente, anche giovani adulti con esordio di deficit di GH in età infantile e permanente dopo il raggiungimento della statura definitiva potrebbero essere a rischio metabolico, cardio-cerebrovascolare dopo la sospensione della terapia con GH.

Per questo, è fondamentale individuare le categorie di soggetti con difetto permanente di GH che beneficeranno maggiormente della prosecuzione della terapia.

In tal senso infatti si rende necessario stabilire quali debbano essere i percorsi diagnostici sensibili ad identificare tali soggetti, comprese la tipologia di test per valutazione dell'asse ipotalamo-GH adatti a questa fase di vita ed i relativi cut-off per la loro interpretazione.

La Consensus internazionale del 2007 ^[31] sulla diagnosi di GHD in età di transizione indica un picco di GH al test dell'ITT inferiore a 6.0 µg/L per porre diagnosi di GHD permanente: questo cut-off merita tuttavia una riconsiderazione, dal momento che è stato individuato solo sulla base di un piccolo campione di controlli normali.

Sebbene l'ITT rappresenti il gold-standard per tale diagnosi, resta un test dinamico controindicato nei bambini e nei pazienti affetti da epilessia e/o cardiopatia e quindi, anche la stessa Consensus ha puntualizzato la necessità di trovare test altrettanto validi che possano essere utilizzati al posto dell'ITT in determinate condizioni (come ad esempio, quelle sopra menzionate).

Altri test dinamici pertanto, devono essere presi in considerazione in alternativa all'ITT quando controindicato.

In tal senso, il GST si pone come una valida alternativa: innanzitutto il farmaco è facilmente reperibile, disponibile e poco costoso.

Il test al Glucagone, oltre ad essere un test semplice e sicuro da eseguire, è estremamente maneggevole, pressoché privo di complicanze (effetti collaterali comuni nei pazienti con malattia ipotalamo-ipofisaria sottoposti a test con GST comprendono nausea, vomito e malditesta) e con poche controindicazioni (solo relativamente controindicato nei pazienti con malnutrizione o pazienti con digiuno superiore alle 48 ore, a causa dell'ipoglicemia prolungata; controindicato nei pazienti con feocromocitoma, in cui può essere osservata una esacerbazione significativa della pressione arteriosa). Non da ultimo, come dimostrato da altri autori ^[58] il GST pare scevro da influenze di genere (il sesso non sembra influenzarne la risposta) e da causa ipotalamica del difetto di GH.

Al fine di identificare i soggetti a rischio, tutti i parametri metabolici influenzati dalla secrezione di GH potrebbero risultare utili e contributivi alla decisione finale di mantenere o sospendere la terapia in età di transizione.

- ***Dati preliminari della popolazione in studio dal punto di vista clinico e biochimico (studio monocentrico)***

La maggior parte dei nostri soggetti affetti da GHD secondario erano stati trattati per un tumore cerebrale durante l'età pediatrica, mentre la prevalenza dei soggetti con deficit idiopatico o isolato presentavano un quadro di RM encefalo in linea di massima assolutamente normale.

Maschi e femmine, valutati a sviluppo puberale completato, differivano tra loro quasi unicamente per parametri "attesi": i maschi risultavano significativamente più alti rispetto alle femmine, le quali però erano anche mediamente più giovani. I soggetti con difetto secondario mostravano valori di BMI significativamente più alti dei soggetti con difetto idiopatico.

Non sono state evidenziate differenze significative rispetto ai parametri metabolici, sia glucidico, sia lipidico, sebbene nella popolazione in toto le ragazze mostrassero una tendenza per valori più alti di colesterolo totale, in particolare LDL (come ci si aspetta normalmente dalla popolazione femminile) e livelli più elevati di insulinemia basale.

Nel confronto tra GHDs vs GHDi, i soggetti con difetto secondario hanno mostrato livelli di glicemia basale ridotti e, come atteso, valori di trigliceridi e colesterolo LDL significativamente più alti dei soggetti idiopatici.

Il ruolo dell'IGF-1

E' ormai assodato che la sola misurazione dei livelli di IGF-1 di per sè non è in grado di sostituirsi ai test di stimolazione della secrezione di GH, né per confermare né per escludere la diagnosi di GHD permanente. Questo è vero per tutte le età, compresa quella di transizione, che non fa eccezione.

Tuttavia è importante poter avere un'idea di quanto i livelli di IGF-1 vadano di pari passo con la secrezione del GH, essendo questo il parametro più attendibile dell'azione periferica del GH a livello epatico.

Le femmine presentavano valori di IGF-1 ridotti rispetto ai maschi, rilievo spiegabile ipotizzando un'azione induttrice della resistenza al GH nelle femmine trattate con terapia orale estrogenica, in accordo comunque con un picco ITT e GST anch'essi ridotti, seppure in maniera non significativa, rispetto ai maschi.

L'IGF-1 SDS conferma questo dato, presentando un valore medio comunque pressoché sovrapponibile tra maschi e femmine (M $-2,2 \pm 0,53$ vs F $-2,8 \pm 0,7$).

Nei pazienti con GHD secondario, l'IGF-1 si conferma, anche in questo caso come atteso, notevolmente ridotto rispetto agli idiopatici e così pure l'IGF-1 SDS, che raggiunge un valore medio patologico. Analoghe significative differenze nei picchi dopo stimolo si osservano tra queste due popolazioni.

Considerata la sola coorte di GHDs, rispetto a tutti i parametri esaminati, i maschi e le femmine differivano solo per l'altezza, confermandosi i maschi significativamente più alti delle femmine.

Pertanto possiamo asserire che i valori di IGF-1 SDS sembrano poter essere un valido supporto nella diagnosi di GHD permanente nei pazienti con difetto secondario, e in egual misura sia nei maschi sia nella femmine.

Le associazioni che intercorrono tra IGF-1 e picchi ormonali dopo stimolo sono risultate tutte positive nella popolazione dei GHD secondari, come atteso, dal momento che valori più alti di picco sono, come intuibile, accompagnati da una maggiore produzione di IGF-1.

Nel complesso si registravano solo modeste associazioni con i picchi di secrezione ai test; in particolare, una associazione forte con il picco GST nei difetti secondari e un trend debole e inverso negli idiopatici. Le relazioni si sono confermate analoghe, ma leggermente più sfumate, nei confronti dell'IGF-1 SDS.

I risultati dell'analisi delle correlazioni sembrerebbero far pensare che non sia scontato un andamento lineare tra picchi e livelli di IGF-1, anche se comunque presente.

Se però esaminiamo le analisi di regressione multipla, nella popolazione generale, scopriamo che l'IGF-1 SDS predice positivamente, in modo indipendente e significativo, il valore di picco GST. Comportamento analogo lo assume il BMI SDS.

Quest'ultimo, d'altro canto, mostra un trend di predizione negativo, ma non significativo, nei confronti del picco di GST, sia nei soggetti idiopatici sia nei secondari.

Dai risultati a nostra disposizione, appare quindi chiaro che non è possibile escludere l'IGF-1 dalla valutazione diagnostica di soggetti con sospetto GHD permanente, ma non è nemmeno attuabile l'idea di demandare, a tale misurazione, una previsione della condizione di questi soggetti, dal momento che ad oggi i parametri più forti nella diagnosi di GHD permanente derivano ancora dai test di stimolazione.

Abbiamo successivamente cercato di analizzare le relazioni che intercorrono tra i picchi di GH, all'uno e all'altro test di stimolazione, ed i parametri metabolici che ci sono sembrati più significativi, in particolare BMI e IGF1.

Nella popolazione generale abbiamo osservato che il BMI (assoluto e SDS) era correlato negativamente ai picchi, in maniera non significativa.

In particolare, l'associazione maggiore si osserva con il picco di GH dopo Glucagone: questo significa che, all'aumentare del BMI diminuisce il picco di secrezione del GH, indipendentemente dall'avere o meno un deficit di GH.

Questo dato è di particolare rilevanza, perché potrebbe significare che in una persona obesa ci si debba aspettare una riduzione della secrezione, con potenziali errori nell'interpretazione dei dati e quindi errata attribuzione di una condizione di GHD permanente a persone sane dal punto di vista della secrezione, ma aventi semplicemente un BMI elevato.

Questo rimanda a quanto già accade nell'adulto, in cui la risposta al GHRH + Arginina è valutata in base alle fasce di BMI.

In tal senso, saranno necessarie ulteriori successive valutazioni, volte non solo all'ampliamento della casistica, ma anche alla valutazione delle circonferenze (addominale e dei fianchi) e del loro rapporto, al fine di verificare una relazione tra picco di GH, obesità e stato di adiposità.

Test di stimolazione e ricerca dei cut-off ottimali

Abbiamo quindi valutato la risposta di picco di GH successiva alla stimolazione con ITT e/o con GST.

Lo stimolo insulinemico è, ad oggi, già largamente utilizzato per la diagnosi di GHD infantile ed è raccomandato dalle Consensus ^[31, 45, 51] per la rivalutazione degli adolescenti in età di transizione.

Tuttavia, per le motivazioni già addotte in precedenza, è urente la necessità di trovare un'alternativa, che parrebbe essere stata individuata proprio nel test con Glucagone.

Quest'ultimo sembra infatti rappresentare un'ottima soluzione ai problemi posti dall'ITT, anche perché è generalmente ben tollerato e privo degli effetti collaterali generati dall'ipoglicemia.

La possibilità di utilizzare un test alternativo come il GST, al già consolidato e validato ITT, trova ad oggi conferme nella letteratura ^[50,53 →58].

Ancora dibattuto è il cut-off da utilizzare per i soggetti in età di transizione, cioè quel valore al di sopra del quale poter escludere la diagnosi di deficit permanente e, dunque, non suscettibile alla prosecuzione della terapia. Ciò perché, dal punto di vista endocrinologico, questa fase presenta caratteristiche di secrezione ormonale differenti sia dal bambino che dall'adulto e richiede pertanto un approccio specifico.

Nel bambino questo cut-off è ormai validato, vale a dire che viene posta diagnosi di GHD se il picco di GH successivo a stimolazione insulinica e con glucagone è $<8 \mu\text{g/L}$ ^[14].

Nell'adulto, invece, il cut-off è più basso: fisiologicamente, infatti, la produzione di GH subisce un declino con l'avanzare dell'età; inoltre, bisogna tenere in considerazione che la terapia sostitutiva con

GH è raccomandata solo per gli adulti che mostrano un GHD severo, e cioè un picco di GH in risposta all'ITT < 3 µg/L^[31].

In epoca di transizione i cut-off proposti per fare diagnosi di GHD permanente sono un valore di picco di GH dopo ITT <6 µg/L, ma finora gli studi specifici per quest'epoca della vita sono scarsi e necessitano di ulteriori conferme.

In questo studio, è stata valutata l'accuratezza diagnostica sia dell'ITT sia del GST mediante analisi con curve ROC, le quali indicano la migliore accuratezza diagnostica per un picco di GH al **GST** di 5.94 µg/L, con una AUC di 0.986 per discriminare i soggetti con deficit idiopatico, considerati controlli, rispetto a soggetti con GHD secondario, considerati a maggior rischio di difetto permanente (sensibilità 92.6%, specificità 100%).

Le analisi con le curve ROC indicano la migliore accuratezza diagnostica per un picco di GH all'**ITT** di 5.65 µg/L, con una AUC di 0.47 per discriminare i soggetti con deficit idiopatico rispetto a soggetti con GHD secondario (Sensibilità 85.2%, Specificità 96.3%).

In sintesi, i cut-off individuati dalle analisi ROC per l'ITT e per il GST risultano molto prossimi a quello attualmente di riferimento di 6 µg/L, che pare dunque trovare una conferma.

Nella nostra popolazione in studio, sulla base di questi cut-off, il 48 % (n=26) dei soggetti che avevano eseguito il test con ITT mostrava un picco di GH <6 µg/L, ed era quindi da considerarsi patologico.

In merito al test con GST, risultava patologico, cioè manifestava un picco di GH <6 µg/L, il 46% della popolazione (n=25).

Tra i pazienti con difetto secondario, il 85,2 % (ovvero 23 pazienti su 27) presentavano una risposta patologica ai cut-off di riferimento per entrambi i test.

Questi risultati sono in armonia con i dati della letteratura, secondo i quali i soggetti particolarmente a rischio di un GHD permanente nell'età adulta sarebbero quelli con diagnosi di COGHD di tipo secondario e con multipli difetti ipofisari ^[101, 102, 103, 104].

Inoltre, dal confronto tra le curve ROC per ITT e per GST emerge un eccellente accordo tra i due test di stimolo, che risulta maggiormente evidente nel confronto tra soggetti idiopatici vs secondari (AUC ITT 0.947; AUC GST 0.986).

Nel nostro studio, la concordanza tra i due test risulta dell'82%, con una corretta identificazione di circa 91,6% dei GHD persistenti, e con una discordanza del 18%.

La discordanza è rappresentata, nella nostra casistica, da 5 pazienti che hanno avuto risposte diverse ai due test di stimolo, in particolare:

- ✓ ITT < 6 µg/L e GST > 6 µg/L: 3 soggetti idiopatici con valori di IGF1 adeguati ed RM encefalogrammiche normali (si segnala 1 soggetto con ipofisi cistica ed uno con Chiari-1). I picchi di GH dopo glucagone ottenuti oscillano tra i valori di 9,5 e 10 µg/L, invece, mentre solo 1 soggetto ha avuto un picco ITT francamente patologico (3,95 µg/L), gli altri hanno risposto con picchi di poco inferiori al cut off di 6 µg/L. Di questi, 1 soggetto aveva avuto risposte discordanti già alla prima valutazione della funzione ipofisi-GH (ITT patologico, GST > 8 µg/L).

- ✓ ITT > 6 µg/L e GST < 6 µg/L: 2 pazienti GHDs di cui 1 secondario a medulloblastoma ed 1 con ispessimento del peduncolo per sospetta istiocitosi. Questi 2 pazienti, ambedue con adeguata produzione di IGF1 (non inferiore a -1,5 SDS), hanno mostrato picchi di ITT prossimi al valore di 7 µg/L (rispettivamente 6,5 µg/L e 7 µg/L) ma solo 1 soggetto, quello con sospetta istiocitosi, ha avuto picco di GST francamente patologico (= 3,24 µg/L vs 5,94 µg/L dell'altro paziente), confermando il trend della prima valutazione della secrezione di GH, quando il paziente con istiocitosi aveva mostrato risposte concordi (ITT e Arginina < 8 µg/L) mentre quello con medulloblastoma, risposte discordanti (ITT patologico, Arginina > 8 µg/L).

5.8. CONCLUSIONI

Nella nostra popolazione i soggetti con COGHD di tipo secondario e multiplo sono quelli a maggiore rischio di mantenere la diagnosi di GHD in età adulta.

Per la prima volta, abbiamo testato il potere discriminatorio del test al glucagone rispetto al gold standard (ITT), identificando un cut-off pressoché sovrapponibile, nel momento in cui si assumano i difetti idiopatici come transitori (quindi “controlli”).

Tale risultato risulta di grande importanza e rilevanza in quanto pone il GST come possibile alternativa all'ITT nei pazienti cardiopatici, o affetti da comizialità etc.

L'ITT e GST mostrano di fatto una ottima concordanza nel fare diagnosi di GHD permanente nei soggetti in età di transizione.

L'ITT conferma il suo ruolo indiscusso ed ormai validato in questo campo, ed anche il cut-off di 6 µg/L sembra essere confermato nel riuscire ad individuare sia i soggetti secondari che i multipli.

Il GST si attesta però come una valida e potente alternativa all'ITT, soprattutto nei casi in cui quest'ultimo non possa essere praticato per problematiche cliniche. Anche in questo caso, dai nostri dati, emerge che il cut-off di 6 µg/L si conferma in grado di discriminare tra GHD e sani in età di transizione.

Il dosaggio dell'IGF-1 non può sostituire del tutto il test di stimolo per il GH, ma conferma la sua utilità, in quanto mediatore periferico dell'ormone di crescita, nella valutazione complessiva della secrezione di GH stesso.

I nostri dati preliminari suggeriscono che il picco di GH al glucagone (GST) correla con il picco di GH dopo ITT durante la fase di transizione sia in soggetti con GHDS sia in soggetti con GHDI, ma con i valori di IGF-1 solo in soggetti con GHDS. Un elevato BMI risulta negativamente associato alla risposta secretoria del GH sia dopo ITT sia dopo GST solo in soggetti con difetto secondario.

I prossimi passi saranno, da un alto proseguire con l'arruolamento, al fine di ampliare la casistica e raggiungere il target della numerosità del campione; dall'altra, ampliare l'analisi dei parametri clinici, includendo anche Pressione Arteriosa, Circonferenza Vita, Circonferenza Fianchi, Rapporto vita/Fianchi, per valutare le possibili interazioni tra l'adiposità, l'obesità e la secrezione di GH dopo

stimolo,e, da ultimo, annoverare anche la Bone Mineral Density per la valutazione della mineralizzazione ossea.

BIBLIOGRAFIA

- [1]. David A, Miraki-Moud F, Shaw NJ, Savage MO, Clark AJ, Metherell LA. Identification and characterisation of a novel GHR defect disrupting the polypyrimidine tract and resulting in GH insensitivity. *European Journal of Endocrinology*. 2010; 162(1):37-42
- [2]. Cotta OR, Santarpia L, Curtò L, Aimaretti G, Corneli G, Trimarchi F, Cannavò S. Primary growth hormone insensitivity (Laron syndrome) and acquired hypothyroidism: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 2011;5:301
- [3]. Jorge AA. Short stature investigation: clinical, laboratorial and genetic aspects concerning the growth hormone insensitivity (GHI). *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2008; 52(6):1056-65
- [4]. David A, Hwa V, Metherell LA, Netchine I, Camacho-Hübner C, Clark AJ, Rosenfeld RG, Savage MO. Evidence for a Continuum of Genetic, Phenotypic and Biochemical Abnormalities in Children with Growth Hormone Insensitivity. *Endocr Reviews*. 2011; 32(4):472-97
- [5]. Growth Hormone Research Society. Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Growth Hormone (GH) Deficiency in Childhood and Adolescence: Summary Statement of the GH Research Society. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 3990-3993
- [6]. Shalet SM, Toogood A, Rahim A, Brennan BM. The Diagnosis of Growth Hormone Deficiency in Children and Adults. *Endocr Rev*. 1998; 19(2):203-23
- [7]. Carel JC, Tresca JP, Letrait M, Chaussain JL, Lebouc Y, Job JC, Coste J. Growth Hormone Testing for the Diagnosis of Growth Hormone Deficiency in Childhood: A Population Register-Based Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(7):2117-21
- [8]. Kaplan SL, Abrams CAL, Bell JJ, Conte FA, Grumbach MM. Serum growth hormone response to insulin-induced hypoglycemia in disorders of growth. *J Pediatrics*. 1965;67:956
- [9]. Kaplan SL, Abrams CAL, Bell JJ, Conte FA, Grumbach MM. Growth and growth hormone: Changes in serum level of growth hormone following hypoglycemia in 134 children with growth retardation. *Pediatr. Res*. 1968;2:43
- [10]. Frohman LA, Aceto T Jr, MacGillivray MH. Studies of growth hormone secretion in children: Normal, hypopituitary and constitutionally delayed. *J Clin Endocr*. 1967;27:1409

- [11]. Stimmler L, Brown GA. Growth hormone secretion provoked by insulin-induced hypoglycaemia in children of short stature. *Arch. Dis. Child.* 1967; 42:232
- [12]. Reiter EO, Martha PM Jr. Pharmacological testing of growth hormone secretion. 1990; 33(2-4):121-127
- [13]. Ayling R. More guidance on growth hormone deficiency. *J Clin Pathol.* 2004; 57(2):123-5
- [14]. Nota 39 dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) pubblicata sulla Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n° 626 19/06/2014
- [15]. Grumbach MM, Bin-Abbas BS, Kaplan SL. The growth hormone cascade: progress and long-term results of growth hormone treatment in growth hormone deficiency. 1998; 49(Suppl 2):41-57
- [16]. Martha PM Jr, Gorman KM, Blizzard RM, Rogol AD, Veldhuis JD. Endogenous growth hormone secretion and clearance rates in normal boys, as determined by deconvolution analysis: relationship to age, pubertal status and body mass. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74(2):336-44
- [17]. Mauras N, Blizzard RM, Link K, Johnson ML, Rogol AD, Veldhuis JD. Augmentation of growth hormone secretion during puberty: evidence for a pulse amplitude-modulated phenomenon. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 64(3):596-601
- [18]. Rosenfeld RG. Evaluation of Growth and Maturation in Adolescence. *Pediatrics* in review. 1982; 4(6):175-183
- [19]. Gourmelen M, Pham-Huu-Trung MT, Girard F. Transient partial GH deficiency in prepubertal children with delay of growth. 1979; 13(4 Pt 1):221-4
- [20]. Lippe B, Wong SL, Kaplan SA. Simultaneous assessment of growth hormone and ACTH reserve in children pretreated with diethylstilbestrol. 1971; 33(6): 949-56
- [21]. Cacciari E, Tassoni P, Parisi G, Pirazzoli P, Zucchini S, Mandini M, Cicognani A, Balsamo A. Pitfalls in diagnosing impaired growth hormone (GH) secretion: retesting after replacement therapy of 63 patients defined as GH deficient. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74: 1284-1289
- [22]. Reiter EO, Morris AH, MacGillivray MH, Weber D. Variable estimates of serum growth hormone concentrations by difference radioassay systems. 1988; 66(1):68-71
- [23]. Celniker AC, Chen AB, Wert RM Jr, Sherman BM. Variability in the quantitation of circulating growth hormone using commercial immunoassays. 1989; 68(2):469-76

- [24]. Devesa J, Lima L, Lois N, Fraga C, Lechuga MJ, Arce V, Tresguerres JA. Reasons for the variability in growth hormone (GH) responses to GHRH challenge: the endogenous hypothalamic-somatotroph rhythm (HSR). 1989; 30(4):367-77
- [25]. De Boer H, Blok G-J, Van der Veen E. Clinical aspects of growth hormone deficiency in adults. *Endocrine Reviews*. 1995; 16:63-86
- [26]. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sönksen PH. The effects of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adults with growth hormone deficiency. *The New England Journal of Medicine*. 1989; 321:1797-1803
- [27]. Jorgensen JOL, Pedersen SA, Thuesen L, Jorgensen J, Ingemann-Hansen T, Skakkebaek EN, Christiansen JS. Beneficial effects of growth hormone treatment in GH-deficient adults. *Lancet*. 1989; i:1221-1225
- [28]. Invited report of a workshop. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with growth hormone deficiency: summary statement of the Growth Hormone Research Society Workshop on adult growth hormone deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998; **83**(2): 379-381
- [29]. Ghigo E, Aimaretti G, Corneli G. Diagnosis of adult GH deficiency. *Growth Hormone and IGF Research*. 2008; 18(1):1-16
- [30]. Nilsson AG, Svensson J, Johannsson G. Management of growth hormone deficiency in adults. *Growth Hormone and IGF Research*. 2007; 17(6):441-62
- [31]. Ken K Y Ho on behalf of the 2007 GH Deficiency Consensus Workshop Participants. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with GH deficiency II: a statement of the GH Research Society in association with the European Society for Pediatric Endocrinology, Lawson Wilkins Society, European Society of Endocrinology, Japan Endocrine Society, and Endocrine Society of Australia. *European Journal of Endocrinology*. 2007;157 695-700
- [32]. Thorner MO, Bengtsson BA, Ho KKY, Albertsson-Wikland K, Christiansen JS, Faglia G, Irie M, Isaksson O, Jorgensen JO, Ranke M *et al*. Diagnosis of growth hormone deficiency in adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1995; 80: 3097-3098
- [33]. Aimaretti G, Corneli G, Razzore P, Bellone S, Baffoni C, Arvat E, Camanni F, Ghigo E. Comparison between Insulin-Induced Hypoglycemia and Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone + Arginine as Provocative Tests for the Diagnosis of GH Deficiency in Adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998; 83: 379-381

- [34]. Schneider HJ, Herrmann BL, Schneider M, Sievers C, Schaaf L, Stalla GK. Discrepant results in the diagnosis of GH deficiency with the insulin-tolerance test and the GHRH plus arginine test in patients with traumatic brain injury. *European Journal of Endocrinology*. 2006; 155:553-557
- [35]. Cordido F, Alvarez-Castro P, Isidro ML, Casanuev F, Dieguez C. Comparison between insuline tolerance test, growth hormone (GH)-releasing hormone (GHRH), GHRH plus acipimox and GHRH plus GH-releasing peptide-6 for the diagnosis of adult GH deficiency in normal subjects, obese and hypopituitary patients. 2003; 149: 117-122
- [36]. Berg C, Meinel T, Lahner H, Yucec A, Mann K, Petersenn S. Diagnostic utility of the glucagon stimulation test in comparison to the insulin tolerance test in patients following pituitary surgery. *European Journal of Endocrinology*. 2010; 162: 477-482
- [37]. Toogood A, Brabant G, Maiter D, Jonsson B, Feldt-Rasmussen U, Koltowska-Haggstrom M, Rasmussen AK, Buchfelder M, Saller B, Biller BM. Similar clinical features among patients with severe adult growth hormone deficiency diagnosed with insulin tolerance test or arginine or glucagon stimulation tests. *Endocr Pract*. 2012; 18:325-34
- [38]. Casanueva FF, Castro AI, Micic D, Kelestimur F, Dieguez C. New guidelines for the diagnosis of growth hormone deficiency in adults. *Horm Res*. 2009; 71: 112-115
- [39]. Aimaretti G, Corneli G, Razzore P, Bellone S, Baffoni C, Bellone J, Camanni F, Ghigo E. Usefulness of IGF-1 assay for the diagnosis of GH deficiency in adults. *Journal of Endocrinological Investigation*. 1998;21:506-511
- [40]. Corneli G, Di Somma C, Baldelli R, Rovere S, Gasco V, Croce CG, Grottoli S, Maccario M, Colao A, Lombardi G, Ghigo E, Camanni F, Aimaretti G. The cut-offs limits of the GH response to GH-releasing hormone-arginine test related to body mass index. *Eur J Endocrinol*. 2005;153(2):257-264
- [41]. Cappa M., Caruso M., Saggese G., Salerno M.C., Tonini G.: GH therapy in transition age: state of the art and future perspectives. Review, *Minerva Endocrinologica*, vol 40, n° 1, marzo 2015
- [42]. Maghnie M, Strigazzi C, Tinelli C, Autelli M, Cisternino M, Loche S, Severi F. Growth Hormone (GH) Deficiency (GHD) of Childhood Onset: Reassessment of GH Status and Evaluation of the Predictive Criteria for Permanent GHD in Young Adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999 **84** 1324-1328
- [43]. Maghnie M, Salati B, Bianchi S, Rallo M, Tinelli C, Autelli M, Aimaretti G, Ghigo E. Relationship between the morphological evaluation of the pituitary and the growth hormone (GH)

response to GH-releasing hormone Plus arginine in children and adults with congenital hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:1574-79

[44]. Mulder RL, Kremer LC, van Santen HM, Ket JL, van Trotsenburg AS, Koning CC, Schouten-van Meeteren AY, Caron HN, Neggers SJ, van Dalen EC. Prevalence and risk factors of radiation-induced growth hormone deficiency in childhood cancer survivors: a systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2009; 35:616-632

[45]. Styne DM. A practical approach to the diagnosis of growth hormone (GH) deficiency in patients transitioning to adulthood using GH stimulation testing. *Journal of pediatric endocrinology and metabolism.* 2003;16:637-43

[46]. Radovick S., DiVall S. Approach to the Growth Hormone-Deficient Child during Transition to Adulthood. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2007; 92(4); 1195-1200

[47]. Geffner M.E. Transition to the adult endocrine clinic: testing pituitary function – what tests and when? *Growth Hormone & IGF research* 13 (2003); S117-121

[48]. Molitch ME, Clemmons DR, Malozowski S, Merriam GR, Shalet SM, Vance ML, for The Endocrine Society's Clinical Guidelines Subcommittee. Evaluation and treatment of adult growth hormone deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:1621–1634

[49]. Gelwane G, Garel C, Chevenne D, Armoogum P, Simon D, Czernichow P, Leger J. Subnormal Serum Insuline-Like Growth Factor-I Levels in Young Adults with Childhood-Onset Nonacquired Growth Hormone (GH) Deficiency Who Recover Normal GH Secretion May Indicate Less Severe but Persistent Pituitary Failure. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2007; 92: 3788-3795

[50]. Biller BM, Samuels MH, Zagar A, Cook DM, Arafah BM, Bonert V, Stavrou S, Kleinberg DL, Chipman JJ, Hartman ML 2002 Sensitivity and specificity of six tests for the diagnosis of adult growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2067–2079

[51]. Corneli G, Di Somma C, Prodam F, Bellone J, Bellone S, Gasco V, Baldelli R, Rovere S, Schneider HJ, Gargantini L, Gastaldi R, Ghizzoni L, Valle D, Salerno M, Colao A, Bona G, Ghigo E, Maghnie M, Aimaretti G. Cut-offs limits of the GH response to GHRH plus arginine test and IGF-1 levels for the diagnosis of GH deficiency in late adolescents and young adults. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157:701-708

- [52]. Secco A, Di Iorgi N, Napoli F, Calandra E, Calcagno A, Ghezzi M, Frassinetti C, Fratangeli N, Parodi S, Benassai M, Leitner Y, Gastaldi R, Lorini R, Maghnie M, Radetti G. Reassessment of the growth hormone status in young adults with childhood-onset growth hormone deficiency: reappraisal of insuline tolerance testing. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4195-204
- [53]. Di Iorg,i Napoli F, Allegri A, Secco A, Calandra E, Calcagno A, Frassinetti C, Ghezzi M, Ambrosini L, Parodi S, Gastaldi R, Loche S, Maghnie M. The accuracy of the glucagon test compared to the insulin tolerance test in the diagnosis of adrenal insufficiency in young children with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 May;95(5):2132-9. doi: 10.1210/jc.2009-2697. Epub 2010 Mar 29.
- [54]. Gomez JM et al, Growth hormone release after glucagon as a reliable test of growth hormone assessment in adults. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002 Mar;56(3):329-34.
- [55]. Conceicao FL et al. Glucagon stimulation test for the diagnosis of GH deficiency in adults. *J Endocrinol Invest.* 2003 Nov;26(11):1065-70.
- [56]. Yuen KC et al. Clinical review: Is lack of recombinant growth hormone (GH)-releasing hormone in the United States a setback or time to consider glucagon testing for adult GH deficiency? *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Aug;94(8):2702-7. doi: 10.1210/jc.2009-0299. Epub 2009 Jun 9.
- [57]. Brabant G et al. Etiology, baseline characteristics, and biochemical diagnosis of GH deficiency in the adult: are there regional variations? *Eur J Endocrinol.* 2009 Nov;161 Suppl 1:S25-31. doi: 10.1530/EJE-09-0273. Epub 2009 Aug 14
- [58]. Yuen KC et al. Glucagon stimulation testing in assessing for adult growth hormone deficiency: current status and future perspectives. *ISRN Endocrinology* 2011;2011:608056. doi: 10.5402/2011/608056. Epub 2011 Aug 11
- [59]. Fukuda I, Hizuka N, Yasumoto K, Morita J, Jurimoto M, Takano K. Metabolic co-morbidities revealed in patients with childhood-onset adult GH deficiency after cessation of GH replacement therapy for short stature. *Endocrine Journal.* 2008; **55**(6), 977-984
- [60]. de Boer H, van der Veen EA. Why retest young adults with childhood onset growth hormone deficiency? *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:2032-6
- [61]. Beshyah SA, Freemantle C, Thomas E, Rutherford O, Page B, Murphy M, Johnston DG. Abnormal body composition and reduced bone mass in growth hormone deficient hypopituitary adults. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995; 42(2):179-89

- [62]. Cowan FJ, Evans WD, Gregory JW. Metabolic effects of discontinuing growth hormone treatment. *Arch Dis Child*. 1999; **80**(6): 517-523
- [63]. Cirese A, Amato MC, Criscimanna A, Mattina A, Vetro C, Galluzzo A, D'Acquisto G, Giordano C. Metabolic parameters and adipokine profile during GH replacement therapy in children with GH deficiency. *European Journal of Endocrinology*. 2007; 156 (3): 353-360
- [64]. Kanaley JA, Weatherup-Dentes, Jaynes EB, Hartman ML. Obesity attenuates the growth hormone response to exercise. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84(9): 3156-61
- [65]. Dieguez C, Casanueva FF. Influence of metabolic substrates and obesity on growth hormone secretion. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 1995; 6(2): 55-59
- [66]. Rasmussen MH, Hvidberg A, Juul A, Main KM, Gotfredsen A, Skakkebaek NE, Hilsted J. Massive weight loss restores 24-hour growth hormone release profiles and serum insulin-like growth factor-I levels in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995; 80(4): 1407-1415
- [67]. Cordido F, Garcia-Buela J, Sangiao-Alvarellos S, Martinez T, Vidal O. The Decreased Growth Hormone Response to Growth Hormone Releasing Hormone in Obesity Is Associated to Cardiometabolic Risk Factors. *Mediators of Inflammation*. 2009; 2010: article ID: 434562
- [68]. Utz A, Yamamoto A, Hemphill L, Miller KK. Growth Hormone Deficiency by Growth Hormone Releasing Hormone-Arginine Testing Criteria Predicts Increased Cardiovascular Risk Markers in Normal Young Overweight and Obese Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(7):2507–2514
- [69]. Abs R, Feldt-Rasmussen U, Mattsson AF, Monson JP, Bengtsson B-Å, Goth MI, Wilton P, Koltowska-Häggström M. Determinants of cardiovascular risk in 2589 hypopituitary GH-deficient adults - a KIMS database analysis. *European Journal of Endocrinology*. 2006; 155:79-90
- [70]. Johannsson G, Albertsson-Wikland K, on behalf of the Swedish Study Group for Growth Hormone Treatment in children, and Bengtsson B-Å. Discontinuation of Growth Hormone (GH) Treatment: Metabolic Effects in GH-Deficient and GH-Sufficient Adolescent Patients Compared with Control Subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999; 84(12): 4516-4524
- [71]. Abdu TA, Elhadd TA, Buch H, Barton D, Neary R, Clayton RN. Recombinant GH replacement in hypopituitary adults improves endothelial cell function and reduces calculated and relative coronary risk. *Clinical Endocrinology*. 2004; 61: 387-393
- [72]. Stochholm K, Christiansen J, Lursen T, Gravholt CH. Mortality and reduced growth hormone secretion. *Horm Res*. 2007; 68 (suppl 5): 173-176

- [73]. Colao A, Di Somma C, Cuocolo A, Spinelli L, Acampa W, Spiezia S, Rota F, Savanelli MC, Lombardi G. Does a Gender-Related Effect of Growth Hormone (GH) Replacement Exist on Cardiovascular Risk Factors, Cardiac Morphology, and Performance and Atherosclerosis? Results of a Two-Year Open, Prospective Study in Young Adult Men and Women with Severe GH Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(9): 5146-5155
- [74]. Colao A, Cuocolo A, Di Somma C, Cerbone G, Della Morte AM, Nicolai E, Lucci R, Salvatore M, Lombardi G. Impaired cardiac performance in elderly patients with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84(11):3950-5
- [75]. Valcavi R, Gaddi O, Zini M, Iavicoli M, Mellino U, Portioli I. Cardiac performance and mass in adults with hypopituitarism: effects of one year of growth hormone treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80(2):659-66
- [76]. Lanes R, Gunczler P, Lopez E, Esaa S, Villaroel O, Revel-Chion R. Cardiac Mass and Function, Carotid Artery Intima-Media Thickness, and Lipoprotein Levels in Growth Hormone-Deficient Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86 (3): 1061-64
- [77]. Carroll PV, Drake WM, Maher KT, Metcalfe K, Shaw NJ, Dunger DB, Cheetham TD, Camacho-Hübner C, Savage MO, Monson JP. Comparison of Continuation or Cessation of Growth Hormone (GH) Therapy on Body Composition and Metabolic Status in Adolescents with Severe GH Deficiency at Completion of Linear Growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(8):3890-3895
- [78]. Colao A, Di Somma C, Cuocolo A, Spinelli L, Tedesco N, Pivonello R, Bonaduce D, Salvatore M, Lombardi G. Improved Cardiovascular Risk Factors and Cardiac Performance after 12 Months of Growth Hormone (GH) Replacement in Young Adult Patients with GH Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(5): 1874-1881
- [79]. Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jørgensen T. Low Serum Insulin-Like Growth Factor I Is Associated With Increased Risk of Ischemic Heart Disease: A Population-Based Case-Control Study. *Circulation.* 2002;106:939-944
- [80]. Böger RH, Frystyk J, Ledet T, Moller N, Flyvbjerg A, Orskov H. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease. *Circulation.* 2003; 107 (20):e193; author reply e193
- [81]. Kaufman JM, Taelman P, Vermeulen A, Vandeweghe M. Bone mineral status in growth hormone-deficient males with isolated and multiple pituitary deficiencies of childhood onset. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74(1):118-23

- [82]. de Boer H, Blok GJ, van Lingen A, Teule GJ, Lips P, van der Veen EA. Consequences of childhood-onset growth hormone deficiency for adult bone mass. *J Bone Miner Res.* 1994;9(8):1319-26
- [83]. O'Halloran DJ, Tsatsoulis A, Whitehouse RW, Holmes SJ, Adams JE, Shalet SM. Increased bone density after recombinant human growth hormone (GH) therapy in adults with isolated GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76(5):1344-8
- [84]. Sartorio A, Ortolani S, Conti A, Cherubini R, Galbiati E, Faglia G. Effects of recombinant growth hormone (GH) treatment on bone mineral density and body composition in adults with childhood onset growth hormone deficiency. *J Endocrinol Invest.* 1996; 19(8):524-9
- [85]. Murray RD, Adams JE, Shalet SM. A densitometric and morphometric analysis of the skeleton in adults with varying degrees of growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(2):432-8
- [86]. Rosén T, Wilhelmsen L, Landin-Wilhelmsen K, Lappas G, Bengtsson BA. Increased fracture frequency in adult patients with hypopituitarism and GH deficiency. *Eur J Endocrinol.* 1997; 137(3):240-5
- [87]. Wüster C, Abs R, Bengtsson BA, Bennmarker H, Feldt-Rasmussen U, Hernberg-Ståhl E, Monson JP, Westberg B, Wilton P; KIMS Study Group and the KIMS International Board. Pharmacia & Upjohn International Metabolic Database. The influence of growth hormone deficiency, growth hormone replacement therapy, and other aspects of hypopituitarism on fracture rate and bone mineral density. *J Bone Miner Res.* 2001; 16(2):398-405
- [88]. Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, Ilich JZ, Goel PK, Wright JK, Andon MB, Smith KT, Heaney RP. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. *J Clin Invest.* 1994; 93(2):799-808
- [89]. Bonjour JP, Theintz G, Buchs B, Slosman D, Rizzoli R. Critical years and stages of puberty for spinal and femoral bone mass accumulation during adolescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 73(3):555-63
- [90]. Conway GS, Szarras-Czapnik M, Racz K, Keller A, Chanson P, Tauber M, Zacharin M and on behalf of the 1369 GHD Transition Study Group. Treatment for 24 months with recombinant human GH has a beneficial effect on bone mineral density in young adults with childhood-onset GH deficiency. *Eur J Endocrinol.* 2009; 160(6):899-907

- [91]. Hyldstrup L, Conway GS, Racz K, Keller A, Chanson P, Zacharin M, Lysgaard AL, Andreasen AH, Kappelgaard AM. Growth hormone effects on cortical bone dimensions in young adults with childhood-onset growth hormone deficiency. *Osteoporos Int.* 2011
- [92]. Baroncelli GI, Bertelloni S, Ceccarelli C, Cupelli D, Saggese G. Dynamics of bone turnover in children with GH deficiency treated with GH until final height. *Eur J Endocrinol.* 2000; 142(6): 549-56
- [93]. Sabatier JP, Guaydier-Souquières G, Laroche D, Benmalek A, Fournier L, Guillon-Metz F, Delavenne J, Denis AY. Bone mineral acquisition during adolescence and early adulthood: a study in 574 healthy females 10-24 years of age. *Osteoporos Int.* 1996; 6(2):141-48
- [94]. Attie KM. The importance of growth hormone replacement therapy for bone mass in young adults with growth hormone deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000; 13 Suppl 2:1011-21
- [95]. Tanner JM, Whitehouse RH. *Archives of Disease in Childhood*, Vol 51, p170 (1976)
- [96]. Rolland-Cachera MF, Cole Tj, Sempé M, Tichet J, Rossignol C, Charraud A. Body Mass Index variations: centiles from birth to 87 years. *Eur J Clin Nutr.* 1991; 45(1): 13-21
- [97]. Rosén T, Bengtsson BA. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet.* 1990; 336: 285- 288
- [98]. Association between premature mortality and hypopituitarism. West Midlands Prospective Hypopituitary Study Group. Tomlinson JW, Holden N, Hills RK, Wheatley K, Clayton RN, Bates AS, Sheppard MC, Stewart PM. *Lancet.* 2001; 357: 425-431
- [99]. Svensson J, Bengtsson BA, Rosén T, Odén A, Johannsson G. Malignant disease and cardiovascular morbidity in hypopituitary adults with or without growth hormone replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 3306-3312
- [100]. Bates AS, van't Hoff W, Jones PJ, Clayton RN. The effect of hypopituitarism on life expectancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 1169-1172
- [101]. Radovick S and DiVall S. Approach to the growth hormone-deficient child during transition to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1195-1200
- [102]. F.J. Cowan, W D Evans, J W Gregory. Metabolic effects of discontinuing growth hormone treatment. *Arch Dis Child* 1999;80:517-523
- [103]. Berberoğlu M, Şiklar Z, Darendeliler F, Poyrazoğlu S, Darcan Ş, İşguven P, Bideci A, Öcal G, Bundak R, Yuksel B, Arslanoğlu İ. Evaluation of Permanent Growth Hormone Deficiency (GHD)

in Young Adults with Childhood Onset GHD: A multicenter study. *J Clin Res Ped Endo* 2008; 1(1):30-37

[104]. Department of Pediatric Endocrinology, University of California Davis School of Medicine, Sacramento, CA, USA. A practical approach to the diagnosis of growth hormone (GH) deficiency in patients transitioning to adulthood using GH stimulation testing. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003; 16 Suppl 3:637-43

Ringraziamenti

*La perseveranza è ciò che rende l'impossibile possibile,
il possibile probabile, e il probabile certo.*

(Robert Half)

Dedico tutto questo agli affetti miei più cari, quelli che, più di ogni altro, mi sono stati accanto durante questo periodo.

Quelli che mi hanno sostenuta, incoraggiata, spronata quando vacillavo; che mi hanno donato sorrisi, risate di gioia, carezze quando ero a terra, che hanno a volte asciugato le mie lacrime.

Quelli che mi hanno sopportata, capita, quando rischiamo di dare il peggio di me, per l'ansia o per lo sconforto.

Quelli che mi hanno "perdonata" per tutte le mancanze a cui li ho costretti, per tutte le mie assenze perché impegnata in "altro"; che mi rincuoravano dicendomi "ci rifaremo un'altra volta".

Quelli affetti che gelosamente custodisco, che amo anche senza palesarlo soventemente.

I miei figli. Mio marito. Mio padre e mia madre. Mia sorella. Loro che mi danno tanto, anche in silenzio, anche a distanza.

Mia nonna, che se anche non più fisicamente qui, è sempre al mio fianco, sempre! E continua ad essere il mio Angelo custode.

Gli amici, pochi, sinceri, con cui mi sono confidata, con cui ho condiviso sforzi, frustrazioni, successi, traguardi.

E da ultimo, voglio dedicarlo a me stessa.

Alla me bambina, che a 10 anni diceva a tutti che dopo la Specialità in Pediatria, avrebbe "preso il Dottorato", senza neppure sapere cosa significasse esattamente.

Alla me donna e professionista, che ha dubitato (e dubita) spesso delle proprie capacità, sentendosi un passo dietro agli alti, un gradino sotto, non completamente all'altezza delle aspettative (proprie, in primis, e altrui).

Ecco, a queste due parti di me oggi dico "brava! Ce l'hai fatta, sei arrivata dove avevi deciso di arrivare". Anche se solo un capitolo di una intera storia, è un capitolo importante, che sono riuscita a scrivere nonostante le avversità e gli ostacoli.

Perché un piede dietro l'altro si disegna un grande percorso. E io voglio continuare a camminare.

Voglio andare avanti, per me stessa, per imparare a capire che valgo; per i miei bambini, per essere loro d'esempio, affinché siano fieri di me e possano un giorno riconoscere il valore dell'insegnamento che lascerò loro: vale sempre la pena lottare per ciò che si desidera e credere in ciò che si fa, anche quando sembra tutto difficile, perché è allora che il sapore della riuscita sarà meraviglioso.

Sii di buon umore. Non pensare agli insuccessi di oggi ma ai successi che potranno arriderti domani. Hai scelto per te un compito difficile, ma avrai successo se perseveri; e scoprirai la gioia nel superare gli ostacoli.

(Helen Adams Keller)