

Curso de Endocrinología para Posgraduados

DIAGNOSIS OF GROWTH HORMONE DEFICIENCY IN ADULTS

Currently, the diagnosis of growth hormone (GH) deficiency depends on stimulation tests performed in a specific clinical context. Most authors recommend the insulin-tolerance test (ITT) as the first line investigation. However, in view of the data described in the present review, tests without the limitations and disadvantages of ITT are increasingly preferred. These tests include GHRH+arginine and the combined GHRH+GHRP-6 test. The latter, which has been developed mainly in Spanish centers, meets nearly all the conditions necessary to be the ideal test and we recommended it as the first line test.

The other diagnostic tests available present numerous limitations. Nevertheless a low insulin-like growth factor (IGF1) value in patients with other anterior pituitary hormone deficiencies strongly suggests GH deficiency. Figure 1 shows an algorithm for the diagnosis of GHD in adults. The search for new, simple, reliable, safe and inexpensive diagnostic tests will continue to be the aim of research until a test that unites all these conditions is available.

Key words: GH. Stimulation tests. Body composition. GH deficiency. Adult. IGF-1.

Diagnóstico del déficit de hormona de crecimiento en el adulto

R.V. GARCÍA-MAYOR

Servicio de Endocrinología, Diabetes, Nutrición y Metabolismo. Hospital Universitario de Vigo. Vigo. España.

En la actualidad, el diagnóstico de la deficiencia de hormona de crecimiento en adultos depende de pruebas de estímulo realizadas en un contexto clínico concreto. La mayoría de los autores recomiendan el test de tolerancia a la insulina como prueba de primera línea; no obstante, y a la vista de los datos aportados en la presente revisión, la preferencia se va inclinando por pruebas que no tengan tantas limitaciones e incomodidades como la hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH) + arginina y la llamada "prueba combinada GHRH + GHRP-6". Esta última es la que reúne casi todas las condiciones para ser la prueba ideal, y nosotros la recomendamos como prueba de primera línea; cabe recordar que esta prueba se ha desarrollado fundamentalmente en centros españoles.

Las otras pruebas diagnósticas disponibles tienen limitaciones. No obstante, un valor bajo de factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-I) en un paciente con otros defectos hormonales de la función anterohipofisaria sería altamente sugestivo de déficit de hormona de crecimiento.

La búsqueda de nuevas pruebas diagnósticas, sencillas, reproducibles, seguras y baratas seguirá siendo materia de investigación hasta que se disponga de una prueba que reúna todas esas condiciones.

Palabras clave: GH. Pruebas de estímulo. Composición corporal. Déficit de GH. Adulto. IGF-1.

INTRODUCCIÓN

Hasta no hace mucho tiempo se pensaba que la hormona de crecimiento (GH) tenía una escasa relevancia en la fisiología del adulto, y que su papel finalizaba una vez conseguida la talla final. A ello contribuía incluso su nombre, que hacía más alusión a su efecto sobre el crecimiento longitudinal que a sus efectos metabólicos.

Los primeros estudios conocidos sobre el papel de la GH en el adulto se deben a Raben¹ que, en 1962, comunicó el caso de un varón de 35 años con déficit de GH (DGH), que tras la administración de la hormona experimentó un notable aumento en su vitalidad. Otro de los pioneros fue Falkheden² que, en 1963, describió cambios en las variables biológicas que ocurrían después de la hipofisectomía en pacientes con cáncer de mama metastásico, diabetes mellitus con retinopatía grave o acromegalia. Este autor observó modificaciones metabólicas, así como de la función renal y cardiovascular, independientes de la función tiroidea, adrenal o gonadal, y postuló que podrían deberse al DGH.

Las limitaciones en la disponibilidad de la GH para uso terapéutico impidieron que se realizaran más estudios. Fue a mediados de

Correspondencia: Dr. R.V. García-Mayor.
Apdo. de correos 1691. 36201 Vigo. Pontevedra España.
Correo electrónico: ricardo.garcia.mayor@sergas.es

Manuscrito recibido el 24-1-2005; aceptado para su publicación el 31-1-2005.

los años ochenta cuando la introducción de la GH recombinante (rGH) y su disponibilidad de una manera casi ilimitada impulsaron el desarrollo de estudios sistematizados que llevaron a la caracterización del hoy llamado síndrome del DGH en el adulto (DGHa). No obstante, desde hacía muchos años se conocía que los pacientes con hipopituitarismo que recibían sustitución con hormonas tiroideas, adrenales y esteroides sexuales presentaban un cuadro clínico caracterizado por bajo nivel de estado de ánimo, reducción de la sensación de energía, disminución de la resistencia al esfuerzo físico y tendencia a la obesidad. Posteriormente a la introducción de la rGH, estudios controlados demostraron que la administración crónica de la GH revertía estas manifestaciones y brindaba a los pacientes un notable aumento en la calidad de vida sin efectos secundarios graves o duraderos³.

Pese a los avances en la caracterización de síndrome y que los resultados de la terapia con la GH en adultos son incuestionables, aún hay ciertos problemas que requieren más estudios, entre ellos que el síndrome de DGHa es heterogéneo por el hecho de que hay pacientes adultos con DGH diagnosticados en la infancia (DGHCI) y otros en la edad adulta (DGHCA) con características diferentes⁴. Tampoco están del todo definidos los criterios para la selección de los pacientes que pueden beneficiarse del tratamiento sustitutivo con rGH, ya que en la actualidad se considera que únicamente los pacientes con déficit grave son susceptibles de tratamiento. Otro aspecto es la edad, ya que no hay mucha experiencia en el tratamiento con rGH en pacientes deficitarios ancianos, en los que incluso los criterios diagnósticos del DGH no están perfectamente definidos. También se discuten las limitaciones de las pruebas diagnósticas empleadas en la clínica, ya que el diagnóstico del DGHa se basa fundamentalmente en pruebas bioquímicas. Todo esto hace que valga la pena revisar el estado actual de los diferentes aspectos relacionados con el síndrome y en concreto con el diagnóstico.

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

La prevalencia y la incidencia del déficit de GH en el adulto se desconocen. No obstante, y dado que las causas más frecuentes del DGHa son los tumores hipofisarios y su tratamiento⁵, se calcula que la incidencia aproximada es de 1 caso por 100.000 habitantes por año; la gravedad del DGH es variable⁶. Desde hace muchos años, se considera como un axioma que la pérdida de las distintas hormonas en el panhipopituitarismo sigue una secuencia característica, y afecta en primer lugar a la GH⁷. En nuestra experiencia, en pacientes con hipopituitarismo en los que los distintos déficit se establecieron por la realización de pruebas dinámicas, la frecuencia con que los distintos ejes se encontraban afectados fue del 87, el 67, el 62 y el 17% para la hormona luteinizante (LH)/hormona foli-

culostimulante (FSH), la tirotropina (TSH), la corticotropina (ACTH), la GH y la prolactina (PRL), respectivamente, en la muestra global de pacientes. Si sólo se toma en consideración a aquellos que padecían panhipopituitarismo de causa tumoral, la frecuencia de los distintos déficit fue del 85, el 65, el 62, el 60 y el 15%, para la LH/FSH, la GH, la ACTH, la TSH y la PRL, respectivamente. Así, sólo en los casos de hipopituitarismo de etiología tumoral la GH es una de las más afectadas, aunque después de las gonadotropinas. Vale la pena comentar que en los pacientes que tienen 3 o más déficit siempre está afectada la GH⁸.

La causa más frecuente de panhipopituitarismo en adultos son los tumores hipofisarios, que representan el 61% de los casos; los tumores no hipofisarios son la causa de hipopituitarismo en el 9% de los casos, y las causas no tumorales (síndrome de Sheehan, enfermedades granulomatosas, quiste de la bolsa de Rathke, etc.) suponen el 30%⁹.

FACTORES QUE CONDICIONAN LA SECRECIÓN DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO

La GH es un péptido lineal formado por 191 aminoácidos, producido y secretado por las células somatotropas del lóbulo anterior de la hipófisis. La secreción de la GH es pulsátil, y predomina tanto en intensidad como en frecuencia por la noche. Los pulsos son el resultado de la interacción de 2 hormonas hipotalámicas, la hormona liberadora de GH (GHRH), que induce la transcripción del gen de la GH y estimula la liberación de la hormona, mientras que la somatostatina (SS) sólo inhibe la secreción actuando sobre 2 receptores en la hormona somatotropa, SS_rT5 y SS_rT7. La ghrelina, una hormona clonada recientemente, producida por las células del estómago, estimula la secreción de la GH por acción sobre otro receptor específico en la hipófisis.

El efecto biológico de la GH, en parte, es mediado por el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I), producido por el hígado, pero mantiene un importante efecto por sí misma.

Sexo

La secreción integrada de la GH en 24 h en mujeres premenopáusicas es 3 veces mayor que la correspondiente a varones de edad similar.

Edad

La GH es secretada a lo largo de toda la vida, pero disminuye con la edad. La máxima producción y secreción de la GH se da durante la pubertad con una secreción aproximada de 150 µg/l/día, seguida por un descenso aproximado de un 6% cada década, así a los 55 años la secreción es de aproximadamente 25 µg/l/día^{10,11}.

TABLA 1. Manifestaciones clínicas de los pacientes con déficit de la hormona de crecimiento en adultos

Síntomas
Aislamiento social
Labilidad emocional
Mal humor
Falta de energía y vitalidad
Pérdida del autocontrol
Ansiedad
Alteración del bienestar psicológico
Signos
Sobrepeso de predominio central
Piel fina, seca y fría
Disminución de la fuerza muscular
Disminución de su capacidad para el ejercicio
Datos obtenidos por pruebas complementarias
Alteración en la composición corporal
Disminución de la masa magra
Aumento de la masa grasa
Disminución de la densidad mineral ósea
Perfil lipídico aterogénico
Disminución de la síntesis proteínica
Disminución del metabolismo basal

Estado de nutrición

Las concentraciones de GH en sangre periférica se encuentran elevadas en períodos de ayuno y en sujetos con desnutrición crónica. Por otro lado, es bien conocido que la obesidad se asocia con una disminución de la secreción espontánea y estimulada de GH, cuya patogenia está ligada al aumento del tono somatostatinérgico^{12,13}.

Actividad física

El aumento de la actividad física estimula la liberación de la GH, hecho en el que se basa una de las pruebas de estímulo fisiológicas utilizadas en el diagnóstico del déficit de GH en la infancia.

La pulsatilidad de la GH influye sobre las estrategias diagnósticas y terapéuticas.

CLÍNICA DE LA INSUFICIENCIA DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO EN EL ADULTO

La insuficiencia de la GH en el adulto es, con frecuencia, una alteración adquirida en la edad adulta; sin embargo, aproximadamente el 20% de los casos son diagnosticados durante la infancia. Los agentes etiológicos más frecuentes son, como se ha visto, los tumores, los traumatismos craneoencefálicos, las enfermedades granulomatosas en el área hipotálamo-hipofisaria, la cirugía craneal y la radioterapia. Con frecuencia son procesos orgánicos que condicionan insuficiencia hormonal múltiple, a diferencia de lo que ocurre en la infancia, en la que la causa más frecuente cursa con déficit aislado de la GH.

En el adulto, las manifestaciones del déficit de secreción de GH son principalmente sobre el metabolismo, y cursan con disminución de la masa magra y del agua total, asociada al aumento de la masa grasa de predominio en el área abdominal^{14,15}.

Los principales síntomas y signos de la enfermedad se muestra en la tabla 1. Estudios complementarios de los pacientes con insuficiencia de la GH muestran: disminución de la actividad fibrinolítica, aumento de la resistencia a la insulina, aumento de los valores circulantes de la proteína C reactiva y de la interleucina 6, así como anomalías del perfil lipídico caracterizadas por un aumento del colesterol total y del ligado a lipoproteínas de baja densidad, asociado con disminución del colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad, lo que condiciona un elevado riesgo de padecer enfermedad cardiovascular. También se observa disminución de la densidad mineral ósea¹⁶.

La mejoría y el refinamiento de las técnicas analíticas han puesto de manifiesto que, en no pocas ocasiones, el déficit de GH de un paciente determinado es parcial, que el estatus hormonal no es estable y su conocimiento requiere la repetición de las evaluaciones con el fin de establecer el tipo de defecto. Al clínico le interesa fundamentalmente conocer qué pacientes se beneficiarán del tratamiento sustitutivo con GH sin riesgos añadidos.

¿QUÉ PACIENTES SON SUSCEPTIBLES DE LA PRÁCTICA DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS?

Se deben practicar pruebas diagnósticas, para demostrar la existencia de insuficiencia de la GH, a los pacientes con enfermedad hipotálamo-hipofisaria, historia de radiación craneal o a aquéllos diagnosticados de DGH en la infancia. En los pacientes con enfermedad orgánica del área hipotálamo-hipofisaria, la probabilidad de padecer insuficiencia de la GH aumenta con la coexistencia de otros defectos hormonales de la función antehipofisaria.

Los pacientes con microadenomas hipofisarios no precisan pruebas diagnósticas, salvo que padecan otros déficit hormonales asociados¹⁷.

Los pacientes diagnosticados de DGH en la infancia deben ser revaluados en la edad adulta antes de continuar con el tratamiento. En la actualidad, se aceptan unánimemente los beneficios del tratamiento sustitutivo con GH en pacientes con insuficiencia grave. En aquellos que presentan insuficiencia parcial de GH es difícil poder determinar si se trata de un déficit auténtico o de variaciones condicionadas por variables fisiológicas. Por otra parte, el beneficio del tratamiento en estos casos no se ha demostrado.

DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DEL DÉFICIT DE HORMONA DE CRECIMIENTO

El diagnóstico bioquímico presenta dificultades, como se ha visto por las diferencias en la secreción endógena de GH, que se asocia con variables fisiológicas como la edad, el sexo, el grado de adiposidad, la ingesta de alimentos, el estatus nutricional y la actividad física.

La aceptación de los criterios diagnósticos vigentes no ha sido simplemente el resultado de aplicar los mismos métodos que los empleados en pediatría para pacientes con trastornos del crecimiento, sino más bien de la evaluación de cada una de las pruebas en los pacientes adultos. Los resultados han mostrado que la mayoría de pruebas de estímulo de la secreción de la GH empleadas en la infancia, como el ejercicio, la arginina, la L-dopa, la clonidina y el glucagón, tienen una escasa capacidad para estimular la secreción de la GH en el adulto, por lo que se hace difícil su reproducibilidad y la estandarización adecuada de los puntos de corte que diferencien la normalidad de lo patológico.

Se ha estudiado el valor diagnóstico de la concentración integrada de GH en muestras tomadas cada 20 min durante 24 h o durante las horas de la noche. En ambos casos, los valores medios de la GH son significativamente mayores en el grupo de control en comparación con el de pacientes con hipopituitarismo conocido. Si embargo, cuando se ha evaluado a los pacientes individualmente, existe un notable solapamiento entre los valores de los pacientes y el correspondiente a los controles sanos. Los resultados son similares tanto si la concentración de GH se mide con RIA como si se hace con ELISA¹⁸.

También se ha estudiado la posible utilidad de la determinación de la excreción de la GH en orina de 24 h. El resultado es similar a lo acontecido con la concentración integrada, y los valores medios son claramente superiores en los controles en comparación con el grupo de los pacientes con hipopituitarismo, pero el análisis individual de los valores muestra un amplio solapamiento entre ambos grupos de sujetos. El grado de solapamiento aumenta cuando se fracciona la muestra de pacientes en función de la edad; así, a más edad, más solapamiento¹⁹.

El elevado grado de solapamiento de valores de la GH (tanto en suero como en orina) entre los pacientes con hipopituitarismo y las personas sanas demuestra el poco valor diagnóstico de las citadas pruebas.

MEDIDAS INDIRECTAS DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO

Son parámetros que reflejan la concentración de GH durante más o menos tiempo. Los más estudiados han sido el IGF-I y la proteína transportadora de IGF tipo 3 (IGFBP-3), ampliamente utilizadas en pediatría en el estudio de los niños con talla baja. Como sabemos, a diferencia de los valores séricos de la GH, los de IGF-I e IGFBP-3 son estables a lo largo del día; por ello, los pacientes no necesitan estar en ayunas en el momento de la toma de la muestra para el análisis. No obstante, los resultados de los estudios en adultos han mostrado un valor diagnóstico limitado. La IGFBP-3 prácticamente no tiene valor diagnóstico, ni aventaja lo más mínimo a la determinación de la IGF-I. Hoff-

TABLA 2. Condiciones para considerar una prueba de estímulo de la secreción de hormona de crecimiento como “ideal”

Que sea segura y sin efectos secundarios
Que sea reproducible
Que evalúe el eje hipotálamo-hipofisario
Que no se afecte por el grado de adiposidad
Que no se afecte poco por la edad
Que no se afecte por el estatus psíquico
Que no se afecte por el sexo y estatus gonadal
Que no se afecte por variables metabólicas
Que se obtengan resultados similares con cualquier método empleado para medir la hormona de crecimiento
Que sea económica

*Modificado de García-Mayor et al²².

man et al²⁰ demostraron que un alto porcentaje de pacientes con déficit de GH demostrado por hipoglucemia insulínica tenía valores de IGF-I dentro de la normalidad. Sin embargo, un valor bajo de IGF-I en un paciente con peso estable y que no padeciera situaciones catabólicas era fuertemente sugestivo de DGH. En la práctica, se considera que un paciente con valores de IGF-I < 84 µg/l y 3 o más déficit de hormonas antihipofisarias padece DGHa²¹.

PRUEBAS DE ESTÍMULO DE LA SECRECIÓN DE HORMONA DE CRECIMIENTO

Por todo lo descrito, en la actualidad, el diagnóstico de DGHa se basa en las pruebas de estímulo. En la tabla 2 se exponen las condiciones que, a nuestro juicio, debe cumplir la prueba de estímulo de la GH “ideal”²².

¿Cuáles son las condiciones para la realización de este tipo de pruebas? En primer lugar, el paciente debe estar en una fase estable de la enfermedad hipotálamo-hipofisaria; en segundo lugar, debe haber recibido la sustitución adecuada de otros posibles déficit asociados, y finalmente, se debe tener especial cuidado con la sustitución con glucocorticoides, porque un exceso de esta hormona produce un descenso de los valores de la GH y puede provocar falsos positivos.

En la actualidad, la prueba recomendada por la mayoría de expertos es la hipoglucemia inducida por la administración de insulina (ITT). La condición esencial es que, tras la administración de insulina, se produzca un descenso de los valores de la glucemia < 45 mg/dl. La realización de la prueba requiere unidades con experiencia así como la presencia de un facultativo durante toda la prueba. Por otra parte, la ITT está contraindicada en pacientes con cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular o epilepsia. Tampoco hay que olvidar que la ITT tiene una pobre reproducibilidad en personas sanas²³ y que hay menos experiencia con la ITT en personas mayores de 60 años.

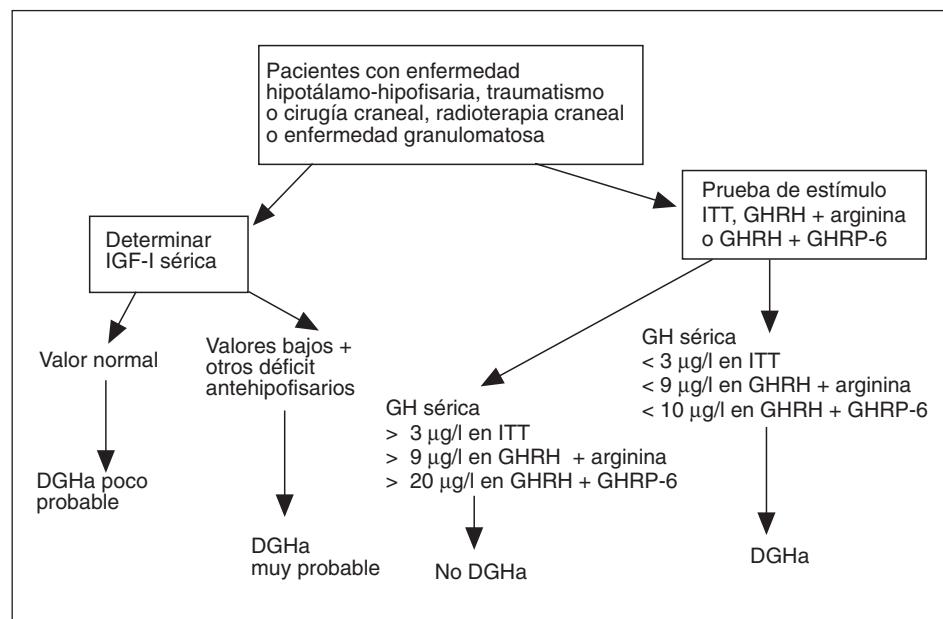


Fig. 1. Algoritmo diagnóstico del déficit de hormona de crecimiento (GH) en el adulto.

El valor de corte para considerar una prueba positiva (ITT) en adultos es un pico de GH tras el estímulo $< 3 \mu\text{g/l}$, medido con un IRMA con estándar 88/624 (1 mg = 3 U)²⁴.

Los pacientes adultos con enfermedad hipotálamo-hipofisaria con 1 o más déficit asociados de hormonas antiehipofisarias requieren únicamente una prueba de estímulo para establecer el diagnóstico de DGHa. Para determinar el diagnóstico del déficit aislado de GH se recomienda la realización de, al menos, 2 pruebas de estímulo de las validadas en adultos.

Dadas las incomodidades y las contraindicaciones de la ITT, es necesario disponer de otras pruebas opcionales. De las pruebas que se pueden considerar nuevas, GHRH + arginina ha mostrado un alto valor diagnóstico. La prueba se realiza inyectando 0,5 g/kg de arginina por vía intravenosa durante 30 min, seguido de un bolo también intravenoso de GHRH 1 $\mu\text{g/kg}$, y tomas de sangre para determinar la concentración de la GH cada 30 min desde 0 hasta 120 min. Como efecto secundario sólo se observa rubefacción facial inmediatamente después de la inyección de GHRH. Esta prueba ha demostrado tener una alta capacidad para diferenciar a las personas adultas sanas de las deficitarias en GH, con una sensibilidad y una especificidad del 100 y el 95,8%, respectivamente. Se considera una prueba positiva si el pico de GH tras el estímulo es $< 9 \mu\text{g/l}$ ²⁵. En un estudio reciente en que se comparaban 6 pruebas de las utilizadas para el diagnóstico de DGHa, únicamente la GHRH + arginina tenía un rendimiento similar al de la ITT²⁶. Sin embargo, esta prueba está influida notablemente por el grado de adiposidad²⁷.

Otra de las pruebas que ha demostrado un gran valor diagnóstico es la prueba combinada GHRH + GHRP-6. La prueba consiste en administrar un bolo

intravenoso de GHRH (1 $\mu\text{g/kg}$) seguido de otro de GHRP-6 (1 $\mu\text{g/kg}$), con toma de muestras cada 30 min desde -30 hasta 120 min. El GHRP-6 es un hexapéptido artificial, y es el más potente estímulo conocido de la secreción de GH²⁸. Actúa estimulando tanto la hipófisis como el hipotálamo. Un pico de GH tras el estímulo de $< 10 \mu\text{g/l}$ establece el diagnóstico de DGHa con una sensibilidad y una especificidad del 100%. Asimismo, una respuesta $\geq 20 \mu\text{g/l}$ define una respuesta normal con las mismas sensibilidad y especificidad que los anteriores²⁹. Las respuestas entre ambas cifras se consideran resultados inciertos y se requieren otras pruebas para establecer el diagnóstico. En esta prueba, y a diferencia de todas las otras pruebas de estímulo, la respuesta de la GH no está influída por la edad o el estatus gonadal, y sólo levemente por los grados extremos de adiposidad (obesidad mórbida)³⁰. De acuerdo con los requerimientos enunciados en la tabla 2 para la prueba ideal, ésta prácticamente cumple todos los criterios. Los únicos problemas consisten en la dificultad para disponer del hexapéptido y su coste, problemas que están en vías de solución. Dada las bondades de la prueba y que hemos participado en su estandarización y puesta en marcha, en nuestro servicio se utiliza habitualmente como prueba de primera línea, incluso con preferencia a la ITT.

Por último, es importante recordar que las pruebas diagnósticas del DGHa deben realizarse únicamente en pacientes con alta probabilidad de padecer la enfermedad, ya que, de acuerdo con el teorema de Bayes, la sensibilidad y la especificidad de una prueba diagnóstica depende directamente de la prevalencia de la enfermedad. Así, la ITT tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 97%, con un valor predictivo positivo del 99% y negativo del 100% en el grupo de pacientes con enfermedad hipotálamo-hipo-

fisaria, donde el DGHa tiene una prevalencia del 80%. Si el estudio se realizara en la población general, donde la prevalencia de DGHa es del 0,02%, el valor predictivo positivo de la ITT sería del 0,6%. Esto es, el valor diagnóstico de una prueba depende de la probabilidad previa de padecer la enfermedad (fig. 1).

BIBLIOGRAFÍA

1. Raben MS. Clinical use of human growth hormone. *N Engl J Med.* 1962;266:82-6.
2. Falkheden T. Pathophysiological studies following hypophysectomy in man. Thesis, University of Göteborg; 1963.
3. García-Mayor RV. Seguridad en tratamiento con GH en adultos deficitarios. *Endocrinol Nutr.* 2003;50:100-2.
4. Attanasio AF, Lamberts SWJ, Matranga AMC, Birkett MA, Bates PC, Valk NK, et al. Adult growth hormone (GH) deficient patients demonstrated heterogeneity between childhood onset and adult onset before and during human GH treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:82-8.
5. Sönksen PH. Replacement therapy in hypothalamo-pituitary insufficiency after childhood: management in the adult. *Horm Res.* 1990;33 Suppl 4:45-51.
6. Regal M, García-Mayor RV. Epidemiología del hipopituitarismo y los tumores hipofisarios. *Med Clin (Barc).* 2002;119:345-50.
7. Wass JAA. Hypopituitarism. Besser GM, Cudworth AG, editors. En: *Clinical Endocrinology, an illustrated text.* London: Gower Medical Publishing; 1987. p. 2.1-2.14.
8. Regal M, Páramo C, Pérez Méndez LF, Luna R, García-Mayor RV. Características demográficas y clínicas de 69 pacientes con hipopituitarismo diagnosticados en la edad adulta. *Endocrinol Nutr.* 2004;51:351-8.
9. Regal M, Páramo C, Sierra JM, García-Mayor RV. Prevalence and incidence of hypopituitarism in an adult Caucasian population in north-western Spain. *Clin Endocrinol.* 2001;55:735-40.
10. Iranmanesh A, Lizarralde G, Veldhuis JD. Age and relative adiposity are specific negative determinants of the frequency and amplitude of growth hormone (GH) secretory bursts and the half-life of endogenous GH in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73:1081-9.
11. Toogood AA, Jones J, O'Neill PA, Thorner MO, Shalet SH. The diagnosis of severe growth hormone deficiency in elderly patients with hypothalamic-pituitary disease. *Clin Endocrinol.* 1998;48:569-76.
12. Veldhuis JD, Iranmanesh A, Ho KK, Waters MJ, Johnson MI, Lizarralde G. Dual defects in pulsatile growth hormone secretion and clearances subserve the hyposomatotropism of obesity in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:51-9.
13. Cordido F, Casanueva FF, Dieguez C. Cholinergic receptor activation by piridostigmine restores GH responsiveness to growth hormone (GH)-releasing hormone administration in obese subjects: evidence for hypothalamic somatostatinergic participation in the blunted GH release of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68:290-3.
14. Rosen T, Bosaeus I, Tölli J, Lindstedt G, Bengtsson BA. Increased body fat mass and decreased extracellular fluid volume in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol.* 1993;38:63-71.
15. Christ ER, Cummings MH, Westwood NB, Sawyer BM, Pearson TC, Sönksen PH, et al. The importance of growth hormone in the regulation of erythropoiesis, red cell mass and plasma volume in adults with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:2985-90.
16. Holmes SJ, Economou G, Whitehouse RW, Adams JE, Shalet. Reduced bone mineral density in patients with adult onset growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:669-74.
17. Consensus guidelines for diagnosis and treatment of adults with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:379-81.
18. Reutens AT, Hoffman DM, Leung KC, Ho KK. Evaluation and application of a highly sensitive assay for serum growth hormone (GH) in the study of adults with GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:480-5.
19. Bates AS, Evans AJ, Jones P, Clayton RW. Assessment of GH status in adults with GH deficiency using serum growth hormone, serum insulin-like growth factor-I and urinary growth hormone secretion. *Clin Endocrinol.* 1995;42:425-30.
20. Hoffman DM, O'Sullivan AJ, Baxter RC, Ho KK. Diagnosis of growth-hormone deficiency in adults. *Lancet.* 1994;i:1064-8.
21. Hartman ML, Crowe BJ, Biller BMK, et al. Which patients do not require a growth hormone (GH) stimulation test for the diagnosis of adult GH deficiency? *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:477-85.
22. García-Mayor RV, Leal-Cerro A, Pérez FR, Menéndez C, Micic D, Pombo M, et al. Theoretical considerations in estimating the growth hormone axis in adults. *GH IGF Res.* 1998;8:93-6.
23. Hoeck HC, Vestergaard P, Jacobsen PE, Laurberg P. Test of growth hormone secretion in adults: poor reproducibility of the insulin tolerance test. *Eur J Endocrinol.* 1995;133:305-12.
24. Girbés J, Varela C, Ewbb S, Leal A, Sanmartí A, García-Mayor RV, et al. Protocolo unificado de utilización de la hormona del crecimiento en pacientes adultos deficitarios. *Endocrinol Nutr.* 2003;50:49-60.
25. Ghigo E, Aimaretti G, Gianotti L, Bellone J, Aruat E, Camanni F. New approach to the diagnosis of growth hormone deficiency in adults. *Eur J Endocrinol.* 1996;134:352-6.
26. Biller BMK, Samuels MH, Zagar A, Cook DM, Arafah BH, Bonert V, et al. Sensitivity and specificity for six tests for the diagnosis of adults GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2067-79.
27. Maccario M, Gauna C, Procopio M, Divito L, Rossetto R, Oleandri SE, et al. Assessment of GH/IGF-I axis in obesity by evaluation of IGF-I levels and the GH response to GRRH+arginine test. *J Endocrinol Invest.* 1999;22:424-9.
28. Casanueva FF. Growth hormone secretagogues, physiological and clinical utility. *Trens Endocrinol Metab.* 1999;10:30-8.
29. Popovic V, Leal A, Micic D, Koppeschaar HPF, Torres E, Páramo C, et al. Gh-releasing hormone and GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults. *Lancet.* 2000;356:1137-42.
30. Cordido F, Peñalva A, Dieguez C, Casanueva FF. Massive growth hormone (GH) discharge in obese subjects alter the continual administration of GH-releasing hormone and GHRP-6: evidence for a marked somatotroph secretory capability in obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:819-23.