

Studio trasversale e prospettico degli effetti della terapia con GH sul quadro metabolico in bambini con deficit di GH

Cross-sectional and prospective study of the effects of GH therapy on metabolic panel in children with GH deficiency

V. Ramistella,¹ M. Wasniewska,¹ S. Arasi,¹ M. Catena,¹ M. R. Velletri,¹ D. Corica,¹ S. Santucci,¹ F. De Luca¹

Key words: GH Deficiency, cholesterol, insulin, cardiovascular risk

Abstract

Background: Numerous studies have shown that GH, in addition to promoting linear growth, exerts a key role in many metabolic processes. However, there are only few studies aiming at evaluating the metabolic panel of children with GH deficiency (GHD).

The aims of the study were: to verify the presence of metabolic alterations in GHD children in comparison with age-matched controls and to check the possible effects of two year GH therapy on the metabolic parameters in GHD.

Study design: cross-sectional and prospective; one center experience
Population and Methods: We enrolled 32 pediatric GHD patients (group A) and 33 sex- and age-matched healthy controls (group B). Baseline serum assays (lipid, insulin, glucose) were performed in both groups. GHD children underwent replacement therapy with GH. The same assays were repeated after 12 and 24 months of GH treatment.

Results: No differences, in basal assays were found between the two groups. In group A, after initiation of GH, there was a significant increase of basal insulin and HOMA- insulin resistance (IR) index ($p < 0.001$). In children with severe GHD (peak GH < 3 ng/ml), after beginning of GH therapy a significant improvement in the lipid profile was found ($p < 0.05$).

Conclusions: a) At the time of diagnosis GHD children had a metabolic picture that was not different from non- GHD group; b) in children with severe GHD, the metabolic profile showed a trend towards at improvement after the initiation of replacement

therapy with GH, with beneficial effects in terms of total cholesterol, LDL cholesterol and cardiovascular risk indices; c) GHD patients with unfavorable metabolic profile (high BMI and hypercholesterolemia) need a monitoring of glucose metabolism by periodical evaluations of insulin and HOMA – IR.

Abstract

Background: Numerosi studi hanno dimostrato che il GH, oltre a promuovere la crescita staturale, esercita un ruolo chiave in diversi processi del metabolismo. Pochi sono gli studi su bambini con deficit di GH (GHD) volti a studiare alterazioni metaboliche. Scopo del nostro studio è quello di verificare in bambini GHD la presenza di alterazioni metaboliche in confronto ad una popolazione sana e gli eventuali effetti benefici o sfavorevoli del GH sul metabolismo dei pazienti GHD durante un periodo di trattamento di due anni.

Disegno dello studio: trasversale e prospettico.

Popolazione e metodi: Sono stati arruolati 32 pazienti pediatrici GHD (gruppo A) e 33 casi controllo apparentemente sani sovrapposibili per sesso, età e provenienza (gruppo B). Tutti i pazienti di entrambi i gruppi hanno eseguito una valutazione laboratoristica basale (assetto lipidico, IRI, glicemia). I bambini del gruppo A sottoposti al trattamento sostitutivo con GH hanno eseguito le stesse valutazioni laboratoristiche dopo 12 e 24 mesi dall'inizio del trattamento con GH.

Risultati: Nessuna differenza per assetto lipidico e glicometabolico di base è stata riscontrata tra i due gruppi. Nel gruppo A, dopo avvio del GH si è avuto un aumento significativo di insulinemia basale e IR HOMA ($p < 0,001$), che sono rimaste comunque entro i limiti della norma. Nei bambini con GHD grave (picco di GH < 3 ng/ml in risposta ad entrambi gli stimoli farmacologici) dopo l'avvio della terapia con GH è stato riscontrato un miglioramento significativo del profilo lipidico ($p < 0,05$).

Conclusioni Il nostro studio ha evidenziato che i bambini GHD presentano un quadro metabolico non dissimile dai non GHD; nei bambini con GHD grave il profilo metabolico presenta un trend di

¹ Dipartimento Scienze Pediatriche, Ginecologiche, Microbiologiche e Biomediche, Università di Messina

miglioramento consistente dopo l'avvio della terapia sostitutiva, con benefici effetti sul colesterolo totale, colesterolo LDL e sugli indici di rischio cardiovascolari; nei pazienti GHD con profilo metabolico sfavorevole (BMI elevato, ipercolesterolemia) è necessario un monitoraggio del metabolismo glucidico attraverso lo studio dell'insulina e dell'IR-HOMA

Introduzione

Numerosi studi hanno dimostrato come l'ormone della crescita (GH), oltre a promuovere la crescita staturale, esercita un ruolo chiave in diversi processi del metabolismo.¹ Adulti e adolescenti con deficit di GH non trattato possono infatti presentare numerosi fattori di rischio tra cui alterazione della composizione corporea con aumento del grasso viscerale, dislipidemia, ipertensione arteriosa, compromissione della performance cardiaca, ecc.^{2,3,4,5} Finora sono stati condotti pochi studi su bambini e adolescenti con deficit di GH volti a studiare tali alterazioni. Alcune recenti evidenze suggeriscono che il deficit di GH si associa precocemente a tali disordini del metabolismo, e la terapia con GH sembrerebbe esercitare un effetto positivo sulla maggior parte di esse.⁶ Il grado di protezione del GHD nei confronti delle complicanze metaboliche in età pediatrica potrebbe dipendere dall'equilibrio complessivo tra azione metabolica protettiva del GH (influenza positiva sul profilo lipidico, omocisteina, indici infiammatori) e quella meno desiderata collegata con l'aumento dell'insulino-resistenza. Scopo del nostro studio è quello di verificare in una popolazione di bambini con deficit di GH (GHD) la presenza di alterazioni metaboliche in confronto con una popolazione sana e gli eventuali effetti benefici e/o sfavorevoli del GH sul metabolismo dei pazienti GHD durante un periodo di trattamento di due anni.

Pazienti e metodi

Gruppo GHD (A) – Sono stati arruolati 32 pazienti (15 F, 17 M) pediatrici (età media $8,9 \pm 3,6$ anni, range 2-15 anni) con bassa statura causata da GHD, identificati come soggetti IGHD idiopatici secondo nota 39 dell'AIFA, seguiti presso il Centro di Endocrinologia Pediatrica dell'Università di Messina. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti che presentavano le seguenti condizioni: malnutrizione, malattie cardiovascolari (per es. patologia cardiache congenite), malattie renali (per es. acidosi renale tubulare, insufficienza renale cronica), malattie respiratorie (per es. fibrosi cistica, asma), malattie gastrointestinali (per es. infiammazione cronica intestinale, malattia celiaca, malattie epatiche), malattie neurologiche (per es. tumori cerebrali, difetti congeniti della linea mediana), problemi psicosociali (per es. anoressia nervosa, abuso nell'infanzia), malattie endocrine (per es. diabete mellito, ipotiroidismo, deficit di gonadotropine, deficit di ACTH, deficit di PRL), patologie cromosomiche e genetiche caratterizzate da GHD (per es. sindrome di Turner, sindrome di Down, displasia scheletrica, sindrome di Prader-Willi ed altre patologie genetiche croniche o sindromi).

Gruppo Controllo (B) – Sono stati arruolati 33 casi controllo (17 F, 16 M) apparentemente sani (età media $8,4 \pm 3,1$ anni, range 2-15 anni), sovrapponibili per sesso, età e provenienza al gruppo IGHD.

Metodi

Per tutti i pazienti sono stati valutati:

- Valutazione anamnestica familiare relativa al rischio di Sindrome Metabolica.
- Valutazione antropometrica standard usando le curve di crescita italiane per statura, peso, body mass index e velocità di crescita (Cacciari et al. 2006).⁷
- Studio dell'età ossea mediante metodo di Greulich and Pyle e rapporto con l'età cronologica.
- Valutazione dell'IGF1 eseguita in laboratorio centralizzato con i test commerciali normalmente utilizzati e inquadramento in deviazioni standard mediante le tabelle di riferimento (Elminger et al. 2005).⁸ Valutazione laboratoristica standard dei parametri metabolici a digiuno (colesterolo totale, LDL, HDL, trigliceridi) eseguita in Laboratorio Centralizzato con i test commerciali normalmente utilizzati e i risultati inquadrati in Deviazioni Standard utilizzando le tabelle di Daniels e Greer;⁹ valutazione del colesterolo non HDL: rapporto colesterolo totale / colesterolo HDL usando la metodologia descritta da Grundy et al. 2001,¹⁰ l'indice aterogenico: $[\log(\text{trigliceridi}/\text{HDL})]$ usando la metodologia di Dobiasova M. et al. 2004,¹¹ il rapporto trigliceridi/HDL descritto da Hanak et al. 2004.¹² Insulinoresistenza (IR) usando HOMA-IR model (Matthews et al. 1998).¹³

Disegno dello studio

Studio trasversale:

Tutti i pazienti pediatrici GHD arruolati per lo studio, hanno eseguito una valutazione clinico-auxologica e laboratoristica. I pazienti del Gruppo di controllo hanno eseguito lo stesso tipo di valutazione basale del Gruppo A.

Studio prospettico:

Nel Gruppo A, i bambini con GHD sottoposti al trattamento sostitutivo con GH alla dose di $30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{die}$ hanno eseguito una valutazione clinico-auxologica, laboratoristica dopo 12 e 24 mesi dall'inizio del trattamento con GH.

Lo studio ha avuto una durata di due anni ed ha ottenuto il consenso del comitato etico del Policlinico di Messina.

Analisi Statistica

I risultati sono stati espressi come media \pm Deviazione standard (DS). La comparazione tra gruppi omogenei è stata eseguita con Test T di Student per dati appaiati e non appaiati. Correlazioni sono state ese-

Tabella 1

PARAMETRI AUXOLOGICI:
STATURA (H), BODY MASS INDEX (BMI), H- TARGET, RAPPORTO ETÀ OSSEA-ETÀ CRONOLOGICA (EO/EC), VELOCITÀ DI CRESCITA E VALORE BASALE DI IGF1 (MEDIA±DS) ALLA DIAGNOSI DI DEFICIT ISOLATO DI GH (GRUPPO A) E NEL GRUPPO DI CONTROLLO (GRUPPO B).

	Gruppo A (32)	Gruppo B (33)	p
Età (anni)	8,9±3,6	8,4±3,1	0,26
Statura (DS)	-2,7±0,5	-0,8±1,5	<0,001
BMI(DS)	-0,5± 1,1	0,1±1,2	<0,025
H-Target (DS)	-1,1± 0,7	0,1±1,3	<0,001
EO/EC	0,8±0,2	1,1±0,2	<0,001
Velocità di crescita (cm/anno)	3±1,8	5,4±2,3	<0,001
IGF1 (DS)	-1,6±1,6	0,2±1,6	<0,001

guita con test di Pearson. Le differenze nella proporzione dei pazienti sono state studiate con test chi-square (χ^2). In tutti i test la p è stata valutata statisticamente significativa quando minore di 0.05.

Risultati

Le caratteristiche auxologiche e metaboliche dei due gruppi A e B sono raffigurate nelle tabelle 1 e 2.

Valutazione longitudinale (0-12 e 24 mesi) del gruppo A (IGHD)

Parametri auxologici

Durante 2 anni di studio i pazienti del gruppo A trattati con hGH hanno presentato un recupero staturale medio di 1,1 DS in due anni di terapia con GH sostitutivo. Nessuna variazione è stata apprezzata per ciò che concerne il BMI, mentre si è avuta un'accelerazione non statisticamente significativa della maturazione ossea (EO/EC 0,8 vs 0,9). I livelli di IGF1 sono risultati significativamente aumentati (+1,3 vs -1,5 DS).

Parametri metabolici (Tabella 3)

Durante il periodo di studio nessuna modificazione significativa è stata riscontrata nei livelli di glicemia a digiuno. L'insulinemia è aumentata significativamente rientrando comunque quasi sempre

nei limiti di normalità. È stato riscontrato un aumento statisticamente significativo dell'IR-HOMA ($0,7\pm0,5$ vs $1,3\pm1,2$, $p<0,05$). Ma nessuno dei pazienti ha presentato valori di IR-HOMA patologici, maggiori cioè di 3,1. Il colesterolo totale è rimasto invariato dopo due anni di follow-up, ma dei 5 pazienti che al T0 presentavano valori superiori a 200 mg/dl solo 2 hanno riconfermato tali valori non raggiungendo comunque la significatività statistica ($X^2=1,4$; $P>0,05$). Gli scores metabolici sono risultati invariati (colesterolo non HDL, trigliceridi/HDL e IA index).

Non sono state riscontrate differenze significative tra i due sessi nei parametri studiati.

Suddividendo il Gruppo A in 2 sottogruppi per età, un gruppo con età inferiore a 10 anni (18 casi) e l'altro con età maggiore di 10 anni (14 casi) alla diagnosi di GHD, non sono state riscontrate differenze significative per ciò che concerne i parametri auxologici. In merito ai parametri metabolici abbiamo riscontrato nel Gruppo >10 anni un valore medio più alto, statisticamente significativo, di insulinemia basale sia al T0 che al T24 mesi rispetto al Gruppo <10 anni. Per il resto non sono state evidenziate differenze statisticamente significative.

Analisi per la gravità del deficit di GH

Abbiamo suddiviso il Gruppo A in due sottogruppi a seconda della gravità del GHD (picco GH durante i due Test da stimolo eseguiti alla diagnosi di GHD).

Tabella 2

ASSETTO METABOLICO (GLICEMIA, INSULINA, HOMA MODEL, COLESTEROLO TOTALE, HDL, LDL E TRIGLICERIDI) E INDICI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE (COLESTEROLO NON HDL, INDICE ATEROGENO IA, TRIGLICERIDI/HDL) NEI DUE GRUPPI A E B ALLA VALUTAZIONE BASALE (TEMPO 0).

	GRUPPO A	GRUPPO B	P
Glicemia mg/dl	84 ± 11,6	79,9±8,9	0,056
Insulina uUI/ml	3,1±1,9	4,3±4,5	0,10
HOMA Model	0,66±0,45	0,89±0,92	0,13
Colesterolo totale mg/dl	0,58±1,3	0,6±1,2	0,46
Colesterolo LDL mg/dl	0,1±1,2	0,4±1,1	0,15
Colesterolo HDL mg/dl	0,23±0,27	0,3±0,6	0,27
Trigliceridi mg/dl	0,1±1,1	0,2±0,8	0,26
Colesterolo non HDL	2,7±0,6	2,9±0,7	0,22
IA Index	-0,4±0,2	-0,3±0,2	0,21
Trigliceridi/HDL	1±0,5	1,1±0,7	0,21

Tabella 3

VALUTAZIONE LONGITUDINALE DEI PARAMETRI METABOLICI (MEDIA \pm DS: GLICEMIA, INSULINA HOMA I, COLESTEROLO TOTALE, LDL, HDL, TRIGLICERIDI) E INDICI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE (COLESTEROLO NON HDL, INDICE ATEROGENO IA, TRIGLICERIDI/COLESTEROLO TOTALE) DI 24 MESI DEL GRUPPO A DURANTE LA TERAPIA CON GH.

	Tempo 0	Tempo 24 mesi	P
Glicemia (mg/dl)	84 \pm 11,6	85 \pm 10,1	0,35
Insulina (uUg/dl)	3,1 \pm 1,9	5,9 \pm 5,3	0,007
HOMA IR	0,66 \pm 0,45	1,3 \pm 1,2	0,01
Colesterolo totale DS	0,58 \pm 1,3	0,27 \pm 1,3	0,88
Colesterolo LDL DS	0,1 \pm 1,2	0,1 \pm 1,2	0,46
Colesterolo HDL DS	0,23 \pm 0,27	0,5 \pm 0,6	0,09
Trigliceridi DS	0,1 \pm 1,1	0,4 \pm 1,1	0,46
Colesterolo non HDL	2,8 \pm 0,6	2,7 \pm 0,6	0,47
IA Index	-0,4 \pm 0,2	-0,3 \pm 0,2	0,3
Trigliceridi/HDL	1 \pm 0,5	1,1 \pm 0,5	0,41

Tabella 4

VALUTAZIONE LONGITUDINALE DI 24 MESI DELL'ASSETTO LIPIDICO (COLESTEROLO TOTALE, LDL, HDL, TRIGLICERIDI, INDICI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE) NEL GRUPPO A1 (DEFICIT ISOLATO DI GH CON PICCO <4N/ML) NG/M).

	Gruppo A1 T0	Gruppo A1 T24	p
Colesterolo totale DS	0,8 \pm 1,2	-0,08 \pm 1,1	0,4
Colesterolo HDL DS	0,2 \pm 0,3	0,6 \pm 0,6	0,18
Colesterolo LDL DS	0,3 \pm 1,1	-0,5 \pm 0,6	0,14
Trigliceridi DS	0,8 \pm 0,7	0,3 \pm 0,6	0,66
Colesterolo Non HDL	1,3 \pm 0,5	1 \pm 0,4	0,16
IA Index	-0,2 \pm 0,2	-0,3 \pm 0,1	0,19
Trigliceridi/HDL	3 \pm 0,8	2,6 \pm 0,5	0,16

13 pazienti presentavano un picco di GH inferiore a 4 ng/ml (Gruppo A1), mentre 20 pazienti avevano un picco maggiore a 4 ng/ml (Gruppo A2). Abbiamo evidenziato come i livelli di Colesterolo Totale ed LDL al tempo 0 risultavano tendenzialmente più alti nel Gruppo A1 mentre, dopo 2 anni di terapia con GH, tali valori si sono notevolmente ridotti risultando inferiori anche rispetto al Gruppo A2.

Lo studio dell'assetto lipidico nel gruppo con deficit di GH grave (Gruppo A1) ha evidenziato un trend in diminuzione di colesterolo tot, HDL, LDL e degli indici di rischio cardiovascolare dopo due anni di terapia, non si è raggiunta comunque la significatività statistica probabilmente per l'esiguo numero del campione (Tabella 4). Nessuna modificazione statisticamente significativa si è invece notata per ciò che concerne il BMI (0.02 \pm 0.9 vs 0.05 \pm 0.9; p=0.46).

Discussione

Metabolismo Lipidico

Molti studi hanno dimostrato che la presenza di un profilo lipidico caratterizzato da un aumento del colesterolo LDL e una diminuzione del Colesterolo HDL è associato ad un aumento del rischio cardiovascolare.² Infatti, per tali motivi, in letteratura esistono numerosi indici di rischio cardiovascolare calcolati sul tipo e sulla quantità di lipidi presenti (IA index, Colesterolo non HDL, trigliceridi/HDL, ecc).^{10,11,12}

Il GH determina fisiologicamente una diminuzione della lipogenesi e un aumento della lipolisi, influenzando, inoltre, il metabolismo

lipidico attraverso la regolazione dell'espressione epatica dei recettori del LDL.¹⁴ Molti studi hanno documentato, negli adulti con deficit di GH non trattato, uno sfavorevole profilo lipidico con aumento della quota di LDL e trigliceridi, rispetto all'HDL e un aumento degli indici di rischio cardiovascolare.² È stato inoltre evidenziato che la discontinuazione della terapia con GH negli adolescenti è associata con un incremento dei markers di rischio cardiovascolare.¹⁵ Questi dati suggerirebbero una stretta associazione tra i livelli lipidici presenti in adolescenza e i fattori di rischio cardiovascolari nei giovani adulti. I risultati di pochi studi eseguiti sugli adolescenti GHD non sono conclusivi, in quanto alcuni di essi non hanno evidenziato significative alterazioni del profilo lipidico negli adolescenti che hanno sospeso la terapia con GH confrontandoli con la popolazione sana.⁶

Pochissimi sono gli studi eseguiti sui bambini GHD per ciò che concerne l'assetto lipidico e i risultati sono stati contrastanti.¹⁶⁻¹⁷⁻¹⁸ Non è stata documentata una significativa alterazione del profilo lipidico rispetto ai controlli, ma è stato evidenziato un benefico effetto della terapia sostitutiva che ha determinato una riduzione dei livelli di colesterolo LDL. Il nostro studio conferma che nessuna alterazione del metabolismo lipidico è presente alla diagnosi di GHD in età pediatrica rispetto ai controlli sani e non vi è evidenza statisticamente significativa di un'influenza positiva della terapia con GH sul profilo lipidico in GHD pediatrici almeno nei primi due anni di terapia. Abbiamo comunque evidenziato un trend positivo della terapia con GH su pazienti che presentavano ipercolesterolemia. Su 15.6% dei pazienti che presentava-

no livelli patologici di colesterolo totale all'inizio dello studio, solo 6.25% continuavano a presentare ipercolesterolemia dopo 2 anni di terapia con GH, evidenziando quindi un possibile ruolo benefico sul metabolismo lipidico del GH nei bambini. Ciò è supportato anche dal fatto che è stata riscontrata una correlazione negativa, statisticamente significativa, degli indici di rischio cardiovascolare (IA index, Colesterolo non HDL) con il picco di GH. Ancor più rilevante è il dato riguardante i bambini con grave deficit di GH (picco di GH inferiore a 4 ng/ml), abbiamo infatti evidenziato come i livelli lipidici risultano essere tendenzialmente più alti rispetto ai bambini con deficit meno severo e la terapia con GH sembrerebbe indurre una diminuzione evidente sia di colesterolo totale che di colesterolo LDL. Ovviamente studi più ampi, multicentrici, su questa popolazione di pazienti dovrebbero essere eseguiti per confermare tali dati.

Metabolismo Glucidico

Il GH ha un fisiologico ruolo nel mantenimento della glicemia, soprattutto durante il digiuno, stimolando la gluconeogenesi epatica e sopprimendo l'uptake glucidico, insulino-mediato, dai tessuti periferici. Paradossalmente, sembrerebbe che sia il deficit di GH che il trattamento sostitutivo con GH siano associati a sviluppo di insulino-resistenza. È stato suggerito che il meccanismo attraverso il quale il deficit di GH determini iperinsulinismo sia mediato da un'anormale distribuzione del grasso, mentre il GH esogeno potrebbe determinare insulino-resistenza per un aumento della produzione endogena di glucosio.¹⁻¹⁹

Studi su popolazione adulta in trattamento con GH sostitutivo, hanno documentato un incremento dell'incidenza di diabete in soggetti con BMI elevato e livelli patologici di pressione arteriosa e trigliceridi suggerendo che un'attenta valutazione dell'omeostasi insulinica e glucidica sia indispensabile durante trattamento con GH in pazienti con uno sfavorevole profilo metabolico.

Gli effetti del deficit di GH e della terapia sostitutiva sono controversi nei soggetti in fase di transizione. Dopo l'interruzione della terapia con GH, infatti, alcuni studi mostrano miglioramenti e altri peggioramenti dell'omeostasi glucidica.⁶⁻²⁰

Pochi studi e con un breve follow-up sono stati eseguiti sui bambini in terapia sostitutiva con GH.²¹⁻²² Dagli studi internazionali si evince che nei bambini GHD non trattati il profilo glicometabolico non è dissimile dalla popolazione sana. Anche nel nostro studio non abbiamo evidenziato delle sostanziali alterazioni del profilo glicometabolico tra i due gruppi presi in esame (Gruppo GHD e controllo) all'inizio dello studio. Significativo aumento dell'insulinemia e dell'HOMA è stato riscontrato dopo l'avvio della terapia con GH. Nessuno comunque dei bambini studiati ha presentato livelli patologici di HOMA e solo un bambino ha presentato iperinsulinismo a due anni dall'avvio del trattamento con normale tolleranza glucidica. Tali dati sono in accordo con gli studi internazionali che evidenziano un aumento dell'insulinemia e dell'HOMA nei bambini GHD, per cui soprattutto in bambini con fattori di rischio presenti all'avvio della terapia (elevato BMI, profilo lipidico sfavorevole, ecc) è corretto avviare un

monitoraggio del profilo glico-metabolico durante la terapia. Sono necessari ulteriori studi a lungo termine per chiarire gli effetti della terapia sostitutiva con GH sul metabolismo glucidico nei bambini.

Conclusioni

Il nostro studio ha evidenziato che i bambini GHD presentano un quadro metabolico non dissimile dai non GHD; nei bambini con GHD grave il profilo metabolico presenta un trend di miglioramento consistente dopo l'avvio della terapia sostitutiva, con benefici effetti sul colesterolo totale, colesterolo LDL e sugli indici di rischio cardiovascolari; nei pazienti GHD con profilo metabolico sfavorevole (BMI elevato, ipercolesterolemia) è necessario un monitoraggio del metabolismo glucidico attraverso lo studio dell'insulina e dell'IR-HOMA

Bibliografia

- 1 Moller N, Jorgensen JO. Effects of growth hormone on glucose, lipid and protein metabolism in human subjects. *Endocr Rev* 2009;30:152-77
- 2 Gola M, Bonadonna S, Doga M, Giustina A. Clinical review: growth hormone and cardiovascular risk factors. *J. Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1864-70
- 3 Colao A, Di Somma C, Savanelli MC, De Leo M, Lombardi G. Beginning to end: cardiovascular implications of growth hormone (GH) deficiency and GH therapy. *Growth Horm IGF Res* 2006;6:541-58
- 4 Johannsson G, Albertsson-Wikland K, Bengtsson BA. Discontinuation of growth hormone (GH) treatment: metabolic effects in GH-deficient and GH-sufficient adolescent patients compared with control subjects. Swedish study Group for Growth Hormone Treatment in Children. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:36 50-5
- 5 Carrol PV, Drake WM, Maher KT, Metcalfe K, Shaw NJ, Dunger DB et al. 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;89:3890-5
- 6 Capalbo D, Mattace Raso G, Esposito A, Di Mase R, Barbieri F, Meli R, Bruzzese D and Salerno M. Cluster of cardiometabolic risk factors in children with GH deficiency: a prospective case-control study. *Clinical Endocrinology* 2014;0:1-7
- 7 Cacciari E, Milani S, Balsamo A, Spada E, Bona G, Cavallo L, Cerutti F, Gargantini L, Greggio N, Tonini G, Cicognani A. Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (2 to 20 yr). *J Endocrinol Invest.* 2006 Jul-Aug;29(7):581-93.
- 8 Elmlinger MW, Kühnel W, Weber MM, Ranke MB Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). *Clin Chem Lab Med.* 2004;42(6):654-64
- 10 Daniels SR, Greer FR; Committee on Nutrition. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics.* 2008 Jul;122(1):198-208. doi: 10.1542/peds.2008-1349
- 9 Grundy SM. Non-high-density lipoprotein cholesterol level as potential risk predictor and therapy target. *Arch Intern Med.* 2001;161:1379-80.

- ¹¹ Dobiášová M. Atherogenic index of plasma [log(triglycerides/HDL-cholesterol)]: theoretical and practical implications. *Clin Chem*. 2004 Jul;50(7):1113-5.
- ¹² Hanak V, Munoz J, Teaque J, Stanley A, Jr, Bittner V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B. *Am J Cardiol*. 2004;94:219-22.
- ¹³ Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care*. 1998 Dec;21(12):2191-2
- ¹⁴ Twickler TB, Cramer MJ, Dallinga-Thie GM, Chapman MJ, Erkelens DW, Koppeschaar HP. Adult-onset growth hormone deficiency: Relation of postprandial dyslipidemia to premature atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Jun;88(6):2479-88.
- ¹⁵ Vahl N, Juul A, Jørgensen JO, Orskov H, Skakkebaek NE, Christiansen JS. Continuation of growth hormone (GH) replacement in GH-deficient patients during transition from childhood to adulthood: a two-year placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 May;85(5):1874-81.
- ¹⁶ Salerno M, Esposito V, Farina V, Radetti G, Umbaldo A, Capalbo D, Spinelli L, Muzzica S, Lombardi G, Colao A. Improvement of cardiac performance and cardiovascular risk factors in children with GH deficiency after two years of GH replacement therapy: an observational, open, prospective, case-control study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Apr;91(4):1288-95. Epub 2006 Jan 10.
- ¹⁷ Capalbo D, Lo Vecchio A, Farina V, Spinelli L, Palladino A, Tiano C, Lettierio T, Lombardi G, Colao A, Salerno M. Subtle alterations of cardiac performance in children with growth hormone deficiency: results of a two-year prospective, case-control study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Sep;94(9):3347-55. doi: 10.1210/jc.2008-2639. Epub 2009 Jul 7.
- ¹⁸ Ciresi 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. *Eur J Endocrinol*. 2007 Mar;156(3):353-60.
- ¹⁹ Yuen KC, Dunger DB. Therapeutic aspects of growth hormone and insulin-like growth factor-I treatment on visceral fat and insulin sensitivity in adults. *Diabetes Obes Metab*. 2007 Jan;9(1):11-22.
- ²⁰ Luger A, Mattsson AF, Koltowska-Hägström M, Thunander M, Góth M, Verhelst J, Abs R. Incidence of diabetes mellitus and evolution of glucose parameters in growth hormone-deficient subjects during growth hormone replacement therapy: a long-term observational study. *Diabetes Care*. 2012 Jan;35(1):57-62. doi: 10.2337/dc11-0449. Epub 2011 Nov 10.
- ²¹ López-Siguero JP, López-Canti LF, Espino R, Caro E, Fernández-García JM, Gutiérrez-Macías A, Rial JM, Lechuga JL, Macías F, Martínez-Aedo MJ, Rico S, Rodríguez I, Guillén J, Arroyo FJ, Bernal S, Espigares R, Núñez M, Escribano A, Barrionuevo JL, Gentil J, Barrios V, Fernández-Nistal A, Martos-Moreno GA, Martínez V, Argente J. Effect of recombinant growth hormone on leptin, adiponectin, resistin, interleukin-6, tumor necrosis factor- and ghrelin levels in growth hormone-deficient children. 2011 Apr;34(4):300-6. doi: 10.3275/7169. Epub 2010 Jul 13.
- ²² Cañete R, Valle M, Martos R, Sánchez-Carrión A, Cañete MD, van Donkelaar EL. Short-term effects of GH treatment on coagulation, fibrinolysis, inflammation biomarkers, and insulin resistance status in prepubertal children with GH deficiency. *Eur J Endocrinol*. 2012 Aug;167(2):255-60. doi: 10.1530/EJE-12-0214. Epub 2012 May 29.