

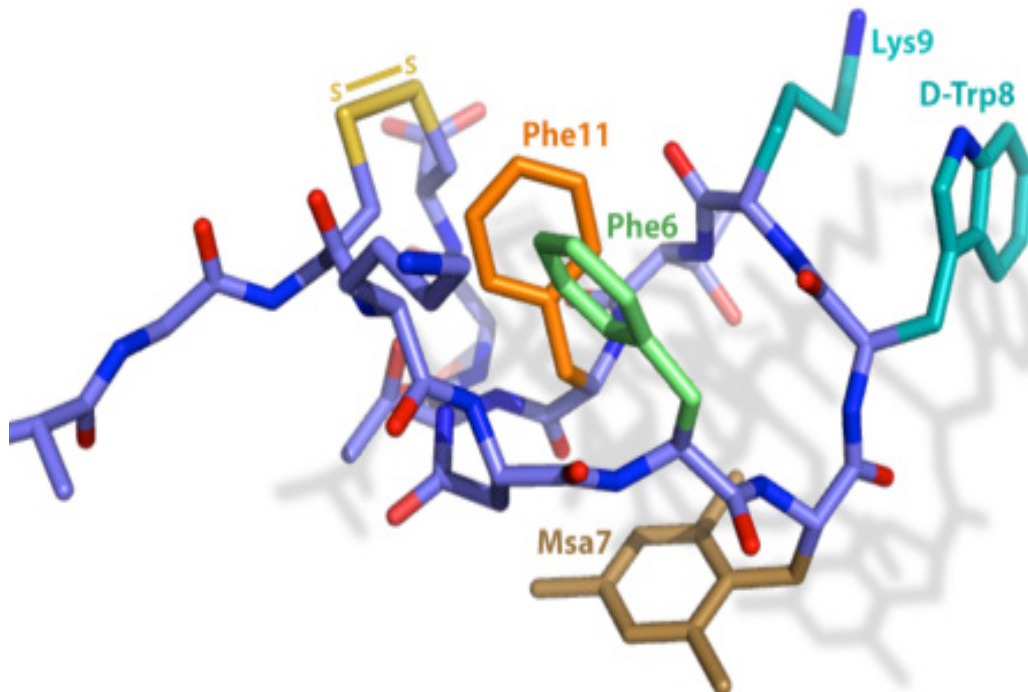


# VNiVERSiDAD D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

Importancia de la Subunidad Ácido Lábil (ALS) en el crecimiento.  
Valores de normalidad, relación con otros factores de  
crecimiento y su variación en pacientes  
con talla baja de distinta etiología.

TESIS DOCTORAL  
Patricia González Ildfonso  
Salamanca, 2023





**Importancia de la Subunidad Ácido Lábil (ALS) en el crecimiento.**  
Valores de normalidad, relación con otros factores de crecimiento y su variación en pacientes con talla baja de distinta etiología.

Patricia González Ildfonso  
Tesis doctoral en Estadística Multivariante Aplicada  
Dirigida por Pablo Prieto Matos y Ana Belén Nieto Librero  
Universidad de Salamanca  
Septiembre 2023





D<sup>a</sup> PATRICIA GONZÁLEZ ILDEFONSO, autora de la tesis doctoral titulada:

IMPORTANCIA DE LA SUBUNIDAD ÁCIDO LÁBIL (ALS) EN EL CRECIMIENTO.  
Valores de normalidad, relación con otros factores de crecimiento y su  
variación en pacientes con talla baja de distinta etiología,

dirigida por D PABLO PRIETO MATOS y D<sup>a</sup> ANA BELÉN NIETO LIBRERO y  
elaborada en el Programa de Doctorado ESTADÍSTICA MULTIVARIANTE  
APLICADA con la colaboración del ÁREA DE PEDIATRÍA del DEPARTAMENTO  
DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y DEL DIAGNÓSTICO de la Universidad de  
Salamanca.

Solicita el depósito de la presente tesis doctoral

En Salamanca, a 4 de septiembre de 2023



Firmado por Patricia  
González Ildefonso el día  
6/9/2023 con un certificado  
emitido por Fábrica de  
Moneda y Timbre Española

El autor de la Tesis, Patricia González Ildefonso

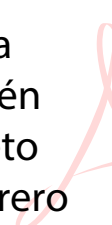
V<sup>o</sup>B<sup>o</sup> El Director de la tesis

Firmado por  
PRIETO MATOS  
PABLO -  
\*\*\*6894\*\* el  
día 04/09/2023  
con un  
certificado

Pablo Prieto Matos

V<sup>o</sup>B<sup>o</sup> El Director de la tesis

Ana  
Belén  
Nieto  
Librero



Firmado  
digitalmente por  
Ana Belén Nieto  
Librero  
Fecha:  
2023.09.06  
11:47:33 +02'00'

Ana Belén Nieto Librero



## ÍNDICE

1. Agradecimientos.....	Página 5
2. Abreviaturas.....	Página 9
3. Introducción.....	Página 11
3.1. Crecimiento normal	
3.2. Concepto de talla baja	
3.3. Clasificación de talla baja	
3.4. Talla Baja Idiopática	
3.5. Genética de talla baja	
3.6. Concepto de ALS	
3.7. Papel de la ALS	
3.8. Factores que modifican la ALS	
3.9. Déficit de ALS	
3.10. Estado actual	
4. Hipótesis y objetivos.....	Página 37
5. Pacientes y métodos.....	Página 39
5.1. Diseño del estudio	
5.2. Selección de poblaciones de estudio	
5.3. Material y métodos	
5.4. Manejo de datos	
a) Análisis exploratorio de los datos en niños sanos	
b) Ratios molares	
c) Modelos de normalización: modelos GAMLSS	
d) Creación de fórmulas para calcular desviaciones estándar	
e) Análisis univariante en pacientes con talla baja	
f) Análisis multivariante en pacientes con talla baja	
f.1 Análisis discriminante	
f.2 HJ-Biplot	
6. Resultados.....	Página 59
6.1. Estimación de los modelos	
6.2. Curvas, tablas de percentiles y fórmulas para calcular SD	
6.3. Mediciones en pacientes con talla baja sin tratamiento	
a) análisis univariante	
b) análisis multivariante	
6.4. Mediciones en pacientes con talla baja con tratamiento	
a) análisis univariante	
b) análisis multivariante	
6.5. Pacientes con niveles de ALS bajos (<-2SD)	
6.6. Variantes del gen <i>IGFALS</i> encontradas en nuestro estudio	

7. Discusión.....	Página 147
8. Conclusiones.....	Página 163
9. Bibliografía.....	Página 165
10. Anexos.....	Página 183
Anexo I: Estadística descriptiva inicial	
Anexo II: Scripts	
Anexo III: Resultados de la estimación de modelos	
Anexo IV: Resultados extra del análisis multivariante	

# 1. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer su inestimable ayuda a mis dos directores de tesis: Pablo y Ana.

Pablo, eres el culpable de sembrar en mí el gusanillo de la investigación. Es fácil interesarte por algo cuando te lo explican con gusto. Es fácil querer aprender más y más cuando ves el interés de tus mayores. Es fácil querer emprender nuevos proyectos cuando notas interés en los que te rodean.

Mi primera rotación en endocrino en el hospital de Salamanca fue sobre ruedas y eso me empujó a seguir formándome en esta especialidad. Gracias Pablo, Montse, Jesús Cedeño y Jesús Prieto por hacerlo todo fácil. No en vano, la endocrinología pediátrica es una de las subespecialidades más elegidas por los resis de nuestro hospital. Gracias también a mis tutores en la Paz y el Ricardo Gutiérrez de Buenos Aires por descubrirme nuevos aspectos de esta maravillosa especialidad.

Ana, te tocó la parte difícil del cuento. Explicar la estadística avanzada a una pediatra clínica como yo. Los inicios fueron complicados. Las gráficas de normalidad no son lo más demandado a los estadísticos clínicos y, además, en las revistas nos pedían cosas distintas. Manos a la obra y a volver a empezar. Gracias por tu paciencia y por ayudarme a comprender un poquito mejor el mundo de la estadística. Es una suerte seguir aprendiendo cosas nuevas día tras día.

En segundo lugar, voy a agradecer a mi familia todo su apoyo. No puede haber padres y hermanos mejores. Siempre confiando en que puedo con todo. Siempre apoyando cada una de mis decisiones y nuevas aventuras. Una rotación externa, un viaje, un blog, una tesis o lo que surja. Gracias siempre por estar ahí papá, mamá, Elena, Irene y Ángel.

Gracias también a todos mis tíos y primos, interesados siempre en preguntar cómo van mis proyectos y en celebrar cada uno de mis logros cómo si fueran suyos. Gracias a mis abuelos por crear una familia maravillosa. Este es solo otro pasito. Seguiremos celebrando la vida todos juntos. Porque lo mejor es la compañía.

Gracias también a todos los profes que me acompañaron en la época del colegio y el instituto y, junto a mi familia, sembraron en mí las ganas de aprender.

Y por supuesto, gracias a todos mis amigos, aquellos que me ayudan a disfrutar del tiempo libre, a desconectar y a volver al trabajo con más fuerzas. Siempre dispuestos a escuchar mis problemas y a hacerlos desaparecer.

Gracias a mis amigos de Viti, a la Sala B, presentes desde la época infantil y recorriendo juntos cada paso hasta este momento. Corpus siempre será uno de los mejores momentos del año. Porque al lugar que has sido feliz, siempre has de intentar volver. Gracias a todos aquellos que aparecieron en la facultad para descubrirme nuevos horizontes. Gracias a mis CoR que, aunque den un poco el coñazo, siempre están ahí. Gracias a mis Ahoros por aparecer y crear una nueva familia. Y es que, la respuesta siempre será sí. Gracias al equipo sonorámico, cada uno con su rol y todos

imprescindibles, como imprescindible es esa semana de desconexión anual. Gracias por demostrarme que aún nos quedan muchos regalos por abrir y muchos vicios por perfeccionar. Porque lo mejor de ir es volver. Gracias a mis inseparables compañeras de viajes por acompañarme a descubrir nuevos horizontes por tierra, mar y aire. Gracias por estar siempre dispuestas a una nueva aventura. Por ayudarme a perder el norte y a encontrarlo en cualquier otra parte. Gracias por aparecer. Gracias por seguir siendo un soñador entre los locos. Gracias, gracias y gracias a todos por hacer mi vida más fácil.

Debo agradecer también a RENFE, ya que la mayoría de las páginas de esta tesis se han gestado en sus trenes. Unos más rápidos que otros. Algo bueno ha salido de esas 2h diarias de transporte público.

Gracias a todos aquellos que pusieron un libro nuevo en mis manos para continuar aprendiendo. Gracias por elegir libros especialmente para mí.

Gracias a todos los cantantes y grupos musicales que han acompañado la escritura de estas páginas. Todo es mejor con una buena banda sonora.

En fin, seguro que se me olvida nombrar a alguien, pero todos sabéis quienes sois.

Mil gracias una vez más por acompañarme en este viaje.

## GRACIAS POR TANTO, GRACIAS.

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized initials that appear to be 'RT'.

Septiembre de 2023

“Siempre he pensado que no hay nada imposible  
si aplicas tu energía en la dirección correcta”

Nellie Bly





## 2. ABREVIATURAS

ACLSLSD: Deficiencia de Subunidad Ácido Lábil (*Acid-labile subunit deficiency*)  
ADN: Ácido desoxiribonucleico (*DNA*)  
AIC: Criterio de Información de Akaike  
AF: Antecedentes Familiares  
ALS: Subunidad Ácido Lábil (*Acid-Labile Subunit*)  
ARNm: Ácido ribonucleico mensajero (*m-RNA*)  
BP: proteína de unión/transportadora (*Binding Protein*)  
bp: Pares de bases  
cm: Centímetro  
CGS: Secuenciación de genes candidatos  
DGH: Déficit de Hormona de crecimiento  
DGHR: Déficit del Receptor de la Hormona de Crecimiento  
DMO: Densidad Mineral Ósea  
ELISA: Análisis inmunológico unido a enzimas (*Enzimo-Linked ImmunoSorbent Assay*)  
EG: Edad Gestacional  
EC: Edad Cronológica  
EO: Edad Ósea  
GAIC: Criterio de información generalizada de Akaike (*Generalized Akaike information criterion*)  
GH: Hormona de crecimiento (*Growth Hormone*)  
GHBP: Proteína transportadora de la GH (*growth hormone binding protein*)  
GHI: Insensibilidad a GH  
GHR: Receptor de la Hormona de Crecimiento  
GHR: Hormona de crecimiento recombinante humana (tratamiento con GH)  
HOMA: Índice de evaluación del modelo de homeostasis  
IC: Intervalo de Confianza  
IGF: Factor de crecimiento similar a la insulina (*Insulin-like Growth Factor*)  
IGF1: factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1  
IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. Proteína transportadora de las IGFs número 3.  
IMC: Índice de Masa Corporal  
Kg: Kilogramo  
kDa: kiloDalton  
KO: Knock-Out  
KS: Kolmogorov- Smirnov  
KW: Kruskall-Wallis  
Ln: Logaritmo neperiano  
LRN: Longitud Recién Nacido  
LRR: Dominios ricos en leucina  
MAPK: Vía de las proteín cinasa activada por mitógeno (*mitogen- activated protein kinase*)  
Med: mediana  
NE: No Estudiado  
NS: No significativo

P25: Percentil 25  
P75: Percentil 75  
PC: Perímetro cefálico  
PEG: Pequeño para la Edad Gestacional  
PI3K: Vía transdutora de la cinasa fosfatidilinositol 3 (*phosphatidylinositol 3-OH kinase*)  
PRN: Peso Recién Nacido  
RCCD: Retraso Constitucional del Crecimiento y el desarrollo  
RNT: Recién Nacido a Término  
RNPT: Recién Nacido Pretérmino  
RIA: Radioinmunoensayo (*Radioimmunoassay*)  
SD: Desviaciones Estándar  
STAT: transductores de señal y activadores de transcripción (*signal transducers and activators of transcription*)  
SW: Shapiro-Wilk  
TB: Talla Baja  
TBF: Talla Baja Familiar  
TBI: Talla Baja Idiopática  
TD: Talla Diana  
TPH: Trasplante de precursores hematopoyéticos  
TS: Talla Sentado  
TTO: Tratamiento  
VAR: Variable  
WES: secuenciación completa del exoma (*whole-exome sequencing*)  
WT: *Wild Type*, salvajes, sin intervención genética  
ZALS: Niveles de ALS medidos en desviaciones estándar (Z-Score de ALS)  
ZIGFBP3: Niveles de IGFBP3 medidos en desviaciones estándar (Z-Score de IGFBP3)  
ZIGF1: Niveles de IGF1 medidos en desviaciones estándar (Z-Score de IGF1)  
ZIGF1/IGFBP3: Niveles del índice molar IGF1/IGFBP3 medidos en desviaciones estándar (Z-Score de IGF1/IGFBP3)  
ZIGFBP3/ALS: Niveles del índice molar IGFBP3/ALS medidos en desviaciones estándar (Z-Score de IGFBP3/ALS)

# 3. INTRODUCCIÓN

La talla baja afecta a un 3-5%<sup>(1)</sup> de población infantil siendo una de las causas más frecuentes de consulta en los consultorios de Endocrinología Infantil.

El gasto sanitario que supone la talla baja es alto. Por una parte, múltiples consultas en atención primaria y especializada, acompañadas de estudios analíticos generales, hormonales y test de estímulo hormonales que son caros y molestos para los pacientes. Por otro lado, pérdida de horas de clase y trabajo de los padres. Se estima que en alrededor del 60% al 80% de estos niños con talla inferior a lo normal no se podrá establecer la etiología responsable, siendo diagnosticados de talla baja idiopática. Es en este grupo de niños donde se recomienda la realización de múltiples estudios con baja sospecha clínica para descartar alteraciones que pueden presentar talla baja idiopática sin ninguna otra alteración fenotípica.

El crecimiento es un proceso muy complejo producto de la genética y modulado por múltiples factores extragénicos. Sólo se alcanzará la talla adulta predeterminada si todos los factores actúan de forma armónica. Los factores endógenos más importantes implicados en el crecimiento son las hormonas y, dentro de éstas, el eje de la hormona de crecimiento (GH).

El factor de crecimiento insulínico-1 (IGF1), que es estimulado por la GH, juega un papel fundamental en el crecimiento del feto y posteriormente durante la infancia y la pubertad. Gran parte de la IGF1 circula en forma de un complejo ternario compuesto por la IGF1, la proteína transportadora número 3 de las IGFs (IGFBP3) y la subunidad ácido lábil (ALS)<sup>(2)</sup>. Deficiencias primarias totales de IGF1 dan como resultado un retraso del crecimiento intrauterino con talla adulta muy baja acompañada de alteraciones neurológicas. Deficiencias parciales producen una talla baja acompañada de microcefalia. Otro defecto que incluye a la IGF1 es el déficit de ALS en el cual al no poderse formar el complejo ternario conlleva niveles de IGF1 circulante menores.

## 3.1. CRECIMIENTO NORMAL

El crecimiento es el proceso fisiológico más característico de la edad pediátrica.

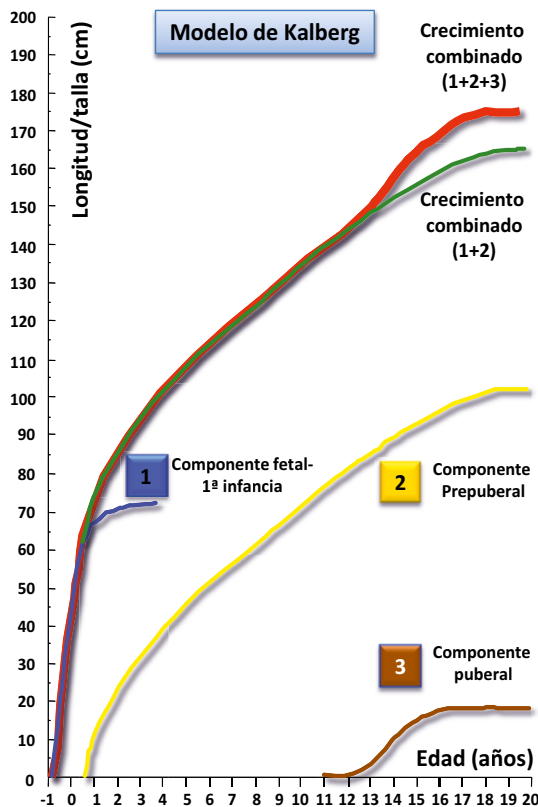
La talla adulta y el ritmo de maduración (o la edad a la que se alcanza la talla final) están determinadas genéticamente en cada sujeto, pero el resultado final puede variar dependiendo de la compleja interacción a lo largo de todo el período de crecimiento de factores genéticos y ambientales. Para alcanzar la talla final genéticamente determinada es necesario que “todo funcione bien”.

El conocimiento de las características normales del crecimiento y de los factores implicados en su regulación en los distintos períodos de la vida es una condición imprescindible para poder valorar la normalidad o anormalidad en el crecimiento de un niño.

A finales de los años ochenta, Kalberg propuso un modelo matemático de la curva conocido como “modelo ICP” (*Fetal- Infancy, Childhood, Puberty*)<sup>(3)</sup> según el cual, la curva

de crecimiento normal estaría formada por la suma y solapamiento de tres componentes: fetal-primer infancia, prepuberal o de la segunda infancia y puberal (Figura 1).

El objetivo de este modelo es relacionar sus distintos componentes con los factores biológicos de los que dependen; de forma que, la alteración o el retraso en la aparición de uno de estos componentes permitiera una orientación diagnóstica más rápida de las distintas patologías.



La Curva de crecimiento humano (Suma de 1+2+3) muestra una morfología sigmoidea formada por dos periodos de crecimiento muy rápido, prenatal-dos primeros años y puberal (1 y 3) separados por un periodo de crecimiento más lento y estable (2) entre los 3 años y el estirón puberal.

Figura 1. Modelo ICP de Kalberg. Tomado de Crecimiento normal y talla baja. Pozo, J. *Pediatría Integral* (2015)<sup>(4)</sup>.

1. Componente fetal- primera infancia
  - a) Componente fetal:
    - Crecimiento dependiente de nutrición y espacio físico (tamaño materno y uterino) pero, en condiciones normales, no del genotipo.
    - Presenta regulación hormonal por insulina e IGFs, pero no por GH.
  - b) Componente de la primera infancia (hasta los 2-3 años):
    - crecimiento dependiente de la nutrición con progresiva influencia del genotipo, aumenta la correlación con la talla media parental y se produce el proceso de “canalización” del crecimiento entre el segundo y el tercer año de vida en función de la talla familiar y del ritmo individual de maduración.
    - En esta etapa el eje GH-IGFs asume progresivamente la regulación hormonal del crecimiento.
  
2. Componente prepuberal o de la segunda infancia:
  - Crecimiento dependiente del genotipo.
  - Regulación hormonal por el eje de GH-IGF, aunque participan todos los ejes hormonales (tiroides, suprarrenal...).

### 3. Componente puberal:

- Su aparición es dependiente fundamentalmente del genotipo.
- Regulación hormonal por la acción sinérgica de esteroides sexuales y eje GH-IGFs.

Durante el crecimiento postnatal y, sobre todo, a partir de los 6 meses de vida, el principal regulador del crecimiento es el eje de la hormona de crecimiento (Figura 2) aunque contribuyen otras muchas hormonas y factores de crecimiento locales.

La GH es sintetizada y secretada de forma pulsátil (4-6 pulsos secretorios/día) y con un predominio nocturno, por las células somatotropas de la adenohipófisis. Posee acciones directas estimulantes del crecimiento, pero la mayoría de ellas son mediadas por los IGFs y especialmente por el IGF1. Alrededor del 50% de la GH circula en la sangre unida a una proteína de transporte específica, la *growth hormone binding protein* (GHBP), que es idéntica a la porción extracelular del receptor de GH (GHR), del que deriva por rotura proteolítica. Cuando la GH se une al GHR, éste debe dimerizar para poder transmitir el mensaje al interior de la célula activando una cascada de señalización, que no es otro que inducir la expresión de determinados genes, a través de diferentes vías intracelulares, de las cuales, la vía *mitogen- activated protein kinase* (MAPK), la *signal transducers and activators of transcription* (STAT) y la *phosphatidylinositol 3-OH kinase* (PI3K) son las mejor caracterizadas.

Los IGFs (IGF1 e IGF2), previamente conocidos como somatomedinas, son péptidos de estructura similar a la insulina producidos en el hígado y en los tejidos periféricos, especialmente en hueso y músculo, que, de forma endocrina (IGFs circulantes) o paracrina-autocrina (IGFs sintetizados en los tejidos), ejercen acciones mitogénicas y anabolizantes sobre la mayoría de las células. Aproximadamente, el 99% de los IGFs que circulan en la sangre lo hacen unidos a proteínas de transporte específicas, las *IGFs binding proteins* (IGFBPs). La más importante desde el punto de vista clínico es la IGFBP3, que transporta un 75-90% de los IGFs circulantes. El complejo IGF-IGFBP3 se une en la sangre con otra proteína, la ALS (subunidad ácido-lábil), formando un complejo trimolecular (IGF-IGFBP3- ALS) de alto peso molecular, lo que limita la salida de los IGFs a los tejidos, aumentando su vida media y su concentración sérica.

Proteasas específicas, como las papalinas rompen lentamente estos complejos y permiten la liberación de los IGFs y su salida a los tejidos. Se ha demostrado que las mutaciones identificadas en el gen *PAPP-A2* producen una metaloproteasa PAPP-A2 inactiva que causa aumento de la fijación de IGF1 a IGFBP3 e IGFBP5 y, consecuentemente, baja bioactividad de IGF1 y crecimiento esquelético reducido.

Tanto la IGF1 como la IGFBP3 y la ALS son proteínas producidas en el hígado por estímulo directo de la GH y mantienen niveles séricos más o menos estables a lo largo del día. De las proteínas dependientes de GH, la más utilizada clínicamente para la valoración de crecimiento ha sido la determinación de IGF1.

La IGFBP3 presenta, sobre todo en menores de 3 años, algunas ventajas sobre la IGF1 como marcador de deficiencia de GH:

1. Concentraciones séricas más elevadas (menor solapamiento entre sujetos normales y deficitarios).

- Menor variación con la edad y el desarrollo puberal.
- Menor influencia del estado nutricional sobre sus niveles séricos (IGF1 e IGFBP3 disminuyen en situaciones de malnutrición).

En general, IGFBP3 es más específico, pero menos sensible que IGF1 para el diagnóstico de deficiencia de GH.

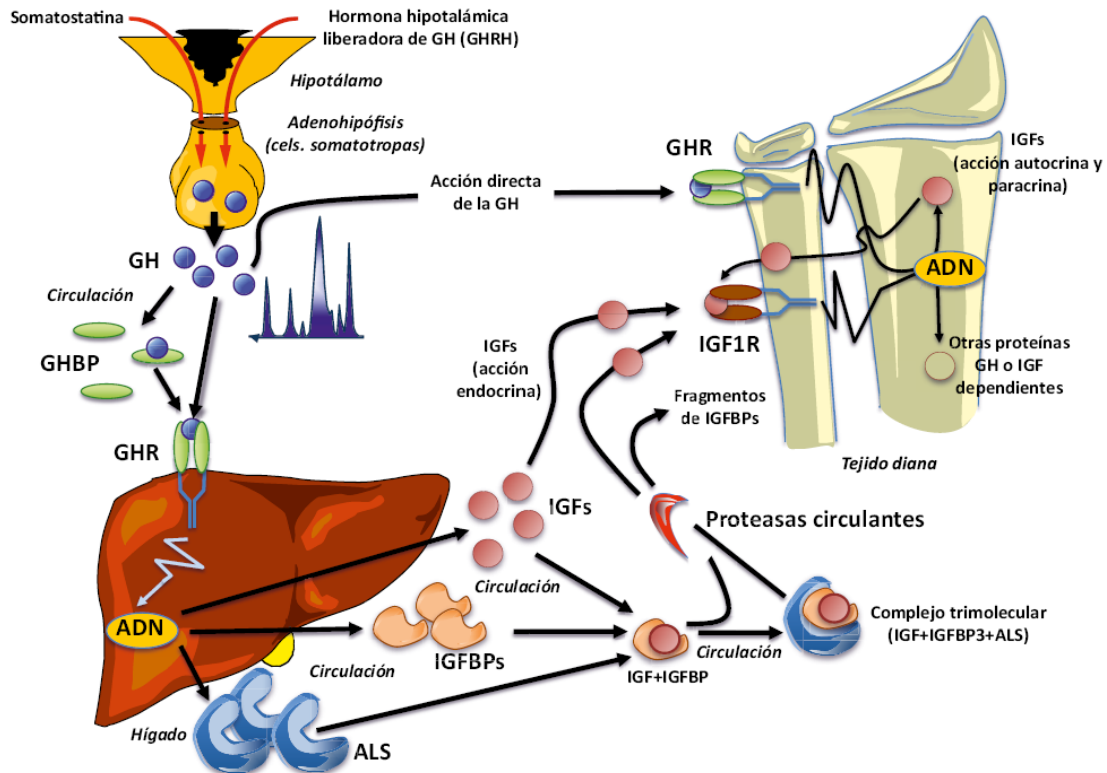


Figura 2. Eje de la Hormona de crecimiento. Tomado de *Crecimiento normal y talla baja*. Pozo J. *Pediatría Integral* (2015) <sup>(4)</sup>

### 3.2. CONCEPTO DE TALLA BAJA <sup>(1, 5)</sup>

La talla baja afecta a un 3-5% de población infantil siendo una de las causas más frecuentes de consulta en las Unidades de Endocrinología Infantil. La mayoría de las tallas bajas estudiadas son diagnosticadas como una variante de la normalidad.

Se define talla baja como una talla por debajo de -2 desviaciones estándar (SD) según los estándares propios para cada población, sexo y edad o aquellas tallas en las que se objeive una desviación mayor de 2SD por debajo de la correspondiente a su potencial genético o talla diana.

La talla diana (TD) o, también, “talla genética”, es la talla esperable para los hijos de una determinada pareja, asumiendo un proceso normal de herencia y unos efectos ambientales sobre el crecimiento similares en ambas generaciones.

La fórmula más comúnmente empleada para calcularla es la desarrollada por Tanner a

partir de la talla media parental (TMP) ajustada al sexo del niño.

Esta fórmula de Tanner se describe como:

*Niños:  $TD = [Talla\ del\ padre + (Talla\ de\ la\ madre + 13\ cm)] / 2 = TMP + 6,5\ cm (\pm 10\ cm)$ .*

*Niñas:  $TD = [(Talla\ del\ padre - 13\ cm) + Talla\ de\ la\ madre] / 2 = TMP - 6,5\ cm (\pm 9\ cm)$ .*

Además, debemos tener en consideración que el crecimiento es un proceso dinámico; mientras que, la talla es un parámetro estático y que, por ello, la observación en un momento dado de una talla “normal” no excluye la posibilidad de que se esté produciendo un fracaso de crecimiento.

Es necesario analizar, también, si la velocidad de crecimiento a lo largo del tiempo es normal con mediciones en distintos intervalos de tiempo.

Como decíamos previamente, para alcanzar el máximo potencial de crecimiento de cada individuo todo debe funcionar bien. Por este motivo, cualquier interferencia en las distintas etapas de crecimiento puede alterar la talla final.

### 3.3. CLASIFICACIÓN DE TALLA BAJA

Podemos clasificar las tallas bajas de etiología conocida según su apariencia y proporciones corporales en tallas bajas armónicas y disarmónicas. Además, podríamos clasificarlas según su momento de inicio, según sean prenatal (con una antropometría afectada al nacimiento siendo recién nacidos pequeños para la edad gestacional) o postnatal o según su causa distinguiendo entre fallos de crecimiento primarios y secundarios.

Existen distintas clasificaciones de la talla baja según las diferentes sociedades científicas. En las siguientes páginas resumiremos los distintos tipos de talla baja según la clasificación de la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica (ESPE)<sup>(6)</sup>.

#### 1. Fallo de crecimiento primario

##### a. SÍNDROMES CLÍNICAMENTE DEFINIDOS

###### i. Síndromes clasificados en otra parte:

Síndrome Acalasia-Adisonismo-Alacrimia, síndrome de Bloom, síndrome cardiofaciocutáneo, síndrome de Carpenter, síndrome CHARGE, síndrome de Cohen, síndrome de Costello, síndrome de Di George, síndrome de Donohue, síndrome de Down, síndrome de Kabuki, síndrome LEOPARD, disomía del cromosoma 14, síndrome de Mauriac, disgenesias gonadales 45X/46XY, Neurofibromatosis tipo 1, síndrome de Noonan, síndrome de Prader-Willi, síndrome de Rothmund-Thomson, síndrome de Silver-Russell, síndrome de Turner, síndrome velocardiofacial, síndrome de Williams-Beuren, síndrome de Wolcott-Rallison.

###### ii. Síndromes caracterizados por talla baja y dismorfismos:

Síndrome 3M, síndrome de delección distal 18q, síndrome de Aarskog-

Scott, síndrome de Cockayne, síndrome de Coffin-Lowry, síndrome de Cornelia de Lange, síndrome de Dubowitz, síndrome de Floating-Harbor, síndrome de Kenny-Caffey, síndrome de Langer-Giedion, nanismo Mulibrey, síndrome de Nijmegen, síndrome de Pallister-Hall, síndrome de Robinow, síndrome de Rubinstein-Taybi, síndrome de Seckel, síndrome de Smith-Magenis, síndrome de Smith-Lemli-Opitz, retraso mental ligado a X.

- i. Otros síndromes asociados con talla baja, especificados.
- ii. Otros síndromes asociados con talla baja, no especificados.

b. PEQUEÑO PARA LA EDAD GESTACIONAL SIN CATCH-UP

- i. Trastornos clasificados en otra parte.
- ii. Debido a causa conocida, especificada.
- iii. Idiopática.

c. DISPLASIAS ESQUELÉTICAS con talla baja disarmónica.

**2. Fallo de crecimiento secundario:**

- a. INGESTA DE NUTRIENTES INSUFICIENTE
- b. TRASTORNOS EN SISTEMAS ORGÁNICOS DISTINTOS AL ESQUELETO
- c. DÉFICIT DE HORMONA DE CRECIMIENTO
- d. OTROS TRASTORNOS EN EL EJE GH-IGF
- e. TRASTORNOS METABÓLICOS
- f. TRASTORNOS PSICOSOCIALES
- g. CAUSAS IATROGÉNICAS DE TALLA BAJA

**3. Talla Baja Idiopática (TBI):**

- a. RETRASO CONSTITUCIONAL DEL CRECIMIENTO Y EL DESARROLLO
- b. TALLA BAJA FAMILIAR
- c. TBI PROPIAMENTE DICHA

### **3.4. TALLA BAJA IDIOPÁTICA (TBI)**

En la denominación de TBI se agrupan una serie de entidades clínicas de etiología y fisiopatología diversa y desconocida que tienen en común presentarse clínicamente como un retraso crónico del crecimiento y talla baja armónica. Es un diagnóstico de exclusión que exige una evaluación clínica, bioquímica, hormonal y molecular minuciosa con el objetivo de descartar cualquier etiología conocida.

Agrupar entidades clínicas de talla baja de etiología desconocida con proporciones armónicas. Es una definición auxológica, e implica que la talla sea inferior a -2 desviaciones estándar de la población de referencia de la misma edad, sexo y estadio de desarrollo puberal<sup>(1, 7-9)</sup>.



Cuando uno o varios miembros de la familia presentan también talla baja hablamos de Talla Baja Idiopática con componente familiar o Talla Baja Familiar (TBF).

Tanto la TBI con componente familiar como aquella sin componente familiar, pueden asociar o no cierto grado de retraso madurativo o del desarrollo.

El consenso de 2008 entre la *European Society for Paediatric Endocrinology* (ESPE), la *Growth Hormone Research Society* (GHRS) y la *Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society* (LWPE), incluyó el retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo (RCCD) como una más de las entidades clínicas que forman parte de la TBI<sup>(7)</sup> y así continúa apareciendo en el consenso de 2016 que hemos usado para la clasificación de la talla baja. Sin embargo, en España Carrascosa y colaboradores abogan por sacar el diagnóstico de RCCD de la definición de TBI por las diferencias en cuanto a su evolución y tratamiento<sup>(8)</sup>.

En el RCCD existe una TB de la que no conocemos su etiología, pero presenta una evolución espontánea a una talla adulta dentro de la normalidad, no obstante, el diagnóstico de RCCD es complicado y no se confirma hasta llegar a la talla adulta por lo que, en este estudio, al no poder realizar seguimiento de todos los pacientes hasta su desarrollo y talla adulta, manejaremos el RCCD dentro de las TBI.

Carrascosa y colaboradores proponen los siguientes criterios diagnósticos de TBI por los que nos guiaremos en nuestro estudio (excepto aquel criterio que habla de RCCD)<sup>(8)</sup>.

1. Talla inferior a -2SD de la correspondiente a sujetos de la misma edad, sexo y grado de desarrollo puberal.
2. Longitud y peso al nacimiento normales para la Edad Gestacional.
3. Proporciones corporales normales sin evidencias de alteraciones esqueléticas.
4. Ausencia de anomalías fenotípicas y rasgos dismórficos que sugieran cromosomopatías.
5. Funciones gastrointestinal, hepática, cardíaca, pulmonar y renal normales.
6. Ausencia de problemas nutricionales.
7. Ausencia de problemas psicoafectivos graves.
8. Ausencia de alteraciones metabólicas.
9. Función endocrinológica normal incluyendo secreción de GH.
  - a. Test de estímulo de GH normal si el paciente presenta velocidad de crecimiento baja y factores de crecimiento disminuidos<sup>(7)</sup>.
10. Exclusión de Síndrome de Turner/Noonan.
11. Exclusión mutaciones gen SHOX.

### 3.5. GENÉTICA DE TALLA BAJA

Dentro de los hipocrecimientos causados por fallo del eje de la GH se han descrito varias alteraciones genéticas (figura 3). Numerosos genes tienen efectos en el eje GH-IGF1 y se añaden constantemente nuevos genes a la lista.

1. Gen de la Hormona de crecimiento humana (GH1). OMIM: 139250. Localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q23.3) y formado por 5 exones y 4 intrones. Se expresa en la hipófisis, pero no en el tejido placentario.

- a. Déficit aislado de GH tipo 2 (IGHD2). *OMIM: 173100*. Presenta herencia autosómica dominante y es causado principalmente por mutaciones dentro de los primeros 6 pares de bases del intrón 3. Sin embargo, se han descrito otras mutaciones del sitio de empalme o *splicing* y de sentido erróneo o *missense*<sup>(10-21)</sup>.  
Estos pacientes presentan talla baja y disminución en el nivel de IGF1, aunque el fenotipo es variable en pacientes con la misma mutación que reflejarían la variabilidad de expresión del gen de la GH, así como la presencia de otros genes que regulan la talla final<sup>(22)</sup>.
  - b. Déficit aislado de GH tipo 1A (IGHD1A). *OMIM: 262400*. Es el tipo más severo de los déficits aislados de GH y los neonatos suelen presentar baja longitud al nacimiento. Las mutaciones descritas aparecen en el exón 3 y los pacientes presentan talla baja y aparición de anticuerpos antiGH exógena tras iniciar el tratamiento sustitutivo<sup>(23-25)</sup>.
  - c. Déficit aislado de GH tipo 1B (IGHD1B). *OMIM: 612781*. Presenta herencia autosómica recesiva. Se han descrito mutaciones en el intrón 4 del gen en dos familias saudíes, ambas consanguíneas<sup>(25, 26)</sup>.  
Abdul-Latif y colaboradores encontraron que individuos portadores heterocigotos de este déficit presentaban tallas menores que sus familiares que tenían alelos homocigóticos normales<sup>(27)</sup>.
  - d. Síndrome de Kowarski (GH bioinactiva). *OMIM: 262650*. Presenta herencia autosómica dominante y los pacientes tienen niveles elevados de GH con deficiencia de IGF1, IGFBP3 y ALS<sup>(28-30)</sup>.
2. Gen *BTK* (Déficit de GH aislado tipo III). *OMIM: 300300*. Presenta herencia recesiva ligada a X y es causado por mutaciones en el brazo largo del cromosoma X (Xq22.1). Los pacientes presentan talla baja y agammaglobulinemia<sup>(31)</sup>.
  3. Gen *RNPC3* (Déficit de GH aislado tipo V). *OMIM: 618016*. Presenta herencia recesiva y es causado por mutaciones en el brazo corto del cromosoma 1 (1p21.1). Los pacientes presentan déficit severo de GH e hipoplasia de la hipófisis anterior<sup>(32, 33)</sup>.
  4. Gen *GHSR* (Déficit aislado parcial). *OMIM: 601898*. Puede presentar herencia recesiva o dominante y es causado por mutaciones en el brazo largo del cromosoma 3 (3q26.31). Los pacientes presentan niveles variables de GH e IGF1<sup>(34, 35)</sup>.
  5. Gen de la hormona liberadora de GH (*GHRH*). *OMIM: 139190*. Localizado en el brazo largo del cromosoma 20 (20q11.23).  
Es de suponer que existe mutación en este gen en algunos casos aislados de deficiencia de hormona de crecimiento de origen hipotalámico. En el estudio de Mitrakou y colaboradores, de 15 pacientes con deficiencia de hormona de crecimiento, 3 parecían tener un defecto primario en el nivel de la pituitaria y 8 un defecto secundario porque respondieron a la administración de GHRH<sup>(36)</sup>.

6. Gen del receptor de la hormona liberadora de GH (GHRHR). OMIM: 139191. Localizado en brazo corto de cromosoma 7 (7p14.3). Este receptor se expresa en la hipófisis. Los pacientes en los que se han descrito mutaciones en este gen presentan fenotipo de IGHD1B y recibe el nombre de déficit aislado de GH tipo IV (37-39).
7. Gen del receptor de la GH (GHR). OMIM: 600946. Localizado en el brazo corto del cromosoma 5 (5p13p12). Este receptor transmembrana se expresa en el tejido hepático y su dimerización activa la vía de formación de IGF1. Mutaciones en este gen son responsables del síndrome de Laron o insensibilidad a la GH<sup>(40-45)</sup>. Actualmente, se han descrito alrededor de 70 mutaciones distintas en más de 300 pacientes<sup>(46)</sup>.  
Goddard describió en 1995 la presencia de mutaciones en el gen del *GHR* en cuatro pacientes con talla baja idiopática que presentaban sólo un alelo mutado<sup>(47)</sup>. Más tarde se ha identificado esta mutación en otros pacientes catalogados de talla baja idiopática<sup>(48, 49)</sup>.
8. Gen IGF1. OMIM: 147440. Está localizado en el brazo largo del cromosoma 12 (12q23.2) y consta de 5 exones.  
En 1996 Woods et al<sup>(50)</sup> asociaron la deficiencia de IGF1 con un cuadro de retraso de crecimiento severo pre y postnatal, sordera neurosensorial y retraso mental. Posteriormente se ha encontrado mutación en homocigosis en este gen en pacientes con el mismo fenotipo<sup>(51, 52)</sup>.  
Los padres de dos de los pacientes descritos, portadores heterocigotos de mutación en el gen *IGF1* tenían una talla alrededor del percentil 3-5<sup>(50, 51)</sup>, por lo que se ha postulado la posibilidad de que pacientes heterocigotos con niveles de IGF1 límites puedan presentar talla baja idiopática.
9. Gen IGF1R: OMIM: 147370. Localizado en el brazo largo del cromosoma 15 (15q26.3), consta de 21 exones<sup>(53)</sup>.  
En pacientes con mutación en este gen en homocigosis o heterocigosis se observa un fenotipo de resistencia a IGF1 con retraso en el crecimiento intrauterino, talla baja, test de GH normales y niveles de IGF1 y IGF1R normales o aumentados<sup>(54, 55)</sup>.
10. Gen IGF2. OMIM: 616489. Presenta herencia dominante y es causado por mutaciones en el brazo corto del cromosoma 11 (11p15.5). Los pacientes presentan déficit severo de GH y facies característica<sup>(56)</sup>.
11. Gen de la proteína transportadora hepática STAT5b. OMIM: 604260. Está localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21.2) y consta de 19 exones. El fenotipo de los pacientes con esta mutación es la presencia de talla baja con niveles de GH normales o aumentados, niveles de IGF1 disminuídos e inmunodeficiencia por alteración de la vía JAK/STAT5<sup>(57-62)</sup>.  
Hasta el momento se han identificado 10 pacientes y 7 mutaciones distribuidas entre los exones 5 y 17 (2 deleciones, 2 inserciones, una alteración del marco de lectura, una mutación sin sentido y dos missense)<sup>(63)</sup>.

12. Gen PIK3R1. Síndrome SHORT: OMIM 269880. En el brazo largo del cromosoma 5 (5q13.1). El síndrome SHORT se define por su acrónimo talla baja (*Short Stature, S*), hiperextensibilidad de articulaciones o hernia inguinal (H), depresión ocular (O), anormalidad de Rieger (R) y retraso dental (*Teething delay, T*). El nombre fue dado por Gorlin <sup>(64)</sup> quien describió este síndrome en 2 hermanos. La mutación en este gen se identificó por primera vez en 2013<sup>(65)</sup> mediante secuenciación completa del exoma (WES). Hasta el momento se ha descrito esta mutación en varios pacientes con síndrome SHORT<sup>(66)</sup>. En estos pacientes se observan niveles de IGF1 bajos de forma persistente e insuficiente respuesta a GHR<sup>(46)</sup>.
13. Gen PAPP-A2. OMIM 619485. En el brazo largo del cromosoma 1 (1q25.2). Los individuos afectados de esta mutación presentan SSDA (*Short stature of the Dauber-Argente type*). Los pacientes presentan concentraciones elevadas de ALS, IGF1, IGF2 e IGFBP3 total, microcefalia y deformidades esqueléticas. Presenta herencia autosómica recesiva. Fue descrito en 2016 en 5 niños miembros de dos familias no relacionadas, una española y otra palestina<sup>(67)</sup> y en 2021 se describió esta mutación también en 2 hermanos con ascendencia saudita<sup>(68)</sup>. Se ha demostrado que las mutaciones identificadas en el gen *PAPP-A2* producen una metaloproteasa PAPP-A2 inactiva que causa aumento de la fijación de IGF1 a IGFBP3 e IGFBP5 y, consecuentemente, baja bioactividad de IGF1 y crecimiento esquelético reducido<sup>(69-73)</sup>. Estos pacientes presentaron buena respuesta al tratamiento con GHR<sup>(74, 75)</sup>.
14. Gen de la IGFALS: OMIM 601489. En el brazo corto del cromosoma 16 (16p13.3). En las páginas siguientes desarrollaremos más datos sobre este gen.
15. Genes asociados con deficiencias hormonales hipofisarias combinadas (*POU1F1, PROP1, LHX3, LHX4, HESX1, OTX2, PITX2, SOX2, SOX3, SPR*).

Las Displasias Esqueléticas o Displasias Óseas (DO) no siempre presentan disarmonía corporal o ésta es claramente evidente; por ello, algunas formas de DO pueden entrar a formar parte del diagnóstico diferencial de la TBI. La haploinsuficiencia del gen *SHOX* es la causa monogénica más frecuente de talla baja en la especie humana<sup>(1, 76)</sup>. Además, se conocen otros genes causantes de displasias óseas monogénicas como *ACAN, FGFR3* o *NPR2*.

Los síndromes de Noonan, Silver-Rusell y 3M tienen fenotipos que pueden superponerse con la insensibilidad a GH<sup>(77-79)</sup>.

En el síndrome 3M (*OMIM 273750*) se han identificado mutaciones en los genes *CUL7* (cromosoma 6p21), *OBSL1* (cromosoma 2q35) y *CCDC8* en el cromosoma 19q13<sup>(80-82)</sup>.

El síndrome de Silver Rusell (*OMIM 180860*) es causado por hipometilación del cromosoma 11p15 en el 20-60% de los casos y por disomía uniparental maternal del cromosoma 7 (*matUPD7*) en el 10% de los casos<sup>(83, 84)</sup>.

El síndrome de Noonan se produce en el 70% de los casos por mutaciones en la vía de señalización ras/kinasa (*PTPN11, SOS1, SOS2, RAF1, BRAF, NRAS, HRAS, KRAS, CBL, RIT1, RASA2, MAP2K1, A2ML1, LZTR1, SHOC2*)<sup>(85-87)</sup>.

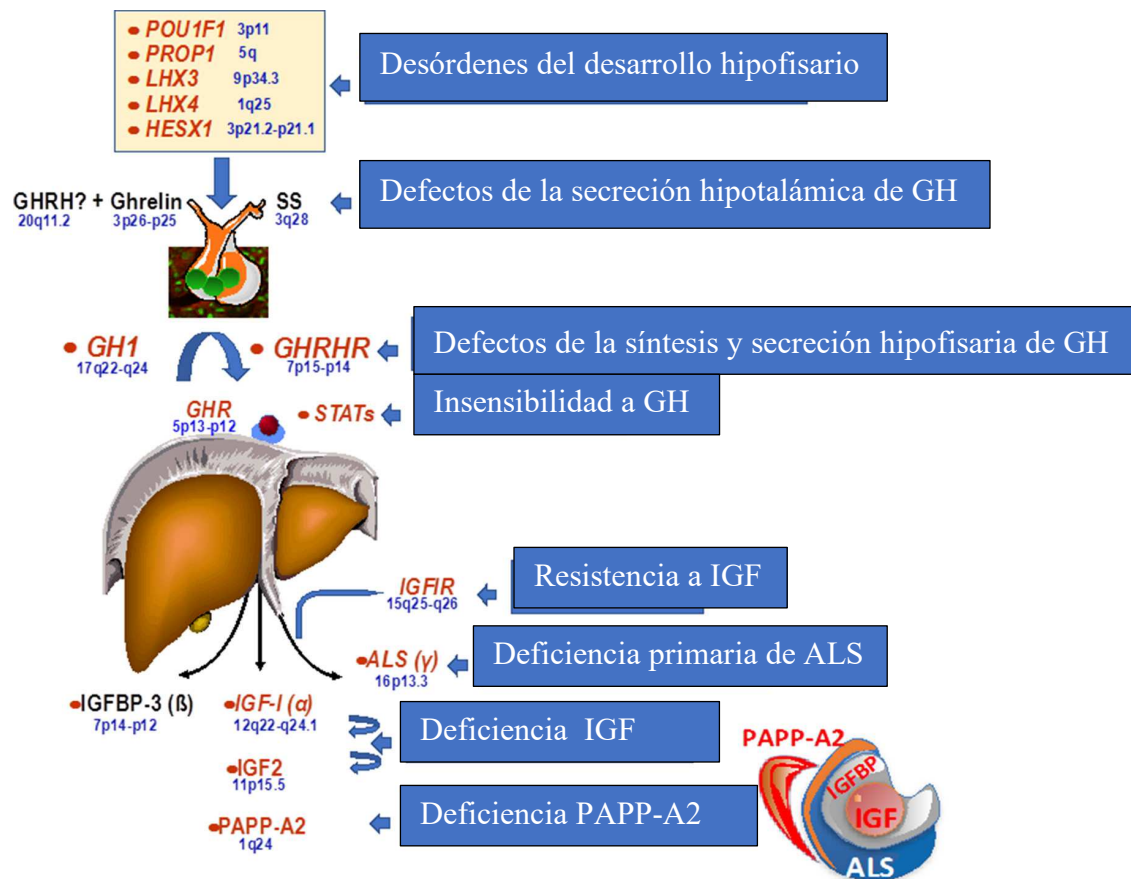


Figura 3. Defectos genéticos en el eje hipotalámico-hipofisario. Modificado de Argente et al. Genetics of Growth Disorders-Which Patients Require Genetic Testing? (2019)<sup>(88)</sup>.

### 3.6. CONCEPTO ALS:

La subunidad ácido lábil (llamada ALS por sus siglas en inglés, *acid-labile subunit*) es una glicoproteína de 85 kDa cuya distribución en el humano es exclusiva en suero.

Su síntesis es exclusivamente hepática y su estímulo principal es la hormona de crecimiento.

Fue descrita y purificada en suero humano en 1989 por Baxter y colaboradores<sup>(89)</sup>.

La ALS circula en exceso sobre el resto de componentes del complejo ternario, con el 50-60% de la ALS circulando de forma libre<sup>(90)</sup>.

En humanos la ALS es indetectable en suero fetal a las 27 semanas de gestación pero presente en el recién nacido a término<sup>(91)</sup>.

El gen de la ALS, que fue clonado por primera vez en el ratón en 1996<sup>(92)</sup>, es de copia única y se encuentra en el brazo corto del cromosoma 16 (16p13.3)<sup>(93)</sup>. Se denomina *IGFALS* (OMIM\*601489), es de herencia autosómica recesiva y en condiciones normales se expresan los dos alelos.

Domené y colaboradores establecieron en 2004<sup>(94)</sup> que en el ser humano el gen consta de dos exones y mapearon su localización en 2011<sup>(95)</sup>.

El gen contiene dos exones, de 97 y 1987 pares de bases (bp) respectivamente, separados por un intrón de 1235bp.

El primer exón codifica sólo los 5 primeros aminoácidos y la primera base del codón del sexto aminoácido, mientras que el segundo exón codifica las 2 últimas bases del sexto aminoácido y los 599 aminoácidos restantes<sup>(93)</sup>.

La transcripción del gen de la ALS en todas las especies estudiadas es controlada por un promotor no-TATA (*TATA-less*) y produce ARNm de alrededor de 2.2kb. Estos ARNm codifican proteínas de entre 603 aminoácidos en el ratón y 611 en la oveja. La proteína madura tiene una similitud del 93% entre ratón y rata, 79% entre ratón y humano y 73% entre ratón y oveja<sup>(96)</sup>. En el ser humano la proteína madura consta de 578 aminoácidos precedidos por una secuencia hidrofóbica de 27 aminoácidos indicativa de una señal de secreción<sup>(97)</sup>.

La ALS pertenece a la superfamilia de proteínas con repeticiones ricas en leucina, LRR por sus siglas en inglés una familia caracterizada por su habilidad para participar en las uniones proteína-proteína.

En el ser humano la proteína se organiza en 3 dominios: (Figuras 4<sup>(95)</sup>, 5, 6 y 7)<sup>(98)</sup>.

1. Dominio N-terminal.
2. Dominio central con 20 dominios ricos en leucina de 24 aminoácidos cada uno.
3. Dominio carboxiterminal que contiene 13 residuos de cistina formando puentes S-S, además contiene 7 residuos de asparagina que son sitios potenciales de glicosilación.

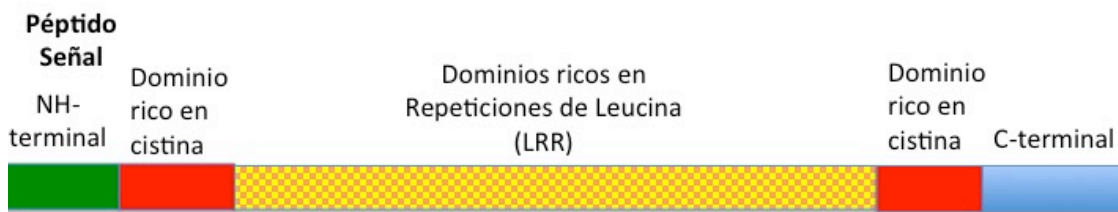


Figura 4. Estructura proteica de la ALS. Tomado de Domené H, Hwa, V, Jasper, HG, Rosenfeld, RG. *Acid-labile subunit (ALS) deficiency. Best Pract Res Clin Endocr Metab.* 2011;25:101-13.<sup>(95)</sup>

La estructura de la proteína está casi conservada a través de las distintas especies incluyendo la presencia de 12-13 residuos de cistina, 6 ó 7 sitios de glicosilación unidos a asparagina y 18-20 dominios ricos en leucina de 24 aminoácidos.

Estos dominios ricos en leucina forman aproximadamente el 75% de la proteína madura, y organizan la proteína en forma de donut cuyo centro es capaz de interactuar con el complejo binario IGF1-IGFBP3/5<sup>(99)</sup>.

El modelo estructural de David et al<sup>(98)</sup> contiene 6 puentes disulfuro que se encuentran agrupados hacia los extremos N terminal (LRR-1) y carboxiterminal (LRR-20). Propone también 7 sitios potenciales de N- glicosilación, 6 de ellos cercanos a los extremos y uno en la región central de la ALS (LRR-14). Además se predicen 14 sitios potenciales de O- Glicosilación: 12 en la superficie convexa exterior y 2 en la superficie interna cóncava, de ellos 8 se encuentran cerca de los extremos<sup>(98)</sup>.

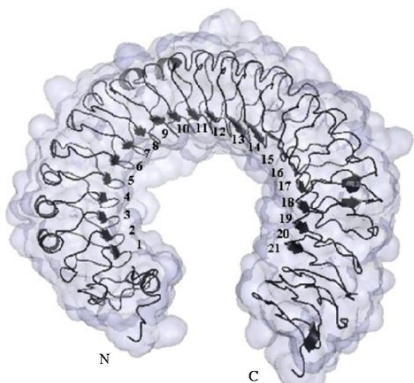


Figura 5. Representación de superficie de la proteína de ALS.  
LRR se encuentran numerados de N a C terminal.

Figura 6. Representación de:  
-Residuos de asparagina (naranja)  
-Residuos de cistina (morado)  
-Residuos de prolina (azul)

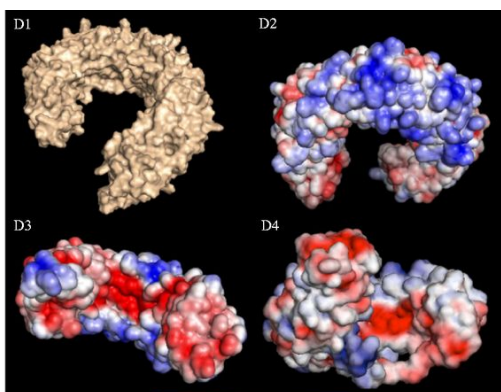
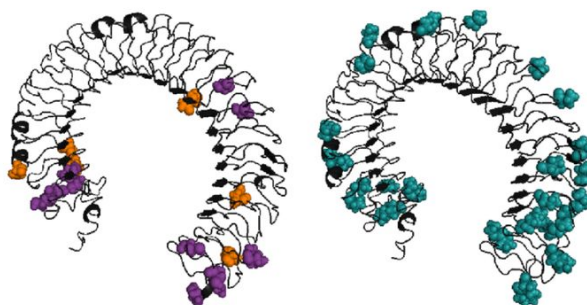


Figura 7. Representación de:  
D1. Estructura de ALS  
D2. Superficie convexa  
D3 y D4. Interior cóncavo

La síntesis de esta proteína es casi exclusivamente hepática y confinada a las células del parénquima<sup>(100)</sup>.

La expresión del gen se ha detectado en algunos tejidos extrahepáticos como riñón, hueso en desarrollo, gándula mamaria de lactantes, timo, pulmón y ovario.

La GH es el inductor más potente del RNAm de la ALS en el hígado y de ALS en plasma<sup>(2, 90)</sup>.

La transcripción del gen de la ALS en el hígado es críticamente dependiente de la activación de los isómeros de la STAT5.

La GH efectúa su acción mediante la unión al GHR. GHR es un receptor transmembrana que no tiene actividad enzimática intrínseca y, al unirse la GH, se produce un cambio en la conformación espacial que genera la fosforilación de la proteína JAK2.

GHR y JAK2 activan varias vías de señalización como la vía de las quinasas activada por mitogenos (MAPK) y la del fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), importantes para los efectos metabólicos de la GH y para algunos efectos proliferativos.

Además de esas vías, se produce la activación de la vía de proteínas conocidas como STATs. De los siete tipos de STATs descritos, la que realiza principalmente la transducción del GHR en humanos es la STAT5b. Al fosforilarse STAT5b contribuye en la expresión de varios genes como *IGF1*, *IGFBP3* y *ALS*<sup>(58)</sup>.



Otras moléculas que usan STAT5b como vía de señalización son eritropoyetina, factor estimulante de granulocitos (GSF), Interleucina-2 (IL2) o interferón gamma.

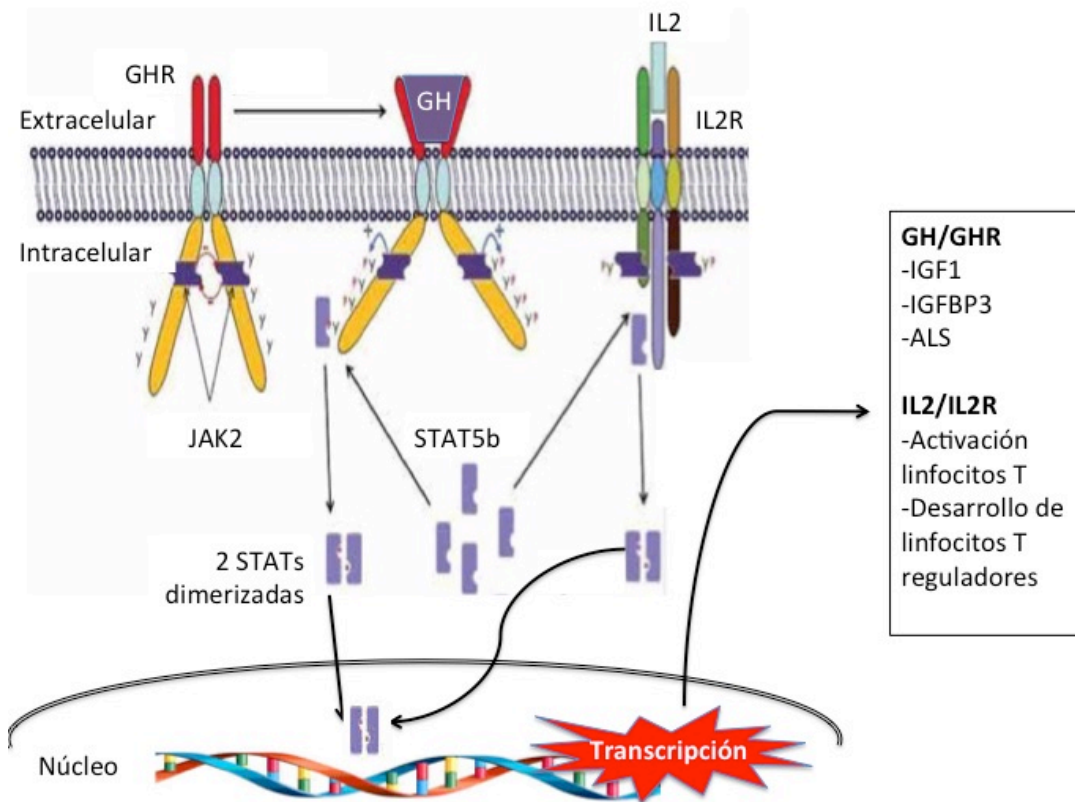


Figura 8. Vía de señalización de ALS mediada por STAT. Tomado de Scalco R, Pugliese-Pires, PN. Jorge, AA *STAT5B* deficiency: a new growth hormone insensitivity syndrome associated to immunological dysfunction. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2013;57(5):333-8<sup>(63)</sup>.

La unión de IL2 a su receptor activa la vía de STAT5b y ésta a su vez hace que se expresen los genes *FOXP3*, responsable de la producción y activación de linfocitos T reguladores (T-reg.), o *IL2RA* que favorece la activación de linfocitos T (Figura 8). T-reg. son esenciales para la respuesta inmune y para la prevención de la autoinmunidad<sup>(101)</sup> y la disminución en su número y su función vista en los pacientes homocigóticos para la mutación de *STAT5b* explicaría los cuadros autoinmunes. El aumento de infecciones podría deberse también al fallo de los linfocitos T por el déficit de esta vía de señalización<sup>(102, 103)</sup>.

### 3.7. PAPEL DE LA ALS

La ALS se caracteriza por su alta afinidad por las IGFs y la IGFBP3<sup>(2)</sup> formando un complejo ternario de 150 Kd de importancia clave en el crecimiento dependiente de la GH. La función de la ALS dentro de este complejo es alargar la vida media de la IGF1 y mantenerla en el compartimento vascular de manera que hasta el 85% de la IGF1 está unida a la ALS<sup>(90, 96)</sup>. De esta manera la vida media de la IGF1 pasa de 10 minutos estando libre, a 30-90 minutos en complejos binarios IGF1-IGFBP3 hasta más allá de las 12 horas al formarse el complejo ternario<sup>(104)</sup>.



En 2022 se ha descrito el mecanismo de ensamblaje y separación del complejo ternario sugiriendo una base estructural en enfermedades relacionadas con el déficit de ALS y de IGF1 (Figura 9)<sup>(105)</sup>.

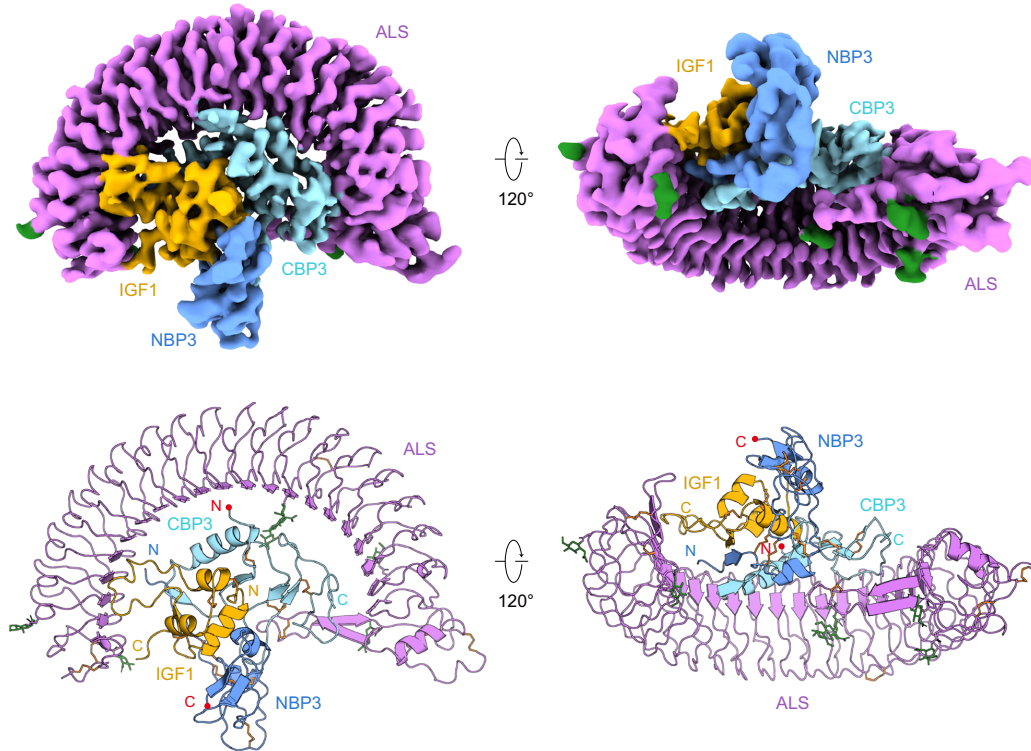


Figura 9. Estructura del complejo ternario IGF1/IGFBP3/ALS. Tomado de Kim H. Structural basis for assembly and disassembly of the IGF/IGFBP/ALS ternary complex. Nat Commun. 2022 Jul 30;13(1):4434<sup>(105)</sup>.

En modelos de ratones *knock-out* (KO) con dos alelos nulos de ALS (-/-) se ha comprobado una reducción muy importante de los niveles de IGF1(62%) e IGFBP3 (88%) circulantes en comparación con sus hermanos con dos alelos funcionantes o *wild-type* (+/+). Estos resultados prueban que la ALS es necesaria para la acumulación sérica de IGF1 e IGFBP3<sup>(106-108)</sup>.

En los ratones con sólo un alelo nulo de ALS (+/-) se observa también reducción de los niveles de IGF1 (17%) e IGFBP3 (40%) indicando un fenotipo distinto en los portadores heterocigóticos.

La ALS además participa en la glucorregulación al estabilizar las IGFs en la circulación e impedir que estas salgan hacia los tejidos, donde podrían ejercer su actividad insulínica. Se ha demostrado que el gen de la ALS de la *Drosophila* regula el metabolismo de carbohidratos y el metabolismo graso además del crecimiento<sup>(109)</sup>.

En ratones ALS-KO, la ablación del gen de la ALS parece aumentar la sensibilidad a la insulina<sup>(110)</sup>.

Los ratones ALS-KO presentan también un retraso del desarrollo óseo, caracterizado por reducción en la circunferencia perióstica femoral, disminución del grosor cortical, menor densidad mineral ósea total y reducción del hueso trabecular<sup>(111)</sup>.

### 3.8. FACTORES QUE MODIFICAN LOS NIVELES DE ALS (tabla 1)

Los niveles de ALS están relacionados con la edad aumentando desde el nacimiento hasta la adolescencia.

No se encuentran diferencias entre sexos, aunque algunos estudios reflejan que el pico puberal de ALS aparece 2 años antes en niñas que en niños.

Estudio	Muestras	Relación Edad	Método	Relación sexo	Otras
Baxter <sup>(90)</sup> 1990	215 niños (1-18años) Adultos: 12 acromegalia 10 DGH 93 sanos	+++	No descrito	-	Relación con IGFBP3
Labarta 1996 <sup>(112)</sup> 1997 <sup>(113)</sup>	56 niños sanos 4 niños DGH 7 niños DGHR	+	Western inmunoblot	No estudiado	El tratamiento con GHr eleva los niveles de ALS en DGH, pero no el tratamiento con IGF1
Juul 1998 <sup>(114)</sup>	778 niños (0-20 años) 380 adultos sanos 108 adultos postGH	+	ELISA	+	Relación con IGF1 e IGFBP3
Nimura 2000 <sup>(115)</sup>	264 niños (1-16años) 15 niños DGH	+++	RIA kit Australia	+ en pubertad	Relación con IGF1 e IGFBP3
Barrios 2000 <sup>(116)</sup>	150 niños sanos 30 RNT 17 RNPT	+++	ELISA USA	-	Relación con Tanner Menor ALS en RNPT Relación con IGF1 e IGFBP3
Ertl 2014 <sup>(117)</sup>	252 niños (1-18años)	+++	ELISA Germany	+	

Tabla 1. Estudios sobre niveles de ALS. ELISA: Análisis inmunológico unido a enzimas (Enzimo-Linked ImmunoSorbent Assay). RIA: Radioinmunoensayo (Radioimmunoassay). GH: Hormona de Crecimiento. GHr: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de GH. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3.

En individuos con déficit de GH se ha descrito disminución de los niveles de ALS<sup>(37, 118, 119)</sup> y también en casos de resistencia hepática a la GH<sup>(120, 121)</sup>.

Los niveles de ALS se incrementan durante el tratamiento con GH en los pacientes diagnosticados de déficit de GH<sup>(119, 122)</sup>, mientras que no se observa este aumento en los pacientes diagnosticados de alteración en el receptor de GH y tratados con IGF1<sup>(119)</sup>, lo cual sugiere una regulación de la ALS llevada a cabo por la GH en la que no interviene la IGF1.

Otras condiciones pueden disminuir la concentración de ALS en plasma en ratas y humanos. Incluyendo ayuno, desnutrición, enfermedades catabólicas como diabetes, quemaduras y cirrosis<sup>(123-127)</sup>. Aunque sabemos que la desnutrición puede disminuir los niveles de ALS, no existen estudios de la posible relación de ALS y obesidad.

### 3.9. DÉFICIT DE ALS (ACLS; OMIM #615961)

El primer caso de déficit de ALS fue descrito en 2004 por Domené y colaboradores<sup>(94)</sup> y desde entonces se han hallado 42 mutaciones del gen *IGFALS*<sup>(128, 129)</sup>.

Sólo hubo cosanguinidad en 19<sup>(129)</sup> de los individuos estudiados inicialmente lo que sugiere que existen portadores de esta mutación en la población general, probablemente porque no genera una fuerte presión negativa de selección natural<sup>(130-143)</sup>.

Todas las mutaciones encontradas (29 *missense*, 1 *nonsense*, 7 *frameshift* (6 de ellas, deleciones), 4 duplicaciones y una gran deleción del exón) han sido descritas en el exón 2 del gen *IGFALS*. Estas mutaciones dan como resultado una disminución del nivel de ALS circulante en sangre, ya sea por que no se sintetiza adecuadamente o porque se destruye rápidamente<sup>(95)</sup>.

De los 61 casos descritos, 40 fueron varones y 21 mujeres (Figura 10 y tabla 2)<sup>(129, 131, 137, 141-143)</sup>.

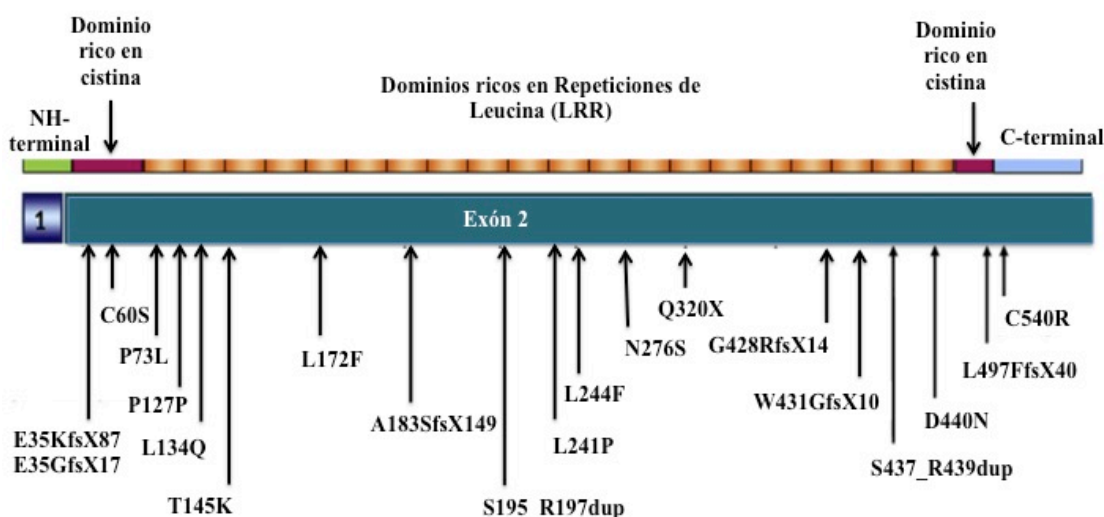


Figura 10. Variantes en el gen de la ALS y su localización. Tomado de Zaidman V. Analysis of acid-labile subunit and its usefulness in pediatrics. Arch Argent Pediatr 2017;115(4):391-8. <sup>(144)</sup>

En 2013 Schreiner y colaboradores<sup>(145)</sup> describieron una nueva mutación en un turco proveniente de familia cosanguínea que presentaba talla normal, deficiencia de ALS, retraso puberal y disfunción inmunológica, aunque esta disfunción podría ser secundaria a otra causa.

	Proteína (cambio en ADN)	Tipo	Homocigosis/ heterocigosis	Origen étnico	Ref
1	p.Glu35Lysfs*87 (c.103del)	Frameshift. Delección	Homocigosis	Argentino	(94)
2	p.Asp440Asn (c.1318G>A)	Missense	Homocigosis	Turco	(130)
3	p.Cys540Arg (c.1618T>C)	Missense	Heterocigosis Compuesta	Noruego/ Alemán	(131)
4	p.Ser195_Arg197dup (c.583_591dup)	Duplicación de 3 aminoácidos, SLR			
5	p.Asn276Ser (c.827A>G)	Missense	Homocigosis	Español	(133)
6	p.Gln320Term (c.958C>T)	Nonsense	Homocigosis	Español	(133)
7	p.Leu497Phefs*40 (c1490dupT)	Frameshift	Homocigosis	Kurdo	(134)
8	p.Leu437_Leu439dup (c.1308_1316dup)	Duplicación de 3 aminoácidos, LEL	Homocigosis	Maya	(136)
9	p.Cys60Ser (c.1787T>A)	Missense	Heterocigosis compuesto	Judío/Oriental Europeo/island és/Europeo	
10	p.Leu244Phe (c.730C>T)	Missense			
11	p.Cys60Phe (c179G>T)	Missense			
12	p.Leu134Gln (c.401T>A)	Missense	Homocigosis	Indio/pakistaní	
13	p.Pro73Leu (c.218C>T)	Missense	Heterocigosis compuesto	Judío Ashkenazi	
14	p.Leu241Pro (c.722T>C)	Missense			
12	p.Leu134Gln (c.401T>A)	Missense	Heterocigosis compuesto	Asiático británico	(140)
15	p.Ala183Glyfs*43 (c546_548delGGCinsAG)	Frameshift. inserción			
13	p.Pro73Leu (c.218C>T)	Missense	Homocigosis	Asiático británico	
16	p.Leu172Phe (c.514C>T)	Missense	Homocigosis	Sueco	(137)
16	p.Leu172Phe (c.514C>T)	Missense	Heterocigosis compuesto	Sueco	
4	p.Ser195_Arg197dup (c.583_591dup)	Inserción de 3 aminoácidos, SLR			
16	p.Leu172Phe (c.514C>T)	Missense	Heterocigosis Compuesto	Español	(138)
17	p.Glu35Glyfs*17 (c.103dup)	Frameshift.			
18	p.Leu127Pro (c.380T>C)	Missense	Homocigosis	Árabe	(141)
19	p.Gln428Arfs*14 (c.1283delA)	Frameshift. Delección	Heterocigosis	Italiana	(142)

	Proteína (cambio en ADN)	Tipo	Homocigosis/ heterocigosis	Origen étnico	Ref
20	p.Trp431Glyfs*11 (c.1291delT)	Frameshift. Delección.	Homocigosis	Marroquí	(143)
21	p.Thr145Lys (c.434C>A)	Missense	Homocigosis	Turca	(145)
22	p.Asp488Asn (c.1462G>A)	Missense	Homocigosis	Turca	(146)
23	p.Asn84Ser (c.251A>G)		Homocigosis	Turca	
24	p.Arg493Alafs*176 (c.1477delC)	Frameshift. Delección.	Homocigosis	Turca	
25	p.Ser517Thrfs*19 (c.1549_1550delTC)	Frameshift. Delección.	Homocigosis	Turco	
26	p.A265Gfs*114 p.Arg560His (c.1679G>A)	Frameshift Missense	Heterocigosis	Indio	(148)
	27	p.Pro586Leu (c.1757C>T)			
28	Delección exón 2	Gran delección	Heterocigosis	Chileno	(149)
29	p.Ala475Gly (c.1424C>G)	Missense	Heterocigosis	Argentino	(150)
30	p.Ser490Trp (c.1469C>G)	Missense			
31	p.Leu409Phe (c.1225C>T)	Missense			
32	p.Asn580del (c.1739_1741delACA)	Delección	Heterocigosis	Japonés	(151)
33	p.Arg595Trp (c.1783C>T)	Missense	Heterocigosis	Corea del Sur	(152)
34	p.Leu449Arg (c.1346T>G)	Missense			
35	p.Arg548Trp (c.1642C>T)	Missense	Heterocigosis	Holanda	(153)
36	p.Pro378Leu (c.1133C>T)	Missense			
37	p.Pro287Leu (c.860C>T)	Missense			
38	p.Ala434Val (c.1301C>T)	Missense	Síndrome Rubinstein- Taybi	Corea del Sur	(154)
39	p.Arg277His (c.830G>A)	Missense	Heterocigosis	Caucásico	(155)
40	p.Leu230Pro (c.689T>C)	Missense	Asociado a epilepsia	Japonés	(156)
41	p.Arg197Cys (c.589C>T)	Missense	Heterocigosis	República Checa	(157)
42	p.Ser87Leu (c.260C>T)	Missense	Heterocigosis	Mejicano	(158)

Tabla 2. Mutaciones en gen IGFALS descritas hasta el momento.

En marzo de 2017 aparece una nueva publicación que describe tres nuevas mutaciones presentes en cinco familias turcas en cada una de las cuales existía cosanguinidad<sup>(146)</sup>.

En 2019, aparece un artículo que describe una nueva mutación en homocigosis en un paciente turco. En la madre y la hermana del paciente la mutación aparecía en heterocigosis<sup>(147)</sup>.

En un estudio realizado en India en niños con TBI se encontraron dos nuevas mutaciones en el *gen IGFALS*<sup>(148)</sup>.

También en 2019 se describe en Chile en un paciente con talla baja y retraso puberal, el hallazgo de una doble mutación en heterocigosis, apareciendo en un alelo una variante *nonsense* y en el otro alelo una delección de una gran parte del exón 2<sup>(149)</sup>.

En los individuos afectados de déficit de ALS se observa un fenotipo clínico, endocrino y metabólico peculiar que describiremos en las siguientes páginas <sup>(129, 133, 135, 159)</sup>.

#### CARACTERÍSTICAS<sup>(95)</sup>:

1. Reducción severa de niveles de IGF1.
2. Reducción marcada en niveles de IGFBP3, normalmente más reducidos que IGF1.
3. Desproporción entre los niveles bajos de IGF1 e IGFBP3 y el menos marcado efecto en crecimiento postnatal (talla entre -2SD y -3SD).
4. Incapacidad de formación de complejos ternarios *in vitro*.
5. Insensibilidad insulínica, con glucosa normal y niveles de insulina altos.
6. Retraso puberal (encontrado en la mitad de los varones).
7. Respuesta pobre al tratamiento con GH recombinante, tanto en aceleración del crecimiento como en niveles de IGF1 e IGFBP3.
8. Densidad mineral ósea (DMO) reducida (no siempre).

#### a. Crecimiento postnatal:

Presentan talla baja con repercusión, sobre todo, del crecimiento postnatal.

Analizando los datos de los 61 pacientes con déficit de ALS y de 111 de sus familiares, Domené y colaboradores<sup>(129)</sup> encontraron que los pacientes con déficit de ALS eran 1,3SD más bajos que sus familiares portadores de la mutación y 1,5SD más bajos que los familiares sin mutaciones. No se encontraron diferencias entre portadores y familiares sin mutación. (Media±SD: pacientes: -2,46SD±1,07; portadores: -1,13±1,08; sin mutación: 0,94±1).

Estos datos se encuentran en consonancia con lo descrito en el estudio de Isik<sup>(146)</sup>, en los pacientes con déficit de ALS se observó una diferencia respecto a su talla diana de 1.2±0,6SD mientras que en los 17 pacientes heterocigotos presentaron una talla adulta mayor a la de sus padres en 0.3±0,9SD. Además, encontraron también una significativa disminución del perímetro cefálico con respecto a los heterocigotos.

En las últimas familias turcas descritas<sup>(146)</sup> se pudieron analizar los datos de suficientes familiares para encontrar diferencias estadísticamente significativas entre las tallas de los individuos homocigotos, heterocigotos y aquellos que no presentaban mutaciones en el gen de la ALS.

Todos los datos anteriores apoyan la necesidad de niveles normales de ALS para alcanzar el máximo potencial de crecimiento.

En el estudio realizado en India en 2020 se observó que existía presencia de alteraciones en *IGFALS* en una proporción significativa de niños con TBI<sup>(148)</sup>.

En los familiares de primer grado de los pacientes homocigóticos en los que se ha observado que eran heterocigotos para la mutación de *IGFALS* se ha observado una talla menor que en sus familiares sin mutación de hasta 1SD menor<sup>(133, 150, 155, 160)</sup>.

Domené y colaboradores describieron en 2013<sup>(155)</sup> la presencia de 22 variantes genéticas en *IGFALS* en un estudio con 79 pacientes con TBI y 188 controles. Esas variantes fueron frecuentes en aquellos niños que presentaban niveles más bajos de IGF1, IGFBP3 y ALS. También se encontró alguna de estas variantes en los controles con talla normal.

Son necesarios más estudios para evaluar los efectos de la heterocigosidad en el crecimiento.

#### b. Desarrollo puberal:

Se observó retraso constitucional del desarrollo con inicio puberal después de los 14 años en la mitad de los individuos varones. Se ha descrito la pubertad de cuatro de las mujeres, una de ellas tuvo la menarquia a los 13 años<sup>(131)</sup>, la segunda tuvo un inicio puberal normal (11.9 años) con una progresión lenta (sin menarquia a los 14.7 años)<sup>(143)</sup>, la tercera inició a los 13.5 años<sup>(137)</sup> y la cuarta no había iniciado pubertad a los 15 años<sup>(141)</sup>.

En 2008 Banerjee y colaboradores<sup>(161)</sup> estudiaron el gen de ALS en 80 varones y 10 mujeres con RCCD y no encontraron ninguna mutación, concluyendo que el déficit de ALS no es una causa común de RCCD y su búsqueda de rutina no sería útil en estos niños.

#### c. Crecimiento prenatal:

Se ha descrito la expresión de ALS en la placenta y niveles menores de esta proteína en niños PEG<sup>(162)</sup>.

El efecto prenatal del déficit de ALS es incierto ya que en la mayoría de los estudios los datos antropométricos neonatales son desconocidos. Existe un estudio en el que sí se halló relación entre los niveles de ALS en la sangre de cordón y la longitud del recién nacido<sup>(163)</sup>.

Los niveles de IGF1, IGFBP3 y ALS en los niños PEG con talla baja se mantienen más bajos y la proteólisis de IGFBP3 parece ser mayor<sup>(164)</sup>. En estudios previos se han encontrado niveles de ALS menores en pacientes PEG respecto a controles e incluso se ha propuesto la medición de esta proteína para ayudar a predecir la respuesta al tratamiento con GHr<sup>(165-167)</sup>.

En el estudio turco de 2017 se vio que la mayoría de los casos con déficit de ALS homocigotos presentaban un peso al nacer menor de -2SD, mientras que ninguno de los heterocigotos fue PEG pero las diferencias entre las medias no fue significativa<sup>(146)</sup>.

Recientemente se ha caracterizado una familia Sikh residente en Reino Unido en la que ambos padres son portadores heterocigotos de mutación en *IGFALS* al igual que una de las hijas y los otros dos hijos (niño y niña respectivamente) homocigotos para la misma

mutación. En este caso los tres niños fueron PEG en distinto grado y presentaron patrones de crecimiento heterogéneos<sup>(168)</sup>.

#### d. Disminución de IGF1 e IGFBP3:

Existe disminución de IGF1 e IGFBP3 por aumento de la destrucción de estos factores ya que la síntesis hepática es normal. Estos pacientes presentan un pico de GH normal en los test de estimulación, tienen mala respuesta al tratamiento con GH exógena y no se observa aumento de IGF1 ni IGFBP3 al iniciar tratamiento sustitutivo con GHR<sup>(135)</sup>.

Los niveles de IGFBP3 son menos dependientes de GH que los de IGF1 por lo que una disminución mayor de IGFBP3 podría hacernos pensar en un déficit de ALS antes que en un déficit de GH, en el que la reducción mayor la encontraríamos en los niveles de IGF1.

#### e. Insensibilidad a la Insulina:

En el déficit de ALS se observa además aumento de los niveles de insulina con un índice de masa corporal normal, sin haberse descrito un mecanismo claro para este hecho<sup>(133, 135, 169)</sup>.

El metabolismo de carbohidratos ha sido descrito en 23 pacientes con déficit de ALS<sup>(129)</sup>. 16 pacientes presentaban glucosa en ayunas normal con niveles de insulina basales elevados y, por tanto, índice de evaluación del modelo de homeostasis (HOMA) elevado. Estos datos sugieren que los pacientes con déficit de ALS tienen cierto grado de insulinoresistencia, al contrario que en los ratones ALS-KO en los que se observa un aumento de la sensibilidad a la insulina<sup>(110)</sup>.

Aunque los mecanismos fisiopatológicos no se comprenden totalmente, los niveles moderadamente elevados de GH podrían contribuir por múltiples mecanismos como aumento de ácidos grasos libres por el exceso de efecto lipolítico de la GH<sup>(170, 171)</sup>, alteración en las vías de señalización por efecto cruzado entre las vías del receptor de GH y el receptor de insulina<sup>(172)</sup>.

Sin embargo, parece difícil que la elevación de GH pueda ser la única causa de insensibilidad a la insulina. El IGF1 es capaz de mejorar el uso de la glucosa, especialmente en el músculo esquelético<sup>(173)</sup> por lo que los niveles disminuidos de este factor también podrían contribuir.

El aumento en la secreción de GH, la reducción del IGF1 circulante o la interacción entre ambos factores puede estar involucrado pero la relación entre el eje de la GH y el metabolismo hidrocarbonado es compleja y sólo parcialmente descrita<sup>(174)</sup>.

Fisiológicamente el aumento de insulina podría explicarse por un aumento de producción para compensar el déficit de IGF1 ya que es un “factor similar a la insulina” y su destrucción está aumentada por un déficit de complejos ternarios debido al déficit de ALS, es decir, un aumento de la circulación de IGF1 libre; pero serían necesarios más estudios dinámicos en pacientes con déficit de ALS para caracterizar los mecanismos que determinan su insulinoresistencia.

#### f. Reducción de densidad mineral ósea (DMO):

Dado que los ratones ALS-KO tienen una densidad ósea menor<sup>(111)</sup> no sorprendió que el primer caso descrito de déficit de ALS presentara una reducción en la DMO a nivel de la



columna lumbar (-4,7SD) a los 16 años que recuperó parcialmente al final de la pubertad (-2,1SD a los 19 años)<sup>(94, 175)</sup>.

Posteriormente, se encontró a dos hermanos con déficit de ALS, DMO disminuida y fracturas con traumas banales por lo que tomó más interés el efecto de la ALS en la mineralización. Sin embargo, en esta familia Kurda cosanguínea se encontró baja DMO también en heterocigóticos y en familiares sin mutación lo que sugiere que su alteración en la mineralización no puede atribuirse a la ALS<sup>(134, 137)</sup>.

En las últimas familias turcas descritas tampoco se encontró alteración en la DMO<sup>(146)</sup>.

El retraso puberal presente en algunos pacientes con déficit de ALS puede ser considerado un factor negativo para conseguir una correcta mineralización ósea. El nivel disminuido de IGF1 circulante, la ausencia de complejos ternarios o el propio déficit de ALS son factores potenciales para el fallo de mineralización presente en algunos, aunque no en todos, de los pacientes con déficit de ALS.

De nuevo, más estudios son necesarios para entender el rol de la ALS en la mineralización y en la estructura del hueso trabecular y cortical.

#### g. Respuesta variable al tratamiento con GHR:

En un estudio se vio que tras tratamiento con GHR los ratones ALS-KO no crecían igual de bien que aquellos WT, ya que el efecto local de la IGF1 producida por los distintos tejidos no puede contrarrestar el bajo depósito circulante de IGF1. En estos ratones se produce un aumento de IGF1 en hígado como respuesta a la GH exógena pero pierden su habilidad para llevarlo a los tejidos periféricos<sup>(176)</sup>.

Los pacientes diagnosticados de déficit de ALS presentan un pico de GH normal en los test de estimulación, tienen mala respuesta al tratamiento con GH exógena y no se observa aumento de IGF1 ni IGFBP3 al iniciar tratamiento sustitutivo con GHR<sup>(95, 135)</sup>.

Se ha descrito el tratamiento con GH recombinante en 7 pacientes<sup>(129)</sup>. Los pacientes con deficiencia parcial de ALS presentan una velocidad de crecimiento en el primer año de tratamiento con GHR similar a la de los pacientes con TBI, aunque presentan niveles de IGF1 significativamente menores. Estos hallazgos sugieren que podrían ser más sensibles a los niveles de IGF1 o que la producción paracrina local tendría un mayor efecto en el crecimiento lineal.

En algunos de los pacientes heterocigotos compuestos estudiados en Argentina<sup>(150)</sup> se ha observado que retienen una capacidad parcial para expresar ALS que podría aumentar el nivel de IGF1 tras iniciar tratamiento con GHR.

En estudios recientes se ha observado que en déficit de ALS parcial en portadores heterocigotos sí que existe respuesta al tratamiento con GHR<sup>(148, 177, 178)</sup>.

Sin embargo, son necesarios más estudios para comprobar si esto pudiera mejorar la talla adulta.

Se ha demostrado que pacientes con déficit parcial de ALS responden al tratamiento con GHR aumentando los niveles de IGF1 y acelerando su velocidad de crecimiento<sup>(148, 177)</sup>. En un estudio reciente con seguimiento prospectivo de más de 300 pacientes se han demostrado diferencias estadísticamente significativas en la variación de los niveles de IGF1 tras iniciar el tratamiento con GHR en los pacientes con DGH según sea la etiología de este déficit, siendo mayor el aumento en los pacientes con déficit de GH adquirido. Se encontró también correlación positiva entre los niveles de IGF1 con respecto a la dosis

de GHr, la altura y el IMC. En este estudio no se encontró relación entre aumento de los niveles de IGF1 durante el tratamiento con GHr con respecto a sexo, edad, duración de tratamiento, estadio puberal, estado hormonal (déficit aislado/déficit múltiple) y gravedad de DGH inicial medida por pico de GH en tests farmacológicos<sup>(179)</sup>. Actualmente desconocemos las variaciones de ALS que se producen durante el tratamiento con GHr, su relación con la etiología de la talla baja y otros factores que pueden causar confusión como sexo, edad o estadio puberal sin embargo, en estudios previos se han encontrado niveles de ALS menores en pacientes PEG respecto a controles e incluso se ha propuesto la medición de esta proteína para ayudar a predecir la respuesta al tratamiento con GHr en estos pacientes<sup>(165-167)</sup>, por lo que son necesarios más estudios para valorar si los niveles de ALS podrían marcar diferencias en la respuesta al tratamiento con GHr de los pacientes con talla baja de distinta etiología.

### 3.10. ESTADO ACTUAL

Aunque la ALS tiene un papel importante en los efectos endocrinos de las IGFs en su tejido diana, históricamente ha recibido una atención limitada comparada con el resto de los componentes del sistema circulante de IGFs. En la actualidad no poseemos valores de referencia de ALS para los niños de distintas edades por lo que no podemos valorar si esta proteína se encuentra dentro de los límites normales para cada paciente que estudiamos.

Ha habido intentos anteriores para definir los valores normales de ALS en población sana<sup>(90, 112-117)</sup>, pero tienen algunas deficiencias como contar con un número pequeño de individuos<sup>(90, 112-116)</sup> o no estratificarlos según su estadio puberal<sup>(117)</sup>.

Los indicios en la literatura sugieren que portadores heterocigóticos de mutaciones en el gen de la ALS pueden estar presentes en la población general ya que los individuos afectados descritos hasta el momento son de diferentes orígenes y pertenecen a familias no cosanguíneas pero la ALS no se mide de forma habitual en niños con talla normal por lo que es difícil calcular la prevalencia de esta mutación en la población general<sup>(135)</sup>.

El significado de la medición de la ALS en el niño con talla baja aún no ha sido definido ya que se ha establecido que los niños con déficit de GH (DGH) tienen menor concentración de ALS, pero no hay estudios que comparen valores de individuos sanos y con DGH estratificando por edad. Esto es necesario para clarificar la utilidad de medir ALS en DGH ya que es posible que algunos niños con niveles bajos de IGF1 e IGFBP3 etiquetados de DGH o Talla Baja Idiopática puedan presentar mutaciones en *IGFALS* ya que los pacientes con mutaciones en homocigosis presentan diferentes grados de talla baja y además existe una reducción parcial en la talla de los pacientes heterocigóticos y estos hallazgos sugieren un efecto gen-dosis<sup>(160)</sup>.

Familiares portadores de mutación en *IGFALS* en heterocigosis presentan niveles disminuidos de ALS, IGF1 e IGFBP3<sup>(131, 133, 134)</sup> y son aproximadamente una desviación estándar más bajos que los familiares que no presentan mutación<sup>(180)</sup>.

Utilizando secuenciación masiva del genoma completo se ha descrito que el déficit total de ALS representa entre un 3 y un 6% de los niños con diagnóstico de insensibilidad a la GH<sup>(181-183)</sup>.

En el caso de niños con TBI, el déficit completo de ALS representaría un 1% , alrededor de un 5-10% podrían ser heterocigotos para mutaciones en *IGFALS*<sup>(148, 184)</sup> y un 5% presentan un perfil bioquímico sugestivo de déficit parcial de ALS<sup>(166)</sup>.

Además en pacientes con TBI y niveles bajos de ALS, IGF1 e IGFBP3 la presencia de mutaciones en heterocigosis en *IGFALS* puede ascender hasta un 50%<sup>(155)</sup>.

Se están llevando a cabo estudios *in silico* e *in vitro* para valorar cuales de estas mutaciones en heterocigosis halladas en pacientes con TBI podrían repercutir realmente en la funcionalidad de la ALS<sup>(185)</sup>.

El papel de la medición de los niveles de ALS como prueba de screening para detectar estas mutaciones aún no ha sido descrito.

En 2012, Wit et al<sup>(153)</sup> estudiaron 9 pacientes con fenotipo de insensibilidad a GH, con estatura <2SD y niveles de IGF1<2SD, encontrando 3 mutaciones en *STAT5B* y 2 en *IGFALS*. En 2017, Hattori et al<sup>(151)</sup> secuenciaron el ADN de 86 niños japoneses con TBI y encontraron 19 pacientes con mutaciones en heterocigosis, una de ellas en *IGFALS*.

En 2019, Kumar et al<sup>(148)</sup> realizaron secuenciación bidireccional en 61 niños indios con TBI y encontraron 3 mutaciones en el gen *IGFALS* (una de ellas de significado incierto) de entre los 39 pacientes que presentaban IGF1 <1SD. También en 2019, Plachy et al<sup>(157)</sup> secuenciaron el genoma de 33 niños checos con talla baja familiar severa (talla >-2,5SD) encontrando una mutación en *IGFALS*. En estos estudios no se midieron los niveles séricos de ALS por lo que no se puede correlacionar los niveles séricos de ALS con la presencia de estas mutaciones.



# 4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 4.1. HIPÓTESIS

- La determinación y valoración de forma conjunta de la ALS, IGF1 e IGFBP3 ayuda a un mejor estudio y diagnóstico de la talla baja en pediatría.
- Existen datos en la historia y en la exploración de sujetos con talla baja secundaria a un déficit de ALS que hacen sospechar ese déficit.
- El tratamiento con GHr modifica los niveles de ALS y del resto de factores de crecimiento.

## 4.2. OBJETIVOS

- Objetivo general:

Conocer el comportamiento de la ALS en el eje de la hormona de crecimiento y su implicación en la presencia de la talla baja.

- Objetivos específicos:

1. Establecer valores de normalidad de la proteína ALS en población pediátrica y su variación respecto a edad, sexo o estadio puberal.
2. Correlacionar los valores de ALS con la talla.
3. Conocer la relación de la ALS con otros factores de crecimiento y establecer la mejor manera de valorar en conjunto estas tres determinaciones para estudiar adecuadamente un paciente pediátrico con talla baja.
4. Conocer el papel que tiene la ALS en el crecimiento, conocer los niveles de ALS en pacientes con talla baja de distinta etiología y que consecuencias tienen sus alteraciones en la existencia de la talla baja.
5. Establecer las variaciones en los factores de crecimiento (IGF1, IGFBP3, ALS y los índices IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS) en los pacientes con talla baja de distinta etiología.
6. Conocer el comportamiento de la ALS y los distintos factores de crecimiento en los pacientes con talla baja de distinta etiología que reciben tratamiento con GHr y si la ALS puede condicionar su respuesta.
7. Conocer el porcentaje de sujetos que estando afectados de una talla baja idiopática presentan disminución de ALS.



# 5. PACIENTES Y MÉTODOS:

## 5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional, tipo caso-control, realizado en la Unidad de Endocrinología Infantil del Hospital Universitario de Salamanca en colaboración con el departamento de estadística de la Universidad de Salamanca.

Se recogen pacientes pediátricos entre 2 y 14 años. Se establecen 7 grupos de estudio (Talla baja idiopática, déficit de GH, Pacientes pequeños para la edad gestacional, niños con tratamiento con GHr, niños con talla baja de otra etiología, niños sanos de talla normal y niños con obesidad).

Se obtienen consentimientos informados de todos los menores maduros y de los tutores legales.

El presente trabajo cumple con los principios éticos de la declaración de Helsinki y fue declarado como APTO por el comité de ética del Hospital Universitario de Salamanca y de las gerencias de Atención Primaria de Ávila y Salamanca.

## 5.2. SELECCIÓN DE LAS POBLACIONES DE ESTUDIO

Se estudiaron pacientes pediátricos entre 2 y 14 años.

Se establecieron 7 grupos de estudio. Seis de ellos actuarán como “población caso” y otro de ellos será una “población control”. Dentro de la población caso se incluyen “talla baja idiopática” (TBI), “déficit de hormona de crecimiento” (DGH), “pequeños para su edad gestacional (PEG)”, obesidad, talla baja de otras etiologías y niños en tratamiento con GHr.

Se usan como referencia de las medidas de peso y talla las tablas publicadas por Carrascosa en el año 2010<sup>(186)</sup>.

Los criterios de inclusión en los diferentes grupos fueron:

1. *Sanos (talla normal)*
  - a. Talla entre -2 y 2 SD y acorde a su talla genética.
  - b. IMC entre -2 y 2 SD.
  - c. Peso y longitud al nacer superior a -2 SD.
  - d. No patología conocida que según los conocimientos médicos actuales pueda influir sobre, peso, talla, metabolismo hidrocarbonado (Celiaca, diabetes, obesidad o desnutrición de cualquier etiología).
  - e. Edad 2-14 años.
  
2. *Talla baja idiopática:*
  - a. Retraso Constitucional del Crecimiento y el Desarrollo (RCCD)
    - i. Talla menor o igual a -2 SD.
    - ii. Peso y longitud al nacer superior a -2 SD.
    - iii. No existencia de ninguna otra patología.

- iv. Criterios de TBI descritos previamente<sup>(8)</sup>.
- v. Retraso en la Edad ósea mayor de 1año.
- vi. Edad 8-14 años.
- b. Talla Baja Familiar (TBF)
  - i. Talla menor o igual a -2 SD.
  - ii. Peso y longitud al nacer superior a -2 SD.
  - iii. No existencia de ninguna otra patología.
  - iv. Criterios de TBI descritos previamente<sup>(8)</sup>.
  - v. Antecedentes familiares de TB.
  - vi. Edad 2-14 años.
- c. TBI Propiamente dicha
  - i. Talla menor o igual a -2 SD.
  - ii. Peso y longitud al nacer superior a -2 SD.
  - iii. No existencia de ninguna otra patología.
  - iv. Criterios de TBI descritos previamente<sup>(8)</sup>.
  - v. Ausencia TBF.
  - vi. Ausencia RCCD.
  - vii. Edad 2-14 años

### 3. *Déficit de GH*

- a. Definida según los criterios para inicio de tratamiento con Hormona de Crecimiento propuestos por el Comité Asesor de Hormona de Crecimiento y sustancias relacionadas de la Comunidad de Castilla y León<sup>(76, 187, 188)</sup>.
- b. No haber comenzado tratamiento con Hormona de Crecimiento en el momento de recogida de la muestra para el estudio la proteína ALS.
- c. Edad 2-14 años.
- d. Se clasificará en:
  - i. Idiopático: No existencia de patología que haya desencadenado el déficit (tumor craneal, radioterapia, quimioterapia...).
  - ii. Secundario.

### 4. *Pequeños para su edad gestacional*

- a. Peso y/o longitud al nacer inferior a -2 SD.
- b. No haber comenzado tratamiento con GHr.
- c. No patología conocida que según los conocimientos médicos actuales pueda influir sobre, peso, talla, metabolismo hidrocarbonado (Celiaca, diabetes, obesidad, desnutrición de cualquier etiología).
- d. Edad 2-14 años.
- e. Se clasificará en:
  - i. Talla normal (Talla superior a -2SD).
  - ii. Talla baja (Talla inferior a -2SD).

### 5. *Pacientes de los grupos anteriores en tratamiento con GHr.*

### 6. *Pacientes con talla normal y obesidad*

- a. Talla entre -2 y 2 SD.
- b. IMC>2SD.



- c. Peso y longitud al nacer superior a -2 SD.
  - d. No patología conocida que según los conocimientos médicos actuales pueda influir sobre, peso, talla, metabolismo hidrocarbonado (Celiaca, diabetes o desnutrición de cualquier etiología).
  - e. Edad 2-14 años
7. Talla baja de *otra etiología*
- a. Alteraciones en gen SHOX o *PAR1*.
  - b. Turner
  - c. Noonan.
  - d. Klinefelter
  - e. Displasia ósea (DO)
  - f. Trasplante precursores hematopoyéticos (TPH).
  - g. Insuficiencia Renal Crónica (IRC)
  - h. Neoplasia
  - i. Otras causas de talla baja

Se recogieron muestras de los niños que acuden a las consultas de Endocrinología Pediátrica de Salamanca por distintas patologías entre mayo de 2011 y diciembre de 2017. De forma simultánea a la recogida de las muestras se procedió a la medición de las concentraciones de la proteína.

En un primer estudio preliminar se detectó que el número de niños sanos o controles recogido en las consultas de endocrinología era demasiado bajo para llegar a establecer los niveles de normalidad de ALS, ya que éstos varían con edad, sexo y estadio puberal por lo que, para aumentar el número de controles, se inició la recogida de muestras en niños sanos a los que se extrae analítica en el servicio de preanestesia del Hospital Universitario de Salamanca debido a una intervención quirúrgica menor programada desde abril de 2016 hasta diciembre de 2019.

Para recoger los datos antropométricos y los datos de la historia clínica se revisaron las historias de Atención Primaria en la base de datos MEDORA y, si los datos no estaban completos en dicha base de datos se revisó la historia hospitalaria y se contactó con el pediatra de Atención Primaria correspondiente.

## 5.3. MATERIAL Y MÉTODOS

### a) METODOLOGÍA DE LAS DETERMINACIONES ANALÍTICAS

- **ALS (mU/ml):** Los niveles de ALS total se determinaron por ELISA (*ALS E35 Assay, Mediagnost Laboratory, Germany*) mediante anticuerpos específicos de conejo. El límite de detección fue de 0,23mU/ml y la variabilidad interensayo fue <6,8%. Esta prueba es también llamada prueba-sandwich y utiliza anticuerpos con alta afinidad y especificidad. La ALS de la muestra se une a los anticuerpos unidos a la placa de microtitulación. En el Segundo paso, los anticuerpos específicos antiALS se unen a la ALS fijada.

- IGF1(ng/ml):** La IGF1 total fue medida usando un ensayo inmunimétrico quimioluminiscente marcado con enzima de fase sólida. (*IMMULITE 1000 IGF-I, Siemens*). IGF1 fue separado de las proteínas transportadoras usando un medio ácido, dejando la IGF1 libre y expuesta a los anticuerpos de alta especificidad. El límite de detección fue 14.4 ng/ml. Los coeficientes de variación intraensayo e interensayo fueron <4.8 and 5.7% respectivamente. No se describieron reacciones cruzadas significativas. Durante el transcurso del estudio se produjo un cambio en la determinación de IGF1 por parte del laboratorio adoptando un nuevo estándar (WHO NBSC IS 02/254) que modificó los valores de IGF1 totales obtenidos con el estándar previo (WHO NBSC IS 87/518) siendo estos más bajos con el nuevo método. Los valores del nuevo método muestran una correlación y una concordancia muy buenas respecto al antiguo, como fue demostrado en un estudio realizado en nuestro laboratorio, donde el 95,6% de los puntos se encontraba dentro de los límites óptimos<sup>(189)</sup>. Los valores de IGF1 obtenidos con el método anterior se convirtieron según la fórmula descrita :  $IGF1 \text{ nuevo método} = 6,053 + 0,754(IGF1 \text{ antiguo método})$  para poder comparar todos los valores de IGF1 en igualdad de condiciones.
- IGFBP3(µg/ml):** Los niveles totales de IGFBP3 fueron determinados por tecnología quimioluminiscente (*IDS-iSYS Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3, IS-4400*). La muestra del paciente fue incubada con un anticuerpo monoclonal anti-IGFBP3 biotinilado y un anticuerpo antiIGFBP3 marcado con acridinio. Luego se añadieron partículas magnéticas recubiertas con estreptavidina para una incubación adicional. Las partículas magnéticas fueron capturadas usando un imán y se realizó un lavado para eliminar todos los analitos no unidos. Después se añadieron reactivos desencadenantes; la luz resultante emitida por los marcadores de acridinio fue directamente proporcional a la concentración de IGFBP3 en la muestra original. El límite de detección fue 50 ng/ml. Los coeficientes de variación intraensayo e interensayo fueron <2.6 and 7.2% respectivamente. Esta determinación no tiene reacciones cruzadas significativas con otras IGFBPs.
- GH:** Determinado mediante ensayo inmunométrico quimioluminiscente de dos sitios de unión en fase sólida (*IMMULITE/IMMULITE 1000*). La fase sólida (bola) se encuentra recubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti-GH humana (hGH). El reactivo contiene fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugado con un anticuerpo policlonal de conejo anti-hGH. El reactivo y la hGH de la muestra son incubados junto con una bola recubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti-hGH para formar un complejo de anticuerpos tipo sándwich. Después el conjugado con enzima no unida es eliminado mediante lavado y centrifugación y, finalmente, se añade el sustrato quimioluminiscente y se mide la señal generada, la cual será proporcional al enzima unido. El anticuerpo utilizado en la técnica IMMULITE GH es altamente específico para la hGH, presentando muy poca reacción cruzada con otras hormonas presentes en condiciones normales. La sensibilidad del proceso es de 0,01ng/ml (0,03mUI/l).

- **Insulina:** Los niveles plasmáticos de insulina se determinaron mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) (*Elecsys insulin, analizador automático cobas e®*) empleando para ello un principio de sándwich con dos anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra la insulina humana. La prueba no está afectada por ictericia, lipemia ni biotina. Los límites inferior y superior de detección son de 0,2uU/ml y 1000uU/ml respectivamente. El coeficiente de variación intraensayo e interensayo fue 2% y 4,9% respectivamente.

#### b) DATOS DE LA ANAMNESIS

En todos los pacientes se obtuvieron los siguientes datos de la historia clínica:

- Edad cronológica: calculada en su forma decimal con un máximo de dos decimales.
- Edad gestacional: calculada en su forma decimal con un máximo de dos decimales.
- Peso al nacer: calculada en gramos, sin decimales.
- Longitud al nacer: calculada en centímetros (cm) con un máximo de un decimal.
- Antecedentes familiares de talla baja.
- Antecedentes familiares de retraso constitucional o pubertad temprana.
- Zona de salud de procedencia.
- Edad de comienzo de la talla baja.

#### c) DATOS DE LA EXPLORACIÓN:

1. Las medidas antropométricas recogidas en todos los pacientes fueron las siguientes:

- Talla: medida en centímetros (cm) con un decimal. Para la medición se situó al sujeto de pie, descalzo, con la mirada paralela al suelo, los hombros rectos y los brazos a ambos lados en posición anatómica. Posteriormente se bajo el tope móvil superior del tallímetro hasta presionar levemente la cabeza del sujeto.
- Peso: medido en kg, y con un decimal. Estando la balanza en una superficie lisa y estable se situó al sujeto en ropa interior y descalzo durante unos segundos hasta que el peso marcado por la báscula se estabilizó.
- Índice de masa corporal (IMC): medido en  $\text{kg}/\text{m}^2$  y redondeado a un máximo de dos decimales.
- Perímetro cefálico (PC): medido mediante una cinta métrica inextensible con una precisión de  $\pm 1$  mm.

2. Mediante la exploración física se obtuvo información de:

- Estadio puberal: para ello se usaron los estadios de Tanner<sup>(190)</sup> y volumen testicular en los varones utilizando el orquidómetro de Prader y el desarrollo mamario en las mujeres.
- Peculiaridades fenotípicas

#### d) ANÁLISIS GENÉTICO:

- Se realiza estudio de exoma completo en pacientes con ALS por debajo de -2SD.

- Se realiza la extracción de ADN a partir de muestras de sangre periférica mediante el sistema *MagNAPure Compact (Roche Diagnostics)*.
- Se preparan las librerías de ADN utilizando la tecnología *TruSeq Exome Library Prep (Illumina)*, y se lleva a cabo la captura del exoma completo mediante tecnología *xGen Exome Research Panel (Integrated DNA Technologies, IDT)*. Para la secuenciación de las librerías se utiliza el equipo de secuenciación masiva *NextSeq 500/550 (Illumina)*
- Los datos obtenidos son analizados mediante las plataformas *DNAexus* y *Saphetor* alineando las lecturas obtenidas frente a la versión del genoma humano de referencia GRCh37/hg19.

#### e) LIMITACIONES:

- La mayoría de las muestras recogidas corresponden a niños caucásicos españoles por lo que los resultados podrían no ser extrapolables a otras poblaciones.
- La recogida de información de la anamnesis en todos los niños de la consulta de endocrino se realizó mediante encuesta directa a los padres mientras que en las muestras procedentes de la consulta de preanestesia se recogió la información directamente de la historia clínica realizada por su pediatra.
- Las medidas antropométricas y el estadio puberal de todos los niños de la consulta de endocrino fueron realizadas por los mismos dos endocrinólogos pediátricos mientras que en los niños de la consulta de preanestesia se recogió la información directamente de la exploración realizada por su pediatra.
- Durante el desarrollo del trabajo se produjo un cambio en el método de determinación de IGF1 que obligó a transformar los valores cuantificados con el método inicial a valores equivalentes al método actual.

## 5.4. MANEJO DE LOS DATOS

Con el fin de proceder a la informatización de los datos, se creó una base de datos en la que se incluyeron todas las variables del estudio con el programa informático *FileMaker Pro Advanced*, donde quedaron registradas todas las variables médicas. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico adecuado para la realizar la técnica estadística utilizada en cada análisis. Se utilizaron los programas informáticos *SPSS 21*<sup>(191)</sup>, *R*<sup>(192)</sup> y *Multibiplot* de la universidad de Salamanca<sup>(193)</sup>.

Todas las medidas antropométricas (talla, peso, IMC) se transformaron a desviaciones estándar (SD) para poder comparar sujetos con diferente sexo y edad según el estudio de Carrascosa en 2010<sup>(186)</sup>.

#### a) ANALISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS EN NIÑOS SANOS

Se realizó un estudio descriptivo de todas las variables incluidas en el estudio construyendo los gráficos adecuados, obteniéndose para cada variable medidas de tendencia central, de dispersión (para las variables cuantitativas continuas), y tablas de frecuencias (para las variables discretas o variables cualitativas).

Los redondeos de los resultados se realizaron mediante técnicas habituales.

Se analizaron como variables dependientes las proteínas ALS, IGF1 e IGFBP3 y sus ratios molares de relación IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS.

Los grupos del estudio se compararon utilizando las pruebas estadísticas adecuadas para cada contraste de hipótesis,  $\chi^2$  de Pearson o test exacto de Fisher para variables cualitativas, t-Student y Anova para variables cuantitativas y U de Mann Withney y Wilcoxon para datos que provienen de poblaciones con distribuciones no normales. Para determinar posibles relaciones entre las variables se obtuvieron coeficientes de correlación y se realizaron gráficos de dispersión.

Se realizaron contrastes de hipótesis sobre normalidad para definir los estadísticos y gráficos utilizados. En las variables que presentan posibles diferencias por sexo y estadio puberal se comprobó la normalidad mediante gráficos Q-Q y mediante la prueba de Saphiro- Wilk y Kolmogorov-Smirnov.

### b) RATIOS MOLARES IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS

Ya que la IGF1 que circula unida a IGFBP3 y ALS no se considera activa, se pensó que podría ser de utilidad crear índices que relacionaran estos tres componentes y ver como variaban en los niños sanos, en los distintos tipos de TB y en aquellos niños en los que se inicia tratamiento con GHR para valorar los posibles efectos secundarios. Para ello, se estudiaron las relaciones entre IGF1, IGFBP3 y ALS en la población control y se propusieron distintos índices entre ellas.

Ya que el peso molecular de IGF1 (7.6 kDa), IGFBP3 (29 kDa) y ALS (85kDa) son muy diferentes, estas ratios deben expresarse como ratios molares. Estas ratios molares deben determinarse con las concentraciones expresadas en nanomol/l.

Basado en la publicación Friedrich et al<sup>(194)</sup>, para transformar los valores en nmol/l se realizaron las siguientes operaciones:

$$IGF1 \frac{ng}{ml} \times 0,1307 = IGF1 \frac{nmol}{L}$$

$$IGFBP3 \frac{ng}{ml} \times 0,03478 = IGFBP3 \frac{nmol}{L}; 1 \mu g = 1000ng$$

$$ALS \frac{mU}{mL} \times 5 = ALS \frac{ng}{mL}; ALS \frac{ng}{ml} \times 0,01176 = ALS \frac{nmol}{L}$$

$$\frac{IGF1}{IGFBP3} molar = \frac{\left(IGF1 \frac{nmol}{L} \times 100\right)}{IGFBP3 \frac{nmol}{L}}; \frac{IGF1}{ALS} molar = \frac{IGFBP3 \frac{nmol}{L}}{ALS \frac{nmol}{L}}$$

### c) MODELOS DE NORMALIZACIÓN: MODELOS *GAMLSS*.

Se aplicaron modelos de normalización para la estandarización de ALS, IGF1, IGFBP3 y los ratios molares IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS en población pediátrica sana. Se ajustaron modelos en función de la edad, el estadio puberal y el sexo.

La estimación de percentiles incluye métodos para estimar la distribución del crecimiento relacionado con la edad.

La estimación estándar de curvas de percentiles normalmente incluye dos variables continuas:

- a) La variable respuesta  $Y$  que es en la que estamos interesados y para la que estamos intentando crear las curvas de percentiles.  
En este caso serían los niveles de ALS, IGF1, IGFBP3, de la ratio IGF1/IGFBP3 molar y de la ratio IGFBP3/ALS molar.
- b) La variable explicativa  $X$  que suele ser la edad.

Las curvas de percentiles pueden ampliarse a más de una variable explicativa, por ejemplo, edad y sexo o estadio puberal, pero para ello se suelen crear tablas separadas para cada variable categórica (sexo, estadio puberal).

Para estimar las curvas percentiles separadas por sexos de las variables IGF1, IGFBP3, ALS, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS se aplicaron los modelos *LMS* y *BCPE* mediante el paquete *GAMLSS* de R<sup>(195, 196)</sup>.

#### Marco teórico

Los modelos *GAMLSS* (*Generalized Additive Models for Location, Scale and Shape*)<sup>(195, 197-200)</sup>, es decir, los modelos aditivos generalizados para posición, escala y forma, son una clase general de modelos estadísticos para una variable respuesta unidimensional que incluyen como casos particulares a los modelos lineales generalizados (*GLM*) y a los modelos aditivos generalizados (*GAM*).

Los modelos de regresión han ido evolucionando para poner solución a las limitaciones que se iban encontrando (figura 11).

1. En el modelo de regresión lineal *LM* (*Legendre, Gaus, Galton y Pearson*), la variable respuesta  $Y$  se relaciona de forma lineal con el resto de las variables, pero para que sean válidos, la variable respuesta tiene que seguir una distribución normal y la varianza  $\sigma^2$  debe ser constante en todo el rango de por lo que no es aplicable a muchos problemas reales.
2. Los modelos lineales generalizados *GLM* (*Nelder Y Wedderburn*), permiten que la variable respuesta  $Y$  siga cualquier distribución de la familia exponencial (Gaussian, Poison, binomial...) pero siguen teniendo la limitación de que la relación entre los predictores y la media de  $Y$  debe ser lineal y constante.
3. En 1990 se introdujeron los modelos de regresión lineal generalizados aditivos *GAM* (*Hastie y Tibshirani*) que son una extensión de los modelos que permiten incorporar relaciones no lineales a través de funciones, pero requieren asumir que la variable respuesta sigue una distribución de la familia exponencial cuya media puede ser modelada en función de unas variables predictoras.

4. Los modelos *GAMLSS* introducidos en 2005 (*Rigby y Stasinopoulos*) permiten incorporar distribuciones que no son de la familia exponencial y, además, modelar cada parámetro en función de las variables predictoras, pudiendo usar funciones lineales y no lineales.

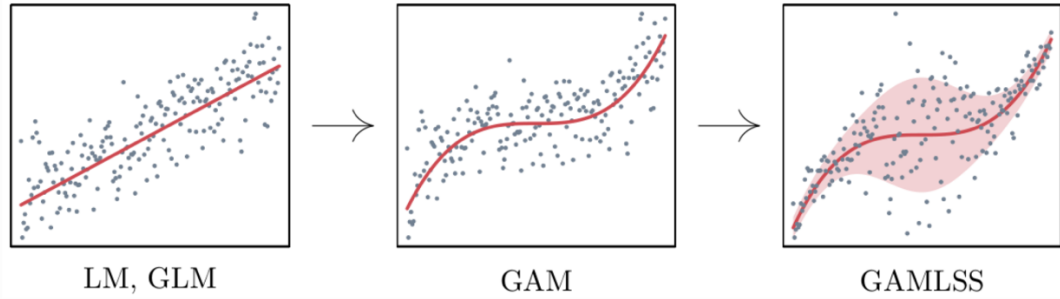


Figura 11. Tomado de de Amat Rodrigo J. *GAMLSS: modelos aditivos generalizados para posición, escala y forma 2020 available under a Attribution 4.0International.* [https://www.cienciadedatos.net/documentos/63\\_gamlss.html](https://www.cienciadedatos.net/documentos/63_gamlss.html) <sup>(199)</sup>. A su vez obtenida de Schlosser, L. Achim. (2018). *Distributional Regression Forests for Probabilistic Precipitation Forecasting in Complex Terrain.* *The Annals of Applied Statistics.* 13. 10.1214/19-AOAS1247.

Los modelos *GAMLSS* son semiparamétricos porque requieren asumir que la variable respuesta sigue una distribución paramétrica, pero cada parámetro puede ser modelado de forma independiente, siguiendo una función paramétrica y/o no paramétrica (lineales, aditivas, no lineales...), permitiéndose además la presencia de efectos aleatorios. Esto permite usar como herramienta para modelar variables con distintas distribuciones (no normales, asimétricas...). Con este modelo se puede caracterizar una distribución completa y además permite la generación de intervalos probabilísticos y la predicción de percentiles.

En los modelos *GAMLSS* se asume una distribución paramétrica para la variable respuesta  $Y$  (normal, beta, gamma...) y se permite modelizar, no solo el parámetro de localización (la media o mediana), sino también los parámetros de dispersión, de escala y de forma, como funciones de una o varias variables explicativas. Es decir, los modelos *GAMLSS* son definidos por hasta 4 parámetros ( $\mu, \sigma, \nu, \tau$ ) que determinan su posición (ej: media), escala (ej: desviación estándar) y forma (ej: kurtosis).

$$Y \sim D(\mu, \sigma, \nu, \tau)$$

$$Y = X^T \beta$$

$$\eta_1 = g_1(\mu) = X^T \beta + f_1(x_1) + f_2(x_2) + \dots + f_p(x_p)$$

$$\eta_2 = g_2(\sigma) = X^T \beta + f_1(x_1) + f_2(x_2) + \dots + f_p(x_p)$$

$$\eta_3 = g_3(\nu) = X^T \beta + f_1(x_1) + f_2(x_2) + \dots + f_p(x_p)$$

$$\eta_4 = g_4(\tau) = X^T \beta + f_1(x_1) + f_2(x_2) + \dots + f_p(x_p)$$

Donde  $Y \sim D(\mu, \sigma, \nu, \tau)$  es la distribución de la variable respuesta (pueden ser menos parámetros),  $X$  contiene los términos lineales del modelo,  $\beta$  son los coeficientes lineales y  $f_i(x_i)$  son funciones de suavizado no lineales (*smooth*) de cada predictor.

Siendo  $\mu_i$  y  $\sigma_i$  con  $i = 1, 2, \dots, n$  parámetros de localización y escala (media o mediana y coeficiente de variación o varianza) respectivamente y, por otro lado,  $\nu_i$  y  $\tau_i$  con  $i = 1, 2, \dots, n$  son parámetros de forma (por ejemplo, parámetros de asimetría y curtosis).

La distribución para la variable respuesta en el *GAMLSS* se puede seleccionar de una familia muy general de distribuciones, que incluye las distribuciones de la familia exponencial (Normal, Binomial, Poisson...) así como distribuciones continuas y discretas altamente sesgadas o kurtóticas no pertenecientes a la familia exponencial. Dos ejemplos especialmente importantes de distribuciones continuas que se utilizaron en este trabajo son la distribución Box–Cox Normal (distribución con tres parámetros) y la distribución Box–Cox Power Exponential (con cuatro parámetros).

#### Definición del modelo *GAMLSS*:

Sea  $y^T = (y_1, \dots, y_n)$  el vector  $n$ -dimensional de la variable respuesta, donde  $y_i \sim F(y_i | \theta^i)$ . Para  $k = 1, 2, \dots, p$ , sean  $g_k(\cdot)$  las funciones link conocidas que relacionan los parámetros de la distribución con las variables explicativas de la siguiente forma:

$$g_k(\theta_k) = \eta_k = X_k \beta_k + \sum_{j=1}^{J_k} Z_{jk} \gamma_{jk},$$

donde  $\theta_k$  y  $\eta_k$  son vectores  $n$ -dimensionales,  $\theta_k = (\theta_{1k}, \theta_{2k}, \dots, \theta_{nk})$ , donde  $\beta_k = (\beta_{1k}, \dots, \beta_{j_k k})$  es un vector  $J_k$ -dimensional. El número de covariables continuas con efecto no lineal que se utilizan para explicar cada parámetro  $\theta_k$  se representa por  $J_k$ , para  $k = 1, \dots, p$ ,  $X_k$  es una matriz de diseño fijada de orden  $n * J_k$ ,  $Z_{jk}$  es una matriz fijada de orden  $n * q_{jk}$  y  $\gamma_{jk}$ , una variable aleatoria  $q_{jk}$ -dimensional.

Los términos paramétricos y aditivos que componen los *GAMLSS* permiten una formulación general de muchos modelos o submodelos.

Las variables explicativas se introducen en el modelo a través de los “predictores”  $\eta_k$ , que se relacionan con los parámetros mediante funciones de enlace o funciones link monótonas, denotadas por  $g_k(\cdot)$ . Estas funciones son conocidas y dependen de la distribución seleccionada para la variable respuesta.

El modelo LMS puede ser ajustado en *GAMLSS* y se define como:

$$Y \sim fY (y | \mu\sigma\tau)$$

Donde  $fY()$  es alguna distribución que típicamente representan BCCG (Box-Cox Cole and Green), BCPE (Box-Cole power exponential) y BCT (Box-Cox t).



- *BCCG* asume que la respuesta variable tiene, lo cual es adecuado para datos sesgados positiva o negativamente con  $Y > 0$ .
- *BCPE* asume que la variable aleatoria transformada  $Z$  tiene una distribución exponencial de potencia truncada.
- *BCT* asume que  $Z$  tiene una distribución  $t$  truncada.

**Método LMS<sup>(201)</sup>:**

El método *LMS* es un caso particular de un modelo *GAMLSS* donde hay una única variable explicativa  $X$ (en nuestro caso la edad).

En este modelo se asume que  $Y$  sigue una distribución llamada Box–Cox Normal o Box–Cox Cole y Green (*BCCG*), con tres parámetros  $(\mu, \sigma, \nu)$ . Este modelo propone una transformación de  $Y$  que da lugar a una normal  $N(0,1)$  proporcionando  $z$ -scores (o puntuaciones  $Z$ ) adecuadas para el cálculo de los percentiles. Esta transformación se denomina LMS.

Su formulación es la siguiente: Dado  $X = x$ ,  $Y$  sigue una distribución *BCCG*  $(\mu, \sigma, \nu)$  y cada uno de los parámetros es modelado como una función no paramétrica suave de  $x$ .

Las siglas L, M y S del modelo vienen de los parámetros  $\mu, \sigma, \nu$ , donde  $\mu$  es el parámetro M que representa la media o mediana,  $\sigma$  es el parámetro S que representa el coeficiente de variación y  $\nu$  es el parámetro L que representa el coeficiente de asimetría.

La transformación *LMS* de  $Y$  fue definida por Cole y Green<sup>(201)</sup> como:

$$Z_{LMS} = \begin{cases} \frac{1}{\sigma\nu} \left[ \left( \frac{Y}{\mu} \right)^\nu - 1 \right] & \text{si } \nu \neq 0 \\ \frac{1}{\sigma} \log \left( \frac{Y}{\mu} \right) & \text{si } \nu = 0 \end{cases}$$

para  $0 < Y < \infty$ , donde  $\mu, \sigma > 0$  y donde se asume que  $Z_{LMS}$  sigue una distribución normal estándar.

**Método BCPE (LMSP)<sup>(197)</sup>**

En este modelo se asume que  $Y$  sigue una distribución llamada Box–Cox Power Exponencial (BCPE), con cuatro parámetros. Esta distribución también se relaciona con la transformación  $Z_{LMS}$ , pero en este caso se asume que  $Z_{LMS}$  sigue una distribución power exponencial estándar. El método *BCPE* también conocido como método LMSP, corrige tanto la asimetría como la curtosis. Por lo tanto, este método se utiliza para estimar las curvas percentiles cuando la distribución sea asimétrica y además presente un pico no “normal”. El cuarto parámetro  $P$  (power) permitirá ajustar la curtosis. Se trata de una generalización del método LMS.

La transformación potencial de  $x$  ( $x \in$ ) es normalmente necesaria cuando la variable respuesta tiene un temprano o tardío intervalo de rápido crecimiento.

En estos casos la transformación de  $x$  puede ensanchar la escala de  $x$ , mejorando el ajuste de la curva suavizada.

Las siglas L, M, S y P del modelo vienen de los parámetros  $\mu, \sigma, \nu, \tau$ , donde  $\mu$  es el parámetro M que representa la media o mediana,  $\sigma$  es el parámetro S que representa el coeficiente de variación,  $\nu$  es el parámetro L que representa el coeficiente de asimetría y  $\tau$  es el parámetro P que representa el coeficiente de kurtosis.

En nuestro estudio se considera como variable explicativa única  $x$  la edad. Así el modelo se definiría como:  $g_1(\mu) = h_1(x)$ ;  $g_2(\sigma) = h_2(x)$ ;  $g_3(\nu) = h_3(x)$ ;  $g_4(\tau) = 4(x)$ . Donde las funciones  $g_k(\cdot)$  para  $k=1, 2, 3$  y  $4$  serán identidad o logaritmo según el modelo elegido.

### Elección del tipo de modelo

Para elegir el mejor modelo *GAMLSS* para cada variable incluida en este trabajo es necesario comparar entre los modelos candidatos ya que cada uno de estos modelos presenta una combinación diferente de distribución de la variable respuesta y función link para cada uno de los parámetros predictores.

Los modelos se compararon entre sí a través del criterio *GAIC* (generalized Akaike information criterion) con penalización  $k = 3$ . De forma que, el modelo adecuado para cada variable y sexo era aquel que minimizaba este criterio.

La bondad del ajuste del modelo se cuantifica mediante el *GDEV* (fitted global deviance) que es el log verosimilitud (*likelihood*) multiplicado por -2. El problema de este *GDEV* es que no tiene en cuenta los grados de libertad. En principio, cuantos más parámetros tenga un modelo, más se ajustará a los datos y menor será su *log likelihood*, pero con más probabilidad existirá un riesgo de *overfitting*. Para evitar este problema usamos *GAIC* ya que incorpora una penalización  $k$  por cada grado de libertad (*df*) que tenga el modelo.

Los autores del paquete *GAMLSS* recomiendan el uso de valores de  $k$  entre 2,5 y 4.

El criterio *GAIC* (Hastie y Tibshiran, 1990) se define como,

$$GAIC(\#) = -2 \hat{l} + df, (3,16)$$

donde  $\hat{l}$  denota la verosimilitud logarítmica del ajuste,  $df$  denota los grados efectivos de libertad usados en el modelo, los cuales representan la dimensión de parámetros de la parte paramétrica y de los efectos aleatorios y  $\#$  una penalización fijada.

La función *fitDist* () de *R* ajusta todas las distribuciones paramétricas de una familia y las compara acorde al *GAIC*.

Suavización del modelo (*smooth*)

Se pueden usar distintos métodos para estimar las funciones de suavizado (splines cúbicos, p-splines, loess...).

La formulación aditiva semiparamétrica de los *GAMLSS* se define como:

$$g_k(\theta_k) = \eta_k = X_k \beta_k + \sum_{j=1}^{J_k} h_{jk}(x_{jk})$$

Donde  $h_{jk}$  es la función de suavizado y es una función desconocida de la covariable  $x_{jk}$ .

Esta función viene del modelo general donde  $Z_{jk} \gamma_{jk} = h_{jk}(x_{jk})$ .

Existen dos tipos de modelos de suavización con splines, splines que utilizan el mismo número de parámetros que de observaciones cuya eficiencia disminuye cuando aumenta el número de observaciones y splines polinómicos que se pueden ajustar seleccionando el número de nodos, pero son necesarios algoritmos complicados para la selección de los nodos. Los p-splines o splines penalizados combinan las ventajas de los dos grupos y controlan una sobrestimación agregando un término de penalización.

En este trabajo utilizamos p-splines (*Eilers y Marx, 1996*) que permiten estimar un gran número de efectos no paramétricos de forma simultánea.

La función *pb()* calcula automáticamente los parámetros de suavización dentro del algoritmo que estima el modelo y, por lo tanto, los grados efectivos de libertad para cada caso, recortando significativamente el tiempo de convergencia de los modelos. Además, los p-splines en sí son mucho más rápidos, ya que la matriz de penalización es más pequeña que en el caso de los splines de suavizado.

Calidad del modelo:1. CRITERIO *GAIC*:

El criterio *GAIC* nos informa de cual de los modelos comparados se ajusta mejor a los datos, pero si todos los modelos son malos no nos avisará de este fallo.

## 2. RESUMEN DE RESIDUOS:

Permiten evaluar de forma visual la calidad de un modelo a través de sus residuos. Si el modelo es correcto no observaremos desviación entre los valores observados y los teóricos.

Con la función *plot()* veremos el diagnóstico de los residuos del modelo para media, varianza, coeficiente de asimetría y coeficiente de kurtosis.

### 3. GRÁFICO Q-Q:

compara los residuos observados con los esperados en un gráfico de normalidad.

### 4. DIAGRAMAS DE GUSANO (*wormplot*):

Estos gráficos fueron descritos en 2001 por Buuren y Fredriks<sup>(202)</sup> y permiten valorar la normalidad de los residuos del modelo.

Permiten evaluar de forma visual la calidad de un modelo a través de sus residuos.

En el eje horizontal se representan los cuantiles teóricos de una normal  $N(0,1)$  y en el eje vertical la diferencia entre los cuantiles empíricos y teóricos basados en los residuos. Idealmente, los valores resultantes deberían ser cero, como una línea horizontal.

El intervalo de confianza 95% es mostrado por dos líneas elípticas discontinuas. Sólo el 5% de las observaciones deberían quedar fuera de estas líneas si el modelo es correcto.

Para dibujarlos usaremos la función *wp* () (figura12) y analizaremos la distribución según la forma (figura 13).

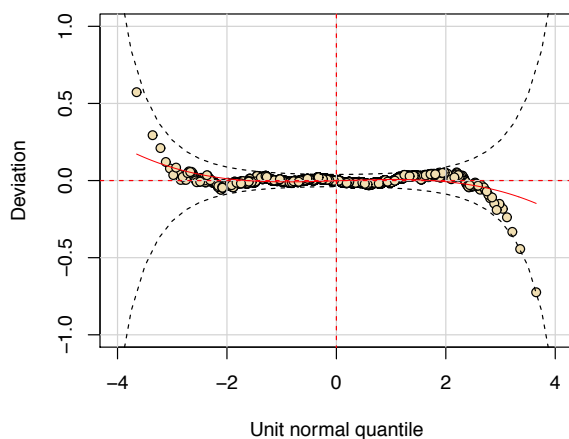


Figura 12. Ejemplo de salida obtenida con la función *wp* (). Tomado de Arias M. Curvas de crecimiento de la población infantil gallega, 2019.<sup>(200)</sup>

Momento	Forma del wp	Residuos	Variable respuesta
Media	Puntos por encima de 0	Media alta	Parámetro de localización bajo
	Puntos por debajo de 0	Media baja	Parámetro de localización alto
Varianza	Pendiente positiva	Varianza alta	Parámetro de escala bajo
	Pendiente negativa	Varianza baja	Parámetro de escala alto
Asimetría	Forma de U	Asimetría positiva	Asimetría baja
	Forma de U inversa	Asimetría negativa	Asimetría alta
Curtosis	Forma de S girada a la izquierda	Leptocúrtica	Curtosis baja
	Forma de S girada a la izquierda y dada la vuelta	Platicúrtica	Curtosis alta

Figura 13. Problemas detectados a través del wormplot. Tomado de Arias M. Curvas de crecimiento de la población infantil gallega, 2019.<sup>(200)</sup>.

Software utilizado:

Siguiendo el marco teórico descrito se realizan las gráficas y tablas de percentiles en R mediante método *GAMLSS*. Las distintas distribuciones usadas se describen en la figura 14.

El software *GAMLSS* está implementado en una serie de paquetes en el lenguaje R<sup>(192)</sup> y está disponible en <http://CRAN.R-project.org/>.

Actualmente tenemos varios paquetes de *GAMLSS* <sup>(203)</sup>:

1. original gamlss.
2. gamlss.cens package para variables de respuesta censuradas (intervalos).
3. gamlss.dist package para nuevas distribuciones adicionales.
4. gamlss.mx package para mezclas finitas de distribuciones.
5. gamlss.nl package para modelos no lineares.
6. gamlss.tr package para distribuciones truncadas.

Distributions	R Name	$\mu$	$\sigma$	$\nu$	$\tau$
beta	BE()	logit	logit	-	-
beta inflated (at 0)	BE0I()	logit	log	logit	-
beta inflated (at 1)	BE1I()	logit	log	logit	-
beta inflated (at 0 and 1)	BEINF()	logit	logit	log	log
Box-Cox Cole and Green	BCCG()	identity	log	identity	-
Box-Cox power exponential	BCPE()	identity	log	identity	log
Box-Cox-t	BCT()	identity	log	identity	log
exponential	EXP()	log	-	-	-
exponential Gaussian	exGAUS()	identity	log	log	-
exponential gen. beta type 2	EGB2()	identity	identity	log	log
gamma	GA()	log	log	-	-
generalized beta type 1	GB1()	logit	logit	log	log
generalized beta type 2	GB2()	log	identity	log	log
generalized gamma	GG()	log	log	identity	-
generalized inverse Gaussian	GIG()	log	log	identity	-
generalized <i>y</i>	GT()	identity	log	log	log
Gumbel	GU()	identity	log	-	-
inverse Gaussian	IG()	log	log	-	-
Johnson's SU ( $\mu$ the mean)	JSU()	identity	log	identity	log
Johnson's original SU	JSUo()	identity	log	identity	log
logistic	LO()	identity	log	-	-
log normal	LOGNO()	log	log	-	-
log normal (Box-Cox)	LNO()	log	log	fixed	-
NET	NET()	identity	log	fixed	fixed
normal	NO()	identity	log	-	-
normal family	NOF()	identity	log	identity	-

Figura 14. Distribuciones continuas en los paquetes *GAMLSS*. Tomado de Stasinopoulos M. Generalized Additive Models for Location Scale and Shape (*GAMLSS*) in R. Journal Statistical Software. 2007;23(7)<sup>(203)</sup>.

- La función *fitDist ()* de R ajusta todas las distribuciones paramétricas de una familia y las compara acorde al *GAIC*.
- La función *pb()* de R calcula automáticamente los parámetros de suavización dentro del algoritmo que estima el modelo.
- Para dibujar los diagramas de gusano usaremos la función *wp ()* de R.
- Con la función *plot ()* de R dibujaremos los gráficos de residuos.
- Para dibujar las curvas de percentiles de cada modelo se usó la función *centiles* del paquete de R.

#### d) CREACIÓN DE FÓRMULAS PARA CALCULAR LAS DESVIACIONES ESTÁNDAR.

Cuando se realizan mediciones de magnitudes que presentan una gran variación de valores en función de la edad y el sexo, los resultados obtenidos en un individuo en concreto se deben comparar con los valores obtenidos en una población de referencia.

En pediatría, para expresar los datos antropométricos, se suele usar el sistema SDS (acrónimo del inglés *Standard Deviation Score*) o puntuación  $Z^{(204)}$ .

El sistema SDS expresa el número de desviaciones estándar o puntuaciones Z en que un dato se sitúa por encima o por debajo de la media o la mediana de la población de referencia.

En el sistema SDS, los valores de la población de referencia siguen una distribución normal (distribución de Laplace-Gauss) donde el valor de la media o de la mediana se corresponde con el 0 y el intervalo comprendido entre +2 SDS (percentil 97,5) y -2 SDS (percentil 2,5) contiene el 95% de los valores.

La fórmula para calcular SDS es:

$$SDS = \frac{\text{valor observado} - \text{valor de la mediana de población de referencia}}{\text{valor de la desviación estándar de la población de referencia}}$$

Para calcular la desviación estándar de la población de referencia se utiliza la función *sd ()* de R para cada grupo de observaciones por sexo y edad.

Para calcular la mediana de la población de referencia se utiliza la función *median ()* de R para cada grupo de observaciones por sexo y edad, la mediana corresponde con el percentil 50 calculado por el método *GAMLSS*.

Los valores de referencia de las variables de nuestro estudio (ALS, IGF1, IGFBP3, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS) no siguen una distribución normal, por lo que debe realizarse una transformación matemática previa que consiga la normalización de estos datos para calcular posteriormente las SDS.

$$\text{Ej: } SDS = \frac{\ln VAR \text{ en el paciente} - \ln \text{ de la mediana de VAR en el grupo de edad}}{\text{valor de la desviación estándar de VAR (ln) grupo de edad}}^{(205)}$$

Se intenta la normalización de los datos mediante logaritmos. Para comprobar la normalidad se usa la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Si  $p > 0,05$  la distribución se considera normal.

#### e) ANÁLISIS UNIVARIANTE DE PACIENTES CON TALLA BAJA.

Se calcularon los Z-Score para cada variable con las gráficas y fórmulas construidas previamente.

Se realizó un estudio descriptivo de todas las variables incluidas en el estudio utilizando las medidas de tendencia central y dispersión adecuadas según el tipo de variable. Posteriormente se analizaron las diferencias entre los grupos de estudio utilizando las pruebas estadísticas adecuadas para cada contraste de hipótesis como se describe previamente en el punto 1, análisis exploratorio de los datos en niños sanos.

Se analizaron los valores de las variables estudiadas en las muestras de individuos con talla baja que reciben tratamiento con GHR y se compararon con los valores recogidos en individuos con el mismo diagnóstico que no reciben tratamiento con GHR.

En aquellos pacientes en los que se han realizado distintas mediciones de los valores de IGF1, IGF1BP3 y ALS durante su seguimiento en el servicio de endocrinología por talla baja de distinta etiología con y sin tratamiento con GHR se realizó una prueba de Wilcoxon para datos apareados.

## f) ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE PACIENTES CON TALLA BAJA

### **f.1 Análisis discriminante<sup>(206)</sup>**

Este análisis se utiliza para valorar qué variables o características medidas en los sujetos explican mejor la diferencia entre los grupos a los que pertenecen estos individuos. Permite comprobar si las variables independientes estudiadas en la investigación pueden ayudar a clasificar a los sujetos estudiados.

Utilizamos los datos de sujetos cuya clasificación conocemos a priori (en nuestro caso, tipo de talla baja o diagnóstico) para conocer las variables que podríamos utilizar para clasificar a nuevos pacientes en un grupo u otro. Es decir, usaremos este análisis para:

1. Determinar si existen diferencias significativas en las variables entre dos o más grupos definidos a priori.
2. Seleccionar qué variables de predicción son las que contribuyen a explicar las diferencias entre grupos en mayor medida.
3. Establecer procedimientos para clasificar individuos en uno u otro grupo a partir de una serie de variables independientes.
4. Identificar qué variables independientes tienen mayor poder de discriminación y de predicción en la clasificación de sujetos.
5. Obtener 'funciones discriminantes', es decir, ecuaciones que combine las variables predictivas (variables canónicas) y permitan construir una regla de decisión para asignar los individuos a uno u otro grupo prefijado, con un cierto grado de riesgo.

El análisis se lleva a cabo en 3 pasos:

1. Selección de variables discriminantes
2. selección de la función discriminante
3. selección de los sujetos.

### f.1.1. SELECCIÓN DE VARIABLES DISCRIMINANTES

Se contrasta la igualdad entre las matrices de covarianza de los grupos mediante el estadístico *M de Box* y se transforma en el estadístico F. La significación de la prueba nos confirma que uno de los grupos es más variable que el otro.

Para seleccionar las variables más influyentes utilizamos un método de selección por pasos, obteniendo información de la significación individual de cada variable. El método utilizado es *lambda de Wilks* con un valor de F que permite valorar si la variable debe o no debe ser rechazada en la función. Un p-valor asociado a *lambda* significativo nos permite aceptar la variable en la función discriminante.

Los coeficientes de la función permitirán identificar las variables con mayor poder explicativo en la función discriminante. Si el coeficiente se acerca a 1, el poder explicativo será mayor mientras que si se acerca a 0, esa variable independiente tendrá poco valor explicativo.

### f.1.2. SELECCIÓN DE LA FUNCIÓN DISCRIMINANTE

Suponemos que tenemos, a priori, dos o más grupos diferenciados. La ecuación discriminante resultante de nuestro análisis será la más apropiada si proporciona una regla de clasificación que disminuya los errores de dicha clasificación y explica una mayor parte de la variabilidad intragrupos.

La ecuación discriminante se expresa como:

$$Y = a_0 + a_1 * X_1 + a_2 * X_2 + \dots + a_p * X_p$$

Siendo  $X$  = las variables independientes  
 $a_0$  = la constante  
 $a_{1...p}$  = los coeficientes de discriminación

Se utilizará el coeficiente de “autovalor” y los coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes. Cuanto más alto sea el número de “autovalor” más eficaz será el método clasificatorio. La correlación canónica es un número entre 0 y 1 que recoge la pertenencia de los sujetos a los grupos, el valor óptimo sería 1.

### f.1.3. CLASIFICACIÓN DE LOS SUJETOS

Se aplicará la regla de decisión elegida valorando el porcentaje de aciertos y se obtendrá una tabla resumen.

## f.2 HJ-Biplot

Tras valorar cada variable de forma individual, hacemos un análisis multivariante mediante biplot<sup>(207-211)</sup>. Un biplot es una representación gráfica de datos multivariantes que representa 3 o más variables.



Las variables columna (variables observadas) se representan como vectores y las variables fila (individuos) como puntos. Proyectando los puntos de los individuos sobre los vectores podremos ordenar a los individuos según el valor que toman con respecto a cada variable.

La representación gráfica del producto escalar  $x_{ij} \cong g_i^T h_j$  de la matriz  $X_{n \times p}$  se describe como la figura 15.

Usamos la descomposición en valores singulares como método de estimación y hacemos una transformación previa de los datos por factorización y estandarización de columnas. Utilizaremos el biplot como herramienta de inspección y para diagnóstico de modelos.

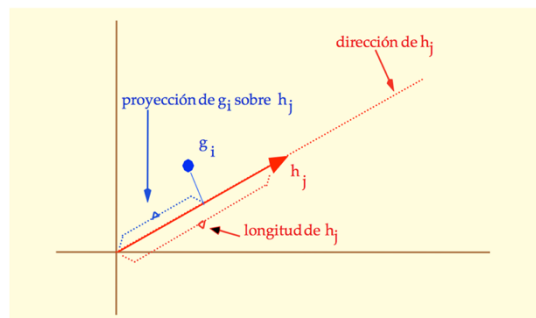


Figura 15. Representación geométrica del producto escalar. Tomada de Biplot. MP Galindo Villardón. Departamento de Estadística de la Universidad de Salamanca.

En nuestro estudio usaremos el HJ-biplot. El HJ-biplot es una representación gráfica multivariante de las líneas de una matriz  $X_{n \times p}$  mediante los marcadores  $j_1 \dots j_n$  para sus filas y  $h_1 \dots h_p$  para sus columnas, elegidos de forma que ambos marcadores puedan ser superpuestos en un mismo sistema de referencia con máxima calidad de representación.

Dadas una matriz  $X^T X$  focalizada en sus columnas ( $h$ ) con sus vectores propios ( $V$ ) y una matriz  $XX^T$  de las filas ( $j$ ) con sus vectores propios ( $U$ ), podríamos describir la matriz  $X_{n \times p}$  como  $X = UDV^T$  a través de los valores singulares de  $X(D)$

Las coordenadas de las filas son medias ponderadas de las coordenadas columnas y viceversa. Donde las ponderaciones son los valores originales de la matriz  $X$ .

Podemos diferenciar entre GH-biplot, JK-biplot y HJ-biplot:

- En el GH-biplot las columnas (las variables) aparecen bien representadas, pero la calidad de representación de las filas es muy baja. El GH-biplot también recibe el nombre de CMP- biplot (*Column Metric Preserving*).
- En el JK-biplot conseguimos mejor calidad de representación para las filas (individuos) que para las columnas. Los marcadores filas coincidirán con las coordenadas de los individuos para las componentes principales. El JK-biplot también recibe el nombre de RMP- biplot (*Row Principal Normalization biplot*).
- El HJ-biplot tiene la ventaja de que se alcanza la máxima calidad de representación tanto para las filas como para las columnas de la matriz de datos<sup>(207)</sup>.

Para el análisis de estos datos usamos el programa *Multiblot* de la universidad de Salamanca<sup>(193)</sup>.

En el gráfico del biplot podemos interpretar:

1. los puntos (individuos, filas)

- podremos relacionar su posición con respecto a otros individuos en relación con cada una de las variables y a todas en su conjunto.

2. los vectores (variables, columnas):

- La longitud del vector se corresponde con la variabilidad. A mayor longitud, la variable tendrá más variabilidad.

- Los cosenos de los ángulos entre vectores se corresponden con la correlación de las variables (figura 16). A menor ángulo, mayor correlación. Un ángulo recto indica que no existe correlación, las variables son independientes (Variables 1 y 4 en la figura 16). Si las variables se encuentran en el mismo cuadrante existirá una correlación positiva (Variables 2 y 5 en la figura 16). Si las variables se encuentran en cuadrantes opuestos estaríamos ante una correlación negativa (Variables 1 y 3 en la figura 16)

- La aportación de la variable al eje de coordenadas se mide por el ángulo que forma el vector con el eje. A menor ángulo, mayor aportación y mayor capacidad de discriminación de la variable en dicho eje (X o Y). En la figura 16 vemos que la variable 5 tiene gran aportación al eje X y la variable 1 al eje Y.

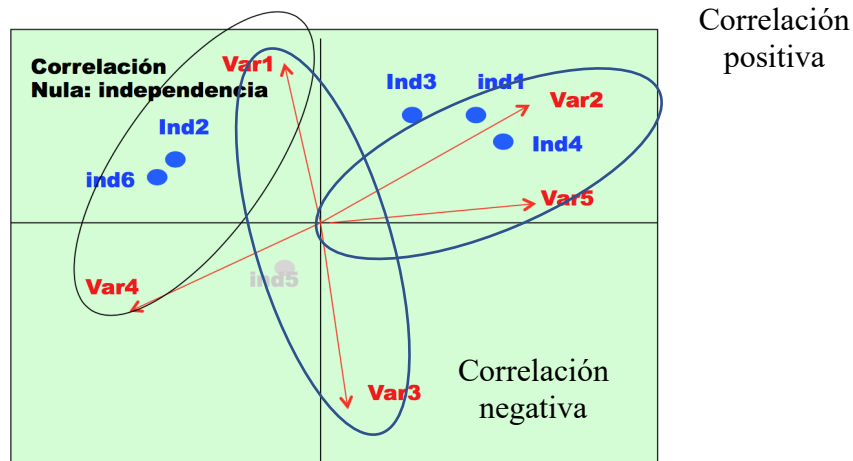


Figura 16. Correlaciones entre variables en un biplot. Adaptada de Biplot. MP Galindo Villardón. Departamento de Estadística de la Universidad de Salamanca.

Tras la realización del biplot se lleva a cabo un análisis de Clúster cuya idea es buscar agrupaciones naturales sobre un conjunto de individuos. La característica fundamental del análisis de clúster clásico es que todas las variables de estudio son consideradas al mismo nivel, no existe una variable respuesta predeterminada.

Para llevar a cabo el análisis de clúster, es necesario tener en cuenta una serie de cuestiones como cuales son las variables más relevantes del estudio, cuantas variables hemos de medir sobre cada elemento, las diferentes unidades de medida de las variables y los diferentes tipos de variables. En nuestro caso al analizar las variables factores de crecimiento (IGF1, IGFBP3, ALS y sus índices) usaremos los valores medidos en SD para poderlas comparar con facilidad.

## 6. RESULTADOS

La muestra total está compuesta por 1167 niños, de los cuales 641 son varones y 526 mujeres. La mediana de edad de la muestra es de 9,3 años con un rango intercuartílico de 6,2-12,2 años y el 75% de los niños no habían empezado la pubertad (Tanner I). De forma general, hemos dividido la muestra en tres grupos, un grupo control de niños sanos con talla normal, un grupo de muestras de pacientes con talla baja de distinta etiología sin tratamiento y un grupo de muestras de pacientes con talla baja que recibe tratamiento con GHr. Los datos de la muestra se recogen en la tabla 3.

	Grupo control	Talla baja sin tratamiento	Talla baja con tratamiento
<b>Número</b>	446	355	336
<b>Sexo (varón/mujer)</b>	267/179	181/174	193/143
<b>Talla (SD)</b>	-0,06± 1,03	-1,88± 1,4	-1,75± 1,02
<b>Edad (años)</b>	7,7 (5,1-10,7)	9,3 (5,8-12,2)	11,1 (8,5-13,2)
<b>Tanner I (%)</b>	343 (77%)	342 (70,2%)	194 (57,7%)
<b>Tanner I (varón/mujer)</b>	222/121	186/156	124/70

Tabla 3: Datos descriptivos de la muestra total. La edad se expresa en mediana (rango intercuartílico, p25-p75) y la talla en desviaciones estándar (SD).

El grupo control está formado por 446 pacientes sanos mayores de 2 años con talla por encima de -2SD, de edad gestacional igual o mayor de 36 semanas, peso y longitud de recién nacido entre mayor de -2SD e IMC entre -2 y +2SD, todo ajustado a su sexo, edad y edad gestacional según el estudio de Carrascosa en España en 2010<sup>(186)</sup>. Los datos descriptivos de la muestra de niños sanos y las correlaciones entre variables se recogen en el anexo I.

Los datos de los pacientes de los grupos de talla baja con y sin tratamiento se detallan más adelante en los apartados 6.3 y 6.4.

## 6.1. Estimación de los modelos

Para realizar la estimación de los modelos de normalidad para las distintas variables (ALS, IGFBP3, IGF1, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS), se usan los datos de los 446 niños sanos con talla normal cuya descripción se encuentra en las tablas 4 y 5.

	Nº	Edad (años)	Talla (SD)	LRN (SD)
<b>Niños</b>	267	7,1 (4,7/10,6)	0,06± 0,99	0,19± 0,93
<b>Niñas</b>	179	8,2 (6/10,9)	0,03± 1,06	0,11± 0,91
<b>Niños prepuberales</b>	222	6,4 (4,2/8,8)	-0,01± 0,97	0,19± 0,91
<b>Niñas prepuberales</b>	121	6,8 (5,3/8,3)	-0,06± 01,08	-0,11± 0,8

Tabla 4. Datos descriptivos de la muestra de niños sanos con talla normal. La edad se expresa en mediana (rango intercuartílico: p25/p75) y la talla y longitud de recién nacido (LRN) en desviaciones estándar (SD). P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

Inicialmente, se realiza un análisis descriptivo de la muestra de niños sanos (anexo I).

1. Se describen las características de la muestra.
2. Se comprueba que todas las variables (ALS, IGF1, IGFBP3, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS) siguen una distribución no normal.
3. Se demuestra que las ALS, IGF1, IGFBP3 e IGF1/IGFBP3 presentan valores diferentes según el sexo y el inicio o no de pubertad ( $p < 0,01$ ). En cuanto al índice IGFBP3/ALS no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre sexos, pero si entre niños prepuberales y puberales.

	ALS (mU/ml)	IGFBP3 (µg/ml)	IGF1 (ng/ml)	IGF1/IGFBP3 molar	IGFBP3/ALS molar
<b>Niños</b>	1413 (1102/1846)	4,2 (3,4/5,2)	127,5 (81/207)	11,3 (8/16)	1,72 (1,5/2,02)
<b>Niñas</b>	1697 (1404/2059)	5 (4,1/5,7)	191,2 (125/271)	14,4 (10,4/19,5)	1,69 (1,44-2,02)
<b>Niños prepuberales</b>	1342 (1054/1623)	4,1 (3,3/4,8)	108,5 (77/170)	10,2 (7,5/14,3)	1,73 (1,54/2,05)
<b>Niñas prepuberales</b>	1580 (1332/1890)	4,6 (3,9/5,3)	153,5 (112/204)	12,8 (9,9/16,6)	1,67 (1,46/1,97)
<b>p</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	>0,05

Tabla 5. Datos descriptivos de las variables en los niños sanos con talla normal expresados en mediana (rango intercuartílico: p25/p75). ALS: Subunidad ácido lábil. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

Teniendo en cuenta estos resultados, se dividen los modelos por apartados para cada variable separados por sexo y estadio puberal. Tras esto, se generan gráficas distintas para niños, niñas, niños prepuberales y niñas prepuberales.

Se analizan las distintas familias *GAMLSS* <sup>(196)</sup> de distribución de acuerdo con *GAIC* (k=3) tal y como se describe en el anexo III.

Tras el análisis, se elige la distribución con el menor *GAIC* (tabla 6) y se generan las gráficas de normalidad para cada variable.

	Grupo de pacientes	Modelo	GAIC	mu	sigma	nu	tau
ALS	Niños	BCPEo	4036	Log	Log	Identity	Log
	Niñas	BCCG	2644	Identity	Log	Identity	-
	Niños prepuberales	BCPEo	3256	Log	Log	Identity	Log
	Niñas prepuberales	BCT	1759	Identity	Log	Identity	Log
IGFBP3	Niños	BCCG	912	Identity	Log	Identity	-
	Niñas	BCT	594	Identity	Log	Identity	Log
	Niños prepuberales	BCCG	697	Identity	Log	Identity	-
	Niñas prepuberales	BCTo	379	Log	Log	Identity	Log
IGF1	Niños	BCPEo	3106	Log	Log	Identity	Log
	Niñas	BCCG	2100	Identity	Log	Identity	-
	Niños prepuberales	BCCG	2454	Identity	Log	Identity	-
	Niñas prepuberales	BCCG	1333	Identity	Log	Identity	-
IGF1/IGFBP3	Niños	BCCGo	1705	Log	Log	Identity	-
	Niñas	BCTo	1162	Log	Log	Identity	Log
	Niños prepuberales	LNO	1314	Identity	Log	-	-
	Niñas prepuberales	BCCGo	684	Log	Log	Identity	-
IGFBP3/ALS	Niños	BCPEo	329	Log	Log	Identity	Log
	Niñas	BCTo	246	Log	Log	Identity	Log
	Niños prepuberales	BCPEo	260	Log	Log	Identity	Log
	Niñas prepuberales	BCCGo	139	Log	Log	Identity	-

Tabla 6. Modelos elegidos para generar las gráficas de percentiles de cada variable. *GAIC*: Criterio de información generalizada de Akaike.

En los siguientes apartados se describen los modelos estadísticos utilizados para generar las gráficas de normalidad para cada variable (ALS, IGFBP3, IGF1, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS) y grupo (niños, niñas, niños prepuberales y niñas prepuberales).

Dentro de cada grupo, se analiza la calidad del modelo mediante wormplot, gráficos Q-Q y análisis de residuos. Tras comprobar el buen ajuste del modelo elegido, se procede a la realización de la gráfica de normalidad correspondiente.

# 1.ALS

## 1.A. ALS en niños:

MODELO:

Se analizan las distintas familias de distribución de acuerdo con GAIC ( $k=3$ ) y se observa que el GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III) por lo que todas ajustarían más o menos bien. Se elige el modelo *BCPEo* (*Box-Cox Power Exponential-orig*) con un GAIC de 4036.

CALIDAD DEL MODELO

El wormplot, el análisis de residuos y el gráfico Q-Q nos muestran un buen ajuste del modelo.

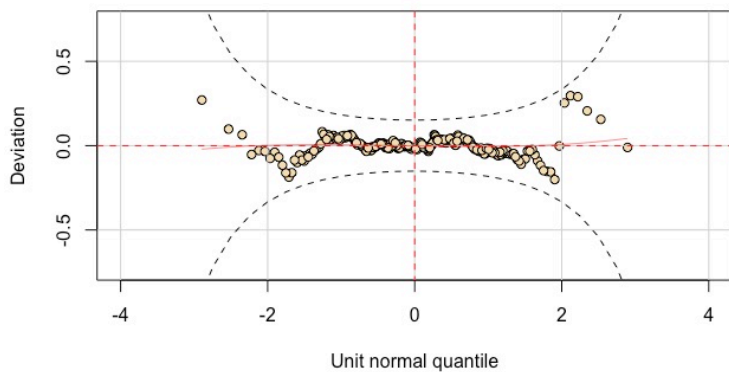


Figura 17. Wormplot de residuos de ALS en niños.

El wormplot (figura 17) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

RESUMEN RESIDUOS ALS EN NIÑOS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,0002	1,0006	0,014	2,996	0,998

Vemos como la media y la asimetría se acercan a 0 y la varianza y el coeficiente de correlación tienden a 1, lo cual indica un buen ajuste del modelo ya que no observamos desviación entre los valores observados y los teóricos. En el gráfico Q-Q (figura 18) también observamos los puntos observados dentro de la línea teórica.

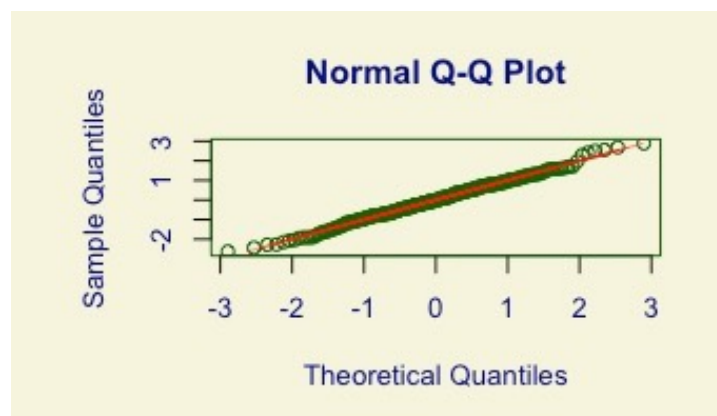


Figura 18. Gráfico Q-Q de residuos de ALS en niños.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se realiza la gráfica de percentiles (figura 19).

Se observa que los niveles de ALS aumentan con la edad, con una pendiente de aumento de más pronunciada en la etapa puberal, a partir de los 10 años.

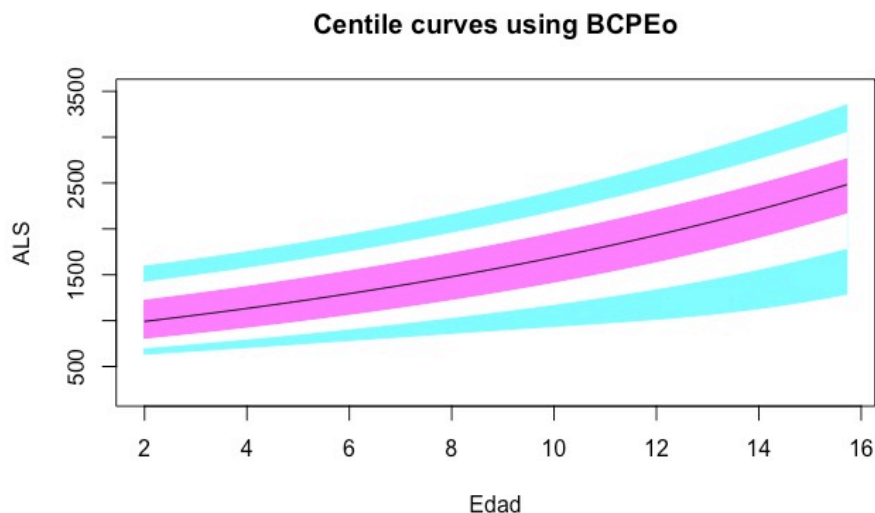


Figura 19. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en niños en mU/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

**1.B. ALS en niñas:**

MODELO

Tras analizar las distintas familias de distribución se observa que el GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien (anexo III). Se elige el modelo BCCG (*Box-Cox-Cole-Green*) con un GAIC de 2644.

CALIDAD DEL MODELO

El wormplot y el resumen de residuos nos confirman un buen ajuste del modelo. El gráfico Q-Q también nos confirma un buen ajuste del modelo, con menos fiabilidad en los percentiles extremos.

RESUMEN RESIDUOS ALS EN NIÑAS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,0037	1,006	0,036	3,385	0,995

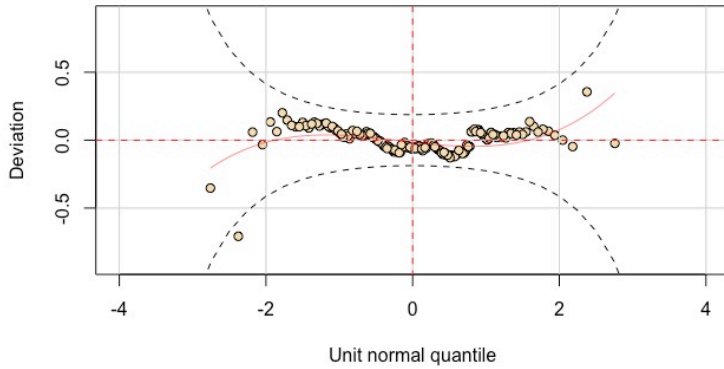


Figura 20. Wormplot de residuos de ALS en niñas.

El wormplot (figura 20) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

Los valores de los residuos centrales tienden a 0 y la varianza y el coeficiente de correlación se acercan a uno como corresponde a un modelo con buen ajuste. El gráfico Q-Q (figura 21) también nos muestra la mayoría de los puntos observados sobre la línea teórica.

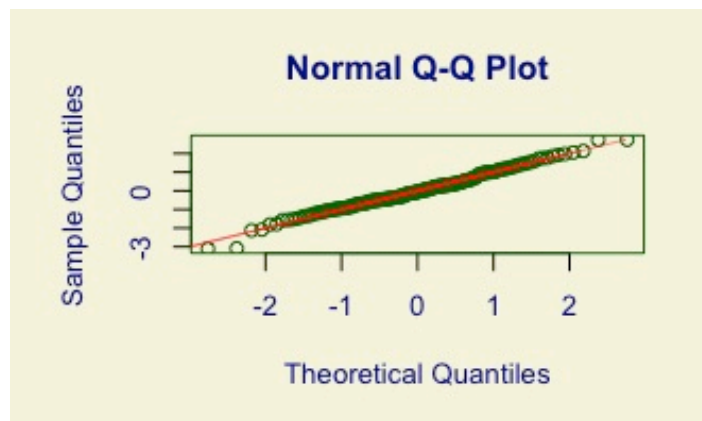


Figura 21. Gráfico Q-Q de residuos de ALS en niñas.

## GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles para los valores de ALS en niñas (figura 22).

En la gráfica de percentiles observamos un aumento constante de los niveles de ALS relacionado con la edad. Entre los 8 y los 12 años se observa una mayor amplitud entre el p3 y el p97.



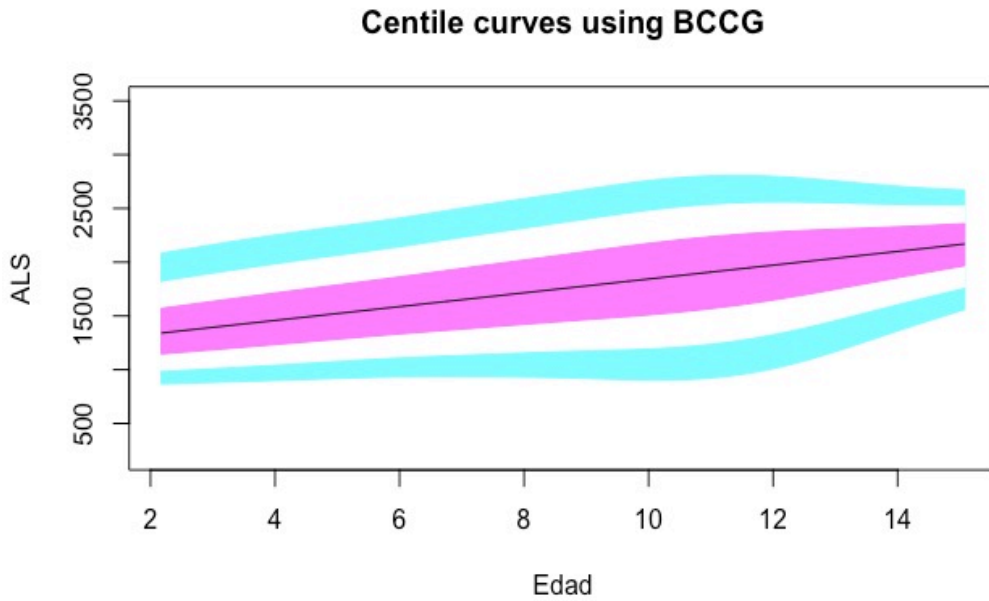


Figura 22. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en niñas en mU/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### 1.C. ALS en niños prepuberales

#### MODELO

Se analizan las distintas familias de distribución de acuerdo con GAIC (k=3) y todas las distribuciones se ajustarían más o menos bien ya que el GAIC es prácticamente igual (anexo III).

Se elige el modelo BCPEo (Box-Cox Power Exponential-orig) con un GAIC de 3256.

#### CALIDAD DEL MODELO

Se analiza la calidad de modelo y se observa que el wormplot, el resumen de residuos y el gráfico Q-Q nos confirman un buen ajuste del modelo.

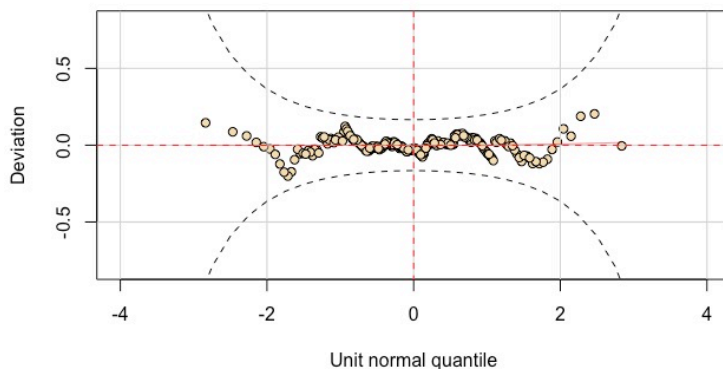


Figura 23. Wormplot de residuos de ALS en niños prepuberales.

El wormplot (figura 23) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

RESUMEN RESIDUOS ALS EN NIÑOS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coficiente correlación Filliben
-0,0009	1,006	0,007	2,913	0,999

Vemos que el modelo es correcto ya que no observamos desviación entre los valores observados y los teóricos en el resumen de residuos, con las mediciones de tendencia central cercanas a 0 y la varianza y el coeficiente de correlación cercanos a 1.

Observamos también de forma gráfica en el gráfico Q-Q (figura 24) como los valores observados se sitúan sobre la línea teórica.

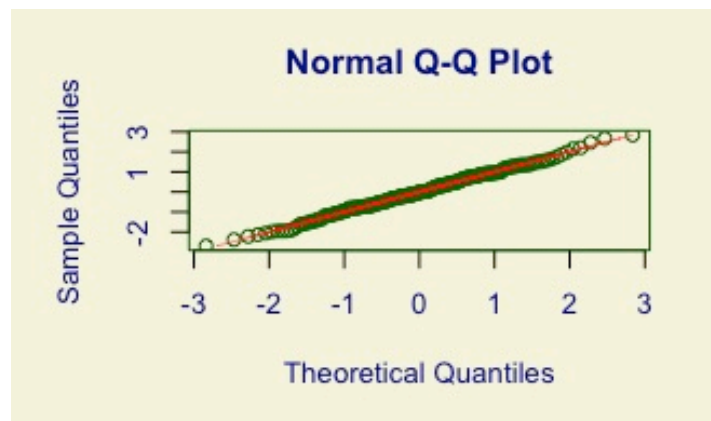


Figura 24. Gráfico Q-Q de residuos de ALS en niños prepuberales.

#### GRÁFICA DE PERCENTILES

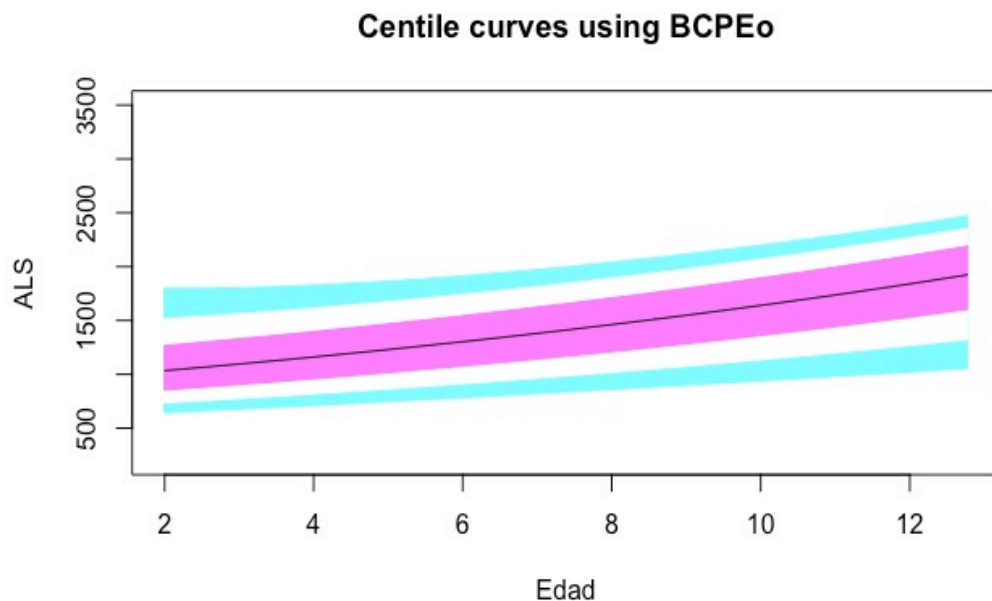


Figura 25. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en niños prepuberales en mU/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Se dibuja la gráfica de percentiles (figura 25) tras llevar a cabo la modelización con el paquete GAMLSS de R. En los pacientes prepuberales los valores de ALS aumentan con la edad siendo el incremento prácticamente constante, sin cambios en la pendiente.

### 1.D. ALS en niñas prepuberales

MODELO

GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III) y se elige el modelo BCT (*Box-Cox t*) con un GAIC de 1759.

CALIDAD DEL MODELO

El wormplot, el resumen de residuos y el gráfico Q-Q nos confirman un buen ajuste del modelo.

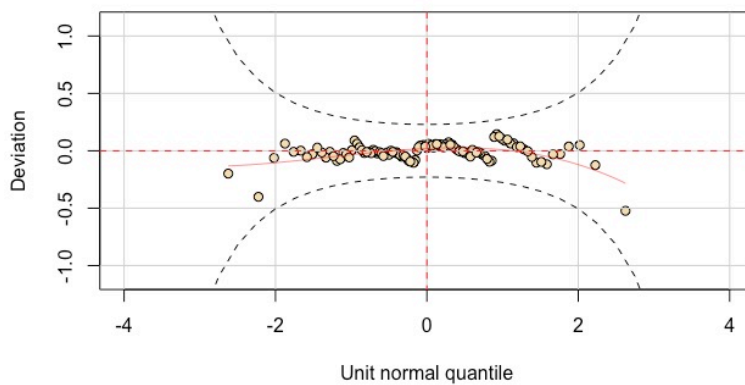


Figura 26. Wormplot de residuos de ALS en niñas prepuberales.

El wormplot (figura 26) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

RESUMEN RESIDUOS ALS EN NIÑAS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,013	1,017	-0,166	2,782	0,997

El análisis de residuos revela que estamos ante un buen modelo, aunque en este caso la asimetría se desvía un poco más de 0.

En el gráfico Q-Q (figura 27) encontramos la mayoría de los puntos sobre la línea teórica, separándose un poco más los valores extremos.

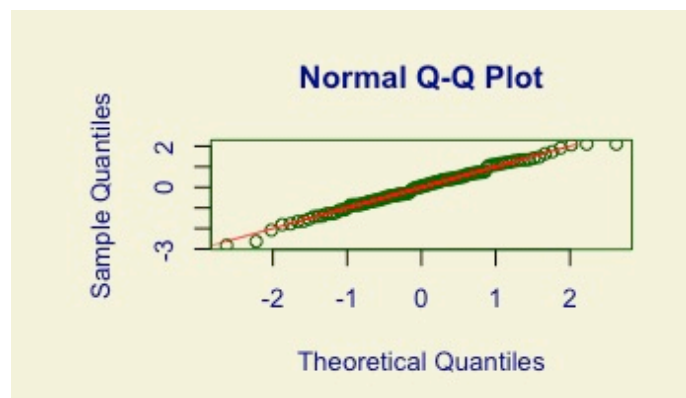


Figura 27. Gráfico Q-Q de residuos de ALS en niñas prepuberales.

## GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 28). Al igual que ocurría en los niños prepuberales, observamos que en las niñas en estadio de Tanner I los valores de ALS aumentan con la edad siendo el incremento prácticamente constante, sin cambios en la pendiente.

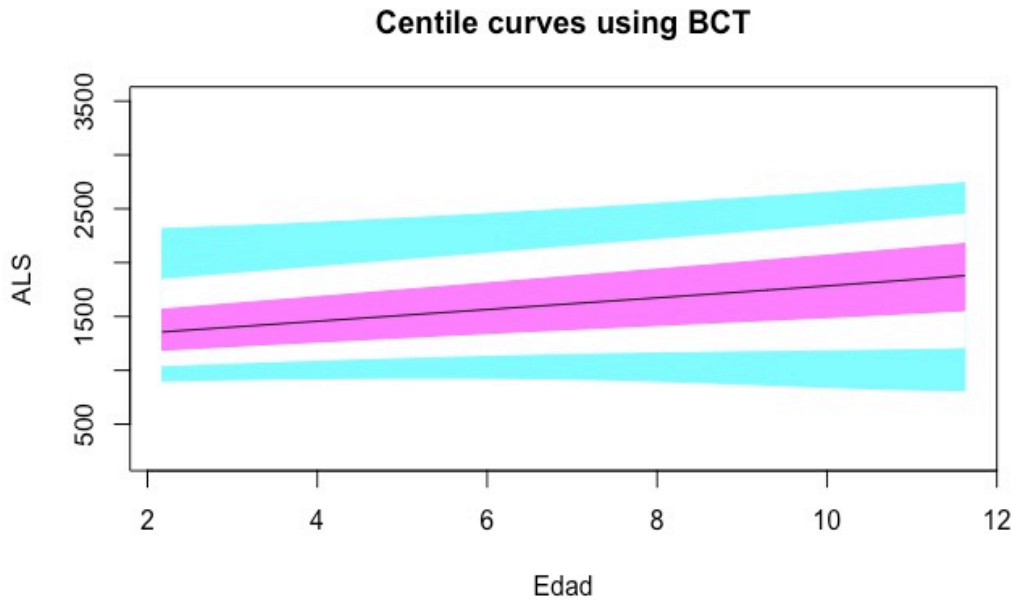


Figura 28. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en niñas prepuberales en mU/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

## 2. IGFBP3

### 2.A. IGFBP3 en niños:

#### MODELO

Tras el análisis de GAIC se observa que este coeficiente prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III). Se elige el modelo BCCG (*Box-Cox-Cole-Green*) con un GAIC de 912.

#### CALIDAD DEL MODELO

El wormplot (figura 29), el resumen de residuos y el gráfico Q-Q (figura 30) nos confirman un buen ajuste del modelo.

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3 EN NIÑOS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
0,0002	1,004	0,009	3,309	0,998

El resumen de residuos con los índices cercanos al valor esperado nos muestra la bondad del modelo.

El *wormplot* (figura 29) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

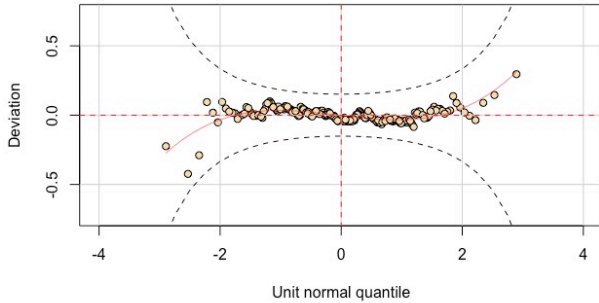


Figura 29. Wormplot de residuos de IGFBP3 en niños.

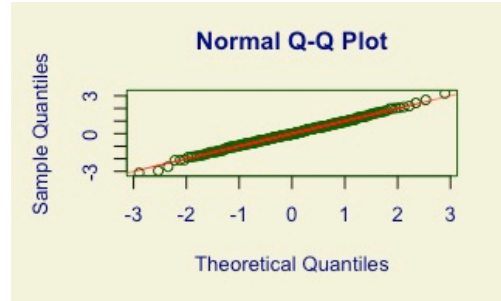


Figura 30. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3 en niños.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se realiza la gráfica de percentiles (figura 31). Se observa que los niveles de IGFBP3 en varones aumentan de forma más o menos constante con la edad.

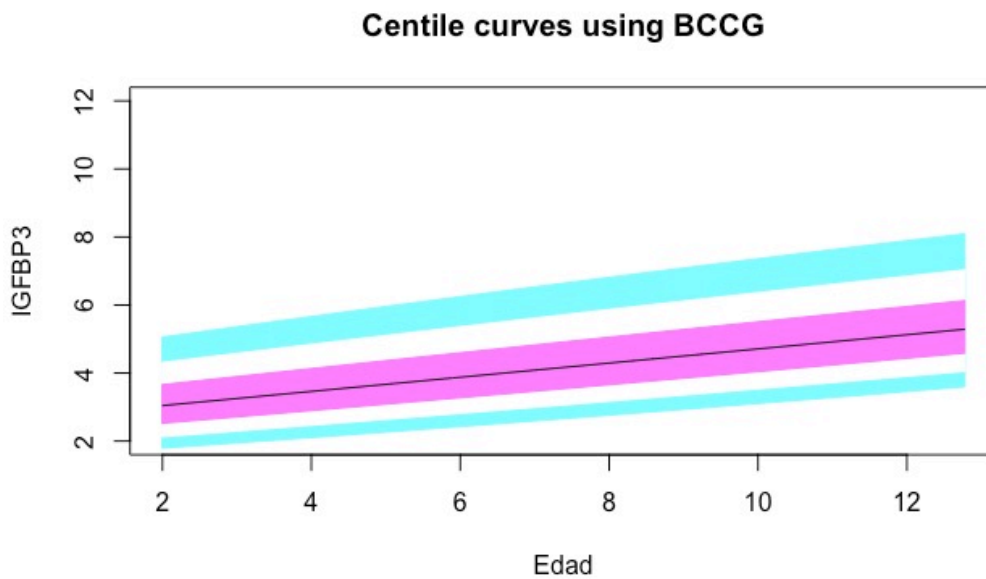


Figura 31. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina número 3 (IGFBP3) en niños en  $\mu\text{g/ml}$ . Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

## 2.B. IGFBP3 en niñas:

### MODELO

Se elige el modelo BCT (*Box-Cox t*) con un GAIC de 594, tras comprobar que el GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III).

### CALIDAD DEL MODELO

El wormplot, el resumen de residuos y el gráfico Q-Q nos confirman un buen ajuste del modelo.

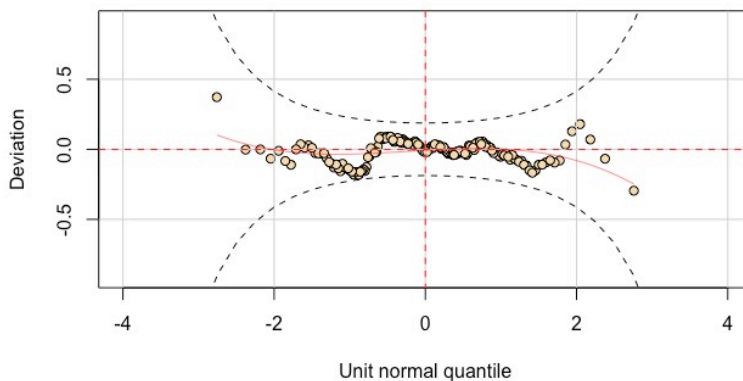


Figura 32. Wormplot de residuos de IGFBP3 en niñas.

El wormplot (figura 32) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3 EN NIÑAS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coficiente correlación Filliben
-0,0162	0,994	-0,053	2,694	0,996

El análisis de residuos confirma que hemos elegido un buen modelo, aunque la kurtosis y la asimetría difieren en este caso un poco más de lo esperado.

En el gráfico Q-Q (figura 33) confirmamos que los valores extremos se despegan un poco más de la línea teórica.

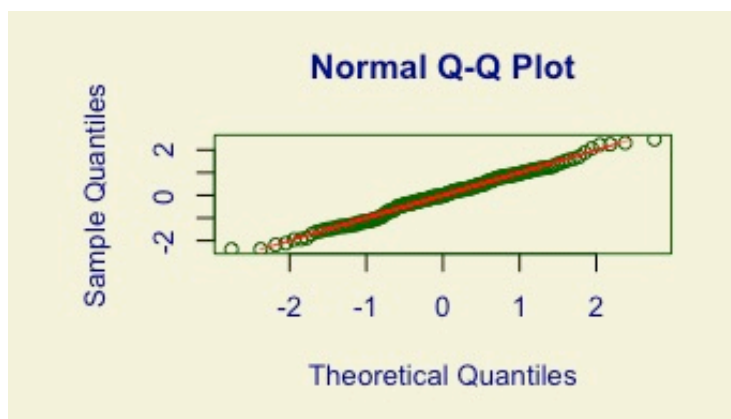


Figura 33. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3 en niñas.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Se dibuja la gráfica de percentiles (figura 34) mediante modelización con el paquete *GAMLSS* de R. En la gráfica de los niveles de IGFBP3 en niñas se observa un incremento de los niveles con la edad, con más variabilidad entre los 2 y los 6 años y en época puberal (entre los 10 y 14 años).

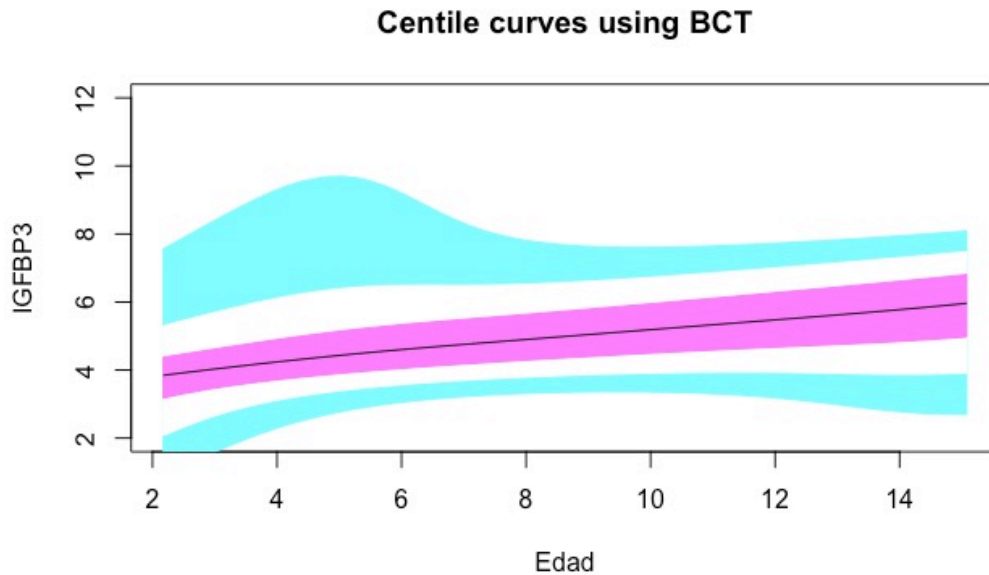


Figura 34. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina número 3 (IGFBP3) en niñas en  $\mu\text{g/ml}$ . Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

**2.C. IGFBP3 en niños prepuberales**

MODELO

Se elige el modelo BCCG (*Box-Cox-Cole-Green*) con un GAIC de 697 (anexo III).

CALIDAD DEL MODELO

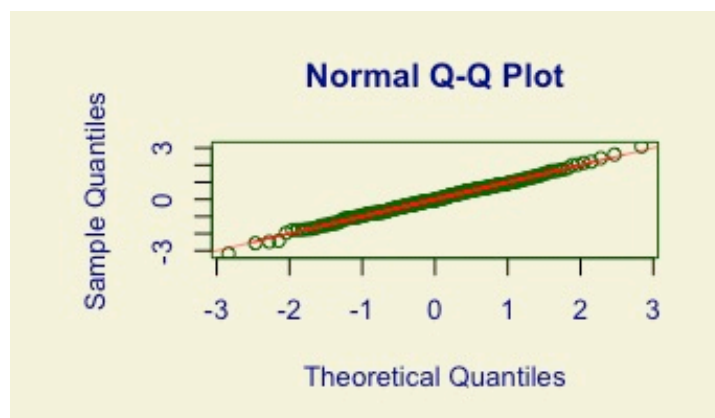


Figura 35. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3 en niños prepuberales.

El resumen de residuos, el wormplot y el gráfico Q-Q confirman un buen ajuste del modelo.

En este caso los residuos también se acercan al valor esperado y los puntos observados en el gráfico Q-Q (figura 35) se sitúan sobre la línea teórica.

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3 EN NIÑOS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
0,0005	1,005	-0,005	3,279	0,998

El *wormplot* (figura 36) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

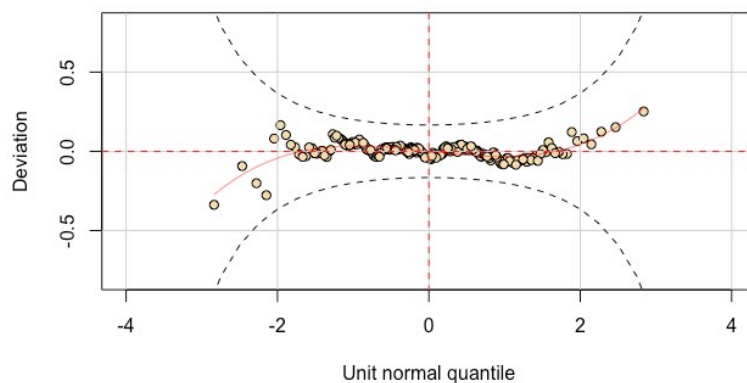


Figura 36. *Wormplot* de residuos de IGFBP3 en niños prepuberales.

#### GRÁFICA DE PERCENTILES

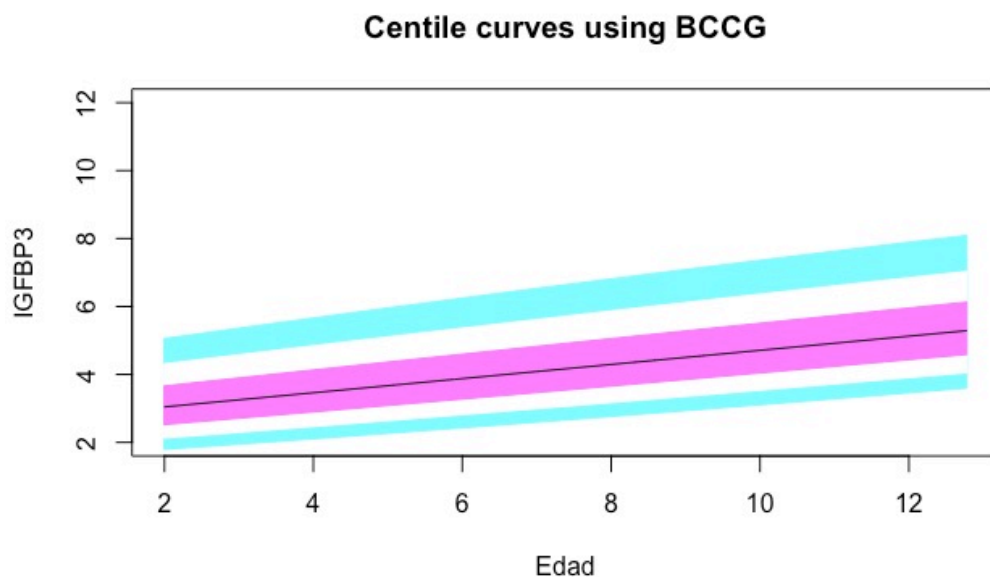


Figura 37. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina número 3 (IGFBP3) en niños prepuberales en  $\mu\text{g/ml}$ . Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 37). Se observa que los niveles de IGFBP3 en niños prepuberales aumentan de forma más o menos constante con la edad.



## 2.D. IGFBP3 en niñas prepuberales

### MODELO

Tras analizar las distintas familias de distribución se observa que GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III) y se elige el modelo BCTo (*Box-Cox-t-orig*) con un GAIC de 379.

### CALIDAD DEL MODELO

El gráfico Q-Q y el resumen de residuos nos muestran un buen ajuste del modelo. En el wormplot vemos que los valores se alejan de la línea central, pero todos se encuentran dentro del intervalo de confianza del 95%.

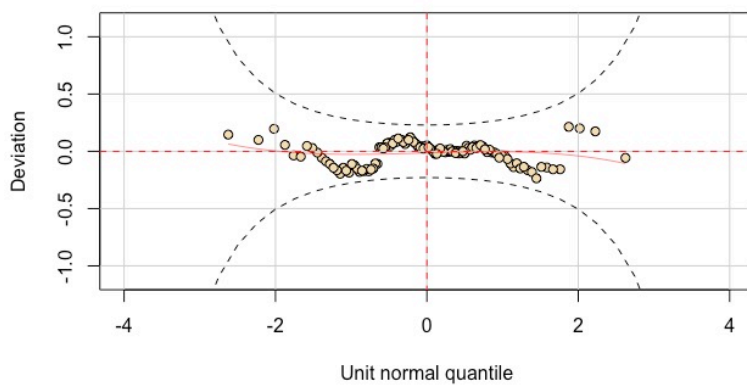


Figura 38. Wormplot de residuos de IGFBP3 en niñas prepuberales.

El wormplot (figura 38) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%, aunque los valores se alejan de la línea central (0).

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3 EN NIÑAS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coficiente correlación Filliben
-0,015	1,003	-0,006	2,727	0,995

En el caso de los niveles de IGFBP3 en niñas prepuberales también se observa que los residuos de las medidas de tendencia central tienden a 0 y los residuos de la varianza y el coeficiente de correlación se acercan a 1, confirmando la bondad del ajuste.

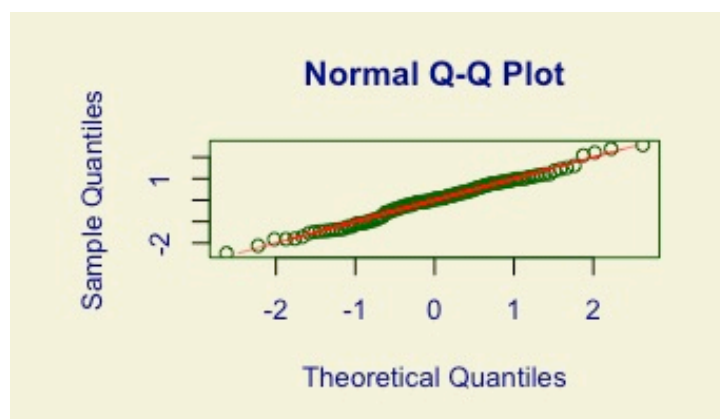


Figura 39. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3 en niñas prepuberales.

En el gráfico Q-Q (figura 39) vemos como la mayoría de los puntos se sitúan encima de la línea teórica y sólo se separan levemente en los datos extremos.

## GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 40). En las niñas prepuberales se observa un nivel de IGFBP3 prácticamente constante desde los 2 a los 12 años, con mayor amplitud en los percentiles extremos entre los 2 y los 6 años y a partir de los 10 años.

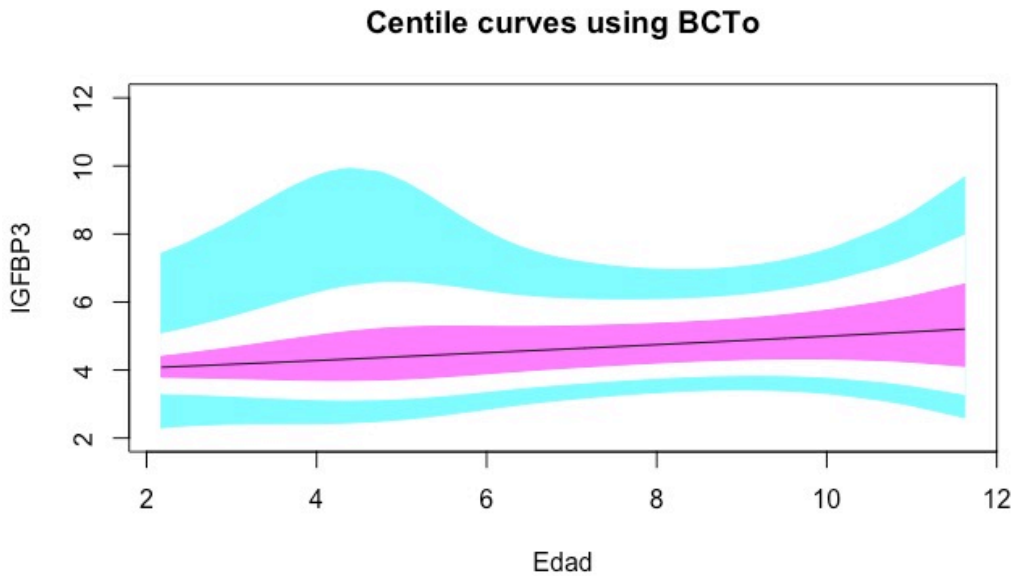


Figura 40. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina número 3 (IGFBP3) en niñas prepuberales en  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### 3.IGF1

#### 3.A. IGF1 en niños:

##### MODELO

Se analizan las distintas familias de distribución encontrando que el GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III).

Se elige el modelo BCPEo (Box-Cox Power Exponential-orig) con un GAIC de 3106.

##### CALIDAD DEL MODELO

El resumen de residuos nos muestra un buen ajuste del modelo. El gráfico Q-Q y el wormplot nos muestran también un buen ajuste, excepto en los valores extremos donde vemos que las mediciones se alejan de la línea central.

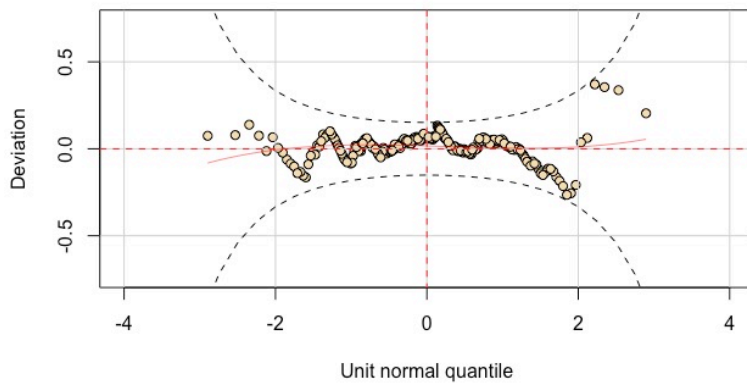


Figura 41. Wormplot de residuos de IGF1 en niños.

El *wormplot* (figura 41) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%, aunque los valores extremos se alejan de la línea central.

RESUMEN RESIDUOS IGF1 EN NIÑOS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
0,012	1,004	-0,004	3,054	0,997

Los datos de los residuos y la representación gráfica mediante Q-Q (figura 42) confirman la calidad del ajuste del modelo elegido.

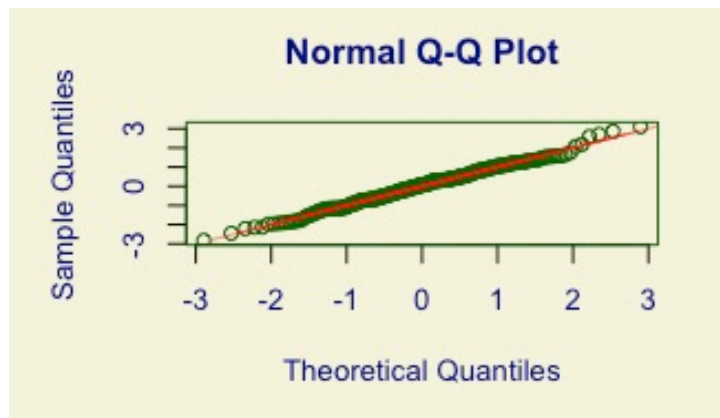


Figura 42. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1 en niños

### GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 43). Observamos que los niveles de IGF1 en varones aumentan de forma constante con la edad, siendo la pendiente más pronunciada en época puberal, a partir de los 10 años.

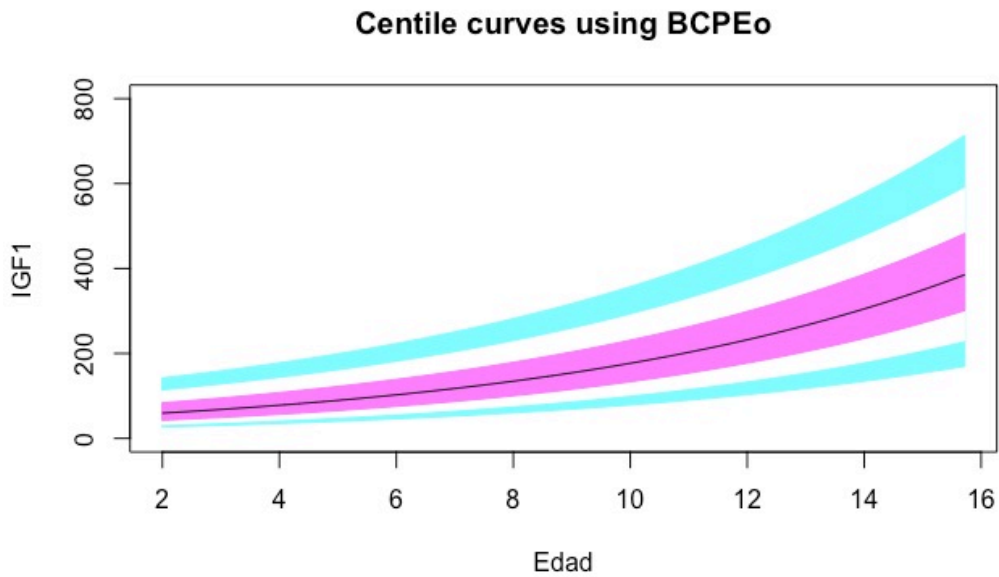


Figura 43. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF1) en niños en ng/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### 3.B. IGF1 en niñas:

#### MODELO

Tras analizar las distintas opciones para los valores de IGF1 en niñas (anexo III), se elige el modelo BCCG (*Box-Cox-Cole-Green*) con un GAIC de 2100.

#### CALIDAD DEL MODELO

El resumen de residuos, el wormplot y el gráfico Q-Q nos confirman un buen ajuste del modelo.

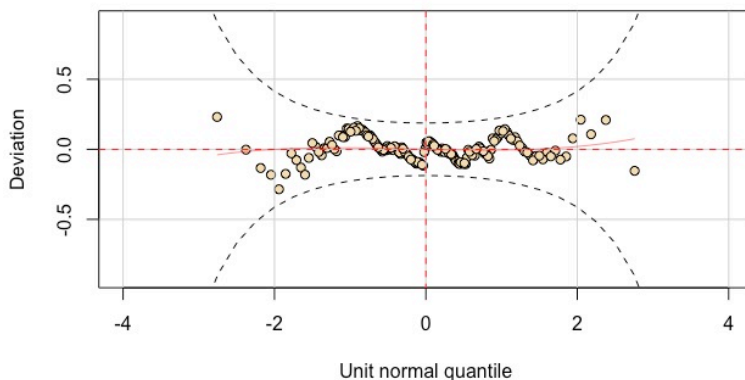


Figura 44. Wormplot de residuos de IGF1 en niñas.

El wormplot (figura 44) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

RESUMEN RESIDUOS IGF1 EN NIÑAS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
0,002	1,006	0,007	2,978	0,997

Los datos de los residuos y el gráfico Q-Q (figura 45) reflejan un ajuste del modelo prácticamente perfecto.

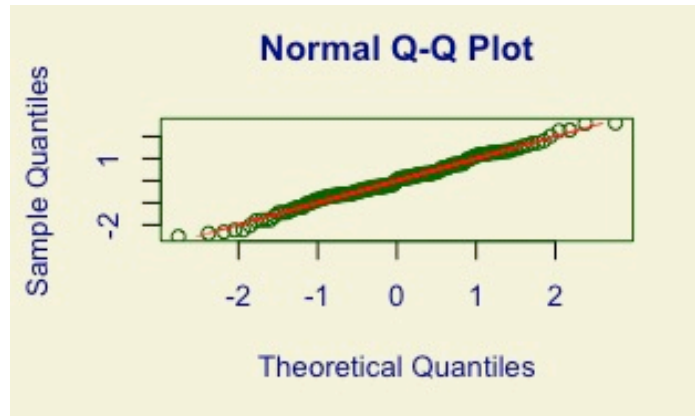


Figura 45. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1 en niñas.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Se dibuja la gráfica de percentiles (figura 46) mediante modelización con el paquete GAMLSS de R. En la gráfica observamos que los niveles de IGF1 en niñas aumentan de forma constante con la edad, no existiendo variaciones llamativas en la pendiente.

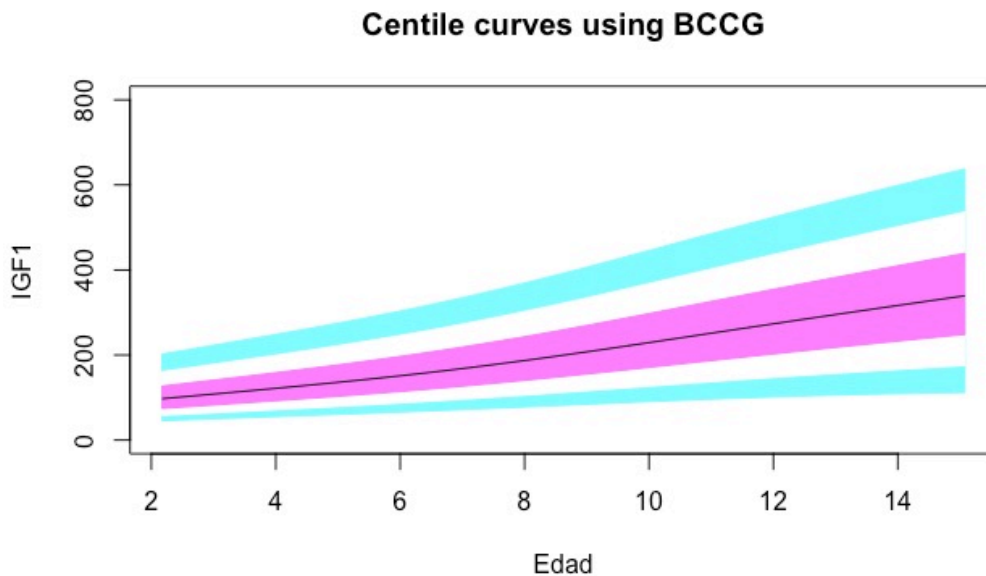


Figura 46. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF1) en niñas en ng/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### 3.C. IGF1 en niños prepuberales

#### MODELO

Se analizan las distintas familias de distribución (anexo III) y se elige el modelo BCCG (*Box-Cox-Cole-Green*) con un GAIC de 2454.

#### CALIDAD DEL MODELO

El resumen de residuos y el gráfico Q-Q (figura 48) nos confirman un buen ajuste del modelo. El *wormplot* (figura 47) revela que la mayoría de los valores observados se encuentra dentro del IC 95% aunque el ajuste es de menos calidad que los previos.

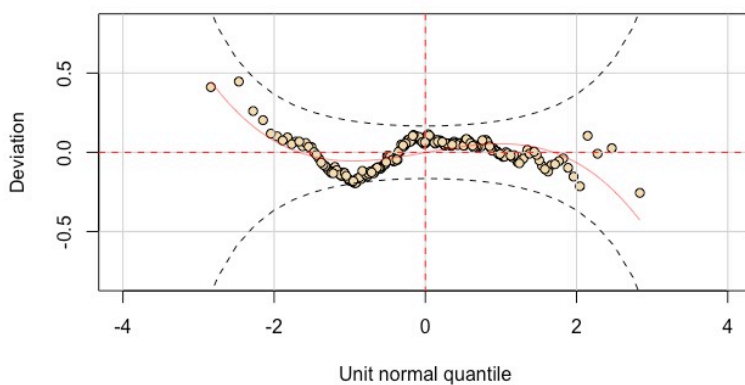


Figura 47. Wormplot de residuos de IGF1 en niños prepuberales.

RESUMEN RESIDUOS IGF1 EN NIÑOS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,0005	1,004	-0,013	2,419	0,995

Vemos como la media y la varianza se ajustan al nivel esperado de forma casi perfecta. Además, los residuos de asimetría, el coeficiente de correlación y el gráfico Q-Q (figura 48) también representan una buena calidad de ajuste para el modelo elegido.

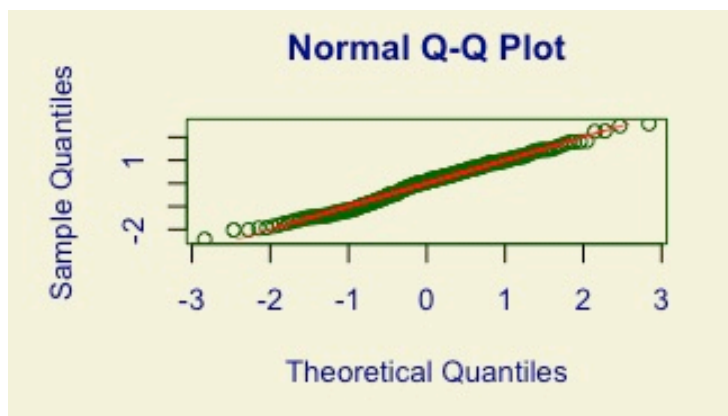


Figura 48. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1 en niños prepuberales.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 49). En la gráfica observamos que los niveles de IGF1 en niños prepuberales son menores y aumentan de forma constante con la edad, no existiendo variaciones llamativas en la pendiente.

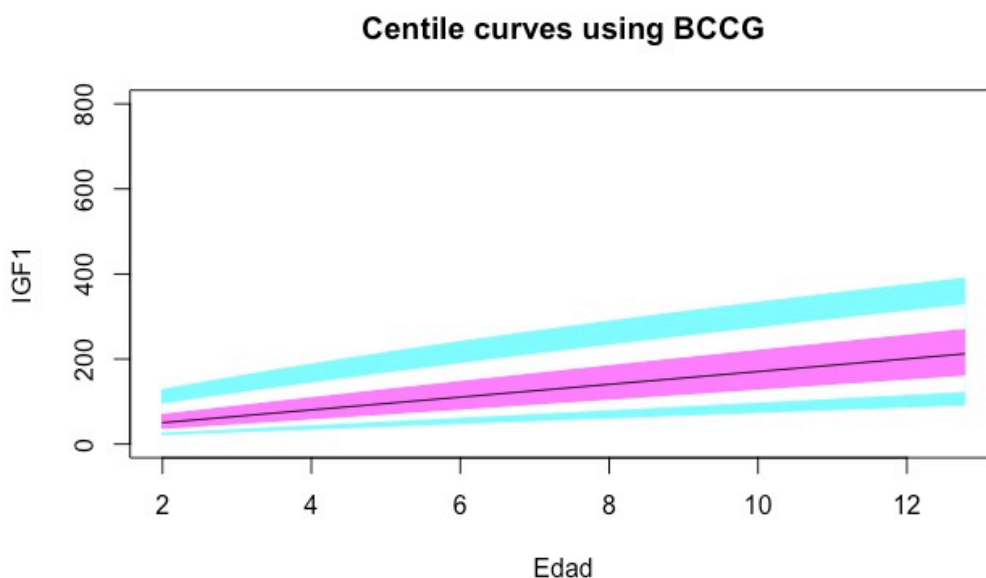


Figura 49. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF1) en niños prepuberales en ng/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### 3.D. IGF1 en niñas prepuberales

MODELO

Se elige el modelo BCCG (*Box-Cox-Cole-Green*) con un GAIC de 1333 (anexo III).

CALIDAD DEL MODELO

El *wormplot* (figura 50), el resumen de residuos y el gráfico Q-Q (figura 51) nos confirma un buen ajuste del modelo.

RESUMEN RESIDUOS IGF1 EN NIÑAS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,0001	1,009	-0,010	2,629	0,996

Los residuos del modelo se acercan al valor esperado y, gráficamente, todos los valores observados se colocan sobre la línea teórica.

El *wormplot* (figura 50) revela el 100% los valores observados dentro del IC 95%.

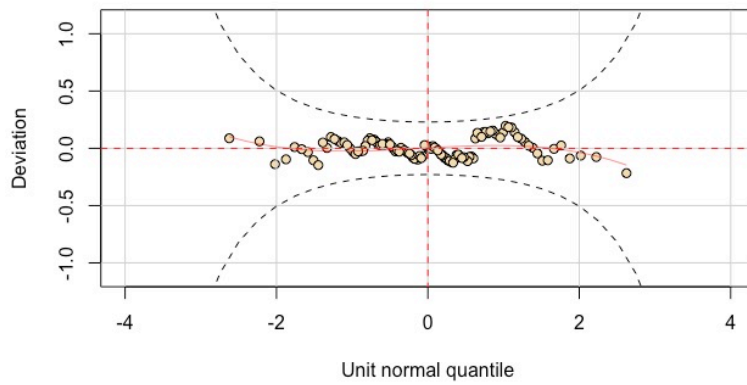


Figura 50. Wormplot de residuos de IGF1 en niñas prepuberales.

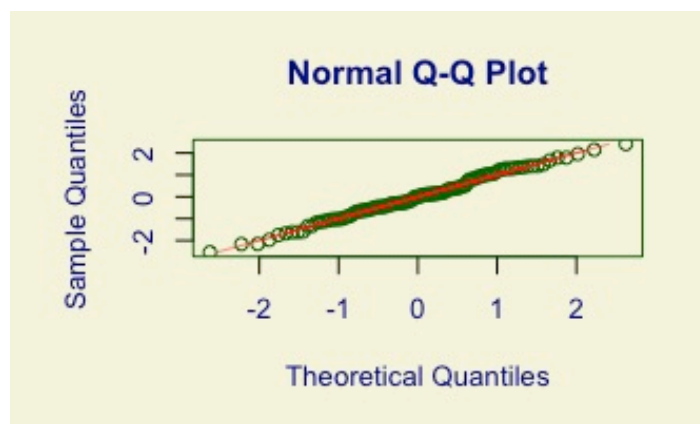


Figura 51. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1 en niñas prepuberales.

GRÁFICA DE PERCENTILES

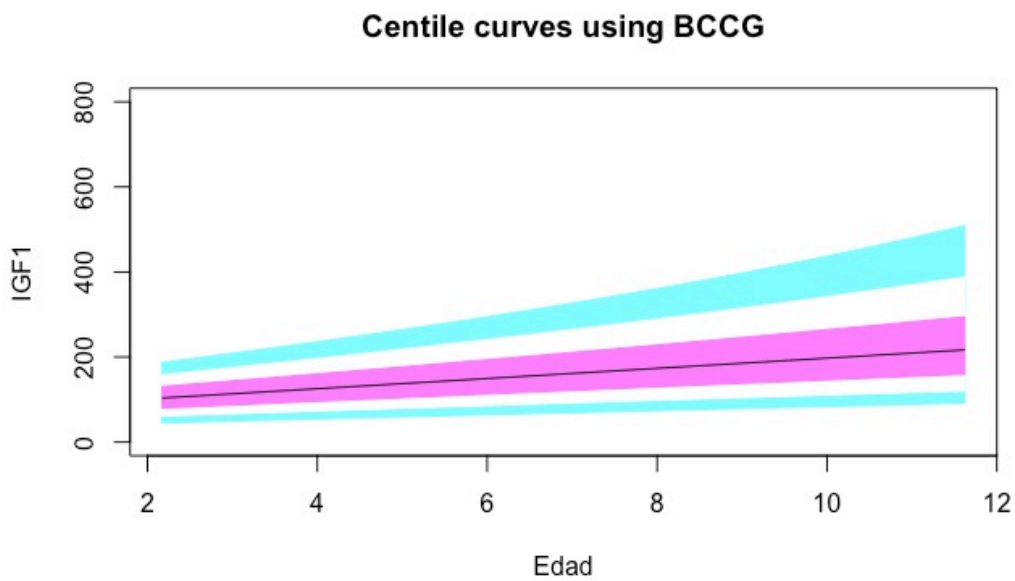


Figura 52. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF1) en niñas prepuberales en ng/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.



Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 52). En la gráfica observamos que los niveles de IGF1 en niñas prepuberales son similares a los niveles en niños prepuberales y aumentan de forma constante con la edad, no existiendo variaciones llamativas en la pendiente.

#### 4. ÍNDICE IGF1/IGFBP3 molar:

##### 4.A. IGF1/IGFBP3 en niños:

###### MODELO

Se analizan las distintas familias de distribución de acuerdo con GAIC ( $k=3$ ). GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien (anexo III). Se elige el modelo BCCGo (*Box-Cox-Cole-Green-orig*) con un GAIC de 1705.

###### CALIDAD DEL MODELO

Al analizar la calidad del modelo, el gráfico Q-Q, el resumen de residuos y el wormplot nos confirman un buen ajuste, con menor fiabilidad en los valores extremos elevados. El *wormplot* (figura 53) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95% aunque en valores extremos elevados el modelo ajusta peor

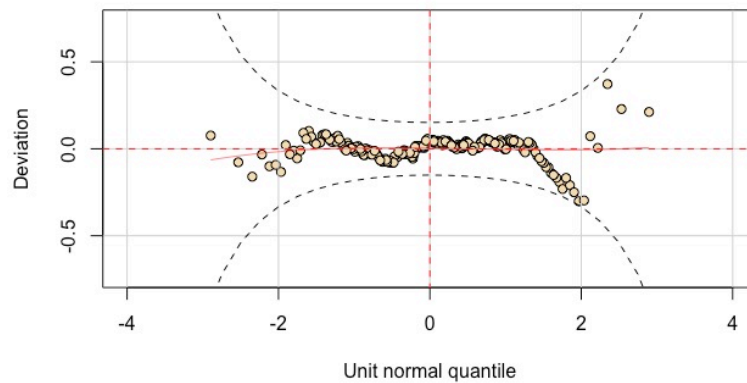


Figura 53. Wormplot de residuos de IGF1/IGFBP3 en niños.

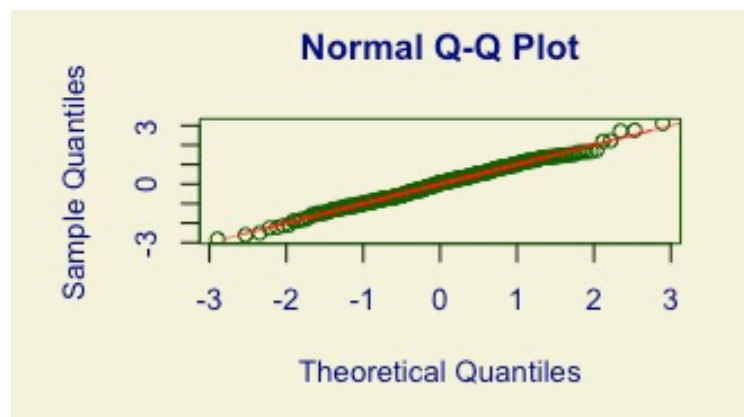


Figura 54. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1/IGFBP3 en niños.

En la representación gráfica de la bondad del ajuste, dibujada mediante un gráfico Q-Q (figura 54), se observa como la mayoría de los puntos observados se colocan sobre el nivel teórico esperado. Los residuos también muestran un ajuste prácticamente perfecto.

RESUMEN RESIDUOS IGF1/IGFBP3 EN NIÑOS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-4,06e-05	1,004	-0,007	3,001	0,998

#### GRÁFICA DE PERCENTILES

Se realiza la modelización de la gráfica de percentiles (figura 55) con el paquete *GAMLSS* del programa R.

En la gráfica observamos que los niveles del índice IGF1/IGFBP3 molar en varones aumentan de forma constante con la edad, siendo la pendiente más pronunciada en época puberal, a partir de los 10 años.

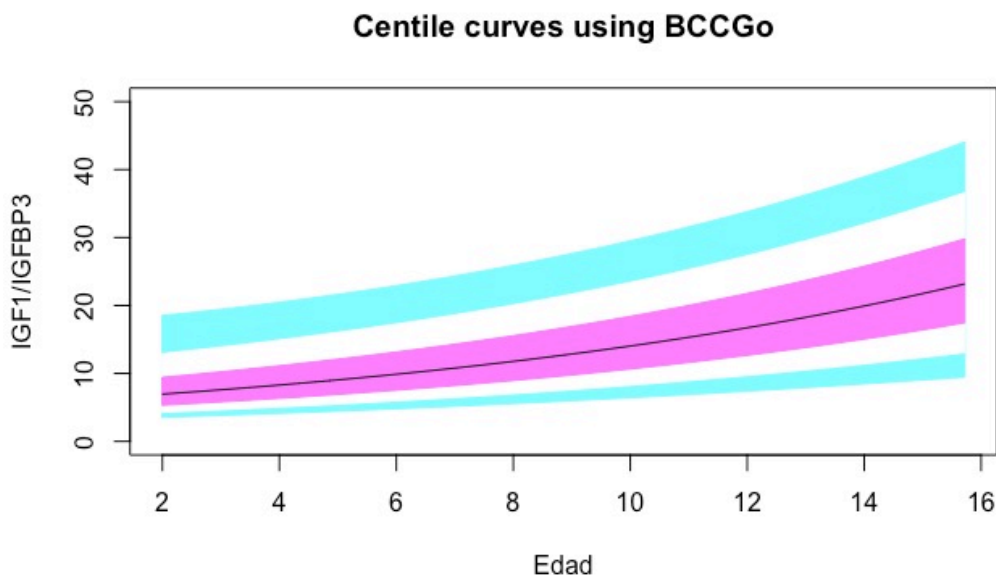


Figura 55. Valores normales para la relación molar IGF1/IGFBP3 en niños. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

#### 4.B. IGF1/IGFBP3 en niñas:

##### MODELO

Se elige el modelo BCTo (*Box-Cox-t-orig*) con un GAIC de 1162 tras llevar a cabo el análisis de las distintas opciones con un GAIC (k=3) disponible en el anexo III.

CALIDAD DEL MODELO

El análisis de la calidad del modelo revela un buen ajuste.

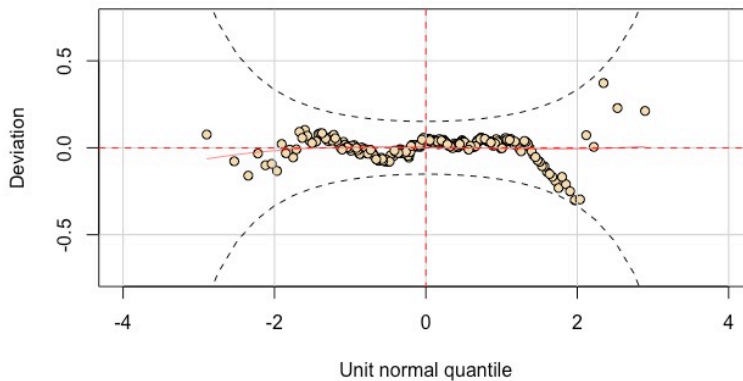


Figura 56. Wormplot de residuos de IGF1/IGFBP3 en niñas.

El wormplot (figura 56) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95% aunque vemos algunos outliers.

RESUMEN RESIDUOS IGF1/IGFBP3 EN NIÑAS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-4,06e-05	1,004	-0,007	3,001	0,998

Confirmamos como los valores de los residuos se aproximan al valor teórico esperado para una buena calidad del ajuste. Lo cual también queda representado en el gráfico Q-Q (figura 57) donde los valores observados se sitúan sobre la línea de los esperados.

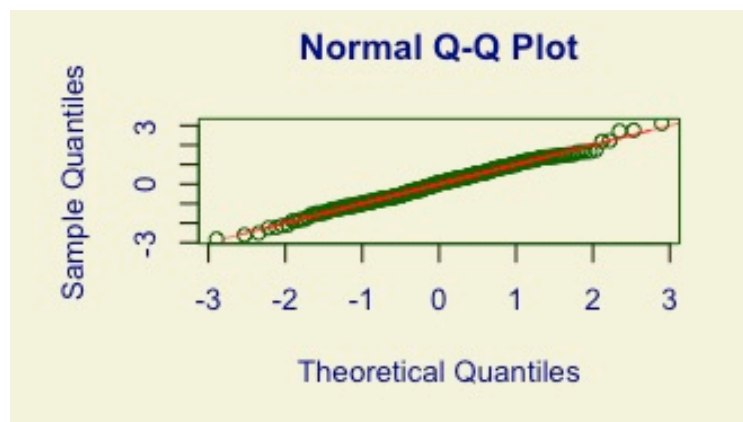


Figura 57. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1/IGFBP3 en niñas.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete GAMLSS de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 58). En niñas se observa un aumento prácticamente constante de los niveles del índice IGF1/IGFBP3 molar, si cambios en la pendiente.

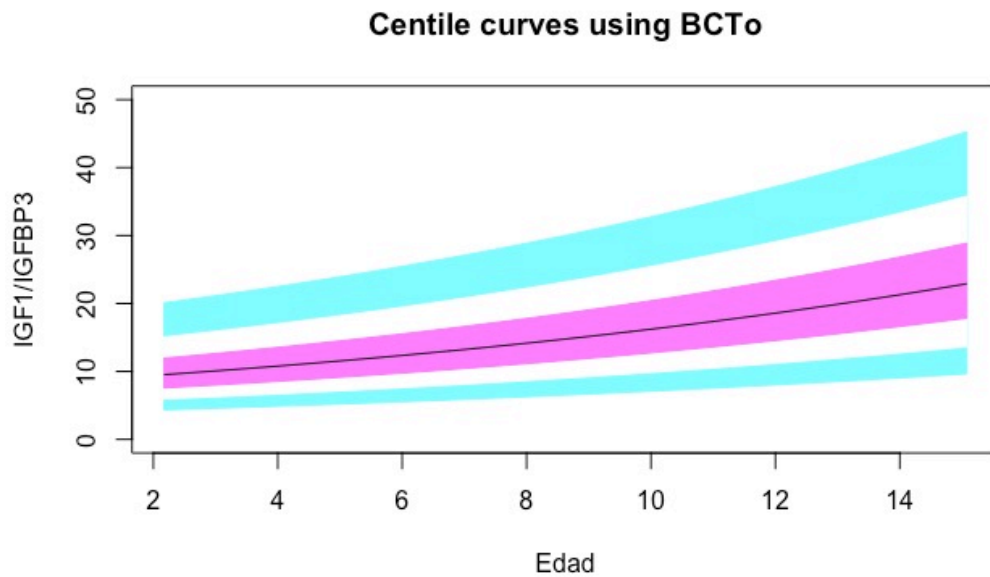


Figura 58. Valores normales para la relación molar IGF1/IGFBP3 en niñas. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

#### 4.C. IGF1/IGFBP3 en niños prepuberales

##### MODELO

En los niños prepuberales, se elige el modelo LNO (*Box-Cox*) con un GAIC de 1314 para modelizar los niveles de IGF1/IGFBP3 (anexo III).

##### CALIDAD DEL MODELO

El gráfico Q-Q y el resumen de residuos revelan un buen ajuste del modelo elegido. El wormplot nos muestra algunos outliers en valores extremos, pero en líneas generales también muestra un buen ajuste.

RESUMEN RESIDUOS IGF1/IGFBP3 EN NIÑOS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,002	1,005	0,057	3,205	0,997

La mayoría puntos de los valores observados se colocan sobre la línea de los valores esperados en el gráfico Q-Q (figura 60), informándonos de la buena calidad del modelo elegido. Dato que confirman también los valores del resumen de residuos cercanos a 0 en las medidas de tendencia central y a 1 en varianza y coeficiente de correlación.

El *wormplot* (figura 59) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95% aunque vemos algunos outliers.

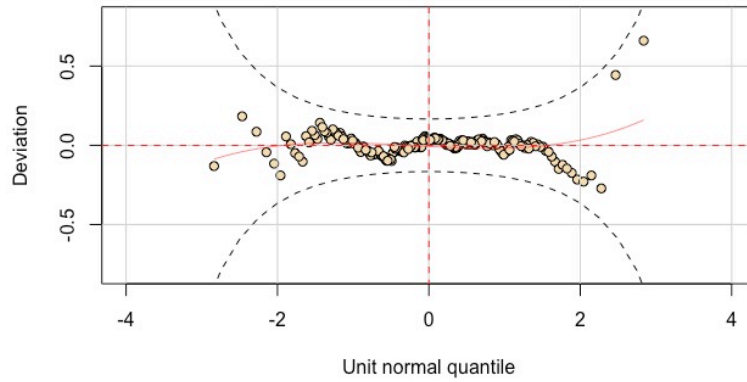


Figura 59.

residuos de IGF1/IGFBP3 en niños prepuberales.

Wormplot de

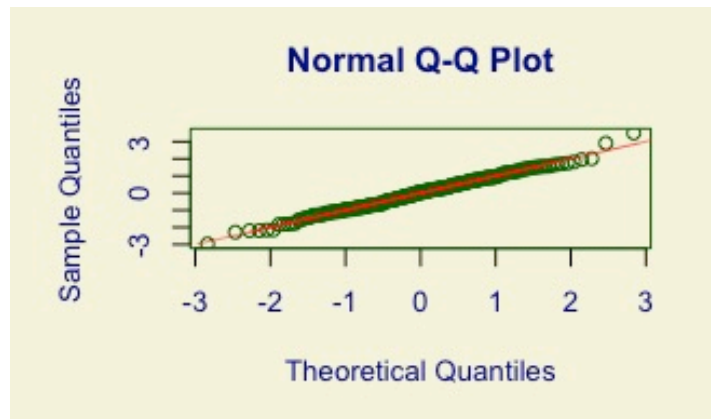


Figura 60. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1/IGFBP3 en niños prepuberales.

GRÁFICA DE PERCENTILES

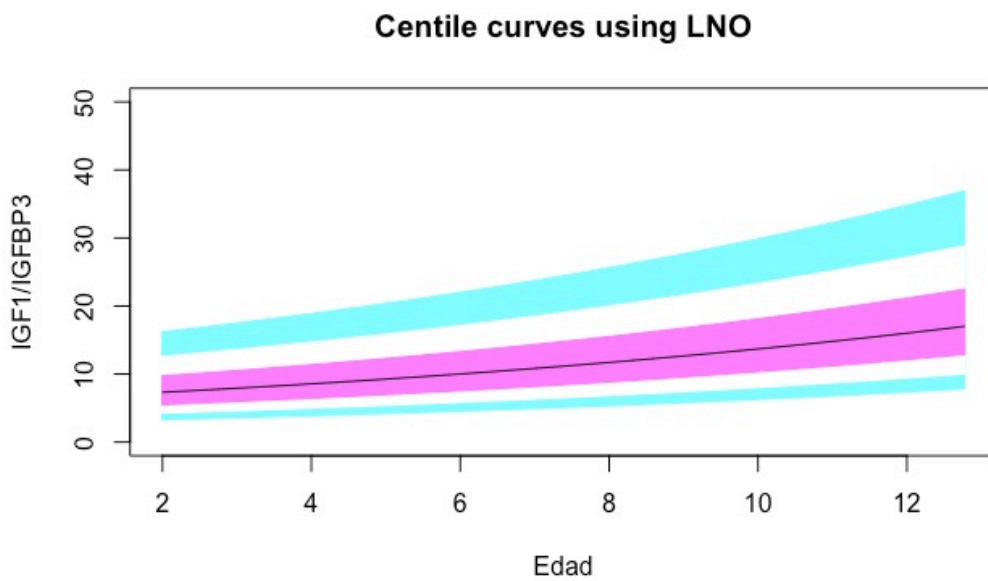


Figura 61. Valores normales para la relación molar IGF1/IGFBP3 en niños prepuberales. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 61). En la gráfica observamos que los niveles del índice IGF1/IGFBP3 molar se elevan suavemente con la edad en niños prepuberales.

#### 4.D. IGF1/IGFBP3 en niñas prepuberales

##### MODELO

Tras analizar las distintas familias, con un GAIC de 684 (anexo III), se elige el modelo BCCGo (*Box-Cox-Cole-Green-orig*)

##### CALIDAD DEL MODELO

El gráfico Q-Q (figura 63) y el resumen de residuos muestran un buen ajuste. Además, el wormplot (figura 62) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95% aunque vemos algunos outliers alejados de la línea central.

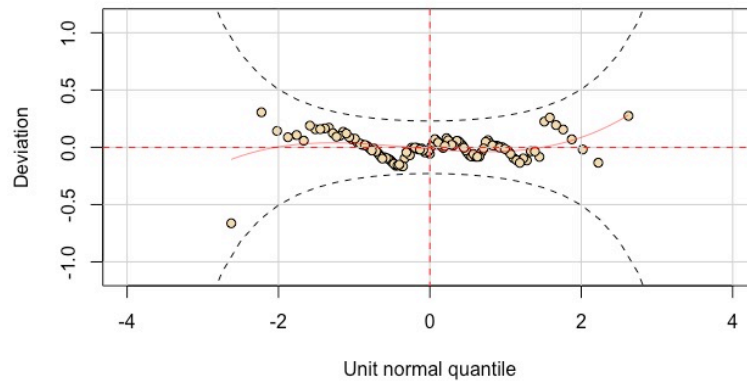


Figura 62. Wormplot de residuos de IGF1/IGFBP3 en niñas prepuberales.

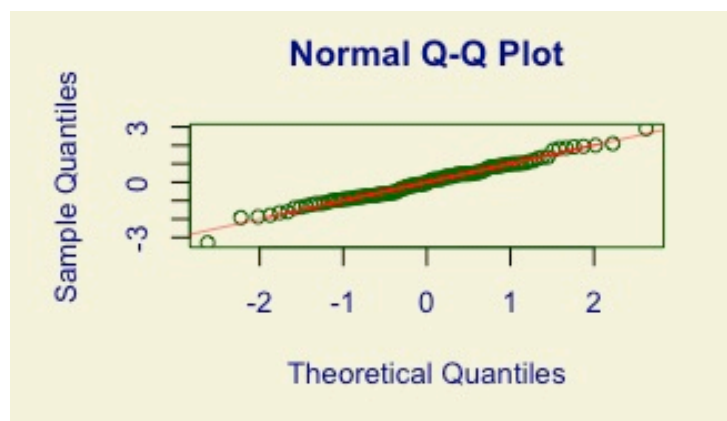


Figura 63. Gráfico Q-Q de residuos de IGF1/IGFBP3 en niñas prepuberales.

RESUMEN RESIDUOS IGF1/IGFBP3 EN NIÑAS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coficiente correlación Filliben
8,2e-0,5	1,009	0,047	3,320	0,993

Los datos del resumen de residuos nos informan de un buen ajuste. Además, el gráfico Q-Q (figura 63) nos confirma un buen ajuste del modelo excepto en valores extremos más allá de  $\pm 2$  desviaciones estándar.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete *GAMLSS* de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 64). En la gráfica observamos que los niveles del índice IGF1/IGFBP3 molar se mantienen prácticamente constantes en las niñas prepuberales.

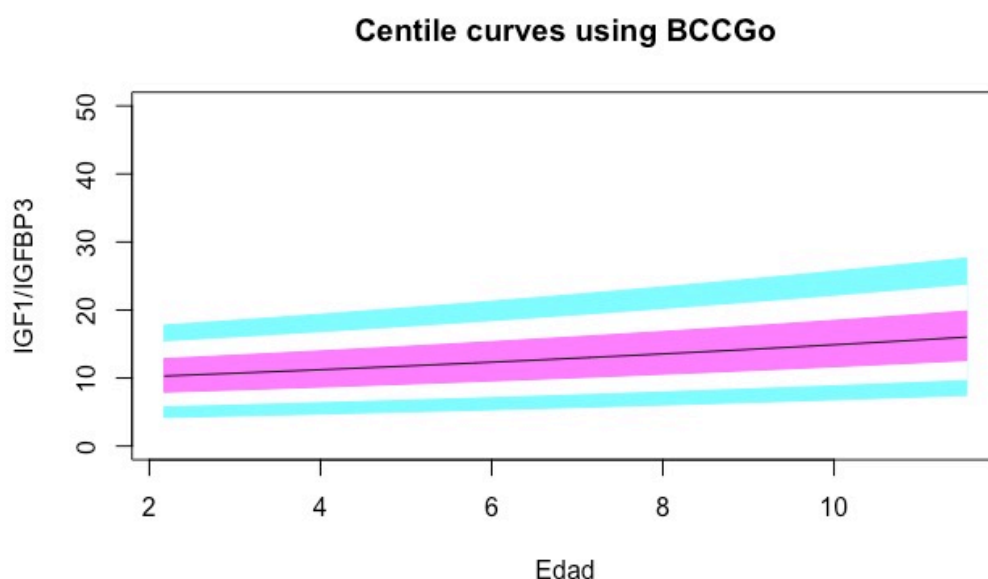


Figura 64. Valores normales para la relación molar IGF1/IGFBP3 en niñas prepuberales. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

## 5. ÍNDICE IGFBP3/ALS molar

### 5.A. IGFBP3/ALS en niños:

MODELO

Tras analizar las distintas familias de distribución de acuerdo con GAIC ( $k=3$ ), se observa que el GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones (anexo III) por lo que todas ajustarían más o menos bien. Se elige el modelo BCPEo (*Box-Cox Power Exponential-orig*) con un GAIC de 329.

CALIDAD DEL MODELO

El análisis de calidad de modelo revela un buen ajuste tanto en el wormplot (figura 65), como en el resumen de residuos y el gráfico Q-Q (figura 66).

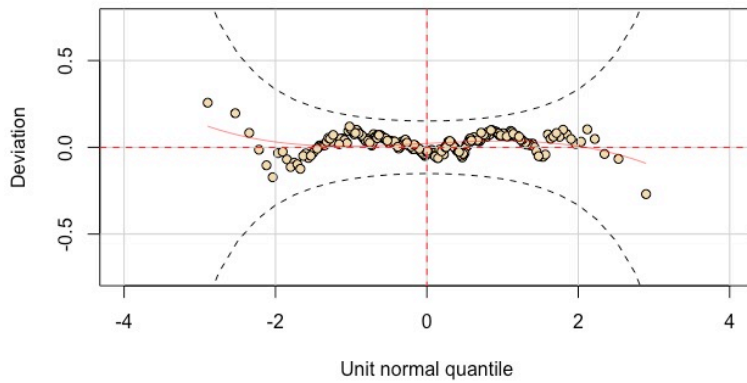


Figura 65. Wormplot de residuos de IGFBP3/ALS en niños.

El wormplot revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3/ALS EN NIÑOS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coficiente correlación Filliben
0,021	1,004	-0,007	2,800	0,998

Como en los modelos anteriores, en este caso también observamos que los residuos se acercan al nivel esperado, confirmando la bondad del ajuste. Esta bondad también es visible de forma gráfica en la representación Q-Q (figura 66).

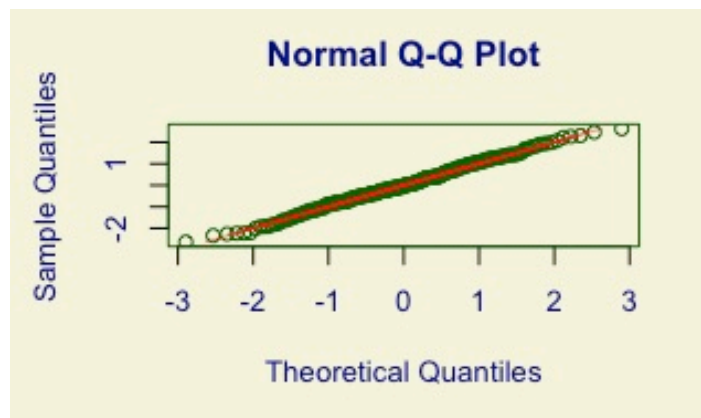


Figura 66. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3/ALS en niños.

#### GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete GAMLSS de R, se dibuja la gráfica de percentiles para IGFBP3/ALS en niños (figura 67). Observamos que los niveles del índice IGFBP3/ALS molar en los niños se mantienen prácticamente constantes con la edad e incluso disminuyen un poco a partir de los 10 años.



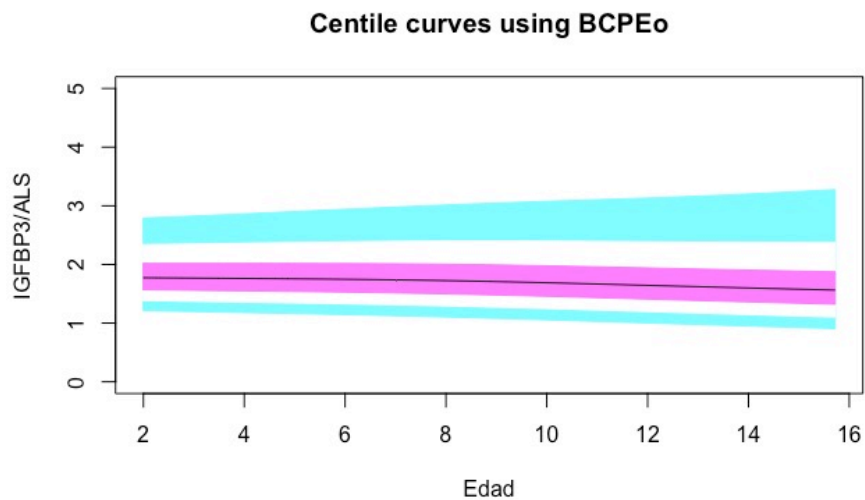


Figura 67. Valores normales para la relación molar IGFBP3/ALS en niños. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### 5.B. IGFBP3/ALS en niñas:

#### MODELO

Se comprueba que el menor GAIC corresponde al modelo BCTo (Box-Cox-t-orig), con un GAIC de 246 (anexo III).

#### CALIDAD DEL MODELO

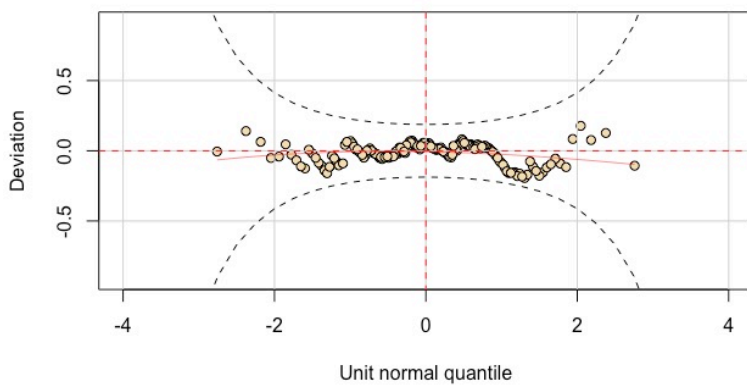


Figura 68. Wormplot de residuos de IGFBP3/ALS en niñas.

El wormplot (figura 68) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3/ALS EN NIÑAS				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
0,016	0,986	-0,049	2,889	0,998

El resumen de residuos y el gráfico Q-Q (figura 69) también nos confirma un buen ajuste del modelo.

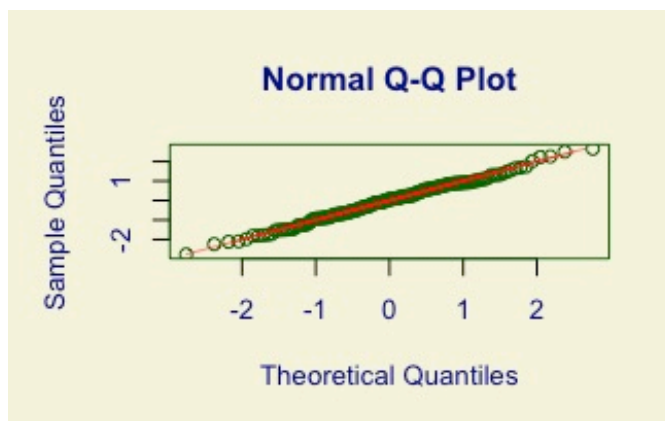


Figura 69. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3/ALS en niñas.

## GRÁFICA DE PERCENTILES

Se dibuja la gráfica de percentiles (figura 70) mediante modelización con el paquete *GAMLSS* de R. Observamos que los niveles del índice IGFBP3/ALS molar se mantienen prácticamente constantes con la edad en las niñas, con mayor variabilidad a partir de los 10 años.

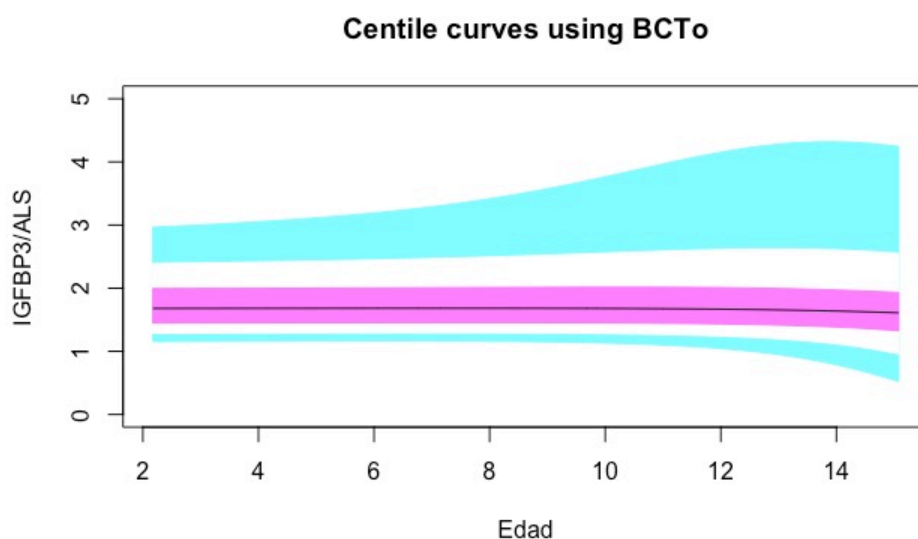


Figura 70. Valores normales para la relación molar IGFBP3/ALS en niñas. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

## 5.C. IGFBP3/ALS en niños prepuberales

### MODELO

Tras realizar el pertinente análisis, se elige el modelo BCPEo (*Box-Cox Power Exponential-orig*), con un GAIC de 260 (anexo III).

CALIDAD DEL MODELO

Tanto el resumen de residuos como las representaciones gráficas de la calidad (wormplot y gráfico Q-Q) nos muestran la buena calidad del ajuste del modelo elegido.

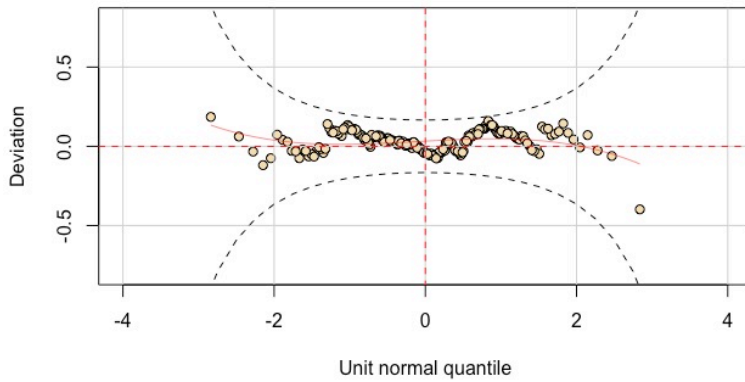


Figura 71. Wormplot de residuos de IGFBP3/ALS en niños prepuberales.

El wormplot (figura 71) revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3/ALS EN NIÑOS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
0,03	1,005	-0,009	2,765	0,998

El resumen de residuos y el gráfico Q-Q (figura 72) nos confirman un buen ajuste del modelo con los valores observados cercanos a los esperados.

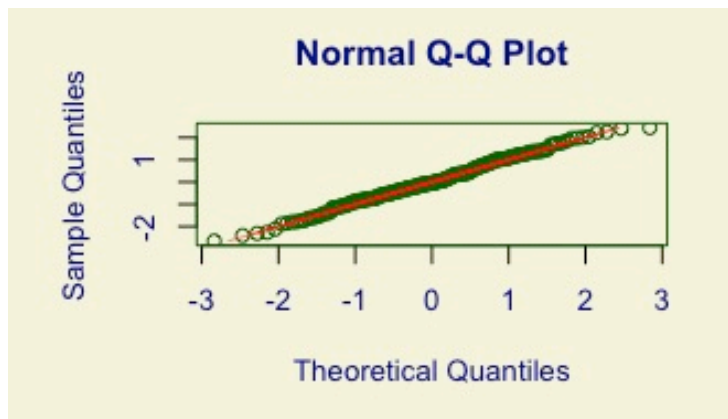


Figura 72. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3/ALS en niños prepuberales.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete GAMLSS de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 73). En la gráfica de niños prepuberales también observamos que los niveles del índice IGFBP3/ALS molar se mantienen prácticamente constantes con la edad

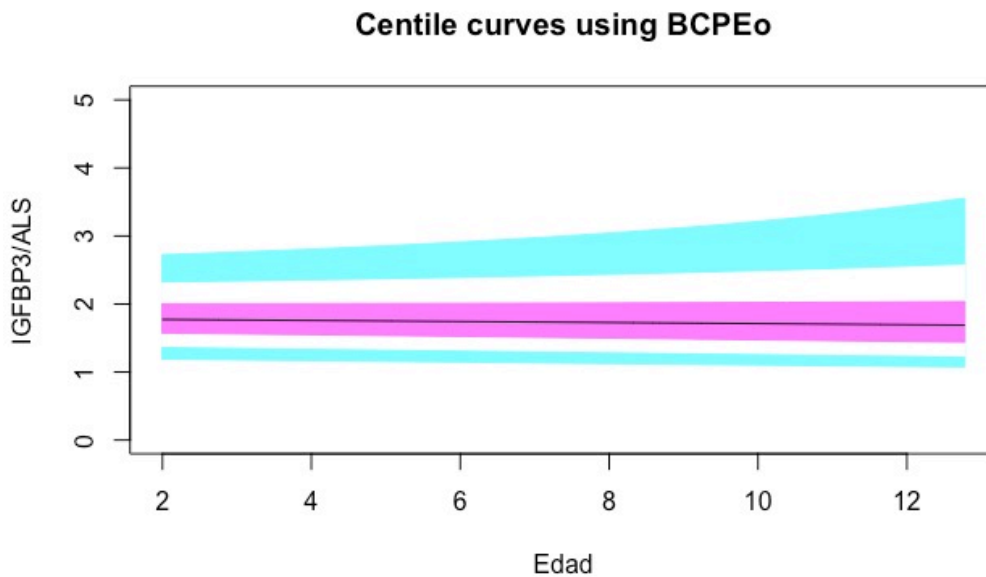


Figura 73. Valores normales para la relación molar IGFBP3/ALS en niños prepuberales. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

## 5.D. IGFBP3/ALS en niñas prepuberales

### MODELO

Se elige la mejor opción para los niveles de IGFBP3/ALS en niñas prepuberales, el modelo BCCGo (*Box-Cox-Cole-Green-orig*), con un GAIC de 139 (anexo III).

### CALIDAD DEL MODELO

El *wormplot* (figura 74), el gráfico Q-Q (figura 75) y el resumen de residuos nos muestran un buen ajuste del modelo.

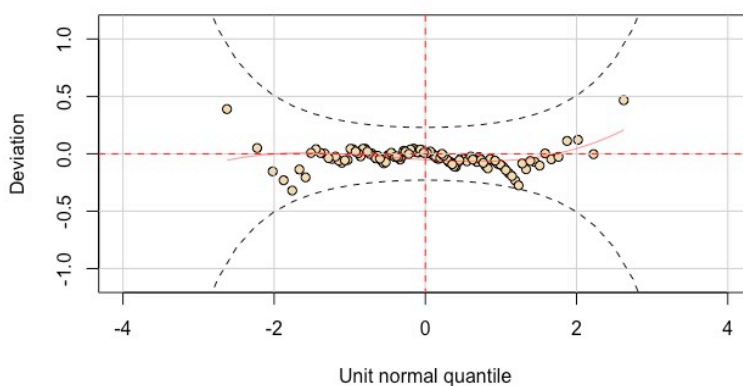


Figura 74. *Wormplot* de residuos de IGFBP3/ALS en niñas prepuberales.

El *wormplot* revela el 100% de los valores observados dentro del IC 95%.

RESUMEN RESIDUOS IGFBP3/ALS EN NIÑAS PREPUBERALES				
Media	Varianza	Asimetría	Kurtosis	Coefficiente correlación Filliben
-0,03	0,999	0,105	3,184	0,996

En este último modelo también se confirma la buena calidad del ajuste representada por unos valores de residuos y cercanos a los esperados y un gráfico Q-Q (figura 75) con los valores observados ajustados a los teóricos.

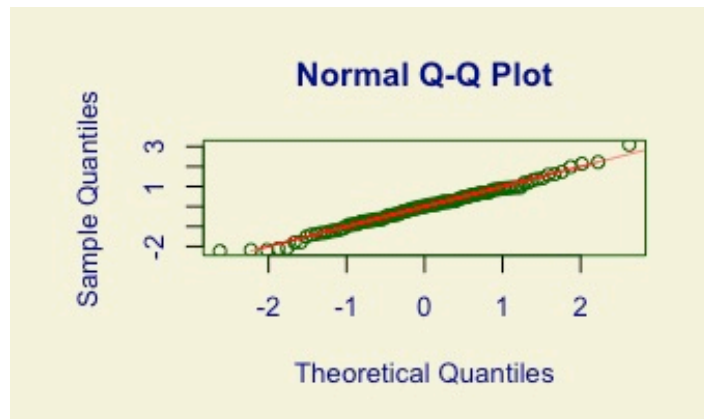


Figura 75. Gráfico Q-Q de residuos de IGFBP3/ALS en niñas prepuberales.

GRÁFICA DE PERCENTILES

Tras llevar a cabo la modelización con el paquete GAMLSS de R, se dibuja la gráfica de percentiles (figura 76). Observamos que los niveles del índice IGFBP3/ALS molar se mantienen prácticamente constantes entre 1 y 3 en las niñas prepuberales.

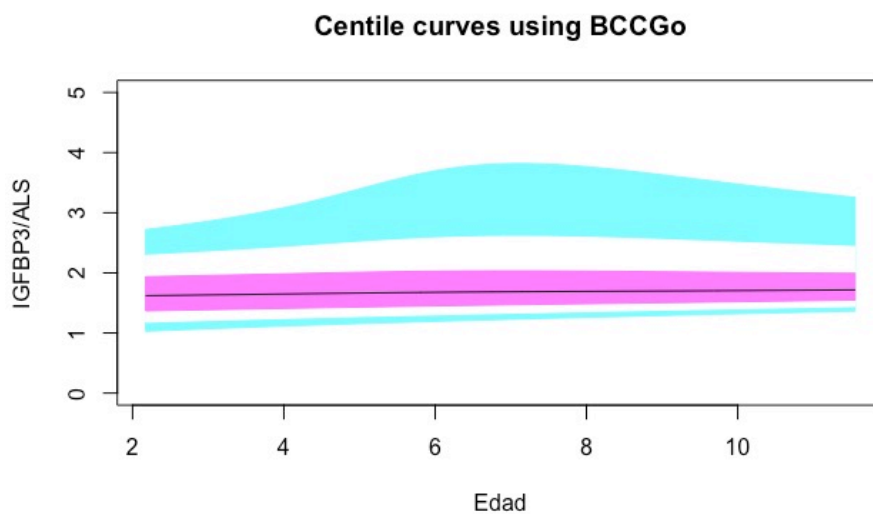


Figura 76. Valores normales para la relación molar IGFBP3/ALS en niñas prepuberales. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.



## 6.2. Curvas, tablas de percentiles y fórmulas para calcular SD.

Usando los modelos y gráficas descritos en el apartado 6.1, se construyen las fórmulas para calcular las desviaciones estándar de las distintas variables en cualquier paciente.

Los valores de referencia de las variables de nuestro estudio (ALS, IGF1, IGFBP3, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS) no siguen una distribución normal, por lo que debe realizarse una transformación matemática previa que consiga la normalización de estos datos para calcular posteriormente las SD. Tras realizar esta transformación matemática mediante logaritmo neperiano (ln), se confirma que los nuevos datos siguen una distribución normal.

Para el cálculo de desviaciones estándar usaremos la siguiente fórmula:

$$SDS = \frac{\ln VAR \text{ en el paciente} - \ln \text{ de la mediana de VAR en el grupo de edad}}{\text{valor de la desviación estándar de VAR (ln) grupo de edad}} \quad (205)$$

Donde VAR, será cada una de las variables estudiadas.

En las siguientes páginas se aportan los datos necesarios para el cálculo de estas desviaciones estándar. Se describen la mediana (med) de la variable y el ln de la desviación estándar (SD ln) de la variable para cada grupo de edad y para cada variable. En las siguientes tablas se aportan los valores para ALS (tabla 7), IGFBP3 (tabla 10), IGF1 (tabla 13), IGF1/IGFBP3 (tabla 16) e IGFBP3/ALS (tabla 19).

Con los datos anteriormente descritos, se calculan los valores para los percentiles 3, 25, 50, 75 y 97 según la edad, desde los 2 a los 14 años en niños y niñas.

En las siguientes páginas se adjuntan las gráficas de percentiles para ALS (tablas 8 y 9), IGFBP3 (tablas 11 y 12), IGF1 (tablas 14 y 15), índice IGF1/IGFBP3 molar (tablas 17 y 18) e índice IGFBP3/ALS molar (tablas 20 y 21).

En la figura 77, observamos que los niveles de ALS aumentan con la edad en niños y niñas, con una pendiente más pronunciada en la época puberal en los varones. Los niveles en niños prepuberales son menores en ambos sexos.

En las gráficas de percentiles para IGFBP3 (figura 78) vemos que los niveles de esta variable aumentan con la edad en ambos sexos, sin encontrar grandes diferencias entre niños y niñas ni entre pacientes puberales y prepuberales. La variabilidad parece mayor en niñas con mayor amplitud entre los percentiles extremos entre los 2 y los 6 años.

Con respecto a las gráficas de IGF1 (figura 79), constatamos que los niveles aumentan con la edad en niños y niñas, con una pendiente más pronunciada en la época puberal. Los niveles en niños prepuberales son menores en ambos sexos y no se observa incremento en la pendiente a los 10-12 años.

En las gráficas de la figura 80 observamos que los niveles del índice IGF1/IGFBP3 molar aumentan con la edad en niños y niñas, con una pendiente más pronunciada en la época puberal. Los niveles en niños prepuberales son menores en ambos sexos y no se observa incremento en la pendiente a los 10-12 años.

En cuanto al índice IGFBP3/ALS, en sus gráficas (figura 81) vemos que los niveles del índice se mantienen prácticamente constantes en relación con el sexo, la edad y el estadio puberal.

1. Gráficas normalidad ALS (Figuras 77a y 77b):

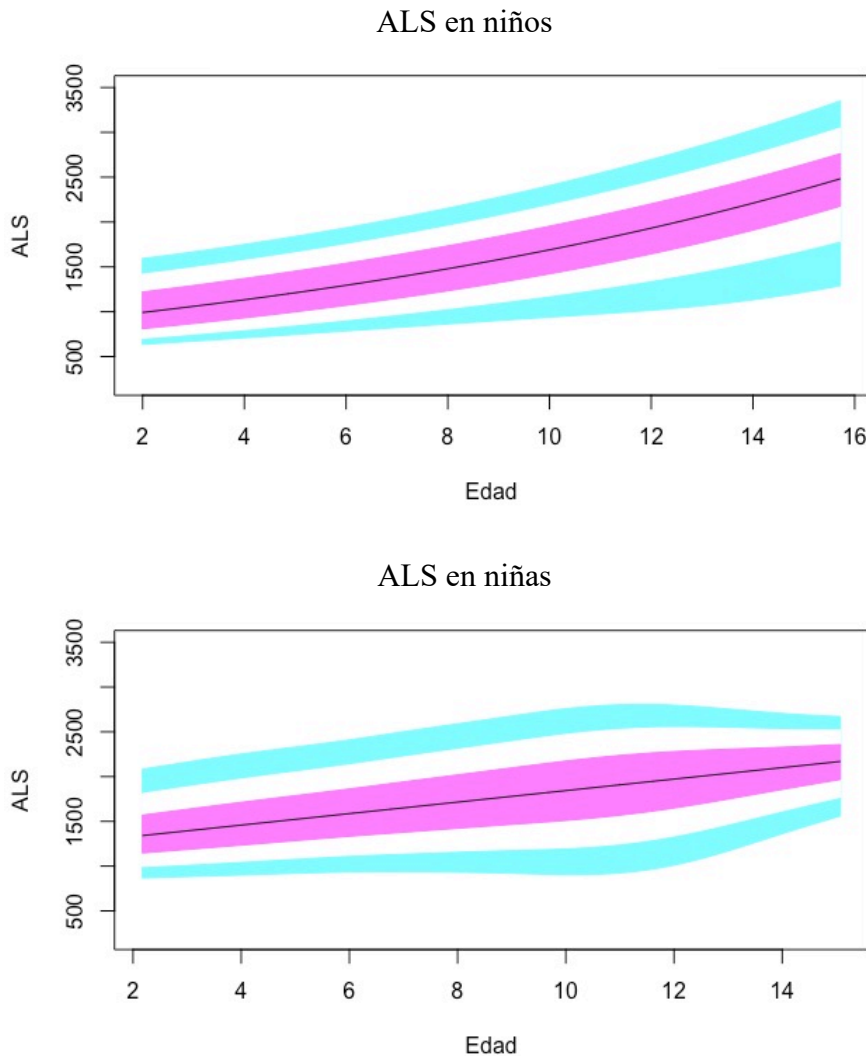
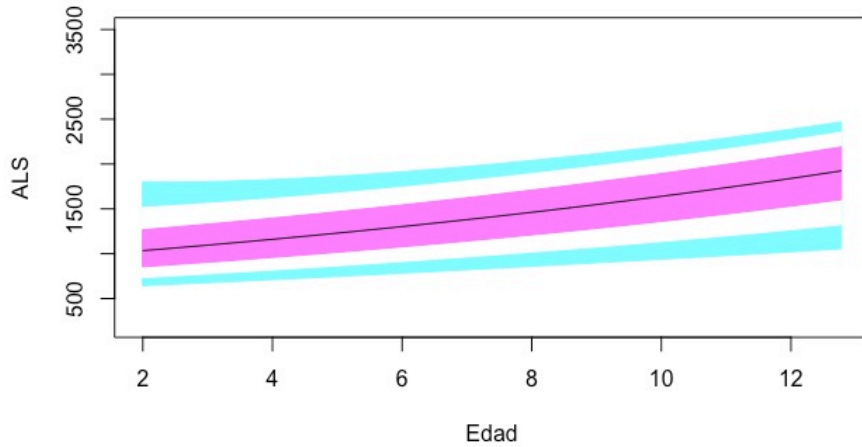


Figura 77a. Gráficas de normalidad de ALS separadas por sexos. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en mU/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50



ALS en niños prepuberales



ALS en niñas prepuberales

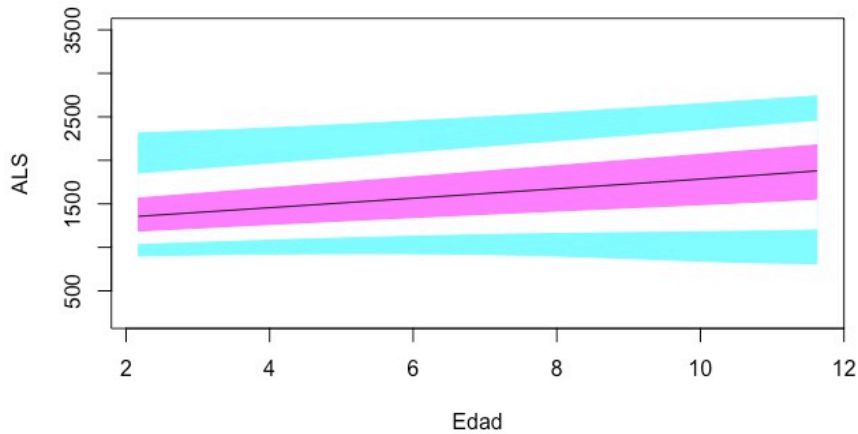


Figura 77b. Gráficas de normalidad de ALS en niños prepuberales separadas por sexos. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en mU/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50

**Fórmulas para calcular desviaciones estándar:**

Se realiza normalización de datos mediante  $\ln(ALS)$  y se confirma la normalidad de los nuevos datos mediante la prueba Kolmogorov-Smirnov (KS).

$\ln(ALS)$	Z KS	p
Niños	0,63	0,82
Niñas	0,86	0,45

$$SDS = \frac{\ln(ALS \text{ en el paciente}) - \ln(\text{mediana de ALS en el grupo de edad})}{\text{Desviación estándar del ALS (ln) grupo de edad}}$$

TABLA 7 ALS	Niños		Niñas		Niños prepuberal	Niñas prepuberal
	Edad	Mediana	SD In	Mediana	SD In	Med (SD In)
2	1041	0,26	1366	0,19		
3	1134	0,28	1238	0,27		
4	1117	0,25	1380	0,33		
5	1276	0,20	1580	0,20		
6	1216	0,29	1559	0,25		
7	1365	0,27	1788	0,27		
8	1457	0,21	1714	0,20		1640 (0,19)
9	1560	0,27	1719	0,42		1815 (0,45)
10	1722	0,15	1778	0,35		1604 (0,49)
11	1997	0,44	2239	0,29	1922 (0,36)	
12	1858	0,26	2128	0,36	1798 (0,29)	
13	2185	0,26	1937	0,17		
14	2469	0,22	2185	0,11		

TABLA 8: PERCENTILES DE ALS EN NIÑOS (mU/ml)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	637.	922.	1041.	1251.	1526.	259
3	721.	918.	1134	1406.	1713.	331
4	737.	997	1117.	1399	1739.	298
5	845.	1196.	1276	1396	1768.	262
6	869.	1026	1216.	1682	2013.	405
7	860.	1147	1365	1768	1909.	351
8	1006	1358	1457	1738	2136.	320
9	853.	1307.	1560.	1899	2103.	389
10	1285.	1560.	1722.	1920	2068.	247
11	764.	1140.	1997.	2165	2362.	617
12	1282.	1538.	1858.	2048.	2895.	541
13	1358.	1982	2185.	2545.	3004.	501
14	1474.	2059.	2469	2630	2964.	464
ALS NIÑOS PREPUBERALES						
11	988.	1290.	1922.	2147.	2211.	539
12	1221.	1420.	1798.	2130.	2204.	488

TABLA 9: PERCENTILES DE ALS EN NIÑAS (mU/ml)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	1101.	1294	1366	1606	1958.	291
3	911.	1082.	1238.	1592.	1877.	367
4	810.	1293.	1380	1752	1949.	391
5	1207.	1382.	1580	1729.	2291.	331
6	1189.	1433.	1559	1697	2915.	476
7	1032.	1483	1788	2107	2520.	449
8	1295.	1503.	1714	1914	2397.	366
9	777.	1541.	1719.	1959.	2306.	434

10	1010	1609.	1778.	2411.	2827.	608
11	1325.	1492.	2239.	2393.	2832.	613
12	1025.	1370.	2128	2500.	2586.	605
13	1466.	1664.	1937	2205	2430.	330
14	1828.	1977	2185	2276	2409.	248
ALS NIÑAS PREPUBERALES						
8	1282.	1378.	1640.	1864.	1945.	301
9	708.	1499.	1815	1980.	2309.	468
10	866	1347.	1604.	2216.	2606.	771
11	1698.	1788.	1891.	1993.	2083.	nc

2. Gráficas normalidad IGFBP3:

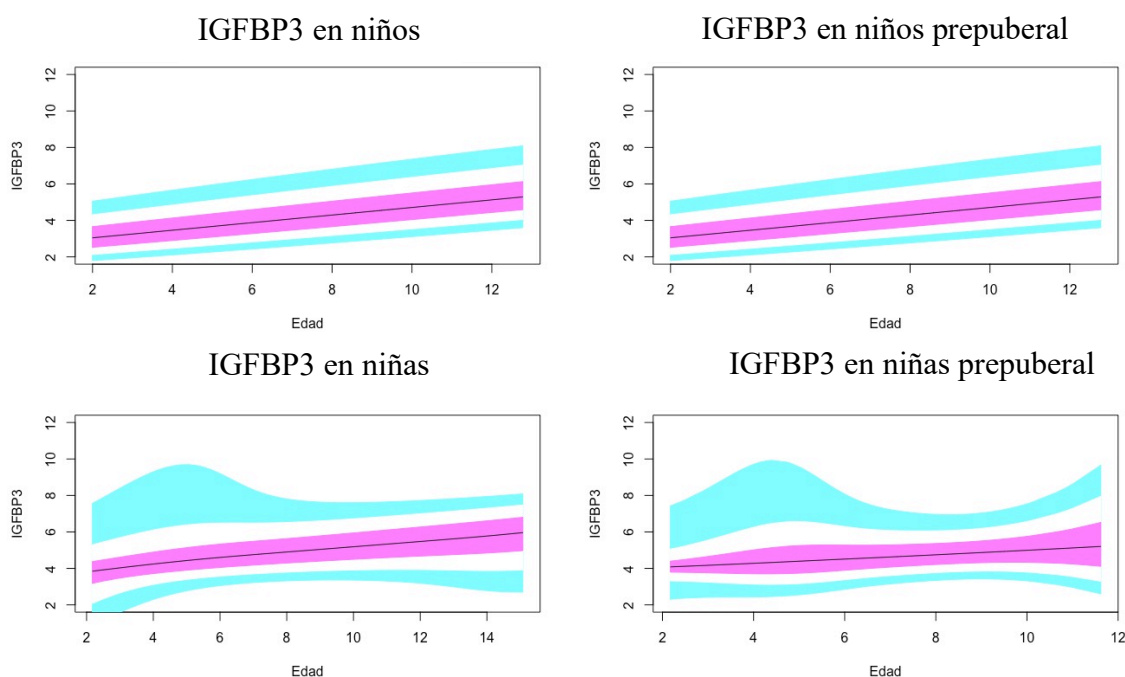


Figura 78. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina número 3 (IGFBP3) en µg/ml. La línea azul corresponde a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura corresponde a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Fórmulas para calcular desviaciones estándar:

Se realiza normalización de datos mediante ln (IGFBP3) y se pasa test de Kolmogorov-Smirnov (KS) a los nuevos datos, siendo p>0,05, por lo que se confirma su normalidad.

ln (IGFBP3)	Z KS	p
Niños	0,57	0,90
Niñas	0,76	0,61

$$SDS = \frac{\ln(\text{IGFBP3 en el paciente}) - \ln(\text{mediana de IGFBP3 grupo de edad})}{\text{Desviación estándar del IGFBP3 (ln) grupo de edad}}$$

TABLA 10 IGFBP3	Niños		Niñas		Niños prepuberal	Niñas prepuberal
Edad	Mediana	SD In	Mediana	SD In	Med (SD In)	Med (SD In)
2	3,07	0,30	4,09	0,17		
3	3,5	0,27	3,93	0,34		
4	3,26	0,23	4,22	0,26		
5	3,58	0,20	4,52	0,39		
6	4,14	0,31	4,50	0,17		
7	4,54	0,22	5,07	0,22		
8	4,28	0,22	5,15	0,19		4,37 (0,17)
9	4,97	0,22	5,06	0,22		4,96 (0,20)
10	4,67	0,24	5,56	0,27		5,70 (0,28)
11	5,18	0,22	5,33	0,18	5,07 (0,25)	
12	5,22	0,37	5,52	0,19	4,38 (0,09)	
13	5,26	0,18	5,49	0,15		
14	5,92	0,28	4,82	0,42		

TABLA 11: PERCENTILES DE IGFBP3 EN NIÑOS (µg/ml)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	1,91	2,56	3,07	3,97	5,13	1,02
3	1,94	2,65	3,5	3,78	4,76	0,84
4	2,40	2,98	3,26	4,08	5,15	0,86
5	2,67	3,15	3,58	4,34	5,39	0,80
6	2,31	3,53	4,14	4,84	6,93	1,28
7	3,59	4,14	4,54	5,04	7,51	1,30
8	3,43	3,96	4,28	5,27	7,02	1,15
9	3,02	4,21	4,97	5,4	6,22	0,96
10	3,46	3,99	4,67	5,53	7,37	1,27
11	3,34	4,55	5,18	5,75	6,10	0,96
12	2,81	4,49	5,22	6,68	8,00	1,76
13	4,05	4,87	5,26	6,14	7,28	1,03
14	3,58	5,4	5,92	7,51	8,81	1,65
IGFBP3 NIÑOS PREPUBERALES						
11	3,22	4,34	5,07	5,8	6,13	1,12
12	4,07	4,15	4,38	4,67	4,87	0,38

TABLA 12: PERCENTILES DE IGFBP3 EN NIÑAS (µg/ml)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	3,07	3,97	4,09	4,29	5,11	0,65
3	2,10	3,52	3,93	4,39	5,54	1,17
4	2,06	3,31	4,22	5,14	6,09	1,22
5	3,35	3,54	4,52	5,11	11,6	2,64
6	3,51	4,36	4,5	4,93	6,17	0,80
7	3,47	4,22	5,07	5,5	7,02	1,10
8	3,44	4,37	5,15	5,58	5,95	0,88
9	3,79	4,50	5,06	6,12	8,32	1,28

10	3,53	4,35	5,56	6,17	7,93	1,46
11	3,03	5,28	5,33	5,67	7,34	1,05
12	4,39	4,99	5,52	6,50	7,41	1,10
13	4,45	5,2	5,49	6,26	6,99	0,86
14	2,46	3,99	4,82	5,73	7,38	1,91
IGFBP3 NIÑAS PREPUBERALES						
8	3,32	4,04	4,37	4,75	5,13	0,70
9	3,76	4,32	4,96	5,63	7,30	1,12
10	3,91	4,51	5,70	6,55	7,06	1,47
11	2,80	3,37	4,03	4,68	5,25	NC

3. Gráficas normalidad IGF1:

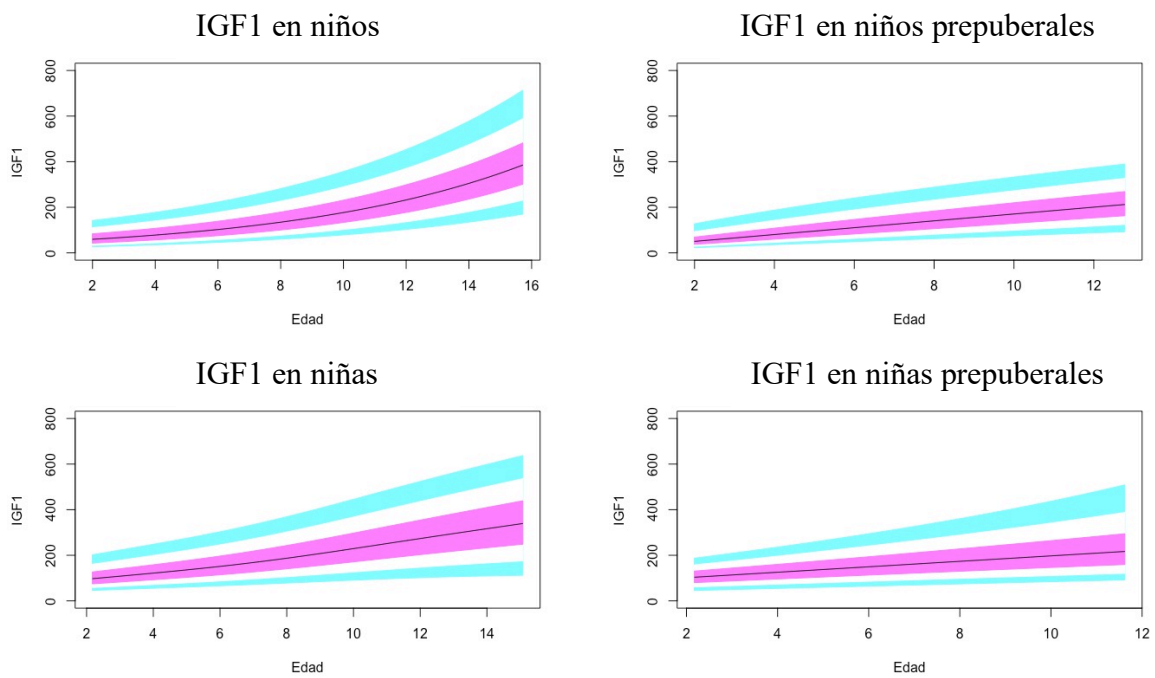


Figura 79. Valores normales para el factor de crecimiento de insulina tipo 1(IGF1) en ng/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Fórmulas para calcular desviaciones estándar:

Se realiza normalización de datos mediante ln (IGF1) y se confirma que se convierte en una distribución normal mediante test de Kolmogorov Smirnov (KS).

ln (IGF1)	Z KS	p
Niños	0,63	0,82
Niñas	0,64	0,81

$$SDS = \frac{\ln (IGF1 \text{ en el paciente}) - \ln (\text{mediana de IGF1 en el grupo de edad})}{\text{Desviación estándar del IGF1 (ln) grupo de edad}}$$

TABLA 13						
IGF1	Niños		Niñas		Niños prepuberal	Niñas prepuberal
Edad	Mediana	SD ln	Mediana	SD ln	Med(SD ln)	Med(SD ln)
2	66	0,49	94	0,33		
3	70	0,44	107	0,42		
4	91	0,37	129	0,32		
5	96	0,47	145	0,53		
6	106	0,43	139	0,30		
7	145	0,37	201	0,42		
8	174	0,32	178	0,46		169 (0,50)
9	156	0,37	199	0,43		195 (0,40)
10	222	0,38	265	0,44		198 (0,59)
11	196	0,49	327	0,42	164 (0,43)	
12	317	0,50	340	0,31	278 (0,55)	
13	273	0,48	312	0,50		
14	265	0,29	267	0,58		

TABLA 14: PERCENTILES DE IGF1 EN NIÑOS (ng/ml)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	27	47	66	91	124.	30
3	37	52	70	94	162.	38
4	44	72	91	104	147.	31
5	43	73	96	133.	193.	50
6	53	77	106.	161.	265.	50
7	76	118.	145	185	277.	59
8	89	133.	174.	180.	284.	55
9	84	109	156.	190	263.	58
10	95	161.	222	247.	317.	71
11	87	117.	196.	240.	333.	87
12	114.	222.	317.	378.	474.	124
13	123.	225.	273.	351.	577.	138
14	203.	229.	265.	378.	508.	97
IGF1 NIÑOS PREPUBERALES						
11	86	98.0	164.	196.	238.	63
12	120.	229.	278.	307.	362.	111

TABLA 15: PERCENTILES DE IGF1 EN NIÑAS (ng/ml)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	71	87	94	146.	167.	38
3	53	82	107.	130	168.	42
4	97	118.	129.	202.	237.	51
5	54	103.	145	176.	295.	78
6	93	126	139.	184	259.	50
7	86	128.	201.	255.	315.	74
8	83	152.	178.	206.	315.	72

9	106.	167.	199.	253.	461.	105
10	141.	190.	265.	370.	501.	125
11	115.	179.	327.	336	354.	99
12	194.	321.	340.	422	480.	97
13	130.	261.	312.	367	585.	139
14	88.	210.	267.	324.	362.	111
IGF1 NIÑAS PREPUBERALES						
8	68.9	150.	169.	196.	210.	56
9	104.	144.	195.	237.	377.	83
10	125.	173.	198.	302.	499.	164
11	111.	162.	220.	278.	329.	NC

4. Gráficas normalidad IGF1/IGFBP3:

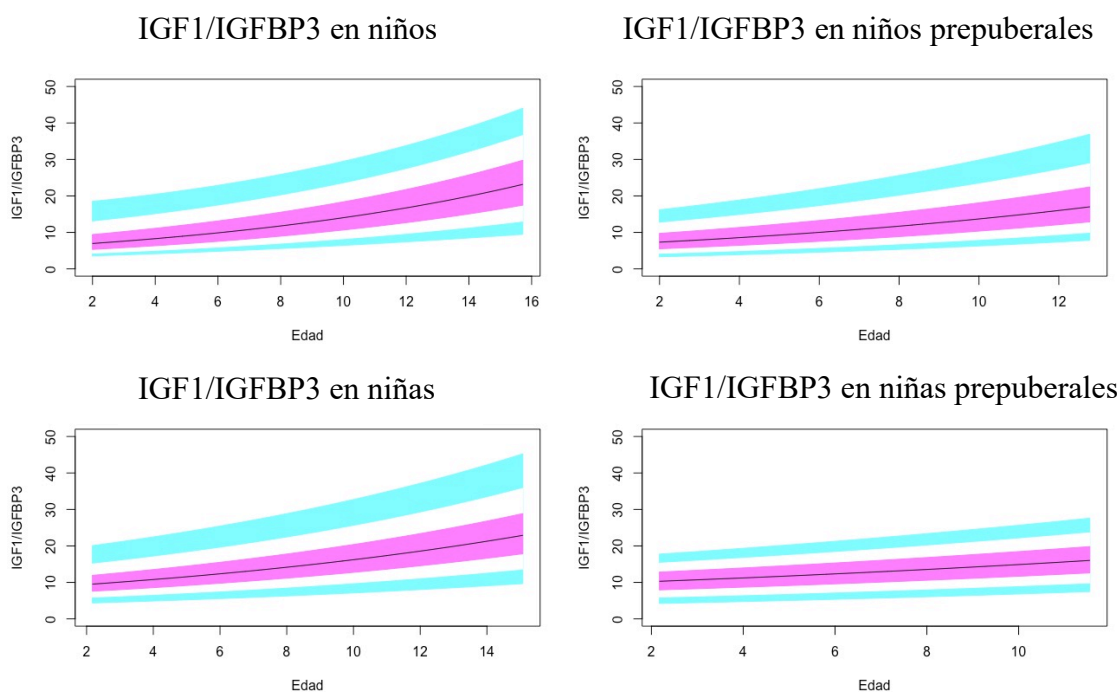


Figura 80. Valores normales para la relación molar IGF1/IGFBP3. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

**Fórmulas para calcular desviaciones estándar**

Se realiza normalización de datos mediante ln (IGF1/IGFBP3) y se observa p>0,05 en el test de Kolmogorov-Smirnov (KS) a los nuevos datos, confirmando la distribución normal.

ln (IGF1/IGFBP3)	Z KS	p
Niños	0,68	0,75
Niñas	0,82	0,50

$$SDS = \frac{\ln \left( \frac{IGF1}{IGFBP3} \text{ en el paciente} \right) - \ln \left( \text{mediana } \frac{IGF1}{IGFBP3} \text{ grupo de edad} \right)}{\text{Desviación estándar del } \frac{IGF1}{IGFBP3} \text{ (ln) grupo de edad}}$$

TABLA 16 IGF1/IGFBP3		Niños		Niñas		Niños prepuberal	Niñas prepuberal
Edad	Mediana	SD In	Mediana	SD In	Med(SD In)	Med(SD In)	
2	8	0,45	10,5	0,29			
3	8	0,43	9,8	0,30			
4	8,7	0,36	11,2	0,41			
5	9,3	0,44	12,5	0,63			
6	8,8	0,36	11,9	0,24			
7	12	0,31	13,3	0,38			
8	14,1	0,36	14,5	0,38		14,8 (0,38)	
9	12,4	0,36	14,8	0,35		15,2 (0,31)	
10	16,5	0,52	18,6	0,41		14,9 (0,37)	
11	13,3	0,41	16,7	0,35	10,5 (0,34)		
12	23,7	0,40	24,9	0,39	23,9 (0,49)		
13	23,1	0,48	20,8	NC			
14	17,5	0,36	17,8	0,28			

TABLA 17: PERCENTILES DE IGF1/IGFBP3 EN NIÑOS (ratio molar)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	2,8	5,5	8	11,2	13,4	3,2
3	4,6	6,7	8	9	21,2	6,1
4	5,7	6,5	8,7	12,7	16,5	3,5
5	4,5	7,4	9,3	12,4	21,1	5,2
6	6	7,3	8,8	13,8	30,1	3,7
7	7	9,7	12	13,8	19,1	3,7
8	7	11,3	14,1	15,5	23,3	4,8
9	6,9	8,3	12,4	15,0	20,3	4,5
10	5,3	12,8	16,5	18,9	32,8	7,8
11	7,4	10,1	13,3	18,0	24,8	6,1
12	10	15,2	23,7	26,1	28,1	6,9
13	8,3	14,6	23,1	26,0	40,0	9,8
14	10,4	15,7	17,5	24,5	33,3	7,1
IGF1/IGFBP3 NIÑOS PREPUBERALES						
11	7,3	9,3	10,5	13,4	18,6	4,2
12	10,8	19	23,9	26,4	28,1	8,2

TABLA 18: PERCENTILES DE IGF1/IGFBP3 EN NIÑAS (ratio molar)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	6,6	7,6	10,5	12,1	14,3	2,9
3	6,8	8	9,8	12,5	15,3	3,2
4	6,8	10,9	11,17	16,7	18,2	5,3
5	3,5	8,1	12,5	14,9	19,7	5,13
6	9	10,1	11,9	14,4	18,3	3,2
7	7,9	9,9	13,3	18,3	22,8	5,2
8	7,4	10,1	14,5	17,4	22,5	5,1
9	8,7	11	14,8	17,2	27,5	5,6



10	9,3	15,7	18,6	24,4	34,6	8,2
11	8,6	14,1	16,7	22,8	41,0	5,4
12	10,9	21,2	24,9	27,9	36,5	7,9
13	7,7	19,6	20,8	24,2	39,9	NC
14	12,4	16,7	17,8	18,9	30,5	6
IGF1/IGFBP3 NIÑAS PREPUBERALES						
8	7,1	11,6	14,8	16,2	18,1	4,3
9	8,7	11,1	15,2	17,2	22,7	4,4
10	10,7	12,9	14,9	18,1	26,5	6,7
11	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	NC

5. Gráficas normalidad IGFBP3/ALS:

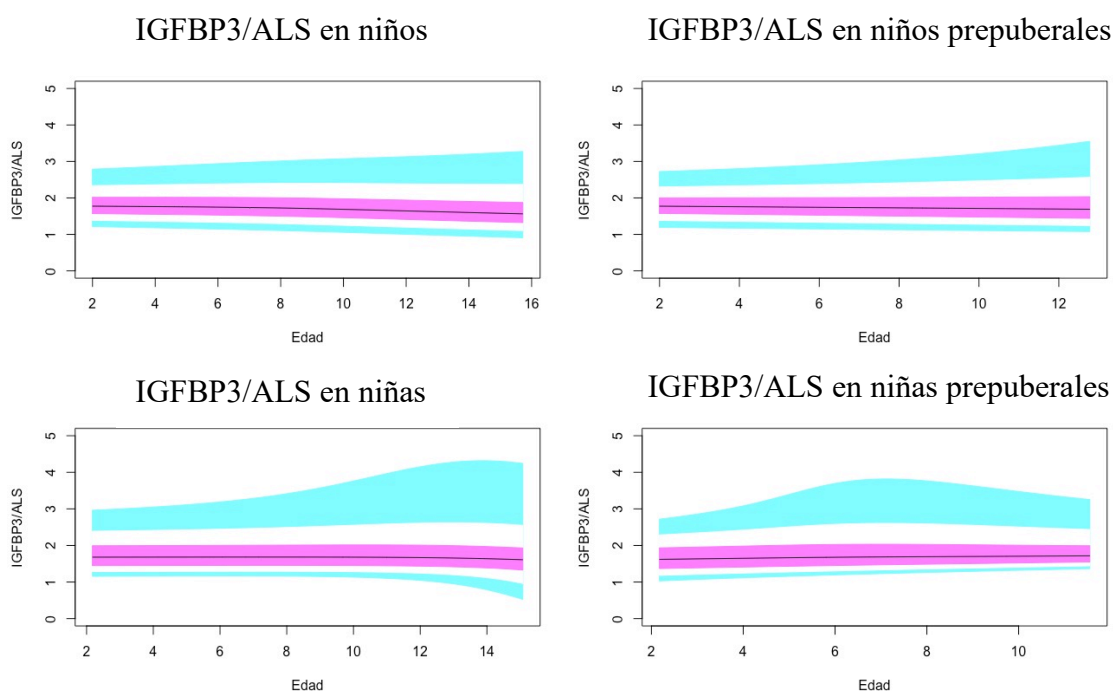


Figura 81. Valores normales para la relación molar IGFBP3/ALS. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Fórmulas para calcular desviaciones estándar:

Se realiza normalización de datos mediante ln (IGFBP3/ALS) y se confirma normalidad de los nuevos datos mediante test de Kolmogorov-Smirnov (KS).

ln (IGFBP3/ALS)	Z KS	p
Niños	1,23	0,09
Niñas	1,2	0,11

$$SDS = \frac{\ln \left( \frac{IGFBP3}{ALS} \text{ en el paciente} \right) - \ln \left( \text{mediana de } \frac{IGFBP3}{ALS} \text{ en el grupo de edad} \right)}{\text{Desviación estándar del } \frac{IGFBP3}{ALS} (\ln) \text{ grupo de edad}}$$

TABLA 19 IGFBP3/ALS		Niños		Niñas		Niños prepuberal	Niñas prepuberal
Edad	Mediana	SD In	Mediana	SD In	Med(SD In)	Med(SD In)	
2	1,76	0,23	1,75	0,22			
3	1,68	0,21	1,70	0,27			
4	1,73	0,16	1,70	0,36			
5	1,85	0,23	1,64	0,40			
6	1,84	0,25	1,72	0,20			
7	1,82	0,30	1,60	0,23			
8	1,71	0,31	1,64	0,17		1,56 (0,11)	
9	1,81	0,21	1,77	0,42		1,69 (0,45)	
10	1,70	0,29	1,78	0,33		1,90 (0,28)	
11	1,62	0,41	1,63	0,20	1,65 (0,21)		
12	1,65	0,34	1,70	0,48	1,42 (0,33)		
13	1,47	0,26	1,78	0,21			
14	1,63	0,24	1,35	0,42			

TABLA 20: PERCENTILES DE IGFBP3/ALS EN NIÑOS (ratio molar)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	1,19	1,61	1,76	2,09	2,92	0,47
3	1,24	1,44	1,68	1,88	2,50	0,39
4	1,32	1,62	1,73	1,96	2,34	0,29
5	1,01	1,50	1,85	2,01	2,30	0,37
6	1,23	1,53	1,84	2,13	2,80	0,49
7	1,41	1,60	1,82	2,47	3,59	0,71
8	1,12	1,47	1,71	1,90	3,39	0,65
9	1,40	1,63	1,81	2,07	2,72	0,43
10	1,06	1,49	1,70	1,86	2,83	0,53
11	1,26	1,52	1,62	1,87	4,37	1,12
12	0,98	1,34	1,65	2,19	2,49	0,56
13	0,97	1,18	1,47	1,76	2,21	0,4
14	0,97	1,39	1,63	1,74	2,35	0,37
IGFBP3/ALS NIÑOS PREPUBERALES						
11	1,39	1,57	1,65	1,85	2,50	0,42
12	1,18	1,21	1,42	1,81	2,35	0,58

TABLA 21: PERCENTILES DE IGFBP3/ALS EN NIÑOS (ratio molar)						
Edad	`3%`	`25%`	`50%`	`75%`	`97%`	SD
2	1,20	1,48	1,75	1,94	2,11	0,35
3	1,18	1,50	1,70	1,95	2,48	0,48
4	1,24	1,61	1,70	2,14	3,45	0,79
5	1,21	1,41	1,64	1,84	4,40	1,02
6	1,18	1,50	1,72	1,94	2,30	0,34
7	1,22	1,47	1,60	1,97	2,73	0,44
8	1,29	1,46	1,64	1,93	2,05	0,28

<b>9</b>	1,33	1,54	1,77	2,18	5,49	1,79
<b>10</b>	0,97	1,43	1,78	2,03	2,79	0,58
<b>11</b>	1,24	1,48	1,63	1,92	2,15	0,34
<b>12</b>	1,06	1,27	1,70	2,38	4,39	1,16
<b>13</b>	1,31	1,44	1,78	2,06	2,31	0,37
<b>14</b>	0,66	1,19	1,35	1,60	1,98	0,5
<b>IGFBP3/ALS NIÑAS PREPUBERALES</b>						
<b>8</b>	1,40	1,46	1,56	1,69	1,84	0,18
<b>9</b>	1,33	1,52	1,69	2,08	6,01	1,93
<b>10</b>	1,60	1,68	1,90	2,15	3,02	0,65
<b>11</b>	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	NC



## 6.3. Factores de crecimiento en pacientes con talla baja sin tratamiento

Los niveles de ALS y otros factores de crecimiento se determinaron en 482 sujetos con talla baja de distintas etiologías, de ellos 223 (46,2%) eran mujeres y el resto varones (259; 53,8%). En la tabla 22 se puede ver la distribución de los distintos subgrupos entre los que destacan 31 pacientes con déficit de GH y 32 que presentaban talla baja en el contexto d CIR que, cumpliendo criterios de tratamiento con hormona de crecimiento, todavía no habían iniciado el tratamiento con hormona de crecimiento.

	SEXO		EDAD	TALLA SD	LRN SD	TANNER	
	Niños	Niñas				1	>1
DGH	20	11	10,1±5,4	-2,79±1,29	-0,37±0,77	21	10
PEG con TB	15	17	7,7±4,4	-2,35±0,84	-1,94±1,66	21	11
PEG sin TB	34	14	8,2±3,3	-0,78±0,97	-1,63±1,14	36	12
TBI	58	57	7,4±3,6	-2,6 (-3/-2,2)	-0,65±0,9	102	13
TBF	23	21	9±3,7	-2,4(-2,6/-2)	-0,61±1,1	28	16
RCCD	41	25	12,8±2,1	-2,32±0,52	-0,23±1,31	37	29
OBESIDAD	22	18	8,5±3,1	0,49±1,19	0,12±1,04	31	9
OTRO	47	64	8,9±4,3	-1,71±1,56	-0,28±1,51	70	41
TOTAL	259	223	9±4,11	-2,2 (-2,7/-1,3)	-0,6±1,34	342	141
P ANOVA			0,00	0,00 (KW)	0,00		

Tabla 22. Descripción de los pacientes con talla baja sin tratamiento. Las variables que siguen una distribución normal dentro del grupo se expresan como media±SD y las que no siguen una distribución normal como mediana (p25/p75). DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. SD: desviaciones estándar. LRN: longitud de recién nacido. KW: Test de Kruskall Wallis.

Se observan diferencias estadísticamente significativas entre la edad, la talla y la longitud de recién nacido entre las distintas causas de talla baja.

Al analizar las diferencias en las desviaciones estándar de talla por parejas se observa que la talla es menor en niños con déficit de hormona de crecimiento con respecto a los niños con talla baja de cualquier otra etiología. Existen también diferencias en esta variable entre los niños con talla baja idiopática con respecto a los niños con RCCD y talla baja familiar (TBF), pero no aparecen diferencias significativas entre los niños con RCCD y TBF (Tabla 23).

TALLA SD (U)	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF
DGH	0,001	0,000	0,001	0,02	0,001
PEG CON TB	1	0,000	NS	NS	NS
TBI	NS	0,000	0,001	1	0,003
RCCD	NS	0,000	1	0,001	NS

Tabla 23: Diferencias en la talla medida en SD según el tipo de talla baja. SD: Desviaciones estándar. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. NS: no significativo. U: U de Mann Whitney.

Existen diferencias significativas en todas las variables excepto en el índice IGFBP3/ALS molar tanto en valores absolutos como en desviaciones estándar (tabla 24).

	DGH	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF	P (KW)
ALS (mU/ml)	1233 ±646	1620 ±1015	1602 ±637	1703 ±591	1324 ±560	1652 ±680	0,000
ALS (SD)	-2,03 ±2,2	-0,42 ±1,7	0 ±1,4	-1,1 ±1,3	-0,9 ±1,6	-0,32 ±1,4	0,001
IGF1 (ng/ml)	127 ±131	205 ±152	196 ±145	215 ±128	118 ±74	184 ±108	0,000
IGF1 (SD)	-2,08 ±2,1	0 ±1,3	0,07 ±1,2	-0,83 ±1,2	-1,02 ±1,1	-0,48 ±1,1	0,000
IGFBP3 (µg/ml)	3,77 ±1,8	4,98 ±2,4	4,44 ±1,5	4,95 ±1,3	4,04 ±1,3	4,97 ±1,6	0,000
IGFBP3 (SD)	-1,64 ±2	0,06 ±1,5	-0,18 ±1,1	-0,5 ±1,4	-0,6 ±1,2	0 ±1,14	0,000
IGF1/IGFBP3 molar	11,05 ±6,4	14,3 ±6,2	15,7 ±8,2	16,4 ±8	10,4 ±4,7	13,9 ±6,8	0,000
IGF1/IGFBP3 (SD)	-1,35 ±1,8	0,1 ±1,1	0,3 ±1,1	-0,51 ±1,1	-0,73 ±1	-0,46 ±1,3	0,000
IGFBP3/ALS molar	1,90 ±0,5	2,1 ±1,4	1,74 ±0,5	1,85 ±0,6	1,98 ±0,7	1,92 ±0,7	NS
IGFBP3/ALS (SD)	0,49 ±1	0,38 ±1,2	-0,19 ±1,3	0,21 ±1,5	0,4 ±1,5	0,29 ±1,3	NS

Tabla 24: DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. SD: Desviaciones estándar. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. NS: no significativo. KW: Test de Kruskal Wallis.

Dividiremos los resultados obtenidos en ALS, IGF1, IGFBP3 y los distintos índices.

**A) ANALISIS UNIVARIANTE:**

1. ALS

De forma general, los niveles de ALS en los pacientes con talla baja son  $1514 \pm 732$  mU/ml  $(-0,9+2SD)$ . Comparando estos niveles en función de la etiología de la talla baja (figura 82) se demuestra que estos niveles son significativamente menores en los pacientes con DGH respecto al resto de causas de TB ( $p < 0,01$ ). No existen diferencias en las desviaciones estándar de ALS entre niños PEG con y sin talla baja ni entre TBI y RCCD o TBF (tabla 25).

P ALS SD (U)	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF
DGH	0,001	0,000	0,012	0,003	0,000
PEG CON TB	-	0,351	0,014	0,102	0,883
TBI	0,102	0,001	0,248	-	0,087
RCCD	0,014	0,000	-	0,248	0,016

Tabla 25. Diferencias de ALS entre distintos tipos de talla baja. DGH: Déficit de Hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. U: test U de Mann-Whitney. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: desviación estándar.

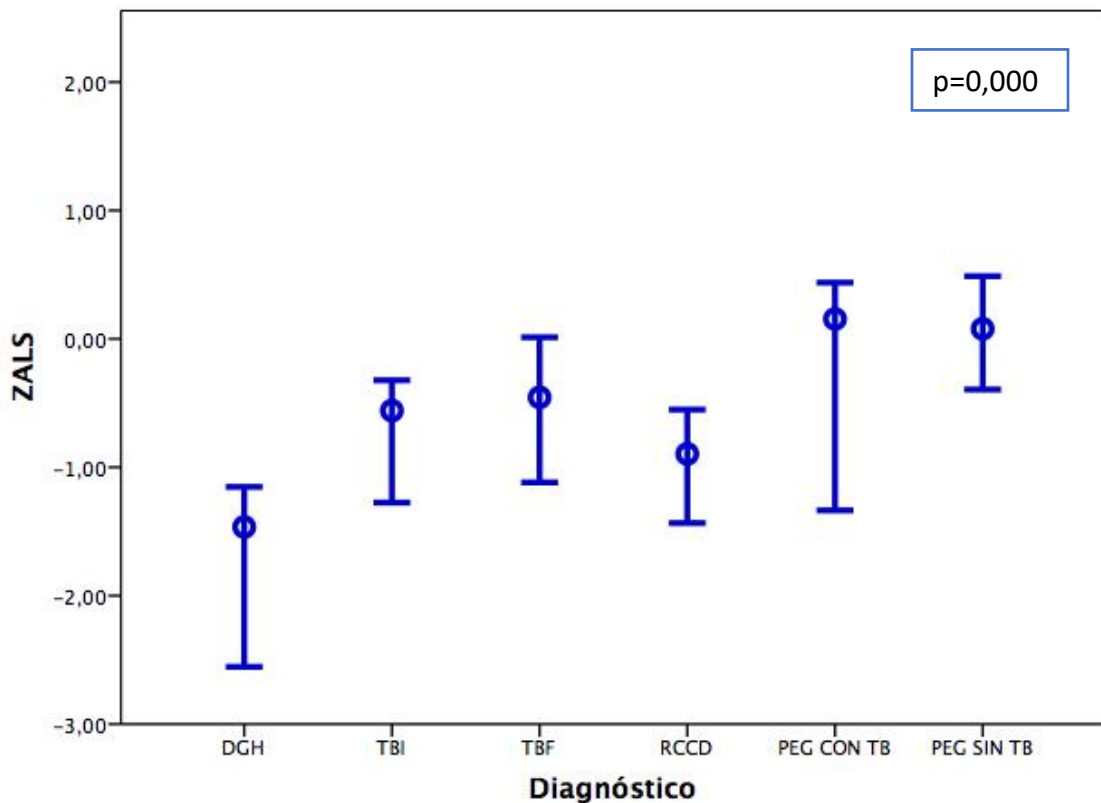


Figura 82. Distribución de ALS según el diagnóstico. ZALS no sigue una distribución normal ( $KS = 0,005$ ) por lo que se usan las medianas. KS: Test de Kolmogorov-Smirnov. ZALS: Z-Score de subunidad ácido lábil.

## 2. IGFBP3

En los pacientes con talla baja encontramos unos niveles de IGFBP3 de  $4,45 \pm 1,63 \mu\text{g/ml}$  ( $-0,56 \pm 1,5$  SD). Los niveles de IGFBP3 son significativamente menores en los pacientes con DGH con respecto al resto de etiologías de TB (figura 83,  $p=0,000$ ). No existen diferencias significativas entre PEG con y sin TB ni entre pacientes con TBI y RCCD (tabla 26).

P IGFBP3 SD (U)	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF
DGH	0,000	0,000	0,003	0,006	0,000
PEG CON TB	-	0,271	0,031	0,012	0,615
TBI	0,012	0,04	0,627	-	0,012
RCCD	0,031	0,092	-	0,627	0,053

Tabla 26. Diferencias de ZIGFBP3 entre distintos tipos de talla baja. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. U: test U de Mann-Whitney. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: Desviaciones estándar.

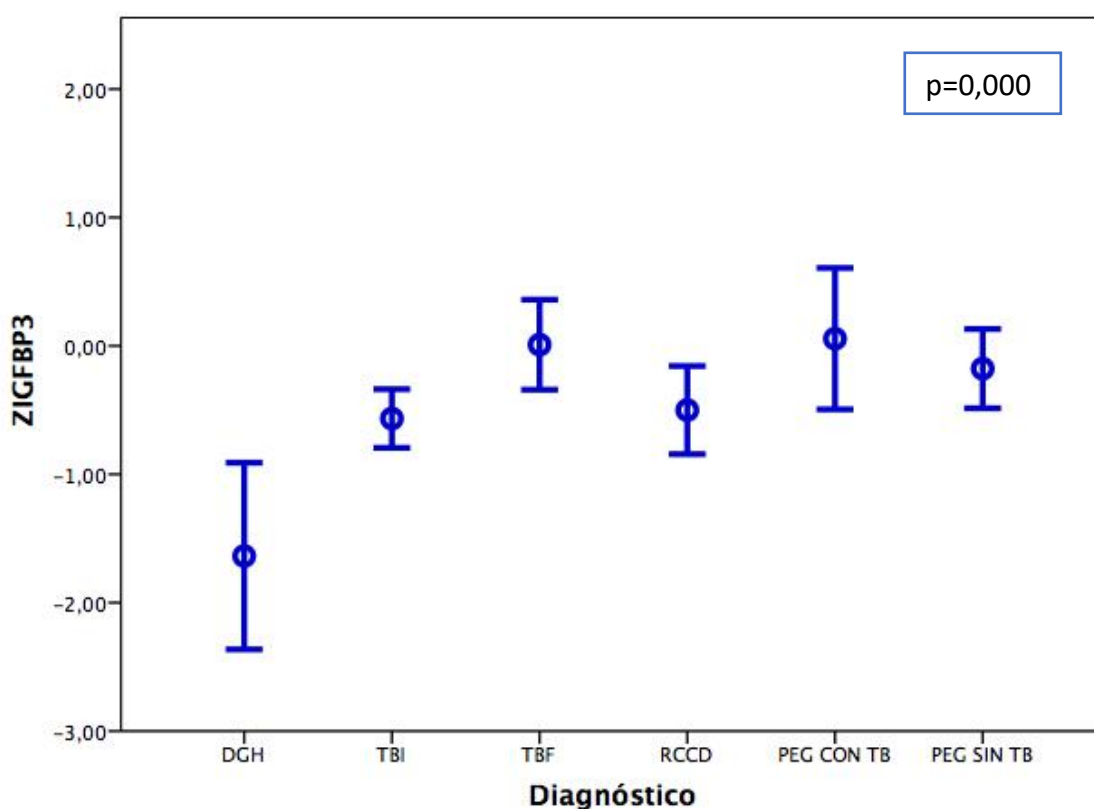


Figura 83. Distribución de IGFBP3 según el diagnóstico. ZIGFBP3 sigue una distribución normal ( $KS=0,137$ ) por lo que se usan las medias. KS: Test de Kolmogorov-Smirnov. ZIGFBP3: Z-Score de proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3.



### 3. IGF1:

Los niveles de IGF1 en los pacientes con talla baja son  $171 \pm 125$  ng/ml ( $-0,81 \pm 1,5$  SD). Los niveles de IGF1 son significativamente menores en los pacientes con DGH con respecto al resto de etiologías de TB (figura 84,  $p=0,000$ ). No existen diferencias significativas entre PEG con y sin TB ni entre pacientes con TBI y RCCD (tabla 27).

P IGF1 (U)	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF
DGH	0,000	0,000	0,001	0,004	0,000
PEG CON TB	-	0,795	0,007	0,000	0,108
TBI	0,000	0,000	0,247	-	0,005
RCCD	0,007	0,000	-	0,237	0,137

Tabla 27. Diferencias de IGF1 entre distintos tipos de talla baja. DGH: Déficit de Hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. U: test U de Mann-Whitney. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. SD: desviaciones estándar.

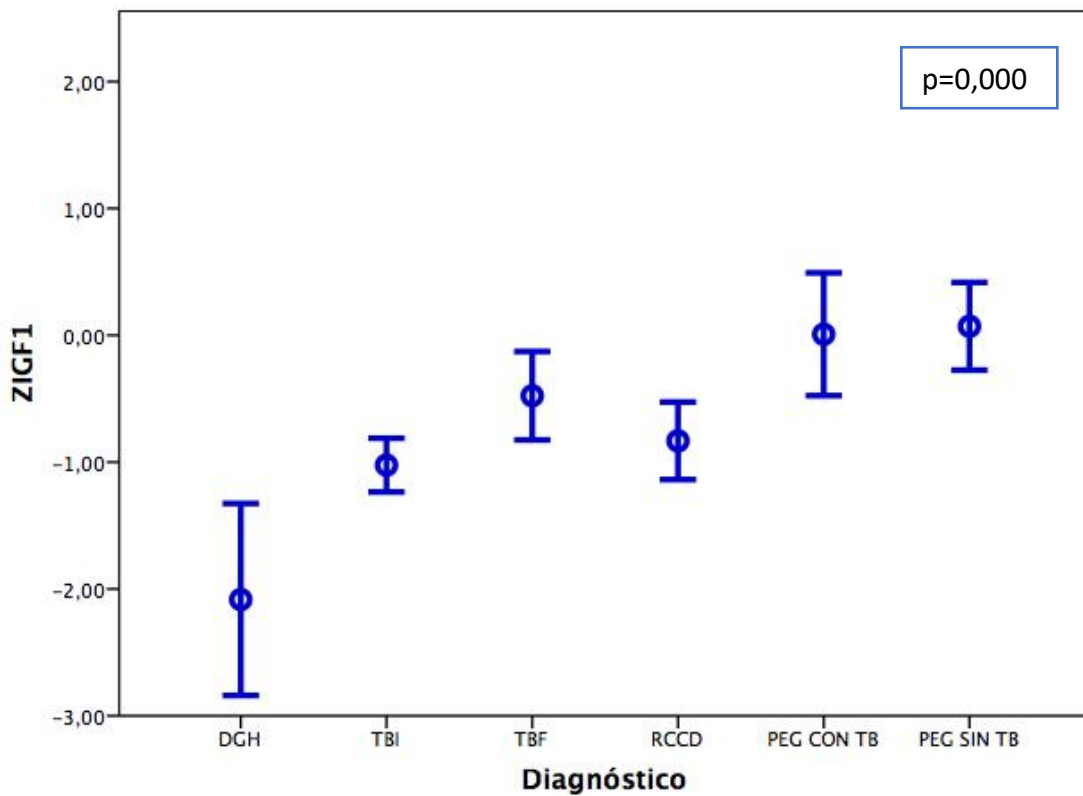


Figura 84. Distribución de IGF1 según el diagnóstico. ZIGF1 sigue una distribución normal ( $KS=0,467$ ) por lo que se usan las medias. KS: Test de Kolmogorov-Smirnov. ZIGF1: Z-Score del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

#### 4. Índice IGF1/IGFBP3

El índice IGF1/IGFBP3 molar presenta unos niveles de  $14,04 \pm 10,2$  ( $-0,47 \pm 1,4SD$ ) en los pacientes con talla baja. Existen diferencias en los niveles de este índice al estratificar por tipo de talla baja (figura 85,  $p=0,000$ ). En los pacientes sin tratamiento, el índice IGF1/IGFBP3 es significativamente más bajo en DGH y TBI con respecto a PEG con talla baja, no existen diferencias con el resto de causas de talla baja. No existen diferencias significativas en ninguno de los dos índices entre PEG con y sin TB ni entre RCCD y TBI (tabla 28).

P IGF1/IGFBP3 SD (U)	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF
DGH	0,000	0,000	0,029	0,09	0,024
PEG CON TB	-	0,480	0,003	0,000	0,036
TBI	0,000	0,000	0,237	-	0,069
RCCD	0,003	0,000	-	0,237	0,562

Tabla 28. Diferencias de ZIGF1/IGFBP3 entre distintos tipos de talla baja. DGH: Déficit de Hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. U: test U de Mann-Whitney. IGF1/IGFBP3: Ratio molar IGF1/IGFBP3. IGF1: factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: Desviaciones estándar.

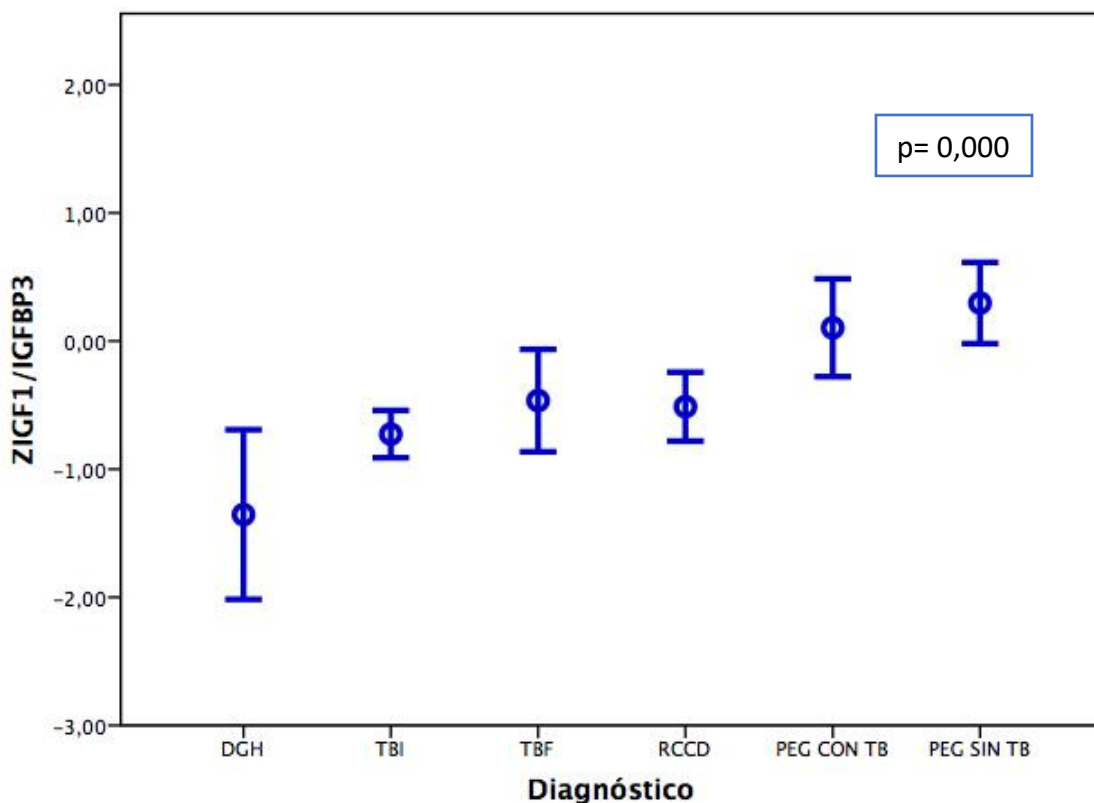


Figura 85. Distribución de IGF1/IGFBP3 según el diagnóstico. ZIGF1/IGFBP3 sigue una distribución normal ( $KS= 0,137$ ) por lo que se usan las medias. KS: Test de Kolmogorov-Smirnov. ZIGF1/IGFBP3: Z-Score de la ratio molar IGF1/IGFBP3. IGF1: factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3.

### 5. Índice IGFBP3/ALS:

No se observan diferencias estadísticamente significativas en los valores del índice IGFB3/ALS molar entre pacientes con talla baja de distinta etiología (figura 86). Se hallan unos valores de  $2,03 \pm 2,36$  ( $0,32 \pm 1,6SD$ ) en los pacientes con talla baja y sólo los pacientes PEG sin talla baja presentan valores de esta variable distintos a pacientes con DGH y TBI (tabla 29).

P IGFBP3/ALS SD (U)	PEG CON TB	PEG SIN TB	RCCD	TBI	TBF
DGH	0,296	<b>0,015</b>	0,293	0,495	0,44
PEG CON TB	-	0,097	0,976	0,714	0,932
TBI	0,714	<b>0,02</b>	0,552	-	0,801
RCCD	0,976	0,058	-	0,552	0,892

Tabla 29. Diferencias de IGFBP3/ALS entre distintos tipos de talla baja. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. TBI: talla baja idiopática. TBF: talla baja familiar. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. U: test U de Mann-Whitney. IGFBP3/ALS: ratio molar IGFBP3/ALS. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: Desviaciones estándar.

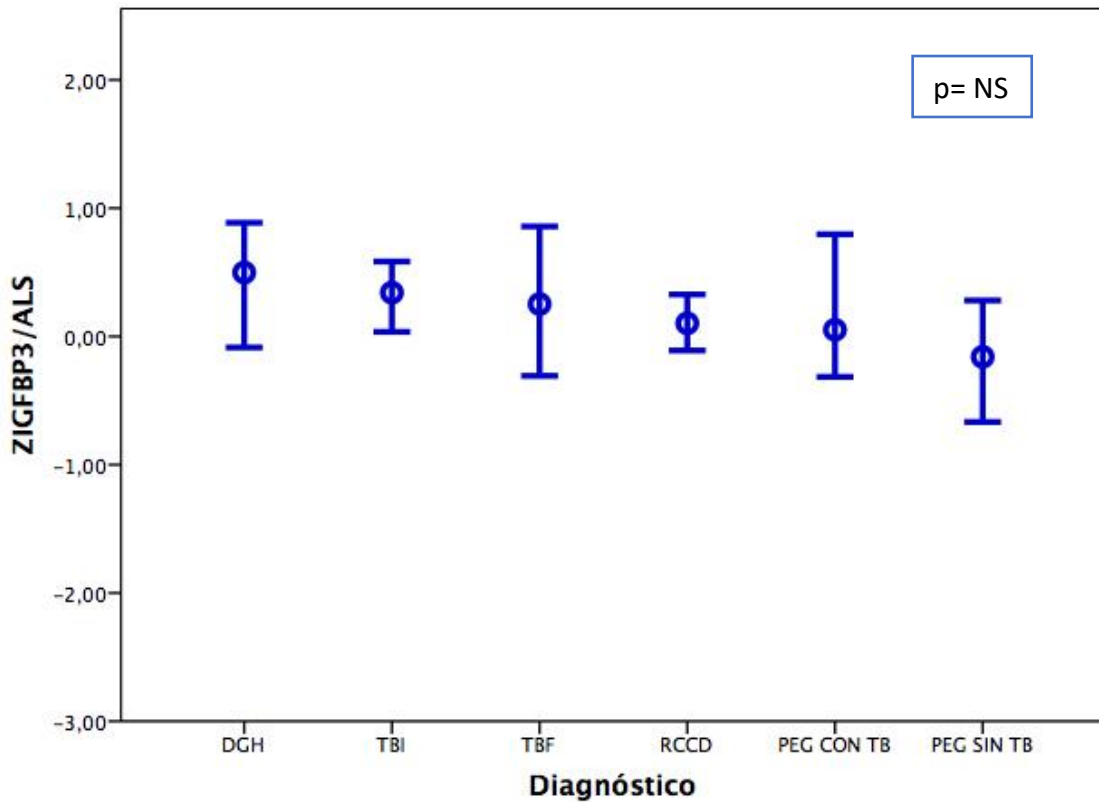


Figura 86. Distribución de IGFBP3/ALS según el diagnóstico. ZIGFBP3/ALS no sigue una distribución normal ( $KS= 0,000$ ) por lo que se usan las medianas. ZIGFBP3/ALS: Z-Score de la ratio molar IGFBP3/ALS. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: subunidad ácido lábil.

## B) ANÁLISIS MULTIVARIANTE:

### 1. PACIENTES CON TALLA BAJA SIN TRATAMIENTO

#### 1.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTE:

Se realiza un análisis discriminante por pasos (tablas 30, 31 y 32) mediante SPSS para diferenciar pacientes con talla baja por distintas etiologías en el que aparecen como variables independientes IGF1 medido en SD, y talla SD ( $p=0,000$ ).

Paso	Variable	Tolerancia	F para salir	Lambda de Wilks	Coficiente intraestructura
1	Talla SD	1	9,4		
2	Talla SD	0,942	7,6	0,898	0,813
	IGF1 SD	0,942	7	0,892	0,761

Tabla 30. Análisis discriminante por pasos de los pacientes con talla baja sin tratamiento. SD: Desviación estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

Función	Auto valor	Correlación canónica	Lambda de Wilks	p	coef IGF1 SD	Coef talla	Constante
1	0,151	0,362	0,819	0,000	0,42	0,62	1,7
2	0,061	0,240	0,942	0,000	0,59	-0,72	-1,1

Tabla 31. Resumen de las funciones canónicas discriminantes. Coef: Coeficiente de la función canónica discriminante. SD: Desviación estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

Al obtener sólo dos variables estadísticamente significativas, sería casi imposible separar los a priori 6 grupos distintos.

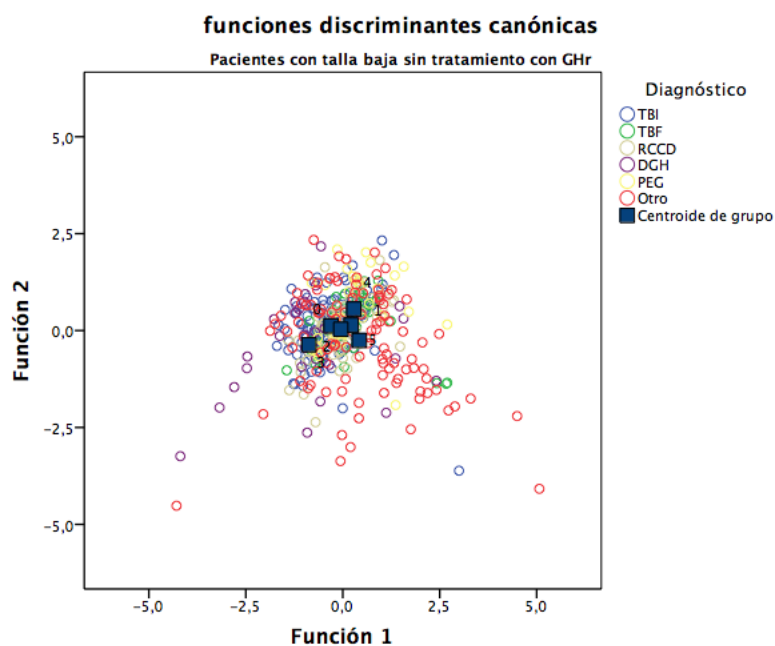


Figura 87. Funciones discriminantes canónicas en pacientes con talla baja

Función	Talla SD	IGF1 SD	IGF1/IGFBP3 SD	ALS SD	IGFBP3 SD
1	0,81	0,76	0,57	0,32	0,35
2	-0,58	0,65	0,53	0,21	0,27

Tabla 32. Matriz de estructura. SD: Desviaciones estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil.

La ALS medida en SD presenta un coeficiente de 0,32 e IGFBP3 SD 0,35. Aunque no presentan una influencia estadísticamente significativa se decide mantenerlas en el análisis multivariante por su importancia en el estudio.

### 1.2 ANÁLISIS MEDIANTE HJ-BIPLLOT:

Al analizar los factores de crecimiento de forma multivariante mediante HJ-biplot (figura 88) en todos los pacientes con talla baja de nuestro estudio, encontramos que los pacientes con déficit de hormona de crecimiento (DGH) y algunos de los pacientes con talla baja por otro motivo presentan valores de los tres componentes de crecimiento claramente menores a la media del resto de pacientes ya que se encuentran a la cola de los vectores IGF1, IGFBP3 y ALS.

Observamos también la variable talla es del eje 2 y que la variable IGF1 tiene una alta contribución al eje 1. El vector de la talla es muy amplio lo que nos indicaría que existe una gran variabilidad en esta variable.

Además, vemos que los valores de ALS SD e IGFBP3 SD se correlacionan de forma positiva entre ellos, existiendo un ángulo muy pequeño entre ambas variables. También se correlacionan de forma positiva IGF1, IGFBP3 y ALS. No existe correlación entre IGFBP3 y ALS con respecto a la talla SD, con la que forman un ángulo prácticamente de 90º, es decir, la variable talla parece independiente de los niveles de IGFBP3 y ALS medidos en SD. Los valores de IGF1 medidos en SD y la talla si parecen presentar una correlación positiva.

Los pacientes con DGH y algunos pacientes con talla baja por otro motivo presentan talla menor al resto de pacientes ya que se sitúan a la cola del vector talla en el eje 2.

La variable IGF1 tiene una alta contribución al eje 1 lo que nos permite distinguir que los pacientes con DGH presentan niveles menores de este factor de crecimiento con respecto al resto de causas de TB, ya que la mayoría de los pacientes con DGH se encuentran en la cola del vector IGF1 (figura 88).

Observamos que la mejor calidad de representación de la columna talla aparece en el eje 2, mientras ALS e IGF1 tienen mayor calidad en los ejes 1 y 3 (tablas 33 y 34) por lo que dibujamos el biplot en estos ejes (Figura 89).

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Talla SD	18,7	77,1	2,8
ALS SD	58,8	6,7	26,7
IGFBP3 SD	62,9	8,8	0,6
IGF1 SD	62,8	0,5	26,4

Tabla 33. Calidad de representación de las columnas de las figuras 88 y 89 medido en porcentaje.

	Expl. Var.	Acumulado
Eje 1	50,6	50,6
Eje 2	23,3	73,9
Eje 3	14,0	87,9
Eje 4	12,1	100

Tabla 34. Explicación de varianza de las figuras 88 y 98 medido en porcentaje.

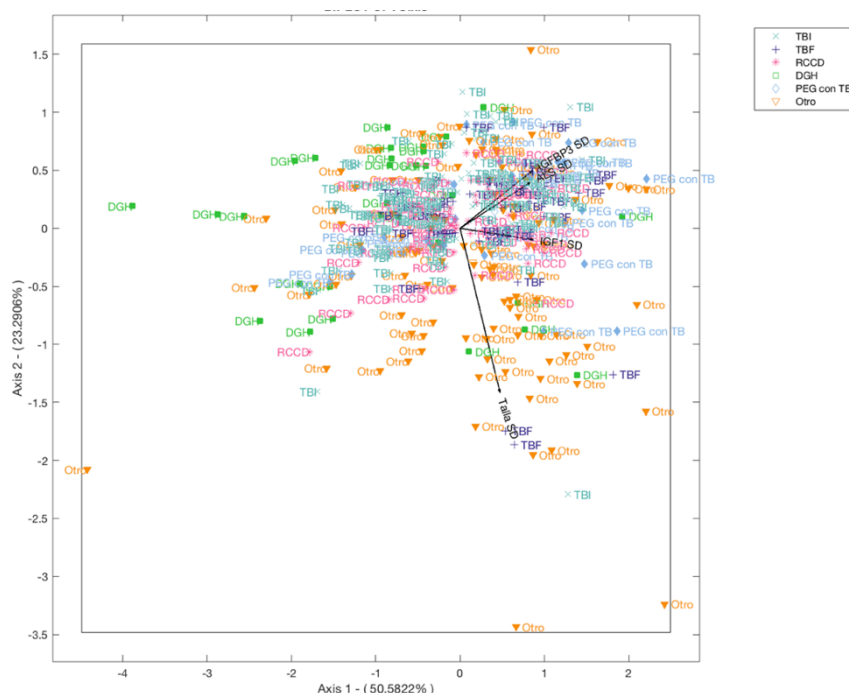


Figura 88. Representación mediante HJ-Biplot del análisis multivariante de IGF1, IGF1/IGFBP3, ALS y talla en pacientes con talla baja de distinta etiología en ejes 1 y 2.

RMP: Row principal normalization (Normalización por columnas principales). TBI: Talla baja idiopática. TBF: Talla baja familiar. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG con TB: Pequeño para la edad gestacional con talla baja. Otro: Pacientes con talla baja de otra etiología. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGF1/IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

En el plano 1-3 (figura 89) vemos que los valores de IGF1 se correlacionan con IGF1/IGFBP3, pero no con la talla y los valores de ALS. Observamos también que los pacientes con talla baja por DGH son los que presentan valores más bajos de talla y de factores de crecimiento, ya que son los pacientes que se encuentran más lejos de la cola de todos los vectores. El resto de los pacientes se sitúan de forma dispersa alrededor del biplot.

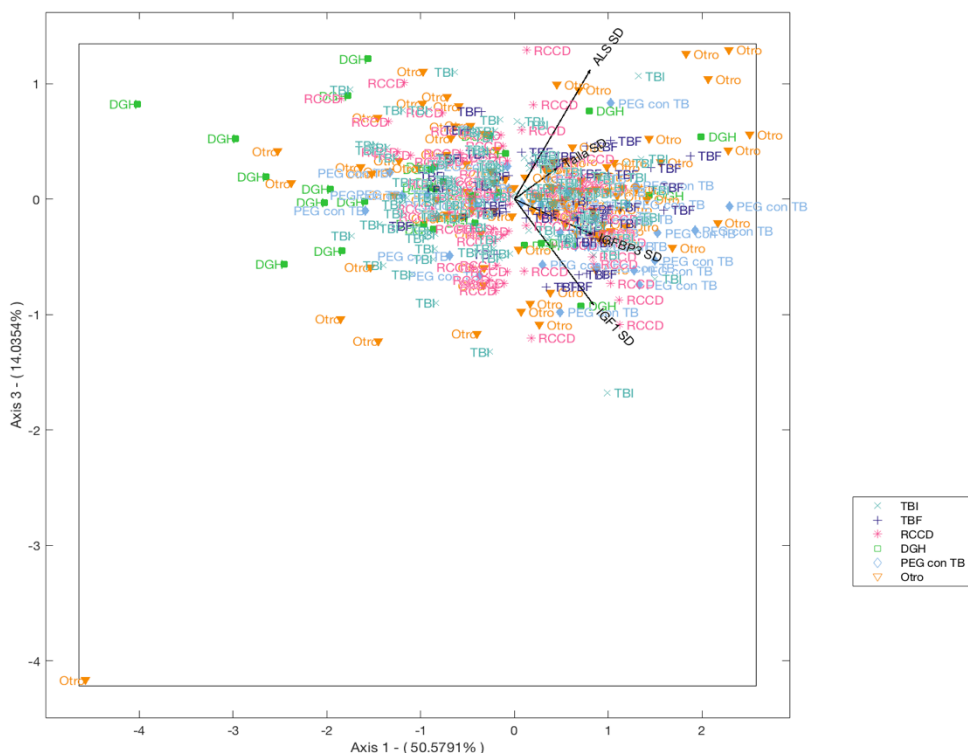


Figura 89. Representación mediante HJ-biplot del análisis multivariante de IGF1, IGFBP3, ALS y talla en pacientes con talla baja de distinta etiología en el plano 1-3.

RMP: Row principal normalization (Normalización por columnas principales). TBI: Talla baja idiopática. TBF: Talla baja familiar. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG con TB: Pequeño para la edad gestacional con talla baja. Otro: Pacientes con talla baja de otra etiología. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

## 2. PACIENTES CON TALA BAJA IDIOPÁTICA, RCCD Y TBF

La clasificación de estos pacientes en uno u otro grupo a menudo da lugar a múltiples pruebas en la consulta de endocrinología, conseguir un modelo de clasificación nos permitiría disminuir el número de pruebas invasivas en estos pacientes.

### 2.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTE

Se realiza un análisis discriminante por pasos mediante SPSS para diferenciar pacientes con talla baja idiopática, RCCD y TBF en el que aparece como variable de clasificación la talla SD y los niveles de IGFBP3 medidos en SD (p=0,001) con un coeficiente intraestructura de 1.

Paso	Variable	Tolerancia	F	Lambda de Wilks	Coficiente intraestructura	Auto valor	Correlación canónica
1	Talla SD	1	9,5	0,94	1	0,06	0,24

Tabla 35. Análisis discriminante por pasos de los pacientes con TBI, TBF y RCCD. SD: Desviación estándar.

La función descrita presenta un autovalor de 0,06 y una correlación canónica de 0,24. El coeficiente de la función discriminante para la talla sería 1,37 y la constante 3,34. Con esta función discriminante sólo se clasificarían correctamente el 51,6% de los casos.

Las variables ALS, IGFBP3 e IGF1 medidas en SD presentan un coeficiente de 0,07, 0,04 y 0,21 respectivamente, lo cual indica poca variabilidad entre los grupos. Decidimos añadirlas también al análisis multivariante mediante HJ-biplot por ser las variables principales del estudio.

## 2.2 ANÁLISIS MEDIANTE HJ-BIPLLOT

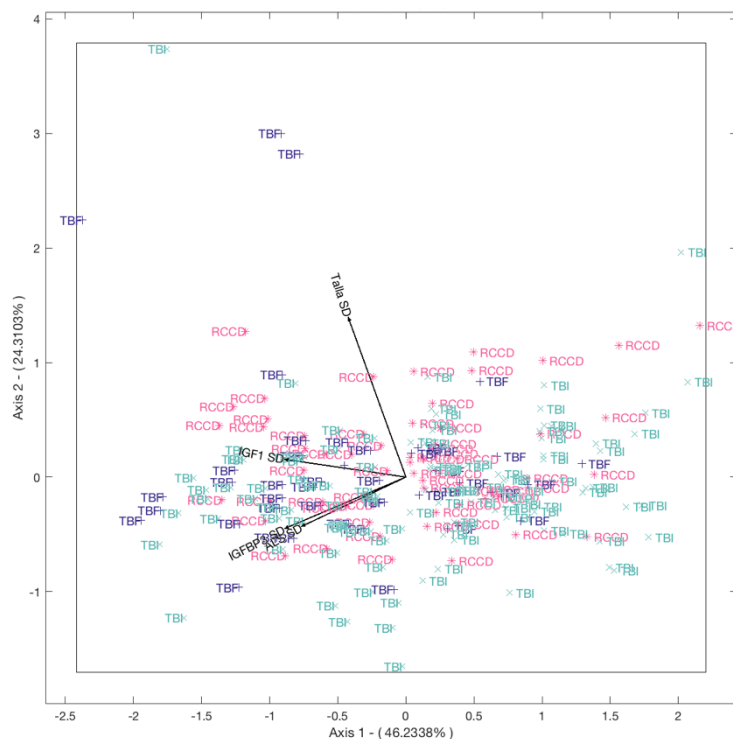


Figura 90. Representación multivariante de los pacientes con TBI, TBF y RCCD mediante HJ- biplot en plano 1-2. TBI: Talla baja idiopática. TBF: Talla baja familiar. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

En el biplot (figura 90) vemos que la talla es una variable de eje 2 y que presenta gran variabilidad ya que el vector es largo. Los valores de IGF1 SD tienen gran contribución al eje 1 y se correlacionan de forma positiva con los valores de IGFBP3 y ALS. El ángulo entre ALS e IGFBP3 es casi inexistente por lo que existe una gran correlación entre estas variables.

Los pacientes con TBI parecen tener una talla medida en SD menor que los pacientes con RCCD ya que vemos que se colocan en dos grupos a lo largo del eje 2.

Finalmente, el análisis de todas estas variables en conjunto no nos permite diferenciar entre pacientes con talla baja idiopática, retraso constitucional y el desarrollo y talla baja



familiar ya que todos los puntos aparecen mezclados y con gran dispersión al analizar los resultados mediante clúster predeterminado por diagnóstico (figura 90).

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Talla SD	14,1	79,9	3,3
ALS SD	45,3	8,3	44,7
IGFBP3 SD	62,1	8,1	6,4
IGF1 SD	62,7	1,1	16,2

Tabla 36. Calidad de representación de las columnas de la figura 90 medida en porcentaje.

	Expl. Var.	Acumulado
Eje 1	46,2	46,2
Eje 2	24,3	70,5
Eje 3	17,5	88,1
Eje 4	11,9	100

Tabla 37. Explicación de varianza de la figura 90 medida en porcentaje.

Los ejes con mejor calidad de representación (tablas 36 y 37) son 1 y 2 por lo que se dibuja el biplot en plano 1-2. Los biplots de representación en planos 1-3 y 2-3 (anexo V) tampoco nos permiten diferenciar los pacientes con TBI de distinta etiología (RCCD, TBF y TBI propiamente dicha) ya que los pacientes se reparten de forma difusa tanto en el eje X como en el Y.

### 3. PACIENTES PEQUEÑOS PARA LA EDAD GESTACIONAL

#### 3.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTE

Para clasificar pacientes PEG con y sin talla baja, se lleva a cabo un análisis discriminante por pasos mediante SPSS no encontrando significación en ninguna de las variables estudiadas. Obteniendo una lambda de Wilks de 0,95 ( $p=0,53$ ), un autovalor de 0,06 y una correlación canónica de 0,23.

IGF1 SD	IGF1/IGFBP3 SD	ALS SD	IGFBP3 SD
-0,11	0,37	-0,57	0,38

Tabla 38. Matriz de estructura. SD: Desviaciones estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil.

#### 3.2 ANÁLISIS MEDIANTE HJ-BIPLLOT

Se realiza un análisis multivariante mediante HJ-biplot para visualizar si los factores en crecimiento en conjunto pueden ayudarnos a diferenciar los pacientes pequeños para la edad gestacional con talla baja presentan valores distintos a aquellos pacientes PEG que no presentan talla baja.

La mayor calidad de representación se observa en los ejes 1 y 2 (tablas 39 y 40)

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
ALS SD	73,2	2,4	24,4
IGFBP3 SD	33,6	60,8	4,8
IGF1 SD	91,6	1	5,6
IGF1/IGFBP3 SD	47,3	50,3	1

Tabla 39. Calidad de representación de las columnas de la figura 91 medida en porcentaje.

	Expl. Var.	Acumulado
Eje 1	61,45	61,4
Eje 2	28,63	90,1
Eje 3	8,94	99
Eje 4	0,98	100

Tabla 40. Explicación de varianza de la figura 91 medida en porcentaje.

El gráfico en plano 1-2 (figura 91) que la IGF1 y la ALS medidas en SD se correlacionan entre si y tienen gran contribución al eje 1. IGFBP3 y ALS también presentan correlación positiva.

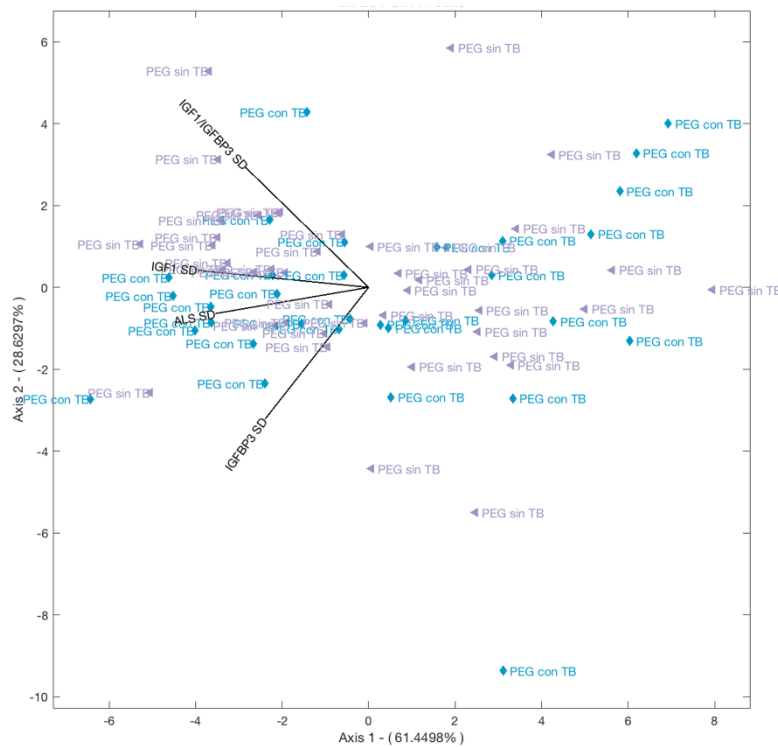


Figura 91. Representación por HJ-biplot del análisis multivariante de los pacientes PEG en plano 1-2. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

Los pacientes PEG con y sin talla baja se reparten de forma difusa a lo largo del HJ-biplot en plano 1-2, por lo que el análisis multivariante de los factores de crecimiento en conjunto no permitiría clasificar a estos pacientes en uno u otro grupo. Los biplots en planos 1-3 y 2-3 no aportan más información por lo que no se adjuntan.

## 16.4. Factores de crecimiento y su respuesta al tratamiento con hormona de crecimiento

### TOTAL DE MUESTRAS:

Valorando la forma de respuesta de los distintos factores de crecimiento al tratamiento con GHr se estudian un total de 691 muestras en 337 pacientes, con una distribución según la etiología de la talla baja que se puede ver en la tabla 41.

Nº pacientes (Nº muestras)	SIN TRATAMIENTO		TRATAMIENTO CON GHr	
	VARONES	MUJERES	VARONES	MUJERES
DGH	12 (20)	5 (11)	18 (90)	12 (64)
PEG con TB	12 (15)	17 (17)	12 (50)	11 (46)
TBI	44 (58)	44 (57)	5(5)	4(6)
RCCD	34 (41)	22 (25)	1 (2)	1 (1)
OTRO	27 (47)	36 (64)	10 (46)	10 (26)
<b>TOTAL</b>	<b>129 (181)</b>	<b>124 (174)</b>	<b>46 (193)</b>	<b>38 (143)</b>

Tabla 41. Muestras de pacientes con talla baja con y sin tratamiento. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. GHr: hormona de crecimiento recombinante.

Como hemos descrito anteriormente, se objetivó que todas las variables presentan una distribución no normal por lo que los resultados se presentan como *mediana* (rango intercuartílico: p25/p75).

Analizando los valores de los distintos factores de crecimiento en el total de muestras encontramos que los niveles de todos los factores de crecimiento son mayores en los pacientes que reciben tratamiento con GHr con respecto a los pacientes con talla baja que no reciben tratamiento con GHr (tabla 42). En los pacientes que reciben tratamiento encontramos niveles dentro del rango de normalidad, entre -1,5 y +1,5SD.

	Sin tratamiento	Con tratamiento	p (U)
ALS	-0,59SD (-1,9/0,21)	0,31SD (0,6/0,95)	0,000
IGF1	-0,77SD (-1,68/0,25)	0,83SD (0,16/1,36)	0,000
IGFBP3	-0,45SD (-1,2/0,33)	0,57SD (-0,01/1,18)	0,000
IGF1/IGFBP3 molar	-0,53SD (-1,23/0,34)	0,53SD (-0,06/1,23)	0,000
IGFB3/ALS molar	0,23SD (-0,42/0,95)	0,11SD (-0,5/0,97)	0,266

Tabla 42. Niveles de factores de crecimiento en las muestras de pacientes con talla baja con y sin tratamiento presentados como mediana y entre paréntesis su rango intercuartílico. SD: Desviación estándar. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. U: test de U de Mann Whitney.

## DOSIS DE GHr:

La dosis de GHr administrada en cada paciente es distinta según la etiología de la TB, y se calcularon según la práctica clínica habitual, presentando una dosis más baja en el DGH, en el que se usa a dosis fisiológicas, y más elevada en el resto (tabla 43).

Dosis GHr (mg/kg)	DGH	PEG	TBI	OTRO	p (U)
media ± SD	0,029±0,01	0,038±0,01	0,031± 0,02	0,044±0,01	0,000
Mediana	0,030	0,039	0,033	0,045	
P25	0,027	0,034	0,026	0,040	
P75	0,034	0,046	0,044	0,049	

Tabla 43. Dosis de GHr según la etiología de la TB. GHr: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TBI: talla baja idiopática. U: U de Mann Whitney. SD: Desviaciones estándar. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

El nivel de ALS medido en desviaciones estándar se correlaciona de forma positiva con la dosis por Kg de GHr recibida en los pacientes con TB y DGH, no ocurriendo esta correlación en niños PEG con talla baja (tabla 44). Los niveles de IGFBP3 (SD) sólo se correlacionan con la dosis de GH por kg en los niños con DGH. Los niveles de IGF1 y del índice IGF1/IGFBP3 molar medidos en desviaciones estándar se correlacionan con la dosis por kg en DGH, TBI y niños PEG con TB.

Correlación dosis GH/Kg (p)	ALS SD	IGF1 SD	IGFBP3 SD	ZIGF1/IGFBP3 SD	ZIGFBP3/ALS SD
DGH	0,3 (0,000)	0,5 (0,000)	0,3 (0,000)	0,4 (0,000)	NS
PEG CON TB	NS	0,3 (0,000)	NS	0,2 (0,006)	NS
TBI	0,3 (0,002)	0,3 (0,000)	NS	0,3 (0,000)	NS

Tabla 44. Correlaciones de la dosis de GHr por kg con las distintas variables según el tipo de talla baja. NS: No significativo. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: Desviaciones estándar.

## MUESTRAS APAREADAS

Se recogen muestras apareadas, es decir, muestras del mismo paciente con y sin tratamiento, de 23 pacientes (tabla 45). Se trata de 6 pacientes con TBI, de 7 pacientes DGH, un paciente PEG y 9 pacientes con talla baja de otra etiología (mutación *PAR1*, mutación *SHOX*, insuficiencia renal crónica, síndrome de Prader Willi, déficit de IGF1, raquitismo, dos pacientes con Turner, una paciente con mutación *CNP* y un paciente con RCCD.

Nº pacientes (Nº muestras)	SIN TRATAMIENTO		TRATAMIENTO CON GHR	
	VARONES	MUJERES	VARONES	MUJERES
DGH	6 (8)	1 (1)	6 (21)	1 (1)
PEG con TB	0	1(1)	0	1(3)
TBI	4 (9)	2 (3)	4(4)	2 (4)
RCCD	1 (1)	0	1 (2)	0
OTRO	3 (3)	6 (10)	3(11)	6 (14)
<b>TOTAL</b>	<b>13 (20)</b>	<b>10 (15)</b>	<b>13 (36)</b>	<b>10 (22)</b>

Tabla 45. Pacientes en los que tenemos muestras sanguíneas con y sin tratamiento con GHR. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. GHR: hormona de crecimiento recombinante.

Los niveles de todos los factores excepto del índice IGFBP3/ALS molar se incrementan de forma estadísticamente significativa (p=0,000) en los pacientes que inician tratamiento con GHR (tabla 46).

Pacientes con datos apareados	Sin tratamiento	Con tratamiento	P (Wilcoxon)
<b>ALS</b>	-1,31(-2,5/0,07)	0,47SD (-0,51/1,01)	0,000
<b>IGF1</b>	-1,48SD (-1,94/-0,6)	0,75SD (0,19/1,62)	0,000
<b>IGFBP3</b>	-0,86SD (-2/0,03)	0,50SD (-0,56/1,08)	0,000
<b>IGF1/IGFBP3 molar</b>	-0,57SD (-1,05/0,3)	0,63SD (-0,04/1,58)	0,000
<b>IGFBP3/ALS molar</b>	0,24SD (-0,45/0,75)	-0,1SD (-1,03/0,76)	0,135

Tabla 46. Niveles de los distintos factores de crecimiento en los pacientes de los que tenemos datos con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: Desviaciones estándar.

## A) ANALISIS UNIVARIANTE:

### 1. ALS:

De forma general los niveles de ALS son mayores ( $p=0,000$ ) en los pacientes en tratamiento con hormona de crecimiento, pasando de  $-0,59SD$  ( $-1,9/0,21$ ) a  $0,31SD$  ( $0,6/0,95$ ) con una dosis media de tratamiento con hormona de crecimiento de  $0,035 \pm 0,01$  mg/kg/día.

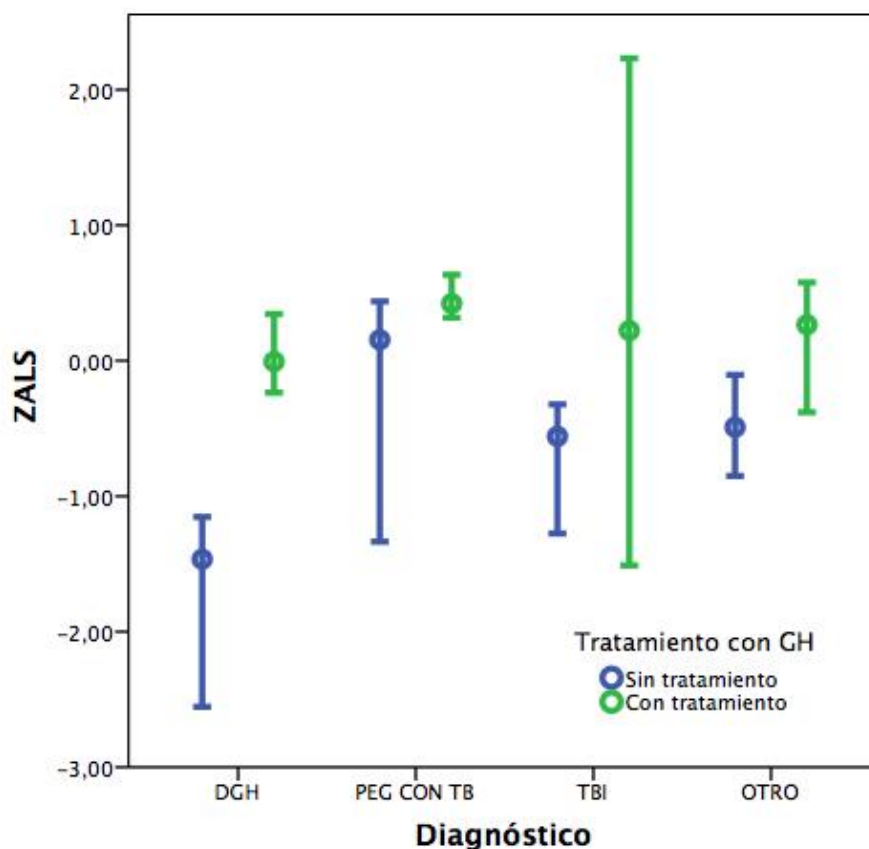


Figura 92. Distribución de las desviaciones estándar de ALS según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: Desviaciones estándar. TTO: Tratamiento. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. ZALS presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana/rango intercuartílico.

En valores absolutos, la mediana y el rango intercuartílico de la ALS en los pacientes sin tratamiento es de 1426 mU/ml (1058/1884 mU/ml) mientras que en los pacientes con tratamiento es de 1971 mU/ml (1498/2485 mU/ml).

Existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de ALS de los pacientes con distintos tipos de talla baja en pacientes sin tratamiento ( $p=0,001$ ). En los pacientes con tratamiento, no encontramos diferencias significativas pero el p valor se acerca a la significación ( $p=0,053$ )

Al estratificar por causa de talla baja vemos que los niveles de ALS en las muestras de pacientes con tratamiento son superiores a los niveles en las muestras de pacientes sin tratamiento en todos los tipos de talla baja analizados (tabla 47 y figura 92).

TOTAL	ALS (SD)		
	SIN TTO	CON TTO	P (U)
DGH	-1,46 (-3,6/-1)	0 (-0,85/0,79)	0,000
PEG con TB	0,15 (-1,9/0,66)	0,42 (-0,1/1)	0,006
TBI	-0,56 (-1,9/0,2)	0,22(-1,1/2,2)	0,024
OTRO	-0,49 (-2,1/0,2)	0,27 (-1/1)	0,003
P (KW)	<b>0,001</b>	<b>0,053</b>	

Tabla 47. Distribución de las desviaciones estándar de ALS según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: Desviaciones estándar. TTO: Tratamiento con GHr. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. KW: Kruskal-Wallis. U: U de Mann Whitney. ZALS presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana (rango intercuartílico: p25/p75).

Se lleva a cabo un análisis de muestras apareadas usando los pacientes de los que existen datos con y sin tratamiento y objetivamos que los niveles de ALS se elevan de forma significativa en todos los pacientes que inician tratamiento con GHr (Tabla 48).

Solo hay datos pre y post tratamiento de un paciente PEG con talla baja y un paciente con RCCD por lo que sus datos no son valorables, pero vemos que se elevan las SD de la ALS tras iniciar la GHr.

ALS SD Datos apareados	Sin tratamiento	Con tratamiento	P (Wilcoxon)
DGH	-2,18 (-6,06/-1,38)	0,42 (-0,61/0,73)	0,000
TBI	-1,39 (-1,96/-1,27)	0,14 (-0,92/1,96)	0,017
PEG con TB	0,16	0,71	
RCCD	-2,5	-0,22	
Otro	0,04 (-0,28/0,76)	0,93 (0,08/1,71)	0,009

Tabla 48. Niveles de ALS en pacientes con talla baja que tienen mediciones sin tratamiento y con tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. ALS: subunidad ácido lábil. SD: desviaciones estándar. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja.

## 2. IGFBP3:

De forma general los niveles de IGFBP3 son mayores ( $p=0,000$ ) en los pacientes en tratamiento con hormona de crecimiento, pasando de  $-0,77SD (-1,68/0,25)$  a  $0,57SD (-0,01/1,18)$  con una dosis media de tratamiento con hormona de crecimiento de  $0,035 \pm 0,01$  mg/kg/día.

En valores absolutos, la mediana y el rango intercuartílico de la IGFBP3 en los pacientes sin tratamiento es de  $4,38 \mu\text{g/ml} (3,47/5,39)$  mientras que en los pacientes con tratamiento es de  $5,83 \mu\text{g/ml} (4,79/6,85)$ .

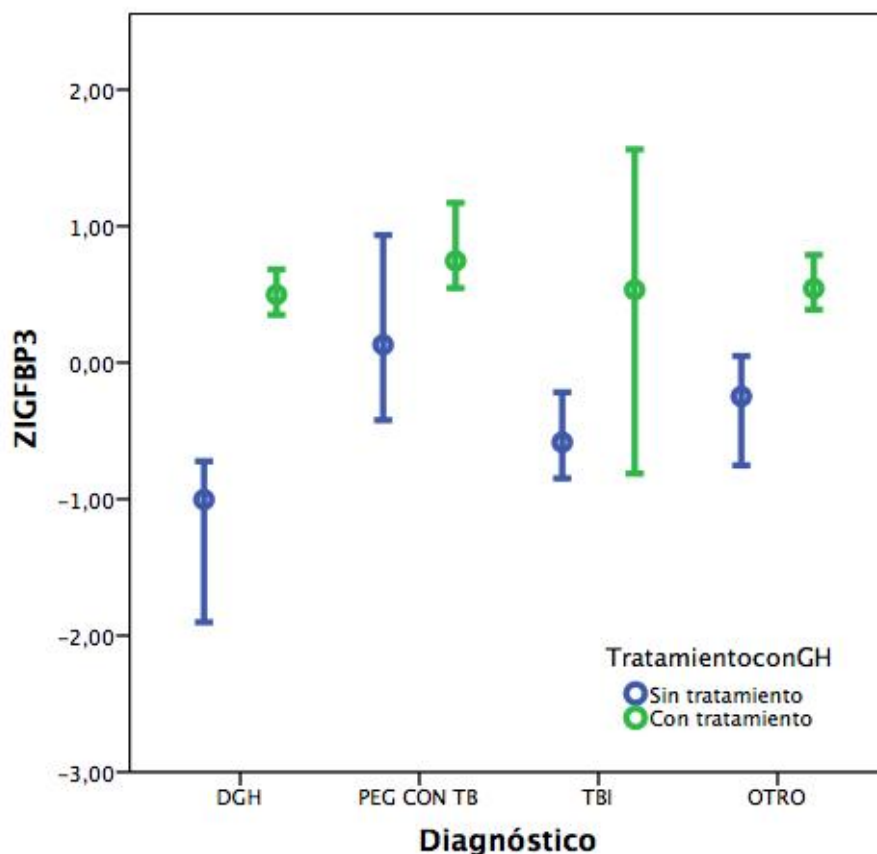


Figura 93. Distribución de las desviaciones estándar de IGFBP3 según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con GH. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. ZIGFBP3 presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana/rango intercuartílico.

Al estratificar por causa de talla baja vemos que los niveles de IGFBP3 en las muestras de pacientes con tratamiento son superiores a los niveles en las muestras de pacientes sin tratamiento en todos los tipos de talla baja analizados. Existen también diferencias significativas en los niveles de IGFBP3 entre los distintos tipos de talla baja tanto en los pacientes con tratamiento como sin tratamiento (figura 93 y tabla 49).



TOTAL	IGFBP3 (SD)		
	SIN TTO	CON TTO	P (U)
DGH	-1 (-3,4/-0,5)	0,50 (0/1,1)	0,000
PEG con TB	0,13 (-0,8/1,2)	0,75 (0,1/1,7)	0,003
TBI	-0,58 (-1,3/0,2)	0,53 (-0,7/1,1)	0,005
OTRO	-0,25 (-1,4/0,3)	0,54 (-0,2/1,1)	0,000
P (KW)	0,000	0,030	

Tabla 49. Distribución de las desviaciones estándar de IGFBP3 según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con GHr. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: Desviaciones estándar. TTO: Tratamiento con GHr. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. KW: Kruskal-Wallis. U: U de Mann Whitney. ZIGFBP3 presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana (rango intercuartílico: p25/p75).

Se efectúa un análisis de muestras apareadas usando los pacientes de los que hay datos con y sin tratamiento y objetivamos que los niveles de IGFBP3 se elevan de forma significativa en los pacientes con DGH y TBI, pero no en los pacientes con TB de otra etiología (tabla 50).

Se observa elevación de la IGFBP3 en el único paciente PEG y en el único paciente con RCCD, aunque no se puede evaluar la significación.

IGFBP3 SD Datos apareados	Sin tratamiento	Con tratamiento	P (Wilcoxon)
DGH	-3,43 (-5,12/-1,4)	0,23 (-0,73/0,67)	0,000
TBI	-1,65 (-2,37/0,79)	0,36 (-0,77/1,13)	0,017
PEG con TB	1,21	1,47	
RCCD	-1,2	-0,07	
Otro	0,14 (-0,21/0,98)	0,61 (-0,61/1,47)	0,367

Tabla 50. Niveles de IGFBP3 en pacientes con talla baja que tienen mediciones sin tratamiento y con tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: desviaciones estándar. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja.

### 3. IGF1:

De forma general los niveles de IGF1 son mayores ( $p=0,000$ ) en los pacientes en tratamiento con hormona de crecimiento, pasando de  $-0,45SD$  ( $-1,2/0,33$ ) a  $0,83SD$  ( $0,16/1,36$ ) con una dosis media de tratamiento con hormona de crecimiento de  $0,035 \pm 0,01$  mg/kg/día.

En valores absolutos, la mediana y el rango intercuartílico de la IGF1 en los pacientes sin tratamiento es de 149,69 ng/ml (86,187226,03) mientras que en los pacientes con tratamiento es de 320,09 ng/ml (216,67/428).

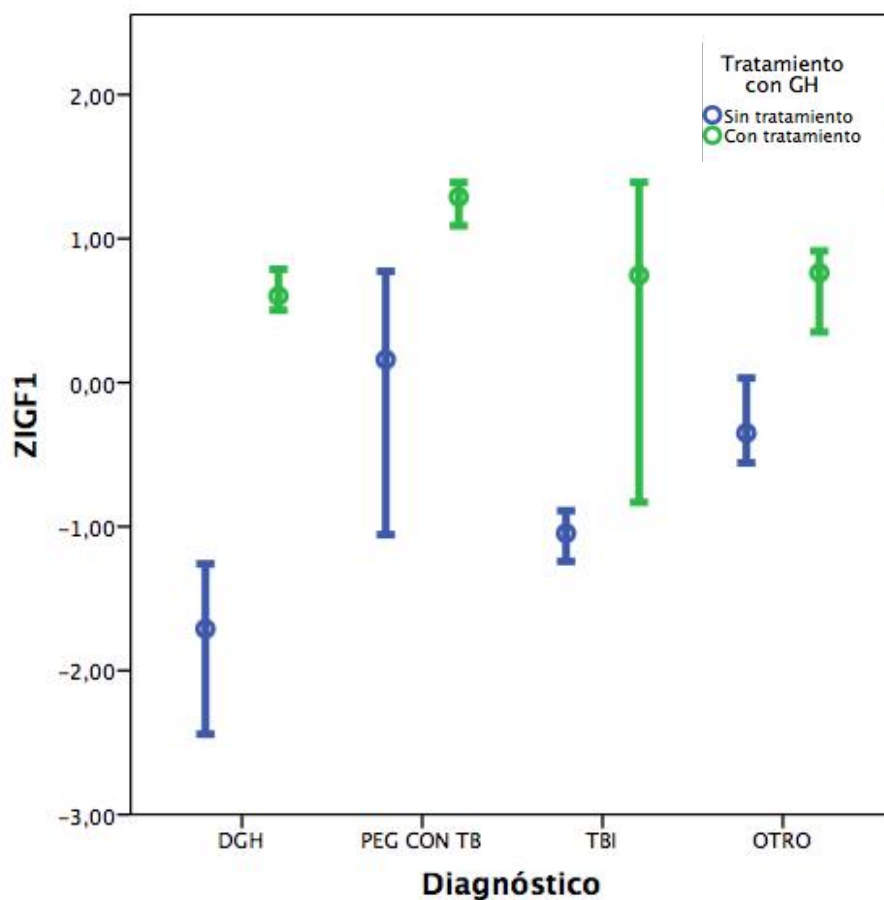


Figura 94. Distribución de las desviaciones estándar de IGF1 según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. ZIGF1 presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana/rango intercuartílico.

Los niveles de IGF1 en las muestras de pacientes con tratamiento son superiores a los niveles en las muestras de pacientes sin tratamiento en todos los tipos de talla baja analizados. También observamos diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de IGF1 de los pacientes con talla baja de distinta etiología tanto sin tratamiento como con tratamiento (figura 94 y tabla 51).

	IGF1 (SD)		
	SIN TTO	CON TTO	P (U)
DGH	-1,7(-2,8/-1,1)	0,6(0/1,2)	0,000
PEG con TB	0,2(-1,1/0,9)	1,3(0,6/1,8)	0,000
TBI	-1(-1,8/-0,3)	0,7(-0,6/1,2)	0,000
OTRO	-0,3(-1,3/0,5)	0,8(0/1,2)	0,000
P (KW)	0,000	0,000	

Tabla 51. Distribución de las desviaciones estándar de IGF1 según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. SD: Desviaciones estándar. TTO: Tratamiento con GHr. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. KW: Kruskall-Wallis. U: U de Mann Whitney. ZIGF1 presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana (rango intercuartílico: p25/p75).

Se realiza un análisis de muestras apareadas usando los pacientes de los que existen datos con y sin tratamiento y objetivamos que los niveles de IGF1 se elevan de forma significativa en todos los pacientes que inician tratamiento con GHr (tabla 52).

Nuevamente sólo tenemos datos pre y post tratamiento de un paciente PEG con talla baja y un paciente con RCCD por lo que sus datos no son valorables, aunque si vemos elevación de la IGF1 tras el inicio del tratamiento.

IGF1 SD Datos apareados	Sin tratamiento	Con tratamiento	P (Wilcoxon)
DGH	-2 (-4,21/-1,69)	0,35 (-0,20/1,48)	0,000
TBI	-1,76 (-2,46/-1,11)	0,56 (-0,76/1,28)	0,012
PEG con TB	1,47	1,55	
RCCD	0,45	1,14	
Otro	-0,68 (-1,23/0,53)	0,82 (0,26/2,4)	0,000

Tabla 52. Niveles de IGF1 en pacientes con talla baja que tienen mediciones sin tratamiento y con tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. SD: desviaciones estándar. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja.

#### 4. Índice IGF1/IGFBP3 molar:

De forma general los niveles de IGF1/IGFBP3 son mayores ( $p=0,000$ ) en los pacientes en tratamiento con hormona de crecimiento, pasando de  $-0,53SD (-1,23/0,34)$  a  $0,53SD (-0,06/1,23)$  con una dosis media de tratamiento con hormona de crecimiento de  $0,035 \pm 0,01$  mg/kg/día.

En valores absolutos, la mediana y el rango intercuartílico de la IGF1/IGFBP3 en los pacientes sin tratamiento es de 12,04 (8,69/17,22) mientras que en los pacientes con tratamiento es de 20,41 (15,02/25,63).

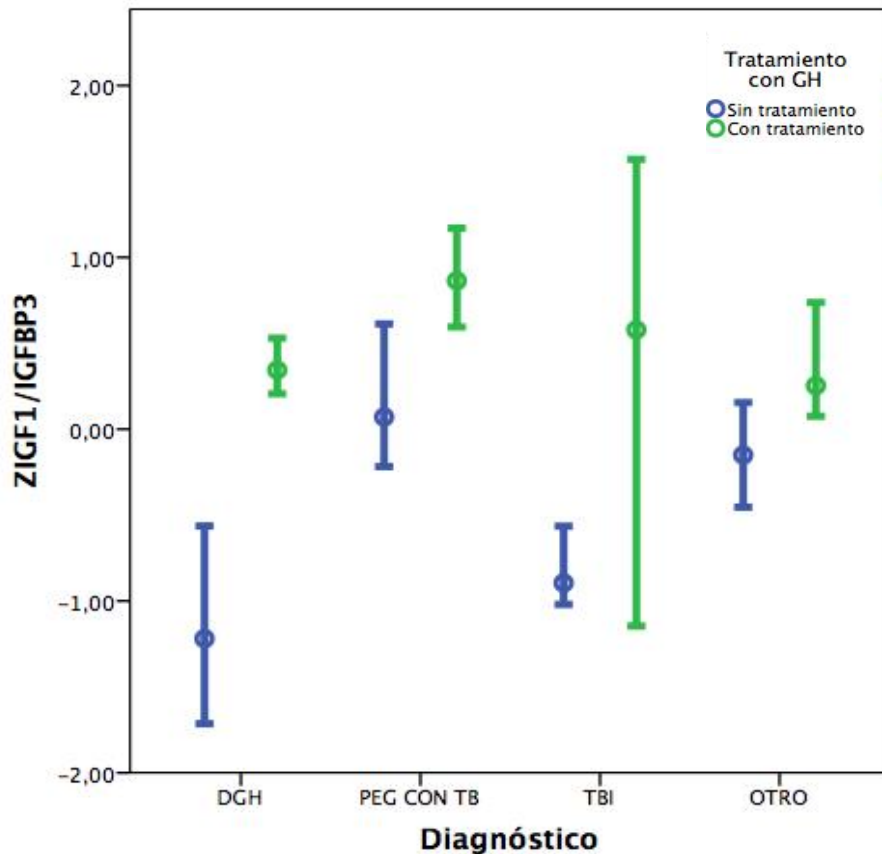


Figura 95. Distribución de las desviaciones estándar de IGF1/IGFBP3 según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. ZIGF1/IGFBP3 presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana/rango intercuartílico.

Al estratificar por causa de talla baja, vemos que los niveles de IGF1/IGFBP3 en las muestras de pacientes con tratamiento son superiores a los niveles en las muestras de pacientes sin tratamiento en todos los tipos de talla baja analizados. También observamos diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IGF1/IGFBP3 entre los distintos tipos de talla baja, tanto en pacientes en tratamiento con GHr, como en pacientes sin tratamiento (figura 95 y tabla 53).

	IGF1/IGFBP3 (SD)		
	SIN TTO	CON TTO	P (U)
DGH	-1,2(-2,3/-0,4)	0,3(-0,2/1)	0,000
PEG con TB	0,1(-0,2/0,8)	0,9(0,2/1,5)	0,000
TBI	-0,9(-1,3/-0,3)	0,6(-0,1/1,1)	0,004
OTRO	-0,1(-0,8/0,5)	0,2(-0,1/1,1)	0,001
P (KW)	0,000	0,006	

Tabla 53. Distribución de las desviaciones estándar de IGF1/IGFBP3 según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. SD: Desviaciones estándar. TTO: Tratamiento con GHR. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. KW: Kruskal-Wallis. U: U de Mann Whitney. ZIGF1/IGFBP3 presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana (rango intercuartílico: p25/p75).

Se realiza un análisis de muestras apareadas usando los pacientes de los que tenemos datos con y sin tratamiento y objetivamos que los niveles de IGF1/IGFBP3 se elevan de forma significativa sólo en los pacientes con talla baja por otra etiología distinta a DGH, TBI o PEG (tabla 54).

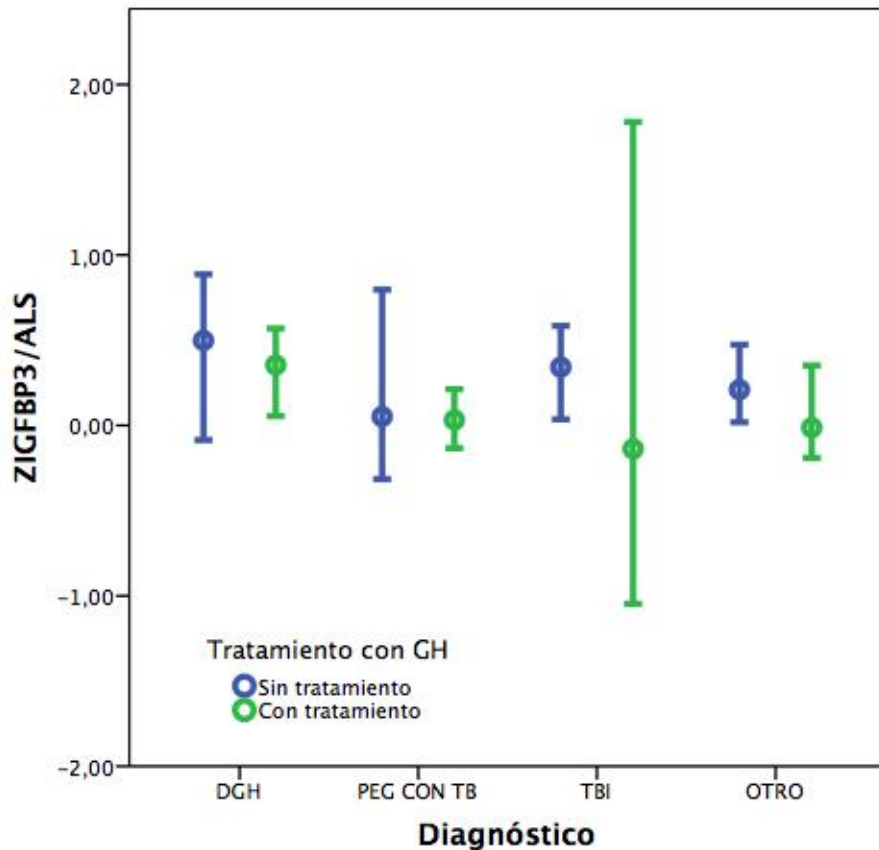
Como hemos visto previamente, solo existen datos pre y post tratamiento de un paciente PEG con talla baja y un paciente con RCCD por lo que sus datos no son valorables.

IGF1/IGFBP3 SD Datos apareados	Sin tratamiento	Con tratamiento	P (Wilcoxon)
DGH	-0,76 (-1,42/1,27)	0,14 (-0,27/1,68)	0,168
TBI	-1,04 (-1,11/-0,22)	0,43 (-0,12/0,78)	0,050
PEG con TB	1,04	1,34	
RCCD	1,2	0,86	
Otro	-0,49 (-0,58/0,39)	0,86 (0,08/2,4)	0,002

Tabla 54. Niveles de IGF1/IGFBP3 en pacientes con talla baja que tienen mediciones sin tratamiento y con tratamiento con hormona de crecimiento recombinante. SD: desviaciones estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja.

#### 4. Índice IGFBP3/ALS molar:

No se observan diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IGFBP3/ALS entre las muestras de pacientes en tratamiento con hormona de crecimiento con respecto a aquellos que no reciben tratamiento ni de forma general ni al analizar los pacientes de forma apareada (figura 96).



TOTAL	IGFBP3/ALS (SD)		
	SIN TTO	CON TTO	P (U)
DGH	0,5±1	0,2±2	0,547
PEG con TB	0,4±1,2	0±1,6	0,526
TBI	0,4±1,5	0,2±1,3	0,631
OTRO	0,26±2,1	0,1±1,4	0,417
<b>P (KW)</b>	<b>0,132</b>	<b>0,169</b>	

Figura 96. Distribución de las desviaciones estándar del índice molar IGFBP3/ALS según el diagnóstico, comparando muestras sanguíneas de pacientes con talla baja con y sin tratamiento con GHr. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: Desviaciones estándar. TTO: Tratamiento. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja Idiopática. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. KW: Kruskal-Wallis. U: U de Mann Whitney. ZIGFBP3/ALS presenta distribución no normal por lo que se presentan los datos como mediana/rango intercuartílico.

## B) ANALISIS MULTIVARIANTE:

### 1. PACIENTES CON TALLA BAJA CON Y SIN TRATAMIENTO CON GHR:

#### 1.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTE

Se lleva a cabo un análisis discriminante por pasos mediante SPSS para valorar las diferencias entre pacientes con y sin tratamiento. En este análisis aparecen como variables de clasificación IGF1 SD y IGF1 SD (p=0,000) con un coeficiente de estructura de 0,58 y 0,98 respectivamente.

La correlación canónica de la función discriminante utilizada (F4) es de 0,53 con un autovalor de 0,4. Los coeficientes estandarizados de la función discriminante canónica son de 0,14 para IGF1 SD y de 0,70 para IGF1 SD con una constante de 0,07.

$$F4 = 0,07 + 0,14(IGF1 SD) + 0,7 (IGF1 SD)$$

Siendo F4= 0 → Pacientes sin tratamiento

F4= 1 → Pacientes con tratamiento

Paso	Variable	Tolerancia	F para salir	Lambda de Wilks	Coeficiente intraestructura	Coeficiente Función canónica
1	IGF1 SD	1	280			
2	IGF1 SD	0,825	168,2	0,880	0,982	0,70
	IGFBP3 SD	0,825	7,6	0,722	0,584	0,14

Tabla 55. Análisis discriminante para clasificar los pacientes con y sin tratamiento con GHR. SD: Desviaciones estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3.

Tras aplicar la función discriminante obtenida se clasifican correctamente el 74,3% de los casos originales (73,2% de los sin tratamiento y 75,6% de los que reciben tratamiento)

La variable ALS SD presenta un coeficiente de estructura de 0,44 y la variable IGF1/IGFBP3 medida en SD presenta un coeficiente de 0,61 por lo que se decide añadirlas también al estudio multivariante. IGF1/ALS presenta un coeficiente de -0,005 por lo que su influencia en la clasificación sería prácticamente nula.

#### 1.2 ANÁLISIS MEDIANTE HJ-BIPLLOT

Al hacer el análisis multivariante mediante la técnica de HJ-Biplot observamos que las desviaciones estándar de ALS e IGF1/IGFBP3 se correlacionan de forma positiva.

Además, vemos que los pacientes con tratamiento presentan niveles más altos de todos los índices estudiados ya que los pacientes sin tratamiento se alejan claramente del vector, colocándose a la cola de todos los vectores en el eje horizontal. La mayor contribución de este eje 1 parece deberse a los niveles de IGF1 SD lo que significaría que este factor de crecimiento es el que más contribución tiene a la separación de los clústeres (figura 97).

Observamos que la calidad de representación es mayor en plano 1-2 (tablas 56 y 57). Los biplots en plano 1-3 y 2-3 no dan información relevante por lo que se adjuntan en el anexo IV.

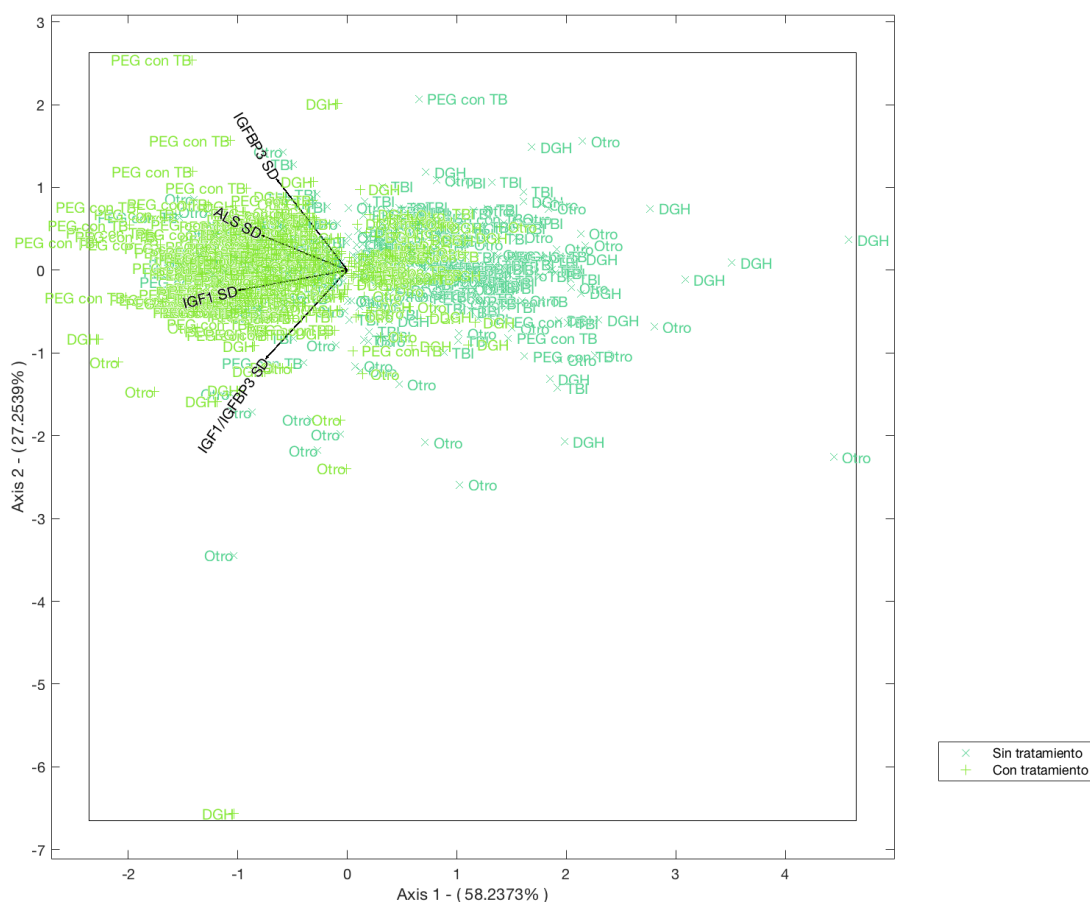


Figura 97. Representación por HJ-biplot en plano 1-2 del análisis multivariante de los pacientes con talla baja con y sin tratamiento con GHR.

GHR: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
ALS SD	52,4	9,6	37,9
IGFBP3 SD	36,2	50,8	12,2
IGF1 SD	89,5	3	5,2
IGF1/IGFBP3 SD	50,7	47,6	0,1

Tabla 56. Calidad de representación de las columnas de la figura 97 medida en porcentaje.

	Expl. Var	Cummulative
Eje 1	58,2	58,2
Eje 2	27,2	85,5
Eje 3	13,4	98,9
Eje 4	1,1	100

Tabla 57. Explicación de varianza de la figura 97 medida en porcentaje.



## 2. ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO RELACIONADOS CON LA DOSIS DE GHr EN PACIENTES DE TALLA BAJA DE DISTINTA ETIOLOGÍA.

### 2.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTE

Al introducir la dosis como variable de estudio en el análisis discriminante por pasos mediante SPSS para valorar las diferencias entre los distintos tipos de pacientes con tratamiento, aparecen como variables de clasificación la dosis de GHr por kilogramo e IGF1 SD ( $p=0,000$ ) con un coeficiente de estructura de 0,94 y 0,97 respectivamente (tablas 58, 59 y 60).

Paso	Variable	Tolerancia	F para salir	Lambda de Wilks	Coefficiente intraestructura
1	Dosis de GHr por kg	1	34,1		
2	Dosis de GHr por kg	0,99	35,1	0,919	0,942
	IGF1 SD	0,99	8,1	0,706	0,971

Tabla 58. Análisis discriminante para clasificar los pacientes en tratamiento con GHr en relación con la dosis. SD: Desviaciones estándar. GHr: dosis de hormona de crecimiento recombinante. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

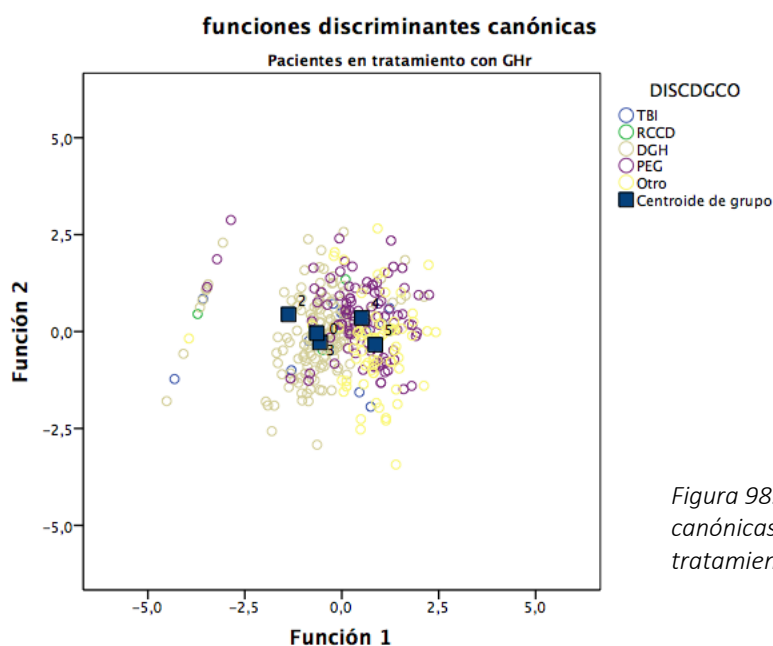


Figura 98. Funciones discriminantes canónicas en pacientes que reciben tratamiento con GHr.

Función	Auto valor	% varianza	Corr canónica	Lambda de Wilks	p	coef IGF1 SD	Coef Dosis GHr	Cte
1	0,46	87,6	0,562	0,642	0,000	0,35	101,9	-3,84
2	0,06	12,4	0,247	0,939	0,000	1	-25,2	0,098

Tabla 59. Resumen de las funciones canónicas discriminantes. Corr: correlación Coef: Coeficiente de las funciones canónicas discriminantes. SD: Desviación estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. GHr: Hormona de crecimiento recombinante. Cte: constante.

Con la función 1 se clasificarían correctamente el 63% de los casos.

Función	Dosis Ghr	IGF1 SD	IGF1/IGFBP3 SD	ALS SD	IGFBP3 SD
1	0,94	0,24	0,20	-0,02	-0,04
2	-0,33	0,97	0,59	0,37	0,30

Tabla 60. Matriz de estructura. Ghr: hormona de crecimiento recombinante. SD: Desviaciones estándar. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil.

Las variables ALS SD, IGFBP3 SD e IGF1/IGFBP3 presentan un coeficiente de 0,37, 0,3 y 0,59 respectivamente por lo que se decide mantenerlas en el análisis mediante biplot.

## 2.2 ANÁLISIS MEDIANTE HJ-BIPLLOT

Realizamos un análisis multivariante mediante HJ-Biplot valorando los factores de crecimiento y la dosis de Ghr en todos los pacientes con tratamiento con Ghr.

Observamos que la calidad de representación de la dosis de Ghr es mayor en los ejes 2 y 3 (tablas 61 y 62) por lo que se dibuja el biplot en estos ejes (figura 99). Los biplots en planos 1-2 y 1-3 no aportan información distinta por lo que se recogen en el anexo IV.

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Dosis Ghr	3,2	9,6	86,7
ALS SD	44,4	9,8	0,3
IGFBP3 SD	1	85,7	5,9
IGF1 SD	81,8	1,2	2,5
IGF1/IGFBP3 SD	62,1	33,1	0,3

Tabla 61. Calidad de representación de las columnas de la figura 99 medido en porcentaje.

	Expl. Var	Cummulative
Eje 1	37,5	37,5
Eje 2	27,9	65,4
Eje 3	19,6	85
Eje 4	13,6	98,5
Eje 5	1,5	100

Tabla 62. Explicación de varianza medida en porcentaje de la figura 99.

Al observar el biplot de plano 2-3 (figura 99), vemos que IGF1 y Ghr son vectores de eje 3 y que la dosis de Ghr tiene gran dispersión. Observamos también que la dosis de Ghr se correlaciona de forma positiva con los niveles de IGF1 e IGFBP3 en SD y menos con los niveles de ALS. Los niveles de ALS e IGFBP3 se correlacionan de forma positiva entre sí. La ALS es un vector de eje 2 y no vemos diferencias en los grupos en cuanto a esta variable.

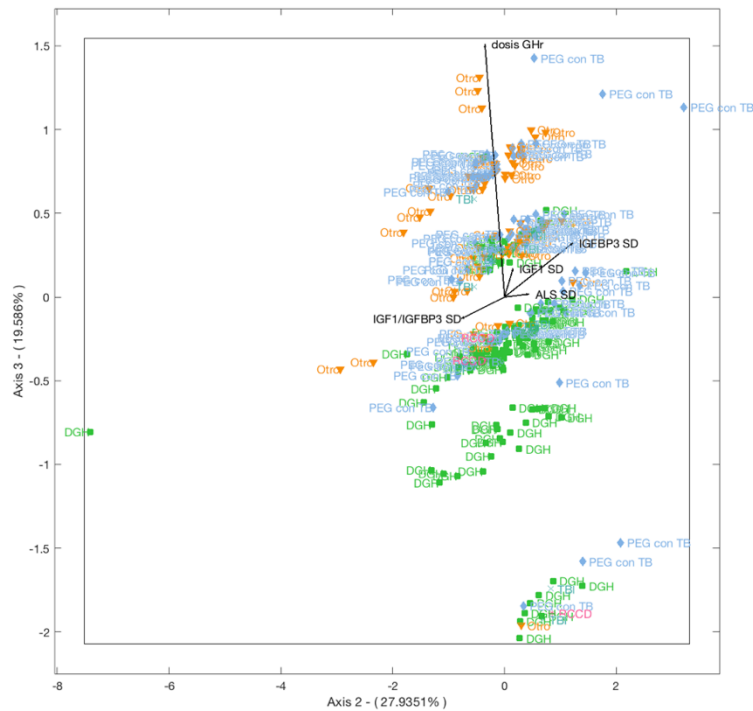


Figura 99. Representación por HJ-biplot del análisis multivariante de los pacientes con talla baja y tratamiento con GHR en plano 2-3. GHR: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: desviaciones estándar.

Los pacientes con DGH son los que menos cantidad de GHR reciben, lo cual se corresponde con las indicaciones de tratamiento aprobadas y también son los que tienen menores valores de IGF1 SD ya que se sitúan en un grupo a la cola de estos dos vectores de eje 3 y claramente diferenciados del resto. Vemos también que los pacientes PEG con TB se colocan de forma dispersa alrededor de todas las variables.



## 6.5. Pacientes con niveles bajos de ALS (<-2SD)

Una vez obtenidos los valores de normalidad de ALS en la población control se pasa a analizar los niveles de nuestra muestra con talla baja. Un total de 56 pacientes con talla baja (31 varones y 25 mujeres) presentan niveles de ALS por debajo de -2SD con respecto a la población control. La talla de estos pacientes era de  $-2,4 \pm 0,9$ . De ellos 19 presentan TBI, 11 RCCD, 7 DGH, 4 eran PEG y 15 tienen otras enfermedades que producen la talla baja.

Es decir, de los 88 pacientes con TBI y 56 con RCCD analizados en nuestro estudio, 19 y 11 respectivamente presentan niveles de ALS disminuidos. Correspondería a un 21,5% de los pacientes con TBI y un 32% de los pacientes con RCCD.

Además, se observa ALS disminuida en 12 niños con talla normal, 3 pacientes PEG sin talla baja y 3 pacientes con obesidad.

En el estudio de su talla baja se realiza estudio de exoma completo a 6 pacientes con niveles bajos de ALS. Se valora de forma específica el gen *IGFALS* (OMIM \*601489, 16p13.3). Ninguno ha podido ser diagnosticado de deficiencia primaria de ALS (OMIM #615961). En 5 de ellos se observa una variante benigna en el gen *IGFALS*, 3 en heterocigosis y 2 en homocigosis. *NM\_001146006*, con cambio en ADN c.-19A>G y cambio proteico c.324T>C(p.Asp108=). La versión *NM\_001146006.2* reemplazó a la *NM\_001146006.1* en junio de 2019.

En la paciente número 44, mujer con RCCD, se observa también esta variante benigna en el gen *IGFALS* pero con afectación en tres puntos del intrón y cambios proteicos p.Asp108= y p.Tyr500=.

En la tabla 63 se pueden ver los datos de cada uno de los pacientes.

Nº PAC	DIAGNÓSTICO	SEXO	EDAD	T	ALS	ALS SD	TALLA SD	IGFALS
689	TBI	VARON	9,78	1	603,3	-3,52	-2,68	
662	TBI	VARON	4,2	1	327,4	-4,91	-2,7	
530	TBI	VARON	6,99	1	507,4	-3,01	-2,7	
698	TBI (TBF)	MUJER	7,7	1	1006	-2,13	-2,8	
1058	TBI	MUJER	5,94	1	574	-5,06	-2,3	VB het <i>NM_001146006.1</i>
77	TBI	MUJER	7,03	1	938	-2,39	-3,1	
10042	TBI	MUJER	3,09	1	433,95	-2,26	-4,19	
10052	TBI	VARÓN	2,18	1	588	-2,20	-2,25	
139	TBI	MUJER	10,59	1	834,5	-2,16	-2,99	
1007	TBI	MUJER	8,37	1	977	-2,81	-2,6	VB hom <i>NM_001146006.2</i>

124	TBI	MUJER	5,4	1	924	-2,68	-2,58	
1432	TBI	MUJER	8,83	1	797,4	-3,83	-2	
90	TBI	VARON	8,44	1	781,2	-2,97	-2,9	
1194	TBI	VARON	4,87	1	515	-3,1	-2,32	
30	TBI	VARON	2,26	1	389,3	-3,78	-3,3	
103	TBI	MUJER	13,51	2	1271	-2,48	-3,6	
1143	TBI	VARÓN	3,83	1	526	-2,74	-2,26	
1369	TBI	VARÓN	5,1	1	712	-2,92	-3,9	VB het NM_001 146006.2
126	TBI	MUJER	8,6	1	1111	-2,17	-2,52	VB het NM_001 146006.1
<b>TBI 18</b>								
1351	DGH germinoma	VARON	14,04	1	572	-6,65	-3,9	
53	DGH + tto	VARON	6,93	1	346	-4,33	-2,12	
102	DGH + tto	VARON	5,31	1	454,1	-5,17	-2,58	
1239	DGH	VARON	13,73	3	780	-3,96	-2,6	
585	DGH	MUJER	11,69	2	862	-3,29	-2,83	
112	DGH + tto	MUJER	13,34	3	1056,8	-3,56	-2,23	
58	DGH + tto	MUJER	8,81	1	983	-2,78	1,37	VB hom NM_001 146006.2
<b>DGH 7</b>								
160	OTRO (cariotipo X0/XY)	VARÓN	10,7	1	1007	-3,58	-2,2	
34	OTRO (IGF1)	MUJER	8,36	1	598,5	-5,26	-3,18	
136	OTRO (NOONAN)	VARON	3,71	1	484	-3,36	-2,1	
511	OTRO (TURNER X0)	MUJER	7,55	1	841,8	-2,79	-2,2	
54	OTRO (TPH)	VARON	14,98	4	1205	-3,26	-1,76	
1373	OTRO (TPH)	VARON	10,1	1	1048	-3,31	-0,71	
690	OTRO (KLIN)	VARON	12,2	2	913,6	-2,73	0,9	
73	OTRO (IGF1)	MUJER	11,77	2	782	-3,63	-2,4	
708	OTRO (NOONAN)	VARON	13,6	2	1267,8	-2,34	-2,09	
533	OTRO (TX)	MUJER	15,28	4	1316,1	-4,61	-3,1	
623	OTRO (IGF1)	MUJER	2,14	1	690	-3,59	-3,9	
125	OTRO (NEO)	MUJER	6	1	910	-2,78	-2,4	
10554	OTRO (DO)	MUJER	11,9	1	1077,7	-2,52	-2,52	
1338	OTRO (TURNER)	MUJER	2,53	1	757	-3,11	-2,1	
687	OTRO (ENCEFALOPATÍA)	MUJER	2,14	1	839	-2,56	-3,5	VB hom NM_001 146006.1
<b>OTRO 16</b>								

40	PEG CON TB	MUJER	4,07	1	549,9	-2,79	-2,61	
10522	PEG CON TB	VARON	2,56	1	397,3	-3,7	-2,5	
695	PEG CON TB	VARON	11,19	2	818,7	-2,	-2,1	
10061	PEG CON TB	VARÓN	13,01	2	915	-3,35	-2,33	
<b>4 PEG CON TB</b>								
100	RCCD	VARÓN	14	1	1241	-3,13	-1,67	
99	RCCD	VARÓN	14,61	1	1416,2	-2,53	-2,57	
74	RCCD	VARÓN	13,6	2	1040	-2,86	-2,5	
159	RCCD	VARON	9,46	1	825,6	-2,36	-1,82	
844	RCCD	VARON	15,03	4	1443,3	-2,44	-2,1	
761	RCCD	VARON	14,01	1	1431,2	-2,48	-2,5	
839	RCCD	VARON	12,63	2	1063,1	-2,15	-2,8	
711	RCCD	VARON	14,49	2	1363,6	-2,7	-2,1	
10508	RCCD	VARON	15,29	4	1577,6	-2,04	-2,6	
692	RCCD (CELIACA)	MUJER	14,33	4	1254,2	-5,05	-1,7	
44	RCCD	MUJER	13,02	1	1003	-3,87	-1,5	VB comp NM_001 146006.2
<b>RCCD 11</b>								
10045	T. NORMAL	VARON	11,89	2	682	-3,27	-0,44	
1211	T. NORMAL	VARON	13,91	3	1007	-3,2	0,03	
1378	T. NORMAL	VARON	14,32	4	1292	-2,6	1,12	
10535	T. NORMAL	MUJER	12,28	3	896	-2,42	3,87	
561	T. NORMAL	VARON	15,26	5	1554	-2,36	0,1	
1240	T. NORMAL	MUJER	9,92	1	295	-3,45	-1,87	
1333	T. NORMAL	VARON	11,64	1	987	-2,35	-1,7	
1169	T. NORMAL	VARON	11,64	1	989	-2,35	-0,25	
1127	T. NORMAL	MUJER	10,03	1	794	-2,33	-1,04	
992	T. NORMAL	VARON	7,95	1	671	-2,19	-0,64	
658	T. NORMAL	VARON	12,3	1	1194	-2,02	-0,23	
735	T. NORMAL	MUJER	4,33	1	637	-2	-0,4	
10552	OBESIDAD	MUJER	11,77	2	768,7	-3,69	-1,02	
493	OBESIDAD	MUJER	2,45	1	834	-2,6	-0,07	
1117	OBESIDAD	MUJER	5,43	1	976	-2,41	-0,37	
1079	PEG SIN TB	VARON	5,51	1	507,7	-4,61	-1,61	
696	PEG SIN TB	VARÓN	13,8	2	1130	-2,54	-1,25	
702	PEG SIN TB	MUJER	9,83	2	773,4	-2,35	-0,3	

Tabla 63. Pacientes con niveles de ALS por debajo de 2 desviaciones estándar. N.º pac: número de paciente para codificación. T: Tanner. IMC: índice de masa corporal. ALS: subunidad ácido lábil. SD: desviaciones estándar. TBI: talla baja idiopática. RCCD: retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. PEG: pequeño para la edad gestacional. TBF: talla baja familiar. DGH: déficit de GH. GH: Hormona de crecimiento. TTO: tratamiento con GH recombinante. TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos. Klin: Klinifelter. IGF1: déficit de IGF1. TX: trasplante. NEO: neoplasia. PEG: pequeño para la edad gestacional. TB: talla baja. DO: displasia ósea. T. Normal: Talla normal. VB: variante benigna. Hom: homocigosis. Het: heterocigosis. Comp: compuesto.

## 6.6 Variantes del gen *IGFALS* localizadas en nuestro estudio.

En 39 de los pacientes de nuestro estudio, en el contexto de estudio de su talla baja, se realiza estudio de exoma completo. Se valora de forma específica el gen *IGFALS* (OMIM \*601489, 16p13.3). Ninguno de los sujetos del estudio presentaba variantes patogénicas, por lo que ninguno ha podido ser diagnosticado de deficiencia primaria de ALS (*OMIM #615961*).

Se describen un total de 6 variantes en nuestra muestra de sujetos. Los 36 pacientes que presentan variantes en el gen *IGFALS* se describen en la tabla 64.

Nº PAC	DIAGNÓSTICO	CAMBIO ADN	CAMBIO PROTEÍNA	ACMG	TALLA SD	ALS mU/ml	ALS SD
1007	TBI	<i>c.-19A&gt;G</i>	<i>Intrón</i>	<b>B</b>	-2,6	977	-2,81
1369	TBI				-3,9	712	-2,92
755	TBI				-3,3	1401	-0,49
709	TBI				-3	902	-1,74
56	TBI				-2,6	1066	-1,31
57	TBI				-2,7	770	-1,38
1588	TBI				-3,09	1512	-0,12
126	TBI				-2,52	1111	-2,17
1058	TBI				-2,4	574	-5,06
43	TBI				-2,5	1538	-0,05
903	TBI				-3	1419	-0,35
875	TBI				-3,3	1608	0,47
835	TBI				-2,8	1130	-1,7
678	TBI				-2,83	1879	0,94
1288	DGH				-3,5	1747	-1,57
1215	DGH				-3,82	860	-1,43
1374	DGH +tto				-2,47	2371	-0,18



58	DGH +tto	<i>c.-19A&gt;G</i>	<i>Intrón</i>	<b>B</b>	1,37	983	-2,78
1422	PEG con TB				-2,7	1873	-0,35
867	PEG con TB				-2,7	1900	0,79
42	PEG con TB				-3,74	1410	0,07
77	PEG con TB +tto				-1,06	2317	0,71
10115	PEG con TB +tto				-2,7	2634	2,1
116	PEG con TB +tto				-2,8	1436	-1,76
517	PEG con TB +tto				-2,1	1248	-0,74
898	RCCD				-2,78	2366	0,82
799	Aasrkog				-3,34	1553	0,84
564	TBF				-2,6	1726	-0,91
687	Encefalopatía				-3,5	839	-2,56
802	RCCD				-2,8	2007	0,37
1161	PEG sin TB Esferocitosis				0,32	941	-1,87
1565	Síndrome Escobar				-2,6	1615	-0,27
1604	Talla normal	-1,18	802	-0,88			
803	TBI disarmónica	<i>c.974C&gt;T</i>	<i>p.Pro325Leu</i>	<b>B</b>	-2,8	1167	0,18
44	RCCD	- - <i>c.-19A&gt;G</i> <i>c.16+89A&gt;G</i> <i>c.16+81A&gt;G</i>	Intrón Intrón Intrón	<b>B</b>	-1,5	1003	-3,87
1075	PEG sin TB	<i>c.1454C&gt;T</i>	<i>p.Thr485Met</i>	<b>LB</b>	-1,28	1484	0,76
132	TBI sindrómica	<i>c.707A&gt;T</i>	<i>p.Glu236Val</i>	<b>LB</b>	-2,8	1174	-0,56

Tabla 64. Descripción de las variantes del gen IGFALS (NM\_001146006.2) encontradas en nuestro estudio.

PAC: paciente. SD: Desviación estándar. ALS: Subunidad ácido lábil. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. TBI: Talla baja idiopática. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. ACMG: criterios de patogenicidad según la ACMG (Asociación Americana de Genética). B: Benigna. LB: Probablemente benigna (likely benign). RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. Tto: Tratamiento con hormona de crecimiento recombinante.

Tres de las variables detectadas: *c.1454C>T*, *c.974C>T* y *c.707A>T*, son variantes missense cuya predicción in silico dan como resultado los cambios en la proteína *p.Thr485Met*, *p.Pro325Leu*, *p.Glu236Val* respectivamente. Las tres era consideradas de significado incierto teniendo como único predictor de patogenicidad la baja frecuencia en población general (3/100000, 369/100000, 50/100000 según *Gnomad*). Clínicamente, estos sujetos presentaban valores normales de ALS.

Las otras tres variantes son variantes intrónicas sin criterios de patogenicidad, estando presente la *c.-19A>G* en más del 1% de la población general, y la *c.16+89A>G* y *c.16+81A>G* en más del 1,5% de la población general.

# 7. Discusión

## 7.1. Correlaciones:

### a) ALS, IGF1, IGFBP3:

La IGF1, hormona responsable final del crecimiento por su unión al receptor de IGF1 a nivel del hueso, se encuentra en sangre unida a sus transportadores, ALS e IGFBP3, formando el complejo ternario. Este complejo ternario se va rompiendo, liberando IGF1 y permitiendo que la concentración de IGF1 sea estable en el tiempo, por tanto es esperable que exista correlación entre la ALS, IGF1 e IGFBP3 al igual que se había objetivado en estudios previos<sup>(90, 113, 115-117, 212)</sup>.

Se demuestra también la correlación de la ALS con la edad, y ocurre en ambos sexos. Esta correlación se mantiene a lo largo de la infancia, hasta llegar a la pubertad en la que desaparece. Aunque esto puede ser debido al bajo número de observaciones en pacientes puberales hay que tener en cuenta que el inicio de la pubertad no es constante en la población con inicios de pubertad, tanto en varones como en mujeres, con edades muy diversas, y que en la pubertad entra en juego la secreción de hormonas sexuales que ya se han visto relacionados con el estirón de la pubertad y con los niveles de IGF1, por lo que es más probable que en las edades peripuberales tenga un papel más importante el incremento de hormonas sexuales que la propia edad. Esto queda apoyado por el estudio de Renes<sup>(165)</sup>, donde también se observó esta desaparición de la correlación de ALS y edad al inicio de pubertad en niños PEG.

Actualmente, dentro del equipo investigador, continuamos recogiendo datos después del primer corte, para intentar aumentar el número de observaciones en pacientes puberales que nos permitan diluir los factores de confusión que pueden estar influidos por la edad.

### b) Medidas antropométricas

Estudios previos en la relación entre los factores de crecimiento y las medidas antropométricas han mostrado resultados dispares<sup>(212-217)</sup>.

En nuestro estudio los valores de ALS, IGF1 e IGFBP3 se correlacionan de forma positiva con las SD de talla, peso y el IMC, pero no con el PRN SD y LRN SD. Esto último recalca que el eje de la hormona de crecimiento no es tan importante en el crecimiento prenatal, donde la insulina es la que juega el papel más importante. En el estudio realizado en niños PEG por Renes<sup>(165)</sup> se observa también la presencia de correlación de la ALS con talla e IMC, pero no con LRN.

Juul<sup>(213)</sup> describe que IGFBP3 se correlaciona con talla e IMC, mientras que IGF1 sólo se correlaciona con talla, no con IMC.

### c) Índices:

Se realiza el estudio de los índices IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS.

No se lleva a cabo el estudio del índice IGF1/ALS ya que la IGF1 sólo circula unida a la ALS en el complejo ternario, junto con la IGFBP3, por lo que fisiológicamente no aportaría más información que la suma de los índices IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS.

Los índices propuestos se correlacionan entre sí de forma directa.

Estudios previos en la relación entre los factores de crecimiento y las medidas antropométricas han mostrado resultados dispares<sup>(213-217)</sup>, en nuestro estudio se objetiva que los niveles de IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS se correlacionan de forma positiva con la talla y el IMC medidos en desviaciones estándar, pero no con la longitud al nacer, esto vuelve a poner de manifiesto que el eje de la hormona de crecimiento no es tan importante en el crecimiento prenatal, con la insulina como actor principal. En cualquier caso, son datos difíciles de interpretar. La correlación del índice IGF1/IGFBP3 con la talla podría decirnos que existe mayor IGF1 libre circulante pero no podemos confirmar esta hipótesis con nuestros datos.

## 7.2 Valores de normalidad

### a) Valores de normalidad. ALS

Los valores de ALS aumentan con la edad (tabla 1) como se había descrito en estudios previos<sup>(90, 112-117, 165)</sup>.

#### 1. Valores de normalidad de ALS descritos por Ertl (figura 100)<sup>(117)</sup>

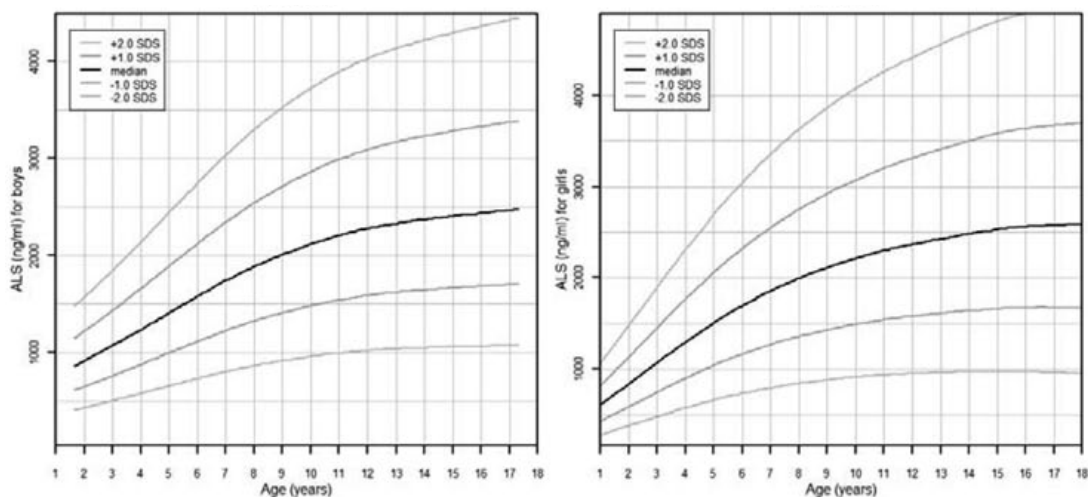


Figura 100. Niveles de normalidad de ALS descritos por Ertl. Sacado de Ertl D. Determining the normal range for IGF-I, IGFBP-3 and ALS: new reference data base don current internal standards. Wien Med Wochenschr. 2014;164:343-52<sup>(117)</sup>

Los valores de normalidad de ALS encontrados en nuestro estudio se sitúan entre 500mU/ml(2500ng/ml) y 3000 mU/ml(15000ng/ml) en pacientes sanos y entre 500 y 2000 mU/ml (10000ng/ml) si solo incluimos los pacientes prepuberales. En el estudio de Ertl<sup>(117)</sup> realizado en 252 niños y adolescentes sanos de entre 0 y 18 años, los niveles de normalidad se encuentran entre 400 y 5000 ng/ml. En este estudio no se describe el número de pacientes prepuberales y puberales, pero el rango es claramente menor que

el encontrado en nuestro estudio y en el estudio de Barrios<sup>(116)</sup>. Al revisar el estudio de Ertl observamos que describe la utilización del mismo método de análisis que nosotros: *ALS E35 Assay, Mediagnost, Germany*, con un límite de detección de 0,23mU/ml. En la leyenda de las gráficas aparece que la ALS está medida en ng/ml, pero en ningún otro lugar del artículo aparecen las unidades de la ALS. Si existe un error en las unidades estaríamos hablando de un rango de normalidad de entre 400-5000mU/ml, más acorde al hallado por nuestro trabajo (500-3000mU/ml) y a los niveles descritos por Barrios (1000-6000mU/ml).

Estudio	Muestras	Relación Edad	Método	Relación sexo	Otras
Baxter <sup>(90)</sup> 1990	215 niños (1-18años) Adultos: 12 acromegalia 10 DGH 93 sanos	+++	No descrito	-	Relación con IGFBP3
Labarta 1996 <sup>(112)</sup> 1997 <sup>(113)</sup>	56 niños sanos 4 niños DGH 7 niños DGHR	+	Western inmunoblot	No estudiado	El tratamiento con GHr eleva los niveles de ALS en DGH, pero no el tratamiento con IGF1
Juul 1998 <sup>(114)</sup>	778 niños (0-20años) 380 adultos sanos 108 adultos postGHr	+	ELISA	+	Relación con IGF1 e IGFBP3
Nimura 2000 <sup>(115)</sup>	264 niños (1-16años) 15 niños DGH	+++	RIA kit Australia	+ en pubertad	Relación con IGF1 e IGFBP3
Barrios 2000 <sup>(116)</sup>	150 niños sanos 30 RNT 17 RNPT	+++	ELISA USA	-	Relación con Tanner Menor ALS en RNPT Relación con IGF1 e IGFBP3
Ertl 2014 <sup>(117)</sup>	252 niños (1-18años)	+++	ELISA Germany	+	

Tabla 1. Estudios sobre niveles de ALS. ELISA: Análisis inmunológico unido a enzimas (Enzimo-Linked ImmunoSorbent Assay). RIA: Radioinmunoensayo (Radioimmunoassay). GH: Hormona de Crecimiento. GHr: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de GH. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3.

## 2. Valores de normalidad descritos por Barrios<sup>(116)</sup>

Aunque el método de medida y la unidad usada en el estudio de Barrios, con 150 niños sanos, difieren de los nuestros si podemos observar el aumento de los valores de ALS con la edad y el estadio puberal al igual que en nuestro estudio (tabla 65).

GRUPO	SEXO	ALS ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	ALS ( $\text{ng}/\text{ml}$ )	ALS ( $\text{mU}/\text{ml}$ )
Tanner I	Varones	14.27±6.06	14270±6060	2854±1212
Tanner I	Mujeres	15.66±4.11	15660±4110	3132±822
Tanner II	Varones	15.91±4.63	15910±4630	3182±926
Tanner II	Mujeres	19.07±4.34	19070±4340	3814±868
Tanner III	Varones	23.52±8.64	23520±8640	4704±1728
Tanner III	Mujeres	25.65±6.66	25650±6660	5130±1332
Tanner IV	Varones	22.56±4.60	22560±4600	4512±920
Tanner IV	Mujeres	23.69±4.45	23690±4450	4738±890
Tanner V	Varones	20.88±1.94	20880±1940	4176±388
Tanner V	Mujeres	22.04±4.82	22040±4820	4408±964

Tabla 65. Niveles de normalidad de ALS descritos por Barrios<sup>(116)</sup>.

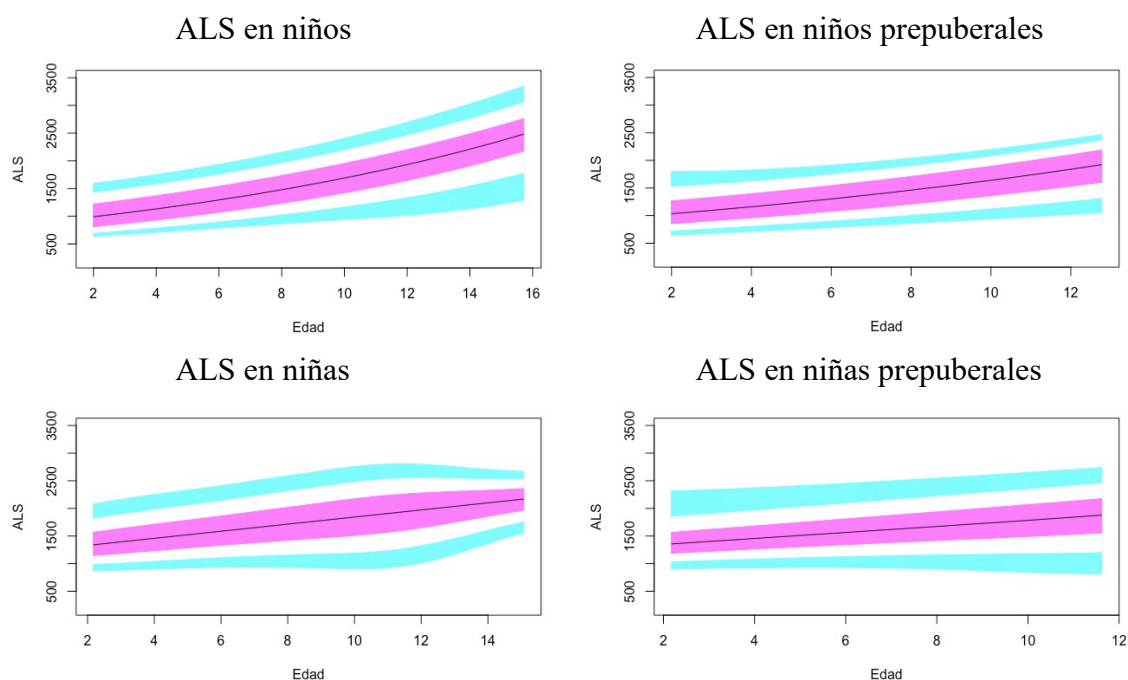


Figura 77. Valores normales para la subunidad ácido lábil (ALS) en  $\text{mU}/\text{ml}$ . Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

En nuestro estudio (figura 77) se observa una pendiente de aumento de los niveles de ALS más pronunciada en la etapa puberal, a partir de los 10 años que desaparece en los pacientes prepuberales donde los valores de ALS aumentan con la edad siendo el incremento prácticamente constante, sin cambios en la pendiente.

En el estudio de Ertl<sup>(117)</sup>, el incremento de ALS adquiere menor pendiente a partir de los 12-13 años lo cual difiere de nuestros resultados; esto podría deberse a la existencia de niños pre y puberales dentro del estudio. Ertl no da datos del número de niños prepuberales y puberales y, en nuestro estudio, al separar por Tanner vemos que la pendiente de la ALS se modifica a esa edad, siendo menos pronunciada en los niños prepuberales.

Al comparar los valores de ALS se observan diferencias significativas al estratificar por sexo y al comparar pacientes prepuberales y pacientes puberales. No se objetivan diferencias significativas entre los estadios puberales II-V lo cual puede ser debido al bajo número de observaciones en estos estadios o a que los niveles de la proteína se igualan al iniciar todos los niños la pubertad.

En nuestro estudio observamos diferencias en los niveles de ALS entre ambos sexos en población infantil. Las niñas presentan niveles de ALS más elevados sobre todo en época prepupal al igual que en los estudios de Ertl<sup>(117)</sup> y Juul<sup>(114)</sup> y en contraposición a otros estudios que no han hallado diferencias entre sexos<sup>(116)</sup> o sólo encontraron diferencias en la época puberal<sup>(115)</sup>. Esto podría ser debido al adelanto madurativo de las niñas, es decir, el comienzo de la pubertad en el sexo femenino suele ser ,de media 1-2, años antes que en el sexo masculino, por lo que las niñas tendrían ese adelanto de 1-2 años en los niveles de ALS como podemos ver en la tabla 7, donde los niveles de ALS de las niñas prepuberales de 9 y 10 años son similares a los de los niños prepuberales de 11 y 12 años.

TABLA 7 ALS	Niños		Niñas		Niños prepupal	Niñas prepupal
Edad	Mediana	SD ln	Mediana	SD ln	Med (SD ln)	Med (SD ln)
2	1041	0,26	1366	0,19		
3	1134	0,28	1238	0,27		
4	1117	0,25	1380	0,33		
5	1276	0,20	1580	0,20		
6	1216	0,29	1559	0,25		
7	1365	0,27	1788	0,27		
8	1457	0,21	1714	0,20		1640 (0,19)
9	1560	0,27	1719	0,42		1815 (0,45)
10	1722	0,15	1778	0,35		1604 (0,49)
11	1997	0,44	2239	0,29	1922 (0,36)	
12	1858	0,26	2128	0,36	1798 (0,29)	
13	2185	0,26	1937	0,17		
14	2469	0,22	2185	0,11		

Tabla 7. mediana (med) de la ALS medida en mU/ml y el ln de la desviación estándar (SD ln) de la ALS para cada grupo de edad. ALS: Subunidad ácido lábil. SD: desviación estándar. Ln: logaritmo neperiano.

En los pacientes prepuberales los valores de ALS aumentan con la edad siendo el incremento prácticamente constante, sin cambios en la pendiente.

### b) Valores de normalidad. IGFBP3

En nuestro estudio se observa que IGFBP3 sufren variaciones a lo largo del desarrollo (figura 78), con un aumento de sus valores con la edad y con un mayor incremento en la

época puberal, se observa también que existen diferencias entre ambos sexos cómo ya había sido descrito previamente en otros estudios<sup>(213-219)</sup>.

Al comparar los valores de IGFBP3 se observan diferencias significativas al estratificar por sexo y al comparar pacientes prepuberales y pacientes puberales. No se objetivan diferencias significativas entre los estadios puberales II-V lo cual puede ser debido al bajo número de observaciones en estos estadios o a que los niveles de la proteína se igualan al iniciar todos los niños la pubertad.

Hasta los 10 años, en el periodo prepuberal, se objetivan niveles de IGFBP3 más altos en mujeres que en varones al igual que en estudios previos<sup>(217, 220, 221)</sup>, lo cual podría relacionarse con la maduración más temprana en el sexo femenino, con un inicio puberal 1 o 2 años antes que en el sexo masculino igual que vimos con la ALS.

Los valores de IGFBP3 aumentan con la edad. La pendiente de aumento es prácticamente constante.

Al igual que en el estudio el estudio de Juul<sup>(213)</sup>, se objetiva un aumento de IGFBP3 relacionado con la edad en todo el periodo prepuberal tanto en varones como en mujeres y una estabilización de niveles incluso descenso a partir de los 14-15 años y el estadio puberal III.

En estudios previos como el de Ertl<sup>(117)</sup> también se observa una estabilización de los valores de IGFBP3 a partir de los 14 años en varones y de los 12 años en mujeres, aunque sus gráficas no hacen distinción por estadio puberal y por lo tanto tendrían poca validez.

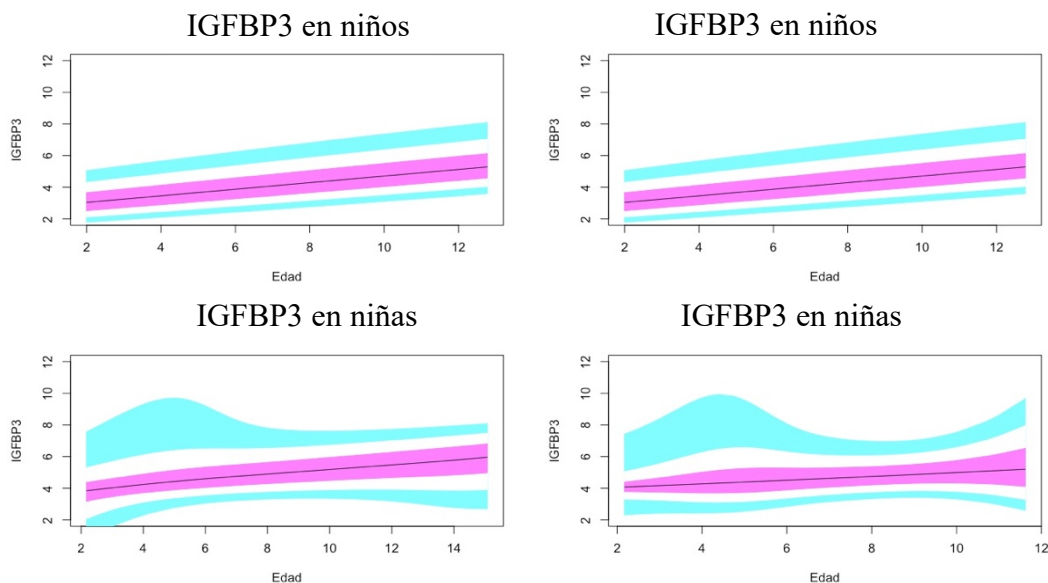


Figura 78. Valores normales para la proteína de unión al factor de crecimiento de insulina número 3 (IGFBP3) en  $\mu\text{g/ml}$ . Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

### c) Valores de normalidad. IGF1

Clemmons y colaboradores recomendaron en el consenso de 2011<sup>(222)</sup> que los valores de normalidad de IGF1 deberían considerar edad, estadio puberal e IMC. Además, se



requieren intervalos de referencia específicos por sexo en los niños y niñas entre 6 y 18 años. Estos valores deberían establecerse a partir de una selección aleatoria de individuos sanos y transformados en desviaciones estándar apropiadas.

En nuestro estudio, los valores de IGF1 aumentan con la edad y se observa una pendiente de aumento más pronunciada en la etapa puberal, a partir de los 10 años (figura 79). Este hallazgo es consistente con los estudios previos<sup>(213-219)</sup>.

El pico puberal de IGF1 aparece antes en las niñas, de acuerdo con la literatura<sup>(38, 39)</sup>. Esto puede estar relacionado con que la pubertad en niños comienza a una mayor edad cronológica<sup>(217, 223)</sup>. En mujeres con pubertad se observa una estabilización de los niveles de IGF1 en torno a los 14 años que no aparece en los varones ya que nuestros pacientes tienen un máximo de 15 años y, probablemente, debido a que la finalización de la pubertad en los varones es más tardía. En el estudio de Ertl<sup>(117)</sup> también aparece en mujeres esta estabilización de IGF1 a partir de los 14 años, mientras se observa que en varones aparece la estabilización y posterior disminución a partir de los 17 años.

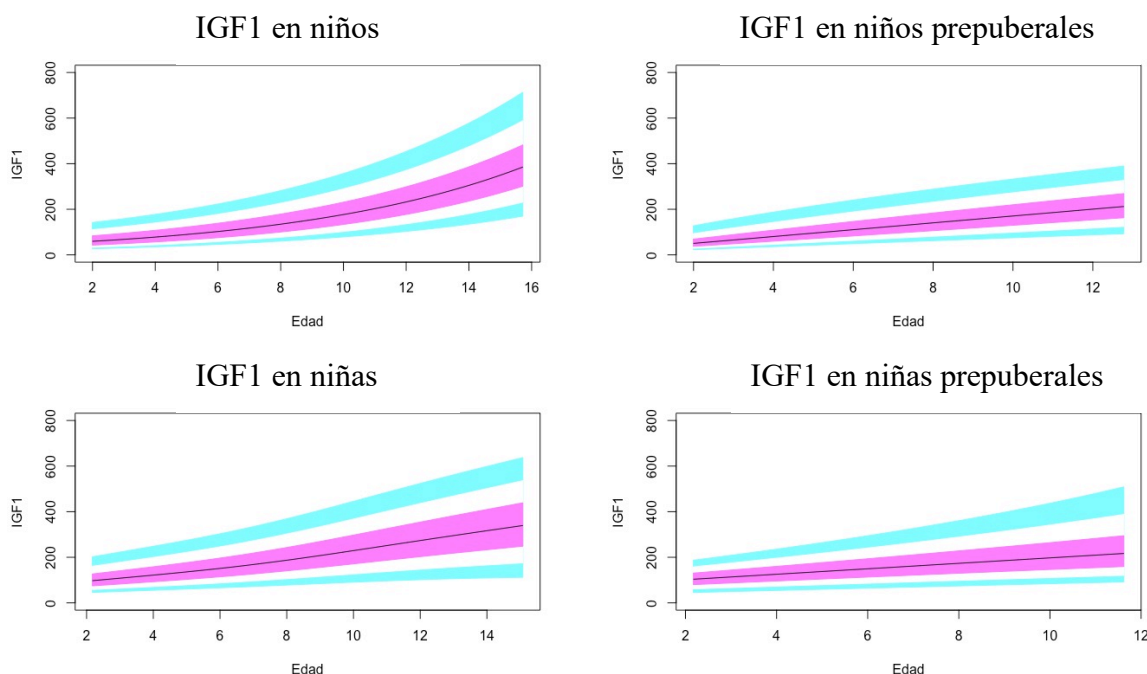


Figura 79. Valores normales para el factor de crecimiento de insulina tipo 1(IGF1) en ng/ml. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

Valores de IGF1 (Immolute 2000®)

Comparamos los valores de referencia establecidos por la casa comercial de Immolute® 2000 (Siemens) estandarizado con el nuevo estándar WHO NIBSC 02/254 con los nuestros y vemos bastantes discrepancias (tabla 66).

Según la casa comercial, estos valores se han extraído de una población sana de 500 muestras pediátricas y de adulto, pero no especifican cuantos pacientes hay en cada tramo de edad, no están divididos por sexo y hay varios grupos de edad comprendidos en cada valor por lo que se compara con el valor de referencia de la edad central del tramo, lo cual puede generar algunas diferencias. La influencia de la edad, el sexo y el

estadio puberal mostrada en nuestro estudio hace que los datos de Immulite® pierdan validez.

Edad	P2,5	Varón	Mujer	P50	Varón	Mujer	P97,5	Varón	Mujer
0-3	15	-3	-5,5	44	-0,8	-2,3	189	2,1	2,1
4-6	47	-1,5	-2,12	96	0	-0,8	231	1,9	0,9
7-9	55	-3,6	-2,5	132	-0,9	-0,6	222	0,7	0,5
10-11	95	-2,2	-2,3	177	-0,2	-1,4	315	0,9	0,4
12-13	95	-2,4	-2,4	305	-0,1	-0,3	450	1,1	0,7
14-15	211	-0,8	-0,4	322	0,7	0,3	512	2,3	1,1

Tabla 66. Valores de referencia según el "insert" del Immulite 2000® (Siemens) (patrón de referencia WHO NIBSC 02/254) comparados con las SD obtenidas al usar nuestros estándares. SD: Desviaciones estándar. P2,5: Percentil 2,5. P50: Percentil 50. P97,5: Percentil 97,5.

La gran discrepancia de los menores de 3 años podría deberse a la ausencia de pacientes menores de 2 años en nuestro estudio.

Los valores mínimos (p 2,5) son bastante acordes a nuestro estudio excepto en el tramo de 14-15 años. En nuestro estudio hay muy pocos pacientes mayores de 14 años por lo que este dato puede aparecer distinto.

Los datos del p50 son bastante acordes en varones, pero hay bastantes diferencias con nuestra referencia en mujeres.

Los datos máximos (p97,5) son más bajos que los encontrados en nuestro estudio.

#### d) Valores de normalidad. IGF1/IGFBP3

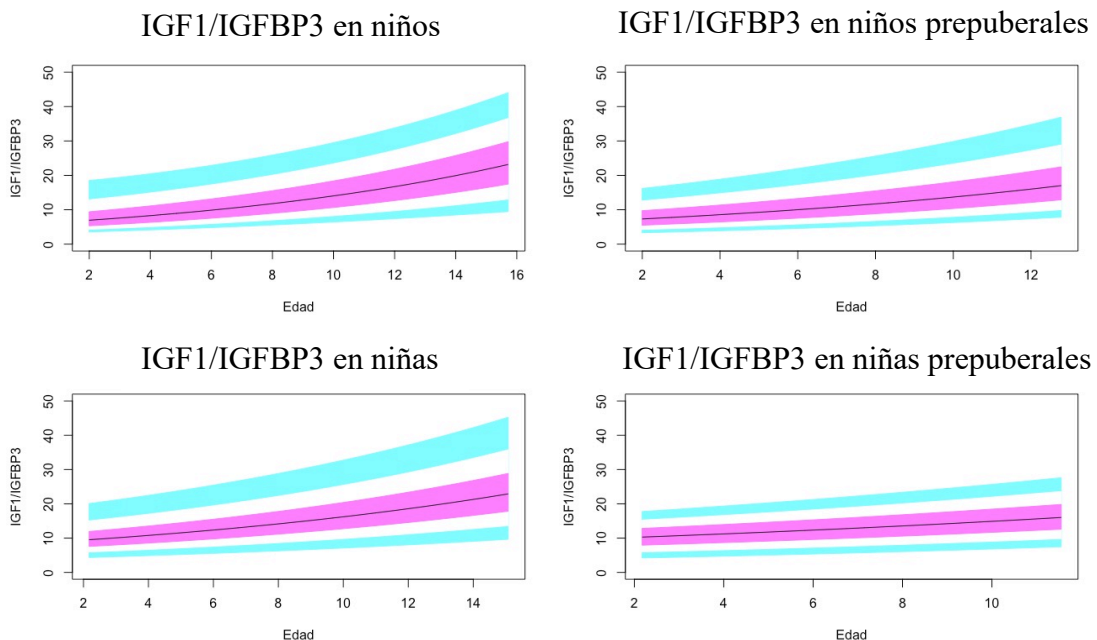


Figura 80. Valores normales para la relación molar IGF1/IGFBP3. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50.

La ratio molar IGF1/IGFBP3 ha sido descrita en estudios previos<sup>(194, 224, 225)</sup>.

En nuestro estudio el índice molar IGF1/IGFBP3 aumenta con la edad. La pendiente de incremento es mayor en la época puberal (figura 80).

Este parámetro da una idea más precisa de la magnitud de incremento con la edad debido al incremento más pronunciado de IGF1 que de IGFBP3 con la edad y el desarrollo puberal.

Los valores de este índice son significativamente mayores en pacientes puberales con respecto a los prepuberales lo cual parece indicar que el aumento de IGF1 es mayor que el de IGFBP3 en época puberal, coincidiendo con la mayor velocidad de crecimiento, como ya se observó en estudios anteriores<sup>(194, 213, 217, 219, 226)</sup>.

### e) Valores de normalidad IGFBP3/ALS

Los niveles del índice IGFBP3/ALS se mantienen prácticamente constantes durante toda la infancia, sin existir variaciones significativas entre pacientes puberales y prepuberales (figura 81).

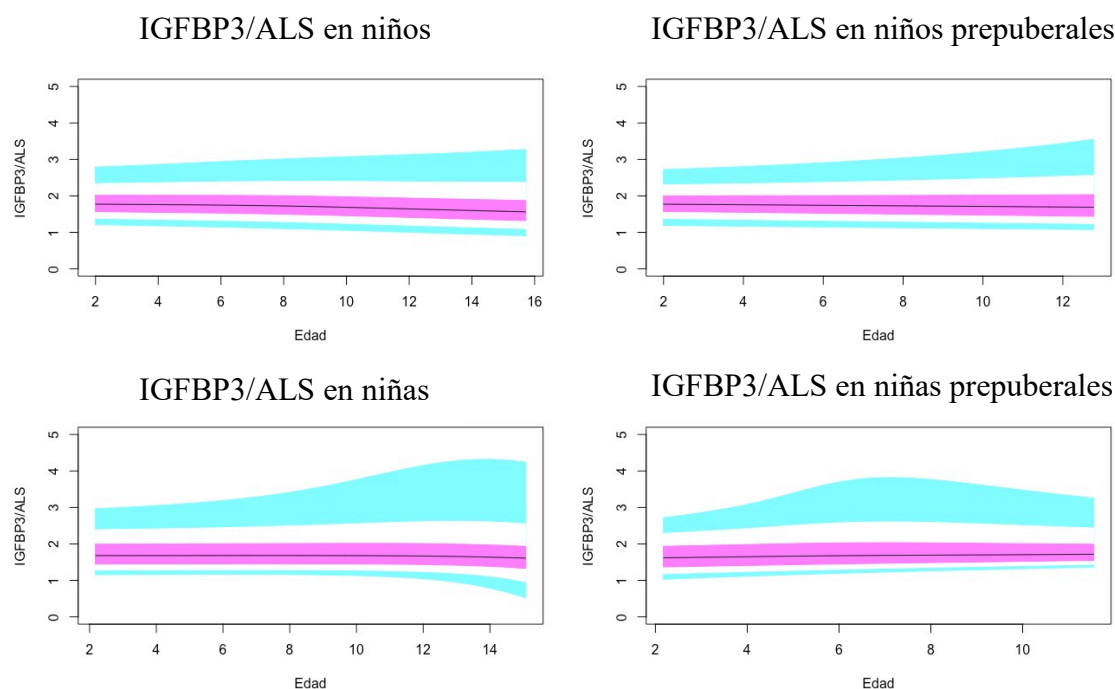


Figura 81. Valores normales para la relación molar IGFBP3/ALS. Línea azul correspondiente a los valores del percentil 3-10 y 90-97; línea púrpura correspondiente a valores de percentil 25-75; línea negra correspondiente al valor de la puntuación 0 del Z-Score, percentil 50

## 7. 3 Variaciones de IGF1, IGFBP3 y ALS según el desarrollo.

En nuestro estudio se observa que IGF1 e IGFBP3 sufren variaciones a lo largo del desarrollo (figuras 78 y 79) con un aumento de sus valores relacionado con la edad y con una velocidad de aumento mayor en la época puberal como ya había sido descrito previamente en otros estudios<sup>(213-219)</sup>.

El pico puberal de IGF1 aparece antes en las mujeres que en los varones, al igual que se había apreciado en trabajos previos<sup>(217, 223)</sup>, lo cual se corresponde con la aparición

fisiológica más precoz del estirón puberal en mujeres. En mujeres con pubertad se observa una estabilización de los niveles de IGF1 en torno a los 14 años que no aparece en los varones ya que nuestros pacientes tienen un máximo de 15 años y, probablemente, debido a que la finalización de la pubertad en los varones es más tardía. En el estudio de Ertl<sup>(117)</sup> también aparece en mujeres esta estabilización de IGF1 a partir de los 14 años, mientras se observa que en varones aparece la estabilización y posterior disminución a partir de los 17 años

Hasta los 10 años, en el periodo prepuberal, se objetivan niveles de IGFBP3 más altos en mujeres que en varones al igual que en estudios previos<sup>(217, 220, 221)</sup>.

Los valores de IGFBP3 aumentan con la edad. La pendiente de aumento es prácticamente constante, con un ligero aumento en la época puberal, a partir de los 10 años.

En nuestro estudio se observa una pendiente de aumento de los niveles de ALS más pronunciada en la etapa puberal, a partir de los 10 años que desaparece en los pacientes prepuberales donde los valores de ALS aumentan con la edad siendo el incremento prácticamente constante, sin cambios en la pendiente (figura 77). En el estudio de Ertl<sup>(117)</sup>, el incremento de ALS adquiere menor pendiente a partir de los 12-13 años lo cual difiere de nuestros resultados; esto podría deberse a la existencia de niños pre y puberales dentro del estudio.

La magnitud de las variaciones de la IGFBP3 es menor que la de la IGF1 por lo que se observa mayor variación en el índice IGF1/IGFBP3 que en el índice IGFBP3/ALS a lo largo del periodo infantil (figuras 80 y 81).

## **7.4 Variaciones en pacientes con talla baja sin tratamiento.**

En el estudio estadístico multivariante mediante análisis discriminante se observa que la talla y los niveles de IGF1 medidos en SD tienen cierto impacto en la clasificación de los pacientes en uno u otro tipo de talla baja, pero con la función discriminante se clasificarían correctamente únicamente el 38,5% de los casos originales.

### **a) DGH:**

Los niveles de ALS son significativamente menores en los pacientes con DGH respecto al resto de causas de TB por lo que la medición de la ALS junto con el resto de los factores de crecimiento podría ser útil para el diagnóstico de esta patología, ya que también los niveles de IGF1 e IGFBP3 son significativamente menores en los pacientes con respecto al resto de etiologías de TB.

Los valores de ALS, IGF1 e IGFBP3 en DGH se encuentran por debajo de -1SD en prácticamente la totalidad de los pacientes y, en muchos de ellos, por debajo de -2SD.

Algunos estudios previos objetivaron hallazgos coincidentes a los nuestros<sup>(212)</sup> pero otros no encuentran que la medición de la ALS añada ningún valor en el diagnóstico del déficit de GH<sup>(227)</sup>.

Previamente ya se habían descrito niveles menores de ALS, IGF1 e IGFBP3 en pacientes con DGH con respecto a pacientes con TB de otra etiología<sup>(212, 228)</sup>.

En los pacientes sin tratamiento, el índice IGF1/IGFBP3 es significativamente más bajo en DGH con respecto a PEG con TB, encontrándose valores por debajo de la media (0SD) en todos los pacientes con DGH. Estos hallazgos son coincidentes con estudios previos<sup>(212)</sup>.

Probablemente los valores de IGF1, IGFBP3, ALS y el índice IGF1/IGFBP3 sean mas bajos en los pacientes con DGH por un mecanismo de regulación hormonal. La GH es la responsable de la producción de IGF1, IGFBP3 y ALS en el hígado por lo que es esperable que estos factores de crecimiento estén disminuidos en los pacientes con DGH. Los niveles de IGF1/IGFBP3 podrían ser menores debido a una regulación por efecto paracrino de la IGF1. Las proteínas IGFBP3 y ALS actúan como transportadores de IGF1 por lo que su expresión podría verse regulada por los niveles de IGF1 circulante además de por la GH. Así la IGF1 estimularía de manera paracrina al hígado para la producción de IGFBP3 y ALS que permitan alargar la vida media de la poca IGF1 disponible.

Todos estos datos apoyan el uso de los biomarcadores del eje de la GH, acompañando a los datos antropométricos, para ayudar al diagnóstico diferencial entre el DGH y el resto de las causas de talla baja.

En el análisis multivariante mediante HJ-biplot observamos que los pacientes con DGH y algunos pacientes con talla baja por otro motivo presentan talla menor al resto de pacientes ya que se sitúan a la cola del vector talla en el eje 2. Además, la variable IGF1 tiene una alta contribución al eje 1 lo que nos permite distinguir que los pacientes con DGH presentan niveles menores de este factor de crecimiento con respecto al resto de causas de TB, ya que la mayoría de los pacientes con DGH se encuentran en la cola del vector de IGF1.

#### **b) PEG:**

Los niños PEG representan aproximadamente un 20% de los niños con talla baja<sup>(229)</sup>.

Alrededor del 90% de los niños PEG logran realizar un catch up correcto en los primeros años de vida<sup>(230, 231)</sup>. Sin embargo, los niños PEG sin catch up que no reciben tratamiento con GH alcanzan una talla menor a su talla diana<sup>(232)</sup>.

No se conoce claramente la razón por la que algunos niños PEG no consiguen hacer catch up. Se han propuesto alteraciones en el eje de la hormona de crecimiento para explicar este pobre catch up<sup>(233-235)</sup>. Ahora bien, hay que tener en cuenta que dentro del diagnóstico de PEG encontramos múltiples etiologías como pueden ser displasias óseas leves, síndromes y otros problemas, en los que probablemente se encuentren alteraciones parciales del eje de la GH (déficits parciales de GH o IGF1), que hacen que los niños PEG sean difíciles de encuadrar desde el punto de vista bioquímico cuando se analizan como grupo.

Renes<sup>(164)</sup> describió que los niveles de IGF1, IGFBP3 y ALS en población PEG sin catch up eran menores que en población sana. Los niveles de IGF1 e IGFBP3 fueron  $<-1SD$  con respecto a los controles sanos y los niveles de ALS fueron alrededor de  $-0,5SD$  <sup>(164, 165)</sup>.

También se ha descrito que los niños PEG presentan niveles de IGF1 en sangre de cordón menores que los niños de tamaño adecuado para su edad gestacional<sup>(236)</sup>.

En nuestro estudio, los niveles de IGF1 e IGFBP3 en niños PEG se situaron entre  $-1$  y  $+1SD$  por lo que se encontrarían dentro de límites normales, tanto en niños PEG con talla baja como sin talla baja. Los niveles de ALS si aparecen ligeramente disminuidos en niños PEG con talla baja, situándose entre  $0$  y  $-2SD$ .

Marzano y colaboradores encontraron que los niveles de IGFBP3 y su promotor TP73 en células sanguíneas de niños PEG son significativamente menores comparados con los niveles en niños sanos<sup>(237)</sup>. El estudio de Marzano recoge sólo 16 niños PEG de  $9,08 \pm 3,87$

años y los compara con 14 niños no PEG de  $9,53 \pm 3,62$ , por lo que los niveles de IGFBP3 son poco valorables.

En el estudio univariante no encontramos diferencias significativas en los valores de ALS, IGF1, IGFBP3 ni los índices IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS entre PEG con y sin TB por lo que la medición de estos parámetros no sería útil para predecir la existencia o no de catch up en estos pacientes.

Tras realizar el análisis discriminante no encontramos significación en ninguno de los factores de crecimiento incluidos en el análisis.

Con el análisis multivariante mediante HJ-biplot analizando conjuntamente los niveles de factores de crecimiento tampoco encontramos diferencias significativas entre los grupos.

### a) TBI

La diferenciación entre los distintos tipos de talla baja idiopática (RCCD, TBF y TBI propiamente dicha), es un reto diagnóstico ya que las características clínicas de estos pacientes pueden solaparse. El diagnóstico de RCCD es una variante de la normalidad y estos pacientes presentan talla baja durante una época de su vida, pero acaban presentando una talla acorde a su diana al final de la pubertad. Hasta que aparece el inicio puberal, estos pacientes pueden precisar varias pruebas diagnósticas para descartar otras alteraciones.

Tras comprobar en el análisis univariante que no existen diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas entre RCCD, TBF y TBI propiamente dicha, realizamos un análisis multivariante para buscar posibles patrones que eviten la realización de múltiples pruebas diagnósticas, algunas de ellas invasivas, a este tipo de pacientes.

Se realiza un análisis discriminante buscando las variables que podrían servirnos para clasificar a los pacientes con sospecha de TBI en los tres grupos descritos y no encontramos significación estadística en el uso de ninguno de los factores de crecimiento, solo la talla medida en SD parece tener cierto impacto para diferenciar estos tres grupos de pacientes, aunque con un pobre 50% de éxito de la ecuación discriminante resultante. Analizamos conjuntamente los niveles de factores de crecimiento (disponibles en un análisis sanguíneo) y la talla mediante la realización de HJ-biplot, pero tampoco encontramos diferencias significativas entre los grupos.

## 7.5 Variaciones en pacientes con talla baja con tratamiento.

El principal objetivo del tratamiento con GHr en los niños con talla baja es conseguir una talla adulta en el rango normal y cercana al potencial genético de cada niño. Para alcanzar este objetivo se usan distintas estrategias como usar dosis de GHr ajustada por peso, individualizar la dosis de GHr usando modelos de crecimiento y valorar la dosis según los niveles de IGF1<sup>(5, 238, 239)</sup>.

Hasta el momento, no se han definido niveles diana de IGF1 para optimizar el balance entre ganancia de altura y riesgos potenciales.

Aunque la monitorización de los niveles de los factores de crecimiento es sencilla y los cambios producidos durante el tratamiento con GHr en los niveles de IGF1, IGFBP3, ALS y en los índices que los relacionan podrían ser utilizados como un índice de la capacidad de respuesta al tratamiento con GHr y la potencial aparición de efectos adversos, no

existe suficiente evidencia para instaurar su uso como monitorización del tratamiento con GHR<sup>(5)</sup>.

Esto sería útil para facilitar la decisión de ajuste de dosis en la práctica clínica, principalmente en aquellos pacientes en los que se usan altas dosis de GHR.

Al analizar el total de muestras recogidas en nuestro estudio vemos que los niveles de ALS e IGF1 aumentan de forma significativa en todos los pacientes tratados con GHR.

El aumento de los niveles de ALS con el tratamiento con GHR en pacientes con DGH fue descrito también por Labarta y colaboradores, aunque el tamaño muestral de su estudio era pequeño<sup>(112)</sup>.

En pacientes con déficit de ALS, Kumar<sup>(148)</sup>, Scaglia<sup>(150)</sup>, Grandone<sup>(178)</sup> y Domené<sup>(177)</sup> objetivaron buena respuesta a tratamiento con GHR, mientras que previamente se había descrito mala respuesta al tratamiento con GHR en estos pacientes en el estudio colaborativo realizado en 2009<sup>(135)</sup>.

Los niveles mayores de IGF1 en pacientes con tratamiento con GHR son consistentes con estudios previos<sup>(179, 228, 238, 240, 241)</sup>. Leger y colaboradores<sup>(179)</sup> describieron el aumento de IGF1 tras el tratamiento con GHR en pacientes con DGH, en pacientes con DGH adquirido el incremento de los niveles de IGF1 fue significativamente mayor con respecto a los pacientes con DGH congénito.

En nuestro estudio, los niveles de IGFBP3 son mayores en las muestras de pacientes PEG, TBI y DGH que reciben tratamiento con respecto a aquellos que no reciben GHR, al igual que se había demostrado en estudios previos<sup>(179, 228, 238, 240, 241)</sup>.

En cuanto a los índices, en nuestro estudio las SD del índice IGF1/IGFBP3 varía de forma significativa en el análisis general de las muestras dependiendo de la presencia o ausencia de tratamiento con GHR. El incremento de este índice se demostró en estudios previos<sup>(228)</sup>. Esto hace pensar que proporcionalmente se eleva más la IGF1 que la IGFBP3, ya que el índice se hace mayor. Por tanto, podemos decir que habría más IGF1 circulante que, finalmente, es la que hace el efecto.

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas en el índice IGFBP3/ALS entre muestras de pacientes con y sin tratamiento con GHR. Esto sugiere que IGFBP3 y ALS se incrementan de forma paralela con el tratamiento, lo cual sería lógico ya que forman parte del complejo ternario y no circulan aisladas.

El tratamiento de pacientes con RCCD se encuentra fuera de indicación y en nuestro estudio sólo hay un paciente con diagnóstico de RCCD que recibe tratamiento con GHR de forma privada por lo que los resultados no son estadísticamente valorables.

Al analizar mediante datos apareados las distintas variables en los pacientes en los que tenemos mediciones con y sin tratamiento observamos que los niveles de IGF1 y ALS aumentan de forma significativa tras iniciar tratamiento en los pacientes con DGH, TBI y talla baja por otro motivo.

Por otro lado, los niveles de IGF1/IGFBP3 se elevan en DGH y TBI, pero no en los pacientes con talla baja de otra etiología posiblemente debido a la mezcla de diagnósticos y perfiles en este último grupo. Consecuentemente sólo se encuentra elevación estadísticamente significativa del índice IGF1/IGFBP3 en los pacientes con talla baja por otro motivo que, además son los que presentan una mayor dosis media de tratamiento con GHr. Los datos apareados en RCCD y PEG no son valorables en nuestro estudio ya que solo contamos con un paciente de cada grupo

Al realizar el análisis discriminante se observa que las variables con más valor para diferenciar los pacientes con y sin tratamiento son los valores de IGF1 e IGF1/IGFBP3 medidos en SD, por lo que serían estas variables las que más se modifican con el tratamiento. Los valores de ALS y los índices tendrían, por lo tanto, valores menos diferenciadores entre los pacientes con y sin tratamiento.

En el análisis multivariante mediante HJ-biplot observamos que los pacientes con tratamiento presentan niveles más elevados de IGF1, IGF1/IGFBP3, ALS y el índice IGF1/IGFBP3. En los biplots también se observa que la mayor contribución a la diferenciación de los clústeres de pacientes con y sin tratamiento se debe a la aportación de las variables IGF1 e IGF1/IGFBP3 medidas en SD.

En cuanto a la dosis de GHr, Léger y colaboradores<sup>(179)</sup> encontraron que los niveles de IGF1 SD se correlacionaban con la dosis de GHr en pacientes con DGH. En el estudio de Tillmann también se observó que, durante el tratamiento con GHr, los niveles de IGF1 SD y del índice IGF1/IGFBP3 se correlacionaban positivamente con la dosis de GHr medida en dosis/m<sup>2</sup>/semana pero no con la dosis/kg/semana en ambos grupos de tratamiento (DGH y no DGH)<sup>(228)</sup>.

En nuestro estudio, el nivel de ALS medida en desviaciones estándar se correlaciona de forma positiva con la dosis por Kg de GHr recibida en los pacientes con TBI y DGH, no ocurriendo esta correlación en niños PEG con talla baja. Los niveles de IGF1/IGFBP3 (IGF1/IGFBP3 SD) sólo se correlacionan con la dosis de GH por kg en los niños con DGH. Los niveles de IGF1 medidos en SD y del índice IGF1/IGFBP3 molar se correlacionan con la dosis por kg en DGH, TBI y niños PEG con TB.

Al realizar el análisis multivariante observamos que las variables con más impacto en la clasificación del tipo de talla baja relacionada con la dosis son la dosis por kilogramo y los niveles de IGF1. Esto tiene sentido ya que somos nosotros los que fijamos la dosis por kilogramo de cada paciente dependiendo del tipo de diagnóstico. También apoya la relación de la dosis con el nivel de IGF1 medido en SD.

En el análisis multivariante observamos que los niveles de IGF1 e IGF1/IGFBP3 medidos en SD son los que más se correlacionan de forma positiva con la dosis de GHr. Vemos también que la dosis es menor en los pacientes con DGH, lo cual es consistente con el tratamiento protocolizado con GHr y que estos pacientes presentan menores niveles de IGF1 medidos en SD.

Con todo esto parece claro que es en los niños con DGH en los que la GHr es más importante ya que aumentan todos los actores (ALS, IGF1 e IGF1/IGFBP3) de forma dependiente de la dosis.



## 7.6 Genética y ALS:

El rápido avance tecnológico ha generado nuevas causas genéticas para la talla baja sindrómica y no sindrómica. Distintos estudios sugieren que el uso de secuenciación genética en TBI podría resultar en guías clínicas de tratamiento más específicas, disminuir el coste de procedimientos de diagnóstico y tratamiento y reducir la variabilidad entre distintos facultativos<sup>(242-244)</sup>.

El consenso sobre talla baja en el niño publicado en 2019<sup>(5)</sup> describe que el fenotipo y el desarrollo de scores clínicos incluyendo datos de laboratorio pueden guiar a los médicos para decidir que test genéticos pueden ser útiles en cada caso.

En 2012, Wit et al<sup>(153)</sup> estudiaron 9 pacientes con fenotipo de insensibilidad a GH, con estatura <2SD y niveles de IGF1<2SD, encontrando 3 mutaciones en *STAT5B* y 2 en *IGFALS*. En 2013, Wang et al<sup>(245)</sup> realizaron un análisis mutacional basado en secuenciación masiva de nueva generación (NGS) analizando 1077 genes asociados al crecimiento en 192 niños con TBI y 192 controles. En este estudio se encontraron cambios en varios nucleótidos que estaban presentes sólo en el pool de niños con TBI, pero la contribución de las mutaciones monogénicas en la TBI sigue sin estar aclarada. En 2017, Hattori et al<sup>(151)</sup> han realizado un nuevo análisis NGS en 86 niños japoneses con TBI estudiando los genes descritos previamente encontrando 4 pacientes con mutaciones probablemente patológicas en el gen *ACAN* y otras 14 variantes de la normalidad en los genes *FGFR3*, *GHRHR*, *GHR*, *IGFALS*, *IGF1R* y *STAT5B*.

En 2019, Kumar et al<sup>(148)</sup> realizaron secuenciación bidireccional en 61 niños indios con TBI y encontraron 3 mutaciones en el gen *IGFALS* (una de ellas de significado incierto) de entre los 39 pacientes que presentaban IGF1 <1SD. También en 2019, Plachy et al<sup>(157)</sup> secuenciaron el genoma de 33 niños checos con talla baja familiar severa (talla >-2,5SD) encontrando una mutación en *IGFALS*.

Todos estos avances hacen plantearnos si las pruebas genéticas se convertirán pronto en uno de los primeros pasos para la evaluación de los niños con talla baja<sup>(246, 247)</sup>.

En nuestro estudio, se analizó dentro de un estudio de exoma el gen *IGFALS* en algunos pacientes, dentro del manejo llevado a cabo por su talla baja. Se hallaron variantes benignas o de probable significado benigno en 36 pacientes. El déficit de ALS es una enfermedad de herencia recesiva, por lo que sería necesaria la presencia de mutaciones en los dos alelos del paciente. Aún así, mutaciones en uno solo de los alelos podrían generar niveles menores de ALS.

Encontramos variantes benignas del gen *IGFALS* en 6 pacientes que recibían tratamiento con GHr y solo tenemos mediciones de los niveles de ALS mientras recibían tratamiento con GHr. Ya que, como hemos comentado previamente, los niveles de ALS se elevan con el tratamiento, no podríamos valorarlos correctamente.

Se observó la presencia de variantes de significado benigno en 6 pacientes con niveles de ALS por debajo de 2SD: 3 pacientes con TBI, una paciente con DGH, una paciente con RCCD y 2 pacientes con talla baja por otra patología.

Se hallaron también variantes benignas del gen *IGFALS* en 24 pacientes más, con niveles de ALS dentro de los límites normales. Domené y colaboradores describieron en 2013<sup>(155)</sup> la presencia de 22 variantes genéticas en *IGFALS* en un estudio con 79 pacientes con TBI y 188 controles. Esas variantes fueron frecuentes en aquellos niños que presentaban niveles más bajos de IGF1, IGFBP3 y ALS. También se encontró alguna de estas variantes en los controles con talla normal. Estos datos concuerdan con los predictores de patogenicidad establecidos como benignos

## 7.7 Limitaciones:

Nuestro estudio incluye un número sustancial y homogéneo de niños sanos, pero presenta algunas limitaciones.

En primer lugar, el número de pacientes puberales en nuestro estudio no es lo suficientemente alto como para poder realizar gráficas de normalidad fiables en este grupo de pacientes. Tras la presentación de este trabajo, se seguirán recogiendo pacientes para construir gráficas de normalidad fiables también en pacientes puberales sanos.

En segundo lugar, la retirada de método de determinación de IGF1 usado inicialmente (WHO NBSC IS 87/518), obligó a convertir los valores de IGF1 iniciales a un valor equivalente al método que se usa actualmente (WHO NBSC IS 02/254). Para llevar a cabo esta conversión se hizo un estudio previo<sup>(189)</sup> en nuestro laboratorio en el que se incluyeron 113 sujetos, se efectuó la medición de IGF1 con ambos métodos y se validó la fórmula de conversión. Los valores del nuevo método muestran una correlación y una concordancia muy buenas respecto al antiguo, donde el 95,6% de los puntos se encontraban dentro de los límites óptimos.

Por otro lado, se ha estudiado el gen *IGFALS* en los pacientes a los que se ha realizado un exoma completo para el estudio de su talla baja hallando algunas variantes benignas de este gen, pero ninguna de significado patológico. Debido a la existencia de fondos limitados, este estudio solo se ha realizado en 6 pacientes de los 56 niños con talla baja que presentan niveles de ALS por debajo de -2 SD por lo que la información genética es poco valorable.

En un próximo estudio se intentará el estudio del resto de pacientes con niveles bajos de ALS. A estos pacientes se les secuenciará el gen *IGFALS* sondeando posibles alteraciones en dicho gen. Con el presupuesto restante, en aquellos con niveles patológicos de ALS, integridad el gen *IGFALS* se estudiará, en la medida de las posibilidades presupuestarias (no existe bibliografía sobre el porcentaje de niños con niños con baja ALS e integridad del gen *IGFALS*), el resto de los genes de la cadena de la GH.

## 8. Conclusiones

1. Los niveles de ALS y del resto de factores de crecimiento y sus índices sufren variaciones a lo largo del desarrollo relacionadas con la edad, el sexo y el estadio puberal, siendo más marcadas estas diferencias en la etapa puberal.
2. Se han calculado valores de normalidad y realizado gráficas de normalidad de ALS y del resto de factores de crecimiento y sus índices, basados en edad y sexo, que son útiles para la valoración del niño con talla baja.
3. El método *GAMLSS* es útil para crear gráficas de percentiles.
4. Los niveles de ALS y del resto de factores de crecimiento se correlaciona de forma positiva con la talla, el peso y el IMC.
5. Los pacientes con déficit de hormona de crecimiento presentan niveles de ALS y el resto de factores de crecimiento marcadamente disminuidos. La determinación de ALS es útil en estos pacientes, como señala el estudio multivariante mediante HJ-biplot.
6. La determinación de ALS y del resto de factores de crecimiento en los pacientes pequeños para la edad gestacional no es de utilidad para predecir cual de ellos realizará una recuperación adecuada de talla.
7. Un número significativo de pacientes con talla baja idiopática (20%) presentan niveles disminuidos de ALS.
8. El análisis discriminante no ha arrojado resultados positivos para poder crear modelos de clasificación que permitirían disminuir el número de pruebas invasivas para diferenciar pacientes con RCCD, TBF y TBI ni para clasificar niños PEG con o sin talla baja.
9. El tratamiento con hormona de crecimiento recombinante incrementa de forma significativa los niveles de ALS e IGF1 en todas las indicaciones de tratamiento, sobre todo en el déficit de GH, sin que parezca que los niveles iniciales de GH condicionen la respuesta. El análisis multivariante revela que la dosis de GHr se correlaciona de forma positiva con los niveles de IGF1 e IGFBP3, menos con los de ALS.
10. El índice IGF1/IGFBP3 es el parámetro que más significativamente varía tras el inicio de tratamiento con GHr, lo que parece indicar que la mayor elevación se produce en la IGF1 circulante. Además, en el análisis mediante HJ-biplot vemos que el factor que más contribuye a la separación de clústeres entre pacientes con y sin tratamiento es la IGF1.
11. No hemos encontrado ninguna mutación patológica en el gen *IGFALS* en los pacientes estudiados, pero si encontramos la presencia de variantes benignas en pacientes con talla baja y niveles bajos de ALS.



## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Argente J. Challenges in the management of short stature. *Horm Res Paediatr.* 2016;85:2-10.
2. Baxter RC, Dai, J. Purification and characterization of the acid-labile subunit of rat serum insulin-like growth factor binding protein complex. *Endocrinology* 1994;134:848-52.
3. Karlberg J. A biologically-oriented mathematical model (ICP) for human growth. *Acta Paediatr Scand.* 1989;350((Suppl)):70-94.
4. Pozo J. Crecimiento normal y talla baja. *Pediatr Integral.* 2015;XIX(6):411.e1-.e23.
5. Collett-Solberg PF, Ambler G, Backeljauw PF, Bidlingmaier M, Biller BMK, Boguszewski MCS, et al. Diagnosis, Genetics, and Therapy of Short Stature in Children: A Growth Hormone Research Society International Perspective. *Horm Res Paediatr.* 2019;92(1):1-14.
6. Wit J. International Classification of Pediatric Endocrine Diagnoses. . *Horm Res Paediatr.* 2016;86(3):212-4.
7. Cohen P, Rogol A, Deal C, Saenger P, Reiter E, Ross J, et al. Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;9311:4210-7.
8. Carrascosa A, Fernández Longás A, Gracia Bouthelier R, López Sigüero J, Pombo Arias M, Yturriaga R, et al. Talla Baja Idiopática. Revisión y puesta al día. *Anales de Pediatría.* 2011;75(3):204.e1-.e11.
9. Laurie E, Cohen M. Idiopathic Short Stature. A Clinical review. *JAMA.* 2014;311(17):1787-96.
10. Mullis P, Robinson, IC. Salemi, S. Eblé, A. Besson, A. Vuissoz, JM. Deladoey, J. Simon, D. Czernichow, P. Binder, G. . Isolated autosomal dominant growth hormone deficiency: an evolving pituitary deficit? A multicenter follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(4):2089-96.
11. Cogan J, Ramel, B. Lehto, M. Phillips, J. Prince, M. Blizzard, RM. de Ravel, T. JL. Brammert, M. Groop, L. A recurring dominant negative mutation causes autosomal dominant growth hormone deficiency: a clinical research center study. *J Clin Endocr Metab.* 1995;80:3591-5.
12. Cogan J, Prince, MA. Lekhakula, S. Bunday, S. Futrakul, A. McCarthy, EM. Phillips, JA. A novel mechanism of aberrant pre-mRNA splicing in humans. *Hum Molec Genet.* 1997;6(6):909-12.
13. Binder G, Ranke, MB. Screening for growth hormone (GH) gene splice-site mutations in sporadic cases with severe isolated GH deficiency using ectopic transcript analysis. *J Clin Endocr Metab.* 1995;80:1247-52.
14. Hayashi Y, Yamamoto, M. Ohmori, S. Kamijo, T. Ogawa, M. Seo, H. Inhibition of growth hormone (GH) secretion by a mutant GH-I gene product in neuroendocrine cells containing secretory granules: an implication for isolated GH deficiency inherited in an autosomal dominant manner. *J Clin Endocr Metab.* 1999;84:2134-9.

15. McCarthy E, Phillips, JA. Characterization of an intron splice enhancer that regulates alternative splicing of human GH pre-mRNA. . *Hum Molec Genet.* 1998;7:1491-6.
16. Kamijo T, Hayashi, Y. Shimatsu, A. Kinoshita, E. Yoshimoto, M. Ogawa, M. Mutations in intron 3 of GH-1 gene associated with isolated GH deficiency type II in three Japanese families. . *H Clin Endocr.* 1999;51:355-60.
17. Takahashi I, Takahashi, T. Komatsu, M. Sato, T. Takada, G. . An exonic mutation of the GH-1 gene causing familial isolated growth hormone deficiency type II. *Clin Genet.* 2002;61:222-5.
18. Fofanova O, Evgrafov, OV. Polyakov, AV. Poltarau, AB. Peterkova, VA. Dedov, II. A novel IVS2 -2A-T splicing mutation in the GH-1 gene in familial isolated growth hormone deficiency type II in the spectrum of other splicing mutations in the Russian population. *J Clin Endocr Metab.* 2003;88:820-6.
19. Vivenza D, Guazzarotti, L. Godi, M. Frasca, D. di Natale, B. Momigliano-Richiardi, P. Bona, G. Giordano, M. . A novel deletion in the GH1 gene including the IVS3 branch site responsible for autosomal dominant isolated growth hormone deficiency. *J Clin Endocr Metab.* 2006;91:80-986.
20. Petkovic V, Lochmatter, D. Turton, J. Clayton, PE. Trainer, PJ. Dattani, MT. Eble, A. Robinson, I. C. Fluck, CE. Mullis, PE Exon splice enhancer mutation (GH-E32A) causes autosomal dominant growth hormone deficiency. *J Clin Endocr Metab.* 2007;92:4427-35.
21. Shariat N, Holladay, CD. Cleary, RK. Phillips, JA. Patton, JG. . Isolated growth hormone deficiency type II caused by a point mutation that alters both splice site strength and splicing enhancer function. *Clin Genet.* 2008;74:539-54.
22. Hess O, Hujeirat, Y. Wajnrajch, MP. Allon-Shalev, S. Zadik, Z. Lavi, I. Tenenbaum-Rakover, Y Variable phenotypes in familial isolated growth hormone deficiency caused by a G6664A mutation in the GH-1 gene. . *J Clin Endocr Metab.* 2007;92:4387-93.
23. Duquesnoy P, Amselem, S. Gourmelen, M. LeBouc, Y. Goossens, MA frameshift mutation causing isolated growth hormone deficiency type 1A. (Abstract). *Am J Hum Genet.* 1990;47:A110.
24. Igarashi Y, Ogawa, M. Kamijo, T. Iwatani, N. Nishi, Y. Kohno, H. Masumura, T. Koga, JA New mutation causing inherited growth hormone deficiency: a compound heterozygote of a 6.7 kb deletion and a two base deletion in the third exon of the GH-1 gene. *Hum Molec Genet.* 1993;2:1073-4.
25. Phillips J, Cogan, JD Genetic basis of endocrine disease 6: molecular basis of familial human growth hormone deficiency. *J Clin Endocr Metab.* 1994;78:11-6.
26. Cogan J, Phillips, JA. Sakati, N. Frisch, H. Schober, E. Milner, RDG Heterogeneous growth hormone (GH) gene mutations in familial GH deficiency. *J Clin Endocr Metab.* 1993;76:1224-8.
27. Abdul-Latif H, Leiberman, E. Brown, M.R. Carmi, R. Parks, JS. Growth hormone deficiency type IB caused by cryptic splicing of the GH-1 gene. *J Pediat Endocr Metab.* 2000;13:21-8.
28. Kowarski AA, Schneider J, Ben-Galim E, Weldon VV, Daughaday WH. Growth failure with normal serum RIA-GH and low somatomedin activity: somatomedin restoration and growth acceleration after exogenous GH. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;47(2):461-4.

29. Takahashi Y, Shirono H, Arisaka O, Takahashi K, Yagi T, Koga J, et al. Biologically inactive growth hormone caused by an amino acid substitution. *J Clin Invest.* 1997;100(5):1159-65.
30. Besson A, Salemi S, Deladoëy J, Vuissoz JM, Eblé A, Bidlingmaier M, et al. Short stature caused by a biologically inactive mutant growth hormone (GH-C53S). *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(5):2493-9.
31. Duriez B, Duquesnoy P, Dastot F, Bougnères P, Amselem S, Goossens M. An exon-skipping mutation in the btk gene of a patient with X-linked agammaglobulinemia and isolated growth hormone deficiency. *FEBS Lett.* 1994;346(2-3):165-70.
32. Argente J, Flores R, Gutiérrez-Arumí A, Verma B, Martos-Moreno G, Cuscó I, et al. Defective minor spliceosome mRNA processing results in isolated familial growth hormone deficiency. *EMBO Mol Med.* 2014;6(3):299-306.
33. Martos-Moreno G, Travieso-Suárez L, Pozo-Román J, Muñoz-Calvo MT, Chowen JA, Frilander MJ, et al. Response to growth hormone in patients with. *EMBO Mol Med.* 2018;10(7).
34. Pantel J, Legendre M, Nivot S, Morisset S, Vie-Luton MP, le Bouc Y, et al. Recessive isolated growth hormone deficiency and mutations in the ghrelin receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4334-41.
35. Pantel J, Legendre M, Cabrol S, Hilal L, Hajaji Y, Morisset S, et al. Loss of constitutive activity of the growth hormone secretagogue receptor in familial short stature. *J Clin Invest.* 2006;116(3):760-8.
36. Mitrakou A, Hadiidakis, D. Raptis, S. Bartsocas, CS. Souvatzoglou, A Heterogeneity of growth-hormone deficiency. (Letter). *Lancet.* 1985;325:399-400.
37. Aguiar-Oliveira M, Gill, MS. de A. Barretto, ES. Alcantara, MRS. Miraki-Moud, F. Menezes, CA. Souza, AHO. Martinelli, CE. Pereira, FA. Salvatori, R. Levine, MA. Shalet, SM. Camacho-Hubner, C. Clayton, PE Effect of severe growth hormone (GH) deficiency due to a mutation in the GH-releasing hormone receptor on insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins, and ternary complex formation throughout life. *J Clin Endocr Metab.* 1999;84: 4118-26.
38. Netchine I, Talon, P. Dastot, F. Vitaux, F. Goossens, M. Amselem, S Extensive phenotypic analysis of a family with growth hormone (GH) deficiency caused by a mutation in the GH-releasing hormone receptor gene. *J Clin Endocr Metab.* 1998;83:432-6.
39. Salvatori R, Fan, X. Phillips, JA. Espigares-Martin, R. de Lara, IM. Freeman, KL. Plotnick, L. Al-Ashwal, A. Levine, MA Three new mutations in the gene for the growth hormone (GH)-releasing hormone receptor in familial isolated GH deficiency type IB. *J Clin Endocr Metab.* 2001;86:273-9.
40. Wajnrajch M, Gertner, JM. Sokoloff, AS. Ten, I. Harbison, MD. Netchine, I. Maheshwari, HG. Goldstein, DB. Amselem, S. Baumann, G. Leibel, RL Haplotype analysis of the growth hormone releasing hormone receptor locus in three apparently unrelated kindreds from the Indian subcontinent with the identical mutation in the GHRH receptor. *Am J Med Genet* 2003;120A:77-83.
41. Amselem S, Sobrier, ML. Duquesnoy, P. Rappaport, R. Postel-Vinay, MC. Gourmelen, M. Dallapiccola, B. Goossens, M. Recurrent nonsense mutations in the growth hormone receptor from patients with Laron dwarfism. *J Clin Invest* 1991;87:1098-102.

42. Berg M, Argente, J. Chernausek, S. Gracia, R. Guevara-Aguirre, J. Hopp, M. Perez-Jurado, L. Rosenbloom, A. Toledo, SP. Francke, U Diverse growth hormone receptor gene mutations in Laron syndrome. *Am J Hum Genet.* 1993;52: 998-1005.
43. Wojcik J, Berg, MA. Esposito, N. Geffner, ME. Sakati, N. Reiter, EO. Dower, S. Francke, U. Postel-Vinay, MC. Finidori, J Four contiguous amino acid substitutions, identified in patients with Laron syndrome, differently affect the binding affinity and intracellular trafficking of the growth hormone receptor. *J Clin Endocr Metab.* 1998;83:4481-9.
44. Kaji H, Nose, O. Tajiri, H. Takahashi, Y. Lida, K. Takahashi, T. Okimura, Y., Abe, H. Chihara, K Novel compound heterozygous mutations of growth hormone (GH) receptor gene in a patient with GH insensitivity syndrome. *J Clin Endocr Metab.* 1997;82:3705-9.
45. Pantel J, Grulich-Henn, J. Bettendorf, M. Strasburger, CJ. Heinrich, U. Amselem, S Heterozygous nonsense mutation in exon 3 of the growth hormone receptor (GHR) in severe GH insensitivity (Laron syndrome) and the issue of the origin and function of the GHRd3 isoform. *J Clin Endocr Metab.* 2003;88:1705-10.
46. Domené H, Fierro-Carrión G. Genetic disorders of GH action pathway. *Growth Hormone and IGF Research.* 2018;38:19-23.
47. Goddard A, Covello, R. Luoh, SM. Clackson, T. Attie, KM. Gesundheit, N. Rundle, AC. Wells, JA. Carlsson, LMS Mutations of the growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. *New Eng J Med.* 1995;333:1093-8.
48. Ayling R, Ross, R. Towner, P. Von Laue, S. Finidori, J. Moutoussamy, S. Buchanan, CR. Clayton, PE. Norman, MR. A dominant-negative mutation of the growth hormone receptor causes familial short stature. (Letter). *Nature Genet.* 1997;16:13-4.
49. Sanchez J, Perera, E. Baumbach, L. Cleveland, WW. Growth hormone receptor mutations in children with idiopathic short stature. *J Clin Endocr Metab.* 1998;83: 4079-83.
50. Woods K, Camacho-Hubner C, Savage M, Clark A. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin like growth factor I gene. *New Eng J Med.* 1996;335(1363-1367).
51. Bonapace G, Concolino D, Formicola S, Strisciuglio P. A novel mutation in a patient with insulin-like growth factor 1 (IGF1) deficiency. (Letter). *J Med Genet.* 2003;40:913-7.
52. Walenkamp M, Karperien M, Pereira A, Hilhorst-Hofstee Y, van Doorn J, Chen J, et al. Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J Clin Endocr Metab.* 2005;90:2855-64.
53. Abbott A, Bueno R, Pedrini M, Murray J, Smith R. Insulin-like growth factor I receptor gene structure. *J Biol Chem.* 1992;267:10759-63.
54. Lanes R, Plotnick L, Spencer M, Daughaday W, Kowarski A. Dwarfism associated with normal serum growth hormone and increased bioassayable, receptorassayable, and immunoassayable somatomedin. *J Clin Endocr Metab.* 1980;50:485-8.
55. Abuzzahab M, Schneider A, Goddard A, Grigorescu F, Lautier C, Keller E, et al. IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. *New Eng J Med.* 2003;349:2211-22.
56. Begemann M, Zirn B, Santen G, Wirthgen E, Soellner L, Büttel HM, et al. Paternally Inherited IGF2 Mutation and Growth Restriction. *N Engl J Med.* 2015;373(4):349-56.



57. Kofoed E, Hwa, V. Little, B. Woods, KA. Buckway, CK. Tsubaki, J. Pratt, KL. Bezrodnik, L. Jasper, H. Tepper, A. Heinrich, JJ. Rosenfeld, RG Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. *New Eng J Med.* 2003;349:1139-47.
58. Fang P, Kofoed, EM. Little, BM. Wang, X. Ross, RJM. Frank, SJ. Hwa, V. Rosenfeld, RG A mutant signal transducer and activator of transcription 5b, associated with growth hormone insensitivity and insulin-like growth factor-I deficiency, cannot function as a signal transducer or transcription factor. *J Clin Endocr Metab.* 2006;91:1526-34.
59. Hwa V, Little, B. Adiyaman, P. Kofoed, EM. Pratt, KL. Ocal, G. Berberoglu, M. Rosenfeld, RG Severe growth hormone insensitivity resulting from total absence of signal transducer and activator of transcription 5b. *J Clin Endocr Metab.* 2005;90:4260-6.
60. Hwa V, Camacho-Hubner, C. Little, BM. David, A. Metherell, LA. El-Khatib, N. Savage, MO. Rosenfeld, RG Growth hormone insensitivity and severe short stature in siblings: a novel mutation at the exon 13-intron 13 junction of the STAT5b gene. *Horm Res.* 2007;68:218-24.
61. Bernasconi A, Marino, R. Ribas, A. Rossi, J. Ciaccio, M. Oleastro, M. Ornani, A. Paz, R. Rivarola, MA. Zelazko, M. Belgorosky, A Characterization of immunodeficiency in a patient with growth hormone insensitivity secondary to a novel STAT5b gene mutation. *Pediatrics.* 2006;118:e1584.
62. Vidarsdottir S, Walenkamp, MJE. Pereira, AM. Karperien, M. van Doorn, J. van Duyvenvoorde, HA. White, S. Bruening, MH. Roelfsema, F. Kruithof, MF. van Dissel, J. Janssen, R. Wit, JM. Romijn, JA Clinical and biochemical characteristics of a male patient with a novel homozygous STAT5b mutation. *J Clin Endocr Metab.* 2006;91:3482-5.
63. Scalco R, Pugliese-Pires, PN. Jorge, AA STAT5B deficiency: a new growth hormone insensitivity syndrome associated to immunological dysfunction. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2013;57(5):333-8.
64. Gorlin R. A Selected miscellany. *Birth Defects Orig.* 1975;XI:46-8.
65. Thauvin-Robinet C, Auclair M, Duplomb L, Caron-Debarle M, Avila M, St-Onge J, et al. PIK3R1 mutations cause syndromic insulin resistance with lipodystrophy. *Am J Hum Genet.* 2013(93):141-9.
66. Avila M, Dymont D, Sagen J, St-Onge J, Moog U, Chung B, et al. Clinical reappraisal of SHORT syndrome with PIK3R1 mutations: toward recommendation for molecular testing and management. *Clin Genet.* 2016;89:501-6.
67. Dauber A, Muñoz-Calvo MT, Barrios V, Domené HM, Klooverpris S, Serra-Juhé C, et al. Mutations in pregnancy-associated plasma protein A2 cause short stature due to low IGF-I availability. *EMBO Mol Med.* 2016;8(4):363-74.
68. Babiker A, Al Noaim K, Al Swaid A, Alfadhel M, Deeb A, Martín-Rivada Á, et al. Short stature with low insulin-like growth factor 1 availability due to pregnancy-associated plasma protein A2 deficiency in a Saudi family. *Clin Genet.* 2021;100(5):601-6.
69. Argente J, Pérez-Jurado LA. Letter to the Editor: History and clinical implications of PAPP-A2 in human growth: When reflecting on idiopathic short stature leads to a specific and new diagnosis: Understanding the concept of "low IGF-I availability". *Growth Horm IGF Res.* 2018;40:17-9.

70. Argente J, Chowen JA, Pérez-Jurado LA, Frystyk J, Oxvig C. One level up: abnormal proteolytic regulation of IGF activity plays a role in human pathophysiology. *EMBO Mol Med.* 2017;9(10):1338-45.
71. Fujimoto M, Andrew M, Dauber A. Disorders caused by genetic defects associated with GH-dependent genes: PAPP2 defects. *Mol Cell Endocrinol.* 2020;518:110967.
72. Overgaard MT, Boldt HB, Laursen LS, Sottrup-Jensen L, Conover CA, Oxvig C. Pregnancy-associated plasma protein-A2 (PAPP-A2), a novel insulin-like growth factor-binding protein-5 proteinase. *J Biol Chem.* 2001;276(24):21849-53.
73. Christians JK, Amiri N, Schipilow JD, Zhang SW, May-Rashke KI. Pappa2 deletion has sex- and age-specific effects on bone in mice. *Growth Horm IGF Res.* 2019;44:6-10.
74. Muñoz-Calvo MT, Barrios V, Pozo J, Chowen JA, Martos-Moreno G, Hawkins F, et al. Treatment With Recombinant Human Insulin-Like Growth Factor-1 Improves Growth in Patients With PAPP-A2 Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(11):3879-83.
75. Hawkins-Carranza FG, Muñoz-Calvo MT, Martos-Moreno G, Allo-Miguel G, Del Río L, Pozo J, et al. rhIGF-1 Treatment Increases Bone Mineral Density and Trabecular Bone Structure in Children with PAPP-A2 Deficiency. *Horm Res Paediatr.* 2018;89(3):200-4.
76. Rappold G, Blum W, Shavrikova E, Crowe B, Roeth R, Quigley c, et al. Genotypes and phenotypes in children with short stature: clinical indicators of SHOX haploinsufficiency. *J Med Genet.* 2007;44:306-13.
77. Storr HL, Dunkel L, Kowalczyk J, Savage MO, Metherell LA. Genetic characterisation of a cohort of children clinically labelled as GH or IGF1 insensitive: diagnostic value of serum IGF1 and height at presentation. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(2):151-61.
78. Akawi NA, Ali BR, Hamamy H, Al-Hadidy A, Al-Gazali L. Is autosomal recessive Silver-Russel syndrome a separate entity or is it part of the 3-M syndrome spectrum? *Am J Med Genet A.* 2011;155A(6):1236-45.
79. Binder G, Neuer K, Ranke MB, Wittekindt NE. PTPN11 mutations are associated with mild growth hormone resistance in individuals with Noonan syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(9):5377-81.
80. Hanson D, Murray PG, Black GC, Clayton PE. The genetics of 3-M syndrome: unravelling a potential new regulatory growth pathway. *Horm Res Paediatr.* 2011;76(6):369-78.
81. Hanson D, Murray PG, Coulson T, Sud A, Omokanye A, Stratta E, et al. Mutations in CUL7, OBSL1 and CCDC8 in 3-M syndrome lead to disordered growth factor signalling. *J Mol Endocrinol.* 2012;49(3):267-75.
82. Badina A, Pejin Z, Odent T, Buzescu A, Huber C, Cormier-Daire V, et al. Hip dislocation in 3-M syndrome: risk of misdiagnosis. *Clin Dysmorphol.* 2011;20(2):114-6.
83. Abu-Amero S, Monk D, Frost J, Preece M, Stanier P, Moore GE. The genetic aetiology of Silver-Russell syndrome. *J Med Genet.* 2008;45(4):193-9.
84. Peñaherrera MS, Weindler S, Van Allen MI, Yong SL, Metzger DL, McGillivray B, et al. Methylation profiling in individuals with Russell-Silver syndrome. *Am J Med Genet A.* 2010;152A(2):347-55.

85. Yamamoto GL, Agüena M, Gos M, Hung C, Pilch J, Fahiminiya S, et al. Rare variants in *SOS2* and *LZTR1* are associated with Noonan syndrome. *J Med Genet*. 2015;52(6):413-21.
86. Tafazoli A, Eshraghi P, Koleti ZK, Abbaszadegan M. Noonan syndrome - a new survey. *Arch Med Sci*. 2017;13(1):215-22.
87. Tafazoli A, Eshraghi P, Pantaleoni F, Vakili R, Moghaddassian M, Ghahraman M, et al. Novel mutations and their genotype-phenotype correlations in patients with Noonan syndrome, using next-generation sequencing. *Adv Med Sci*. 2018;63(1):87-93.
88. Argente J, Tatton-Brown K, Lehwalder D, Pfäffle R. Genetics of Growth Disorders-Which Patients Require Genetic Testing? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:602.
89. Baxter R, Martin, JL. Beniac, VA High molecular weight insulin-like growth factor binding protein complex. Purification and properties of the acid-labile subunit from human serum. *J Biol Chem*. 1989;264:11843-8.
90. Baxter R. Circulating levels and molecular distribution of the acid-labile (alpha) subunit of the high molecular weight insulin-like growth factor-binding protein complex. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;70:1347-53.
91. Lewitt M, Scott, FP. Clarke, NM. Baxter, RC Developmental regulation of circulating insulin-like growth factor-binding proteins in normal pregnancies and in pre-eclampsia. *Progress in Growth Factor Research* 1995;6:475-80.
92. Boisclair Y, Seto, D. Hsieh, S.,Hurst, KR. Ooi, GT Organization and chromosomal localization of the gene encoding the mouse acid labile subunit of the insulin-like growth factor binding complex. *PNAS*. 1996;93:10028-33.
93. Suwanichkul A, Boisclair, YR. Olney, RC. Durham, SK. Powell, DR Conservation of a growth hormone-responsive promoter element in the human and mouse acid-labile subunit genes. *Endocrinology*. 2000;141:833-8.
94. Domené H, Bengolea, SV. Martinez, AS. Ropelato, MG. Pennisi, P. Scaglia, P. Heinrich, JJ. Jasper, HG Deficiency of the circulating insulin-like growth factor system associated with inactivation of the acid-labile subunit gene. *New Eng J Med*. 2004;350:570-7.
95. Domené H, Hwa, V. Jasper, HG. Rosenfeld, RG Acid-labile subunit (ALS) deficiency. *Best Pract Res Clin Endocr Metab*. 2011;25:101-13.
96. Boisclair Y, Rhoads, RP. Ueki, I. Wang, J. Ooi, GT The acid-labile subunit (ALS) of the 150 kDa IGF-binding protein complex: an important but forgotten component of the circulating IGF system. *Journal of Endocrinology*. 2001;170:63-70.
97. Leong S, Baxter, RC. Camerato, T. Dai, J. Wood, WI Structure and functional expression of the acid-labile subunit of the insulin-like growth factor-binding protein complex. *Molec Endocr*. 1992;6:870-6.
98. David A, Kelly, LA. Sternberg, MJ A new structural model of the acid-labile subunit: pathogenetic mechanisms of short stature-causing mutations. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2012;49:213-20.
99. Janosi J, Ramsland, PA. Mott, MR. Firth, SM. Baxter, RC. Delhanty, PJ The acid-labile subunit of the serum insulin-like growth factor-binding protein complexes. Structural determination by molecular modeling and electron microscopy. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274:233328-23332.
100. Chin E, Zhou, J. Dai, J. Baxter, RC. Bondy, CA. Cellular localization and regulation of gene expression for components of the insulin-like growth factor ternary binding protein complex. *Endocrinology*. 1994;134:2498-504.

101. Burchill M, Yang, J. Vang, KB. Farrar, MA Interleukin-2 receptor signaling in regulatory T cell development and homeostasis. *Inmunol Lett.* 2007;114(1):1-8.
102. Casanova J, Holland, SM. Notarangelo, LD Inborn errors of human JAKs and STATs. *Immunity.* 2012;36(4):515-28.
103. Cohen A, Nadeau, K. Tu, W. Hwa, V. Dionis, K. Bezrodnik, L. et al. . Cutting edge: decreased accumulation and regulatory function of CD4+ CD25 (high) T cells in human STAT5b deficiency. *J Immunol.* 2006;177(5):2770-4.
104. Guler H, Zapf, J. Schmid, C. Froesch, ER Insulin-like growth factors I and II in healthy man. Estimations of half-lives and production rates. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1989;121:753-8.
105. Kim H, Fu Y, Hong HJ, Lee SG, Lee DS, Kim HM. Structural basis for assembly and disassembly of the IGF/IGFBP/ALS ternary complex. *Nat Commun.* 2022;13(1):4434.
106. Albiston AH, AC. Tissue distribution and regulation of insuline-like growth factor (IGF)- binding-protein-3 messenger ribonucleic acid (mRNA) in the rat: comparison with IGF-I mRNA expression. *Endocrinology.* 1992;130:497-502.
107. Kikuchi K, Bichell, DP. Rotwein, PJ. Chromatin changes accompany the developmental activation of insulin-like growth factor I gene transcription. *ournal of Biological Chemistry.* 1992;267:21505-11.
108. Ueki I, Ooi, GT. Tremblay, ML. Hurst, KR. Bach. IA. Boisclair, YR. Inactivation of the acid labile subunit gene in mice results in mild retardation of postnatal growth despite profound disruptions in the circulating isulin-like growth factor system. *PNAS.* 2000;97:6868-73.
109. Arquier N, Géminard, C. Bourouis, M. et al. Drosophila ALS regulates growth and metabolism through functional interaction with insulin-like peptides. *Cell Metabolism.* 2008;7:333-8.
110. Haluzik M, Yakar, S. Gavrilova, O. et al. Insulin-resistance in the liver specific IGF1 gene-deleted mouse is abrogated by deletion of the acid-labile subunit of the IGF- binding protein-3 complex. *Diabetes.* 2003;52:2483-8.
111. Yakar S, Rosen, CJ. Beamer et al. Circulating levels of IGF-I directly regulate bone growth and density. *The Journal of Clinical Investigation.* 2002;110:771-81.
112. Labarta J, Gargosky S, Lee P, Argente J, Mayayo E, Ferrandez A, et al. Estudio de la Subunidad ácido Labil (SAL) del complejo ternario del factor de crecimiento tipo insulina (IGF) en niños normales, con déficit de la hormona de crecimiento (DGH) y déficit en el receptor de la hormona de crecimiento (DGHR) antes y después del tratamiento. *An Pediatr.* 1996.
113. Labarta J, Gargosky S, Simpson D, Lee P, Argente J, Guevara-Aguirre J, et al. Immunoblot studies of the acid-labile subunit (ALS) in biological fluids, normal human serum and in children with GH deficiency and GH receptor deficiency before and after long-term therapy with GH or IGF-I respectively. *Clin Endocrinol.* 1997;47:657-66.
114. Juul A, Moller, S. Mosfeldt-Laursen, E. Rasmussen, MH. Scheike, T. Pedersen, SA. Kastrup, KW. Yu, H. Mistry, J. Rasmussen, S. Muller, J. Henriksen, J. Skakkebaek, NE The acid-labile subunit of human ternary insulin-like growth factor binding protein complex in serum: hepatosplanchnic reléase, diurnal variation, circulating concentrations in healthy subjects and diagnostic use in patients with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(12):4408-15.

115. Nimura A, Katsumata, N. Horikawa, R. Tanae, A. Tanaka, T Acid-labile Subunit (ALS) Measurements in children. *Endocrine Journal* 2000;47(Suppl):S111-4.
116. Barrios V, Pozo, J. Muñoz, MT. Buño, M. Argente, J. Normative data for total and free acid-labile subunit of the human insulin-like growth factor-binding protein complex in pre and full-term newborns and healthy boys and girls throughout postnatal development. *Horm Res* 2000;53(3):148-53.
117. Ertl D, Gleiss, A. Sagmeister, S. Haeusler, G Determining the normal range for IGF-I, IGFBP-3 and ALS: new reference data base don current internal standards. *Wien Med Wochenschr.* 2014;164:343-52.
118. Zapf J, Hauri, C. Waldvogel, M. Futo, E. Hasler, H. Binz, K. Guler, HP. Schmid, C. Froesch, ER Recombinant human insulin-like growth factor I induces its own specific carrier protein in hypophysectomised and diabetic rats. *PNAS.* 1989;86:3813-7.
119. Gargosky S, Tapanainen, P. Rosenfeld, RG Administration of Growth Hormone (GH), but not insuline-like growth factor-I (IGF-I) by continuous infusión can induce the formation of the 150-kilodalton IGF-binding protein-3 complex in GH deficient rats. *Endocrinology.* 1994;134:2267-76.
120. Delhanty P. Interleukin-I suppresses growth hormone induced acid-labile subunit mRNA levels and secretion in primary hepatocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1998;243:269-72.
121. Boisclair Y, Wang, J. Shi, J. Hurst, KR. Ooi, GT Role of the suppressor of cytokine signaling-3 (SOC3) in mediating the inhibitory effects of interleukin-1 on the growth hormone-dependent transcription of the acid-labile subunit gene in liver cells. *Journal of Biological Chemistry.* 2000;275:3841-7.
122. García Serrano E, Prieto Matos, P. Regueras Santos, L. Bahillo Curieses. P. Martín Alonso, M. Rupérez, S. Hernández Cerceño, M. Gil Rivas, M.T. Hermoso López, F. González Ildefonso, P. Grupo de trabajo de Endocrinología Pediátrica de Castilla y León. . Niveles de Subunidad Ácido lábil en pacientes tratados con hormona de crecimiento. *Rev Esp Endocrinología Pediatrica* 2014;5(Suppl):128.
123. Dai J, Baxter, RC Regulation of the acid-labile subunit of the rat serum insulin-like growth factor-binding protein complex. *Endocrinology.* 1994;135:2335-41.
124. Oster M, Levin, N. Fielder, PJ. Robinson, IC. Baxter, RC. Cronin, MJ Developmental differences in the IGF-I system response to severe and chronic calorie malnutrition. *American Journal of Physiology.* 1996;270:E646-E53.
125. Fukuda I, Hotta, M. Hizuka, N. Takano, K. Ishikawa, Y. et al Decreased serum levels of acid-labile subunit in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2034-6.
126. Lang C, Liu, X. Nystrom, GJ. Frost, RA Acute response of IGF-I and IGF binding proteins induced by termal injury. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism.* 2000;278:1087-E96.
127. Moller S, Juul, A. Becker, U. Henriksen, JH. The acid-labil subunit of the ternary insuline-like growth factor complex in cirrosis: relation to liver dysfunction. *Journal of Hepatology.* 2000;32:441-6.
128. Domené H, Scaglia, PA. Jasper, HG Deficiency of the IGFBP ALS of the circulating Ternary Complex in children with short stature. *Pediatric Endocrinology Reviews.* 2010;7(4):339-46.
129. Domené S, Domené HM. The role of acid-labile subunit (ALS) in the modulation of GH-IGF-I action. *Mol Cell Endocrinol.* 2020;518:111006.

130. Hwa V, Haeusler, G. Pratt, KL. Little, BM. Frisch, H. Koller, D. Rosenfeld, RG Total absence of functional acid labile subunit, resulting in severe insulin-like growth factor deficiency and moderate growth failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1826-31.
131. Domené H, Scaglia, PA. Lteif, A. Mahmud, FH. Kirmani, S. Frystyk, J. Bedecarrás, P. Gutiérrez, M. Jasper, HG Phenotypic effects of null and haploinsufficiency of acid-labile subunit in a family with two novel IGFALS gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4444-50.
132. Domené H, Martínez, AS. Frystyk, J. Bengolea, SV. Ropelato, MG. Scaglia, PA. Chen, JW. Heuck, C. Wolthers, OD. Heinrich, JJ. Jasper, HG Normal growth spurt and final height despite low levels of all forms of circulating insulin-like growth factor-I in a patient with acid-labile subunit deficiency. *Horm Res* 2007;67:243-9.
133. Heath K, Argente, J. Barrios, V. Pozo, J. Díaz-González, F. Martos-Moreno, GA. Caimari, M. Gracia, R. Campos-Barros, A Primary acid-labile subunit deficiency due to recessive IGFALS mutations results in postnatal growth deficit associated with low circulating insulin growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3 levels, and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1616-24.
134. Van Duyvenvoorde H, Kempers, MJ. Twickler, TB. Van Doorn, J. Gerver, WJ. Noordam, C. Losekoot, M. Karperien, M. Wit, JM. Hermus, AR Homozygous and heterozygous expression of a novel mutation of the acid-labile subunit. *Eur J Endocrinol.* 2008;159:113-20.
135. Domené H, Hwa, V. Argente, J. Wit, JM. Wit, JM. Camacho-Hübner, C. Jasper, HG. Pozo, J. Van Duyvenvoorde, HA. Yakar, S. Fofanova-Gambetti, OV. Rosenfeld, RG International ALS Collaborative Group 2009 Human acid-labile subunit deficiency: clinical, endocrine and metabolic consequences. *Horm Res.* 2009;72:129-41.
136. Fofanova-Gambetti O, Hwa, V. Kirsch, S. Pihoker, C. Chiu, HK. Högler, W. Cohen, LE. Jacobsen, C. Derr, MA. Rosenfeld, RG Three novel IGFALS gene mutations resulting in total ALS and severe circulating IGF-I/IGFBP-3 deficiency in children of different ethnic origins. *Horm Res.* 2009;71:100-10.
137. Bang P, Fureman, AL. Nilsson, AL. Bostrom, J. Kristrom, B. Ekstrom, K. Hwa, V. Rosenfeld, R. Carlsson-Skwirut, C. A novel missense mutation of the ALSIGF gene causing a L172F substitution in LRR6 is associated with short stature in two Swedish children homozygous or compound heterozygous for the mutation. *Horm Res.* 2009;72(Suppl 3):86.
138. Gallego-Gómez E, Sánchez del Pozo, J. Cruz-Rojo, J. Zurita-Munoz, O. Gracia-Bouthelie, R. Heath, KE. Campos-Barros, A Novel compound IGFALS mutation associated with impaired postnatal growth and low circulating IGF-I and IGFBP-3 levels. *Horm Res.* 2009;72(Suppl 3):90.
139. Fofanova-Gambetti O, Hwa, V. Wit, JM. Domene, H. Argente, J. Bang, P. Högler, W. Kirsch, S. Pihoker, C. Chiu, HK. Cohen, LE. Jacobsen, C. Jasper, HG. Rosenfeld, RG Auxological implications of heterozygous IGFALS mutations. *Horm Res.* 2009;72(Suppl 3):89.
140. David A, Rose, SJ. Miraki-Moud, F. et al. Acid-labile subunit deficiency and growth failure: description of two novel cases. *Hormone Research in Paediatrics.* 2010;73:328-34.
141. Hess O, Khayatt, M. Hwa, V. Heath, KE. et al A novel mutation in IGFALS, c.380T>C (p.L127P), associated with short stature, delayed puberty, osteopenia and hyperinsulinaemia in two siblings: insights into the roles of insulin growth factor-1 (IGF1). *Clinical endocrinology.* 2013;79:838-44.



142. Grandone A, Miraglia, E. Cirillo, G. et al Clinical features of a new Acid-Labile Subunit (IGFALS) Heterozygous Mutation: Anthropometric and Biochemical Characterization and Response to Growth Hormone Administration. *Horm Res Paediatr.* 2014;81:67-72.
143. Poukoulidou T, Kowalczyk, J. Metherell, L. De Schepper, J. Maes, M A novel Homozigous Mutation of the IGFALS Gene in a Female Adolescent: Indirect Evidence for a Contributing Role of the Circulating IGF-I Pool in the Pubertal Growth Spurt. *Horm Res Paediatr* 2014;81(6):422-7.
144. Zaidman V. Analysis of acid-labile subunit and its usefulness in pediatrics. *Arch Argent Pediatr* 2017;115(4):391-8.
145. Schreiner F, Schoenberg, S. Koester, B. Domené, H. Woelfle, J Novel Acid-labile Subunit (IGFALS) Mutation p.T145K (c.434C>A) in a patient with ALS Deficiency, Normal stature and Immunological Dysfunction. *Horm Res Paediatr.* 2013;80:424-30.
146. Isik E, Haliloglu, Van Doorn, J. Demirbilek, H. Scheltinga, SA. Losekoot, M. Wit, JM Clinical and biochemical characteristics and bone mineral density of homozigous, compound heteroxygous and heterozygous carriers of three novel IGFALS mutations. In: EJE-16-0999 APfpdmaM, editor. 2017.
147. Poyrazoglu S, Hwa V, Bas F, Dauber A, Rosenfeld R, Darendeliler F. A Novel Homozygous Mutation of the Acid-Labile Subunit (IGFALS) Gene in a Male Adolescent. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2019;11(4):432-8.
148. Kumar A, Jain V, Chowdhury MR, Kumar M, Kaur P, Kabra M. Pathogenic/likely pathogenic variants in the SHOX, GHR and IGFALS genes among Indian children with idiopathic short stature. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2020;33(1):79-88.
149. Dominguez-Menéndez G, Poggi Mayorga H, Arancibia M, Benavides F, Martinez-Aguayo A. ALS deficiency caused by an exon 2 deletion and a novel missense variant in the gene encoding ALS. *Growth Horm IGF Res.* 2019;48-49:5-8.
150. Scaglia P, Keselman, AC. Braslavsky, D. Martucci, LC. Karabatas, LM. Domené, S. Gutierrez, ML. Ballerini, MG. Ropelato, MG. Spinola-Castro, A. Siviero-Miachon, AA. Saito, J. Rodríguez Azrak, MS. Rey, RA. Jásper, HG. Bergadá, I. Domené, HM. Characterization of four Latin American families confirms previous findings and reveals novel features of acid-labile subunit deficiency. *Clinical Endocrinology.* 2017;87:300-11.
151. Hattori A, Katoh-Fukui Y, Nakamura A, Matsubara K, Kamimaki T, Tanaka H, et al. Next generation sequencing-based mutation screening of 86 patients with idiopathic short stature. *Endocrine Journal.* 2017.
152. Kamil G, Yoon JY, Yoo S, Cheon CK. Clinical relevance of targeted exome sequencing in patients with rare syndromic short stature. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):297.
153. Wit JM, van Duyvenvoorde HA, Scheltinga SA, de Bruin S, Hafkenscheid L, Kant SG, et al. Genetic analysis of short children with apparent growth hormone insensitivity. *Horm Res Paediatr.* 2012;77(5):320-33.
154. Yoo HJ, Kim K, Kim IH, Rho SH, Park JE, Lee KY, et al. Whole exome sequencing for a patient with Rubinstein-Taybi syndrome reveals de novo variants besides an overt CREBBP mutation. *Int J Mol Sci.* 2015;16(3):5697-713.
155. Domené H, Scaglia, PA. Martínez, AS. Keselman, AC. et al Heterozygous IGFALS Gene Variants in Idiopathic Short Stature and Normal Children: Impact in Height and the IGF System. *Horm Res Paediatr* 2013;80:413-23.

156. Takata A, Nakashima M, Saitsu H, Mizuguchi T, Mitsushashi S, Takahashi Y, et al. Comprehensive analysis of coding variants highlights genetic complexity in developmental and epileptic encephalopathy. *Nat Commun.* 2019;10(1):2506.
157. Plachy L, Strakova V, Elblova L, Obermannova B, Kolouskova S, Snajderova M, et al. High Prevalence of Growth Plate Gene Variants in Children With Familial Short Stature Treated With GH. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(10):4273-81.
158. Castilla-Cortazar I, De Ita JR, Aguirre GA, García-Magariño M, Martín-Estal I, Lara-Diaz VJ, et al. Growth hormone insensitivity: Mexican case report. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2017;2017.
159. Savage M, Attie, KM. David, A. Metherell, LA. Clark, AJ. Camacho-Hübner, C. Endocrine assessment, molecular characterization and treatment of growth hormone insensitivity disorders. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006;2:395-407.
160. Fofanova-Gambetti O, Hwa, V. Wit, JM. Argente, J. Bang, P. Hogler, W. Kirsch, S. Pihoker, C Chiu, HK. Cohen, L. et al Impact of heterozigosity for acid-labile subunit (IGFALS) gene mutations on stature: Results from the international ALS Consortium. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010.
161. Banerjee I, Hanson, D. Perveen, R. Whatmore, A. Black, GC. Clayton, PE Constitutional delay of growth and puberty is not commonly associated with mutations in the acid labile subunit gene. *European Journal of Endocrinology* 2008;158:473-7.
162. Iñiguez G, Argandoña, F. Medina, P. et al Acid-labile subunit (ALS) gene expression and protein content in human placentas: differences according to birthweight. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:187-.
163. Tseng Y, Hwang, YS. Lu, CL. Lin, SJ. Tsai, WH Association of Umbilical Cord Plasma Acid-labile Subunit of the Insulin-like Growth Factor Ternary Complex with Anthropometry in Term Newborns.
164. Renes JS, van Doorn J, Hokken-Koelega ACS. Current Insights into the Role of the Growth Hormone-Insulin-Like Growth Factor System in Short Children Born Small for Gestational Age. *Horm Res Paediatr.* 2019;92(1):15-27.
165. Renes J, Van Doorn, J. Breukhoven, PE. Lem, AJ. de Ridder, MA. Hokken-Koelega, AC Acid-Labile Subunit Levels and the Association with Response to Growth Hormone Treatment in Short Children Born Small for Gestational Age. *Horm Res Paediatr.* 2014;81(2):126-32.
166. Ueki I, Giesy SL, Harvatine KJ, Kim JW, Boisclair YR. The acid-labile subunit is required for full effects of exogenous growth hormone on growth and carbohydrate metabolism. *Endocrinology.* 2009;150(7):3145-52.
167. de Ridder MA, Stijnen T, Hokken-Koelega AC. Prediction model for adult height of small for gestational age children at the start of growth hormone treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(2):477-83.
168. Storr H, Prasad, R. Temple, IK. Metherell, LA. Savage, MO. Walker, JM Heterogeneity of the growth phenotype and birth size in acid-labile subunit (ALS) deficiency. *J Endocrinol Invest* 2015;38:407-12.
169. Clemmons D. Involvement of insulin-like growth factor-I in the control of glucose homeostasis. *Curr Opin Pharmacol.* 2006;6:620-5.
170. Randle P. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucosa fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes/Metabolism reviews.* 1998;14:263-83.



171. Segerlantz M, Bramnert, M. Manhem, P. et al Inhibition of the rise in FFA by Acipimox partially prevents GH- induced insulin resistance in GH-deficient adults. *The Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001;86:5813-8.
172. Dominici F, Argentino, DP. Muñoz, MC. et al. Influence of the crosstalk between growth hormone and insulin signalling on the modulation of insulin sensitivity. *Growth hormone and IGF research: oficial journal of the growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*. 2005;15:324-36.
173. Dohm G, Elton, CW. Raju, MS. et al IGF-1-stimulated glucose transport in human skeletal muscle and IGF-1 resistance in obesity and NIDDM. *Diabetes*. 1990;39:1028-32.
174. Clemmons D. The relative roles of growth hormone and IGF-1 in controlling insulin sensitivity. *The Journal of Clinical Investigation*. 2004;113:25-7.
175. Domené H, Bengolea, SV. Jasper, HG. et al Acid-labile subunit deficiency: phenotypic similarities and differences between human and mouse. *J Endocrinological Investigation*. 2005;28:43-6.
176. Ueki I, Giesy, SL. Harvatine, KJ. Kim, JW. Boisclair, YR The Acid-Labile Subunit is required for full effects of exogenous Growth Hormone on Growth and Carbohydrate Metabolism.
177. Domené H. El déficit de ALS en la talla baja idiopática. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2017;8(Suppl):8-13.
178. Grandone A, Miraglia E, al e. Clinical features of a new acid-labile subunit (IGFALS) heterozygous mutation: anthropometric and biochemical characterization and response to growth hormone administration. *Horm Res Paediatr*. 2014;81:67-72.
179. Léger J, Mohamed D, Dos Santos S, Ben Azoun M, Zénaty D, Simon D, et al. Impact of the underlying etiology of growth hormone deficiency on serum IGF-I SDS levels during GH treatment in childrens. *Eur J Endocrinol*. 2017;177(3):267-76.
180. Höglér W, Martin D, Crabtree N, Nightingale P, Tomlinson J, Metherell L, et al. IGFALS gen dosage effects on serum IGF-I and glucose metabolism, body composition, bone growth in length and width, and the pharmacokinetics of recombinant human IGF-I administration. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(4):E703-12.
181. Legendre M, Dastotb, F. Collob, N. Duquesnoy, P. Cohen, E. et al Contribution of GHR and IGFALS mutations to growth hormone resistance. Identification of new variants and impact on the inheritance pattern. *Horm Res Paediatr*. 2016;86(Suppl 1):114-5.
182. Shapiro L, Savage, M. Davies, K. Metherell, L. Storr, H Whole exome sequencing can identify defects not detected by candidate gene sequencing in patients with short stature and features of growth hormone insensitivity (GHI). *Horm Res Paediatr*. 2016;86(Suppl 1):47.
183. Shapiro L, Chatterjee S, Ramadan D, Davies K, O Savage M, Metherell L, et al. Whole-exome sequencing gives additional benefits compared to candidate gene sequencing in the molecular diagnosis of children with growth hormone or IGF-1 insensitivity. *European Journal of Endocrinology*. 2017;177:485-501.
184. David A, Rose S, Miraki-Moud F, Metherell L, Jones J, Edwards R, et al. Heterozygous defect of de acid-labile subunit gene in idiopathic short stature. *Horm Res*. 2008;70:31.
185. Martucci L, Gutierrez M, Karabatas L, Scaglia P, Rey R, Domené H, et al. Assessment of pathogenicity of natural *IGFALS* gene variants by *in silico*

- bioinformatics tools and *in vitro* functional studies. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2016;429:19-28.
186. Carrascosa AF, JM. Ferrández, A. López-Siguero, JP. López, D. Sánchez, E. y Grupo Colaborador. *Estudios españoles de crecimiento*. 2010.
187. Real Decreto 1258/2010 de 8 de octubre por el que se desarrolla la estructura orgánica básica del Ministerio de Sanidad y política Social: Adscribe el comité asesor de la hormona de crecimiento y sustancias relacionadas a la Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios, (2010).
188. Criterios para la utilización racional de la Hormona de Crecimiento en niños. Aprobados el 30 de mayo de 2008. Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios. Comité Asesor para la Hormona de Crecimiento. Ministerio de Sanidad y Consumo, (2008).
189. Sánchez Moreno S, Sánchez-Villares C, González P, Hernández Cerceño M, Martín Alonso M, Prieto Matos P. Concordancia del nuevo estándar de determinación de IGF1 (IMMULITE ® ) respecto al anterior. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2018;9:130-1.
190. Tanner J, Whitehouse, RH Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Childh*. 1976;51:170-9.
191. IBM. SPSS Statistics. 21.0.0.0.0 ed2012.
192. Computing RFFS. R: A Language and Environment for Statistical Computing. In: Team RC, editor. 2018.
193. Vicente Villardón J. MULTIBIPLLOT: A package for Multivariate Analysis using Biplots. 26/09/2017 (17.2609) (Matlab 2017 b) ed. Salamanca: Departamento de Estadística. Universidad de Salamanca.; 2016.
194. Friedrich N, Wolthers OD, Arafat AM, Emeny RT, Spranger J, Roswall J, et al. Age- and sex-specific reference intervals across life span for insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP-3) and the IGF-I to IGFBP-3 ratio measured by new automated chemiluminescence assays. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):1675-86.
195. RA. R, DM. S. Generalized Additive Models for Location Scale and Shape (GAMLSS) in R. *Journal Statistical Software*. 2007;23(7).
196. Stasinopoulos M, Rigby B, Akantziliotou C. Instructions on how to use the gamlss package in R Second Edition. 2008.
197. Rigby R, Stasinopoulos D. Generalized additive models for location, scale and shape. *Appl Statist*. 2005;54:507-54.
198. Rigby RA, Stasinopoulos DM. Smooth centile curves for skew and kurtotic data modelled using the Box-Cox power exponential distribution. *Stat Med*. 2004;23(19):3053-76.
199. Amat Rodrigo J. GAMLSS: modelos aditivos generalizados para posición, escala y forma2020.
200. Arias Vazquez M. Curvas de crecimiento de la población infantil gallega. [http://eio.usc.es/pub/mte/descargas/ProyectosFinMaster/Proyecto\\_1688.pdf](http://eio.usc.es/pub/mte/descargas/ProyectosFinMaster/Proyecto_1688.pdf): Santiago de Compostela; 2019.
201. Cole TJ, Green PJ. Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood. *Stat Med*. 1992;11(10):1305-19.
202. van Buuren S, Fredriks M. Worm plot: a simple diagnostic device for modelling growth reference curves. *Stat Med*. 2001;20(8):1259-77.
203. Rigby R, Stasinopoulos D. Generalized Additive Models for Location Scale and

- Shape (GAMLSS) in R. *Journal Statistical Software*. 2007;23(7).
204. Organization. WH. Physical status : the use of and interpretation of anthropometry , report of a WHO expert committee. WHO Expert Committee on Physical Status : the Use and Interpretation of Anthropometry (1993 : Geneva, Switzerland) & World Health Organization (1995)1995.
205. Granada M, Audí L, Leis A, Alfayate R, Aniel A, Álvarez E, et al. Factores a tener en cuenta en la interpretación de los resultados de la concentración sérica del factor de crecimiento insulinoide tipo 1 (IGF-1). *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2014;5(2):51-8.
206. Torrado-Fonseca M, Berlanga-Silvente V. Análisis discriminante mediante SPSS. *Revista d'Innovació i Recerca en Educació*. 2013;6(150-166).
207. Galindo M. Una alternativa de representación simultánea: HJ-Biplot. *Questíio*. 1986;10(1):13-23.
208. Galindo M, Cuadras C. Una extensión del método biplot a su relación con otras técnicas. Universidad de Barcelona. Publicación de Bioestadística y biomatemática1986.
209. Gabriel K. The biplot-graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika*. 1971;58(3):453-67.
210. Gower J, Hand D. *Biplots*. London: Chapman & Hall; 1996.
211. Cardenas O, Galindo P, Vicente Villardon J. Los métodos Biplot: Evolución y aplicaciones. *Revista Venezolana de análisis de Coyuntura*. 2007;13(1):279-303.
212. Giannakopoulos A, Efthymiadou A, Chrysis D. Insulin-like growth factor ternary complex components as biomarkers for the diagnosis of short stature. *Eur J Endocrinol*. 2021;185(5):629-35.
213. Juul A, Dalgaard P, Blum WF, Bang P, Hall K, Michaelsen KF, et al. Serum levels of insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 (IGFBP-3) in healthy infants, children, and adolescents: the relation to IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2, age, sex, body mass index, and pubertal maturation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(8):2534-42.
214. Bereket A, Turan S, Omar A, Berber M, Ozen A, Akbenlioglu C, et al. Serum IGF-I and IGFBP-3 levels of Turkish children during childhood and adolescence: establishment of reference ranges with emphasis on puberty. *Horm Res*. 2006;65(2):96-105.
215. Löfqvist C, Andersson E, Gelerander L, Rosberg S, Blum WF, Albertsson Wikland K. Reference values for IGF-I throughout childhood and adolescence: a model that accounts simultaneously for the effect of gender, age, and puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(12):5870-6.
216. Löfqvist C, Andersson E, Gelerander L, Rosberg S, Hulthen L, Blum WF, et al. Reference values for insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) and the ratio of insulin-like growth factor-I to IGFBP-3 throughout childhood and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(3):1420-7.
217. Xu S, Gu X, Pan H, Zhu H, Gong F, Li Y, et al. Reference ranges for serum IGF-1 and IGFBP-3 levels in Chinese children during childhood and adolescence. *Endocr J*. 2010;57(3):221-8.
218. Audi, Parera L, Granada Ybern M. Utilidad clínica de las determinaciones de IGF1 e IGFBP3. *An Pediatr*. 2004;60:1-8.
219. Alberti C, Chevenne D, Mercat I, Josserand E, Armoogum-Boizeau P, Tichet J, et al. Serum concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF binding protein-3 (IGFBP-3), IGF-1/IGFBP-3 ratio, and markers of bone turnover: reference

values for French children and adolescents and z-score comparability with other references. *Clin Chem*. 2011;57(10):1424-35.

220. Kawai N, Kanzaki S, Takano-Watou S, Tada C, Yamanaka Y, Miyata T, et al. Serum free insulin-like growth factor I (IGF-I), total IGF-I, and IGF-binding protein-3 concentrations in normal children and children with growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(1):82-9.

221. Juul A, Fisker S, Scheike T, Hertel T, Müller J, Orskov H, et al. Serum levels of growth hormone binding protein in children with normal and precocious puberty: relation to age, gender, body composition and gonadal steroids. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52(2):165-72.

222. Clemmons DR. Consensus statement on the standardization and evaluation of growth hormone and insulin-like growth factor assays. *Clin Chem*. 2011;57(4):555-9.

223. Juul A, Flyvbjerg A, Frystyk J, Müller J, Skakkebaek NE. Serum concentrations of free and total insulin-like growth factor-I, IGF binding proteins -1 and -3 and IGFBP-3 protease activity in boys with normal or precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996;44(5):515-23.

224. Ballerini MG, Braslavsky D, Scaglia PA, Keselman A, Rodríguez ME, Martínez A, et al. Circulating IGF-I, IGFBP-3 and the IGF-I/IGFBP-3 Molar Ratio Concentration and Height Outcome in Prepubertal Short Children on rhGH Treatment over Two Years of Therapy. *Horm Res Paediatr*. 2017;88(5):354-63.

225. Gaddas M, Périn L, Le Bouc Y. Evaluation of IGF1/IGFBP3 Molar Ratio as an Effective Tool for Assessing the Safety of Growth Hormone Therapy in Small-for-gestational-age, Growth Hormone-Deficient and Prader-Willi Children. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2019;11(3):253-61.

226. Kong AP, Wong GW, Choi KC, Ho CS, Chan MH, Lam CW, et al. Reference values for serum levels of insulin-like growth factor (IGF-1) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3) and their ratio in Chinese adolescents. *Clin Biochem*. 2007;40(15):1093-9.

227. Ertl DA, Chen J, Gleiss A, Janu D, Sagmeister S, Raimann A, et al. Diagnostic Value of Serum Acid-Labile Subunit Alone and in combination with IGF-I and IGFBP-3 in the Diagnosis of Growth Hormone Deficiency. *Horm Res Paediatr*. 2020;93(6):371-9.

228. Tillmann V, Patel L, Gill MS, Whatmore AJ, Price DA, Kibirige MS, et al. Monitoring serum insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF binding protein-3 (IGFBP-3), IGF-I/IGFBP-3 molar ratio and leptin during growth hormone treatment for disordered growth. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;53(3):329-36.

229. Karlberg J, Albertsson-Wikland K. Growth in full-term small-for-gestational-age infants: from birth to final height. *Pediatr Res*. 1995;38(5):733-9.

230. Hokken-Koelega AC, De Ridder MA, Lemmen RJ, Den Hartog H, De Muinck Keizer-Schrama SM, Drop SL. Children born small for gestational age: do they catch up? *Pediatr Res*. 1995;38(2):267-71.

231. Albertsson-Wikland K, Boguszewski M, Karlberg J. Children born small-for-gestational age: postnatal growth and hormonal status. *Horm Res*. 1998;49(# Suppl 2):7-13.

232. Chaussain JL, Colle M, Ducret JP. Adult height in children with prepubertal short stature secondary to intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Suppl*. 1994;399:72-3.

233. Stanhope R, Ackland F, Hamill G, Clayton J, Jones J, Preece MA. Physiological growth hormone secretion and response to growth hormone treatment in children with short stature and intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 1989;349:47-52; discussion 3-4.
234. de Waal WJ, Hokken-Koelega AC, Stijnen T, de Muinck Keizer-Schrama SM, Drop SL. Endogenous and stimulated GH secretion, urinary GH excretion, and plasma IGF-I and IGF-II levels in prepubertal children with short stature after intrauterine growth retardation. The Dutch Working Group on Growth Hormone. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994;41(5):621-30.
235. Boguszewski M, Rosberg S, Albertsson-Wikland K. Spontaneous 24-hour growth hormone profiles in prepubertal small for gestational age children. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(9):2599-606.
236. Tzschope A, Riedel C, von Kries R, Struwe E, Rascher W, Dörr HG, et al. Differential effects of low birthweight and intrauterine growth restriction on umbilical cord blood insulin-like growth factor concentrations. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;83(5):739-45.
237. Marzano F, Ventura A, Caratozzolo MF, Aiello I, Mastropasqua F, Brunetti G, et al. The p53 family member p73 modulates the proliferative role of IGFBP3 in short children born small for gestational age. *Mol Biol Cell.* 2015;26(15):2733-41.
238. Cohen P, Rogol AD, Howard CP, Bright GM, Kappelgaard AM, Rosenfeld RG, et al. Insulin growth factor-based dosing of growth hormone therapy in children: a randomized, controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(7):2480-6.
239. Ranke MB, Lindberg A, Chatelain P, Wilton P, Cutfield W, Albertsson-Wikland K, et al. Derivation and validation of a mathematical model for predicting the response to exogenous recombinant human growth hormone (GH) in prepubertal children with idiopathic GH deficiency. KIGS International Board. Kabi Pharmacia International Growth Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(4):1174-83.
240. Cutfield WS, Lundgren F. Insulin-like growth factor I and growth responses during the first year of growth hormone treatment in KIGS patients with idiopathic growth hormone deficiency, acquired growth hormone deficiency, turner syndrome and born small for gestational age. *Horm Res.* 2009;71 Suppl 1:39-45.
241. Cohen P, Rogol AD, Howard CP, Bright GM, Kappelgaard A, Rosenfeld RG. [Insulin growth factor-I-based dosing of growth hormone therapy in children: a randomized, controlled study]. *Probl Endokrinol (Mosk).* 2009;55(2):27-34.
242. Dauber A, Rosenfeld R, Hirschhorn J. Genetic evaluation of short stature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;370:2418-25.
243. Lu J, Campeau P, Lee B. Genotype-phenotype correlation-promiscuity in the era of next-generation sequencing. *European Journal of Medicine.* 2014;371:593-6.
244. Wit J, Oostdijk W, Losekoot M, van Duyvenvoorde H, Ruivenkamp C, Kant S. Mechanisms in endocrinology: Novel genetic causes of short stature. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(4):R145-R73.
245. Wang S, Carmichael H, Andrew S, Miller T, Moon J, et al. Large-scale pooled next-generation sequencing of 1077 genes to identify genetic causes of short stature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:E1428-E37.
246. Dauber A. New genetic tools in the diagnosis of growth defects. *Growth Horm IGF Res.* 2018;38:24-8.
247. Dauber A. Genetic Testing for the Child With Short Stature-Has the Time Come To Change Our Diagnostic Paradigm? *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(7):2766-9.



# 10.ANEXOS





# ANEXO I: Estadística descriptiva y correlaciones de los niños sanos con talla normal

Se recogen muestras de 446 pacientes sanos con talla normal. Se analizan los datos de 267 varones y 179 mujeres. Los datos descriptivos de la muestra se recogen en las tablas 67-69.

	Sexo	S-W (p)	Mediana	Rango intercuartílico	p (U)
Edad consulta	Niños	0,94 (0,00)	7,1	5,92	0,02
	Niñas	0,98 (0,05)	8,2	4,99	
Peso SD	Niños	0,98 (0,002)	-0,22	1,06	0,71
	Niñas	0,97 (0,008)	-0,24	1,2	
IMC SD	Niños	0,98 (0,008)	-0,35	1,2	0,49
	Niñas	0,98 (0,07)	-0,22	1,23	
Edad Gestacional	Niños	0,94(0,00)	39	2	0,006
	Niñas	0,93 (0,00)	40	1	
PRN SD	Niños	0,98 (0,002)	-0,1	1,48	0,44
	Niñas	0,99 (0,56)	-0,09	1,25	

Tabla 67. Descripción de la muestra de niños sanos. SW: Shaphiro-Wilk. U: U de Mann-Whitney. SD: Desviaciones estándar. IMC: Índice de Masa Corporal. PRN: Peso de recién nacido.

	Sexo	SW (p)	Media	Desviación típica	p (t)
Talla SD	Niños	0,98 (0,04)	0,06	0,99	0,80
	Niñas	0,98 (0,02)	0,03	1,06	
LRN SD	Niños	0,99 (0,14)	0,19	0,93	0,48
	Niñas	0,97 (0,02)	0,11	0,91	

Tabla 68. Descripción de la muestra de niños sanos. SW: Shaphiro-Wilk. t: t de Student. SD: Desviaciones estándar. LRN: Longitud de recién nacido.

Edad	Niños (%)		Niñas (%)		Tanner (Estadio puberal)	Niños (%)		Niñas (%)	
	Niños (%)	Niñas (%)	Niños (%)	Niñas (%)		Niños (%)	Niñas (%)		
Edad consulta (años)	2-4	52 (19,5)	19 (10,6)	I	222(83,1)	121(67,6)			
	4-6	52 (19,5)	26 (14,5)		>I	45 (16,9)			
	6-8	43 (16,1)	43 (24)		II	16 (6)	16 (8,9)		
	8-10	47 (17,6)	33 (18,4)		III	10 (3,7)	14 (7,8)		
	10-12	27 (10,1)	25 (14)		IV	15 (5,6)	15 (8,4)		
	>12	46 (17,2)	33 (18,4)		V	4 (1,5)	13 (7,3)		

Tabla 69. Datos descriptivos de la muestra de niños sanos.

Los niveles de ALS, IGF1 e IGFBP3 se correlacionan en ambos sexos significativamente de forma positiva entre ellas y con la edad de consulta (tabla 70) en todos los pacientes excepto en los niños puberales, en los que desaparece la correlación con la edad.

R PEARSON		ALS	IGF1	IGFBP3	ALS	edad	p
Muestra total		ALS	0,684	0,577	1	0,6	0,00
		IGFBP3	0,601	1	0,577	0,514	0,00
		IGF1	1	0,601	0,684	0,705	0,00
		Edad	0,705	0,514	0,6	1	0,00
Sexo	Niños	ALS	0,718	0,655	1	0,695	0,00
		IGFBP3	0,640	1	0,655	0,603	0,00
		IGF1	1	0,64	0,718	0,771	0,00
		Edad	0,771	0,603	0,695	1	0,00
	Niñas	ALS	0,593	0,398	1	0,422	0,00
		IGFBP3	0,497	1	0,398	0,35	0,00
		IGF1	1	0,497	0,593	0,619	0,00
		Edad	0,619	0,35	0,422	1	0,00
Sexo y Tanner	Niños Tanner I	ALS	0,55	0,58	1	0,545	0,00
		IGFBP3	0,55	1	0,58	0,49	0,00
		IGF1	1	0,55	0,55	0,647	0,00
		Edad	0,647	0,49	0,545	1	0,00
	Niños Tanner >I	ALS	0,453	0,403	1	NS	<0,01
		IGFBP3	0,375	1	0,403	NS	<0,01
		IGF1	1	0,375	0,453	NS	<0,01
		Edad	NS	NS	NS	1	NS
	Niñas Tanner I	ALS	0,625	0,412	1	0,239	<0,01
		IGFBP3	0,472	1	0,412	0,237	<0,01
		IGF1	1	0,472	0,625	0,450	0,00
		Edad	0,45	0,237	0,239	1	<0,01
	Niñas Tanner >I	ALS	0,277	NS	1	NS	<0,05
		IGFBP3	0,292	1	NS	NS	<0,05
		IGF1	1	0,292	0,277	NS	<0,05
		Edad	NS	NS	NS	1	NS

Tabla 70. Correlaciones entre ALS, IGF1, IGFBP3 y edad estratificadas por sexo y estadio puberal. SD: desviación estándar. NS: No significativo.

Los valores de ALS, IGF1 e IGFBP3 se correlacionan de forma positiva con las SD de talla, peso y el IMC, pero no con los datos antropométricos al nacimiento (tabla 71).

R PEARSON	IMC SD	TALLA SD	PESO SD	LRN SD	PRN SD	p
ALS	0,203	0,143	0,169	NS	NS	<0,01
IGF1	0,226	0,164	0,220*	NS	NS	<0,01
IGFBP3	0,150	0,126	0,109	NS	NS	<0,01

Tabla 71. Correlaciones entre ALS, IGF1 e IGFBP3 con talla, índice de masa corporal (IMC), peso, longitud de recién nacido (LRN) y peso de recién nacido (PRN). SD: desviación estándar. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. \*p=0,02 (resto de p<0,01).

### 1. ALS (mU/ml)

Se comprueba que la ALS sigue una distribución no normal mediante la prueba Shaphiro-Wilk (tablas 72 y 73) y gráficos Q-Q (Figuras 101 y 102). Se realizan gráficos cuantil-cuantil (Q-Q) de normalidad para la ALS separados por sexo. Se observa que en mujeres los datos se acercan a la normalidad ya que están colocados prácticamente en la línea recta, lo cual coincide con el resultado de la prueba de Shaphiro-Wilk ( $p > 0,05$ ) y en los varones observamos que los puntos se alejan de la recta, especialmente a la derecha del gráfico. La distribución presenta una asimetría positiva, la cola a la derecha de la mediana es más larga que a la izquierda.

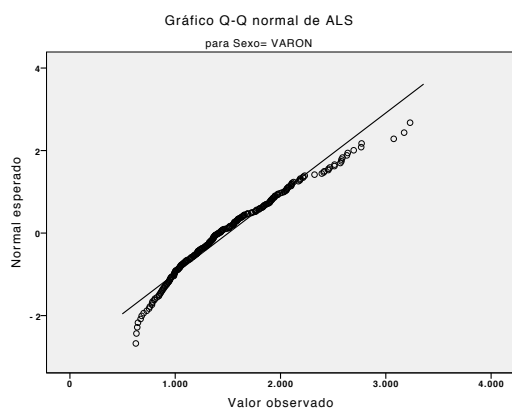


Figura 101. Gráfico Q-Q de ALS en niños

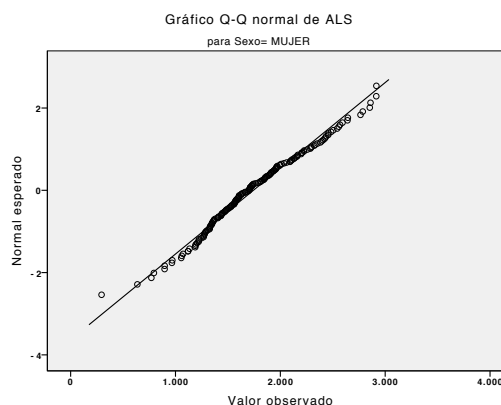


Figura 102. Gráfico Q-Q de ALS en niñas

Al comparar los valores de ALS se observan diferencias significativas al estratificar por sexo y al comparar pacientes prepuberales y pacientes puberales (tablas 72 y 73).

No se objetivan diferencias significativas entre los estadios puberales II-V (Tras realizar test Kruskal-Wallis con  $p = 0,38$ ).

ALS		SW (p)	Mediana	P25	P75	Rango intercuartílico	P (U)
<b>Total</b>			1557	1229,2	1925,2	696	
<b>Sexo</b>	Niños	0,96 (0,00)	1413	1102	1846	744	0,00
	Niñas	0,98 (0,10)	1697	1404	2059	655	
<b>Tanner</b>	Tanner 1	0,99 (0,01)	1413	1156	1743	587	0,00
	Tanner >1	0,99 (0,07)	2092,1	1714	2457,8	743,8	
<b>Niños</b>	Tanner1	0,98 (0,00)	1342	1054,3	1623,5	569,2	0,00
	Tanner >1	0,97 (0,39)	2170	1884,2	2573,4	689,2	
<b>Niñas</b>	Tanner I	0,98 (0,13)	1580	1331,9	1890,2	558,3	0,00
	Tanner >I	0,98 (0,32)	2012,5	1630,3	2400,1	769,8	

Tabla 72. Niveles de ALS estratificados por sexo y edad. SW: Shaphiro-Wilk. U: U de Mann-Whitney. ALS: Subunidad ácido lábil. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

ALS		SW (p)	Media	Desviación Típica	P (t)
<b>Niñas</b>	Tanner I	0,98 (0,13)	1616,01	439,03	0,00
	Tanner >I	0,98 (0,32)	2008,77	455,26	

Tabla 73. Niveles de ALS en niñas. t: t de Student. SW: Shaphiro-Wilk. ALS: Subunidad ácido lábil.

## 2. IGFBP3 ( $\mu\text{g/ml}$ )

Se comprueba que la IGFBP3 sigue una distribución no normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk (tabla 74) y gráficos Q-Q (Figuras 103 y 104).

Cuando la distribución es normal y se ajusta a la teórica los puntos se representan en línea recta en la diagonal.

La curva presente en nuestros datos nos indica que existe asimetría a la derecha o asimetría positiva, con concentración de casos en los valores bajos y cola alargada hacia los valores superiores de la distribución, es decir, hay valores más separados de la mediana a la derecha.

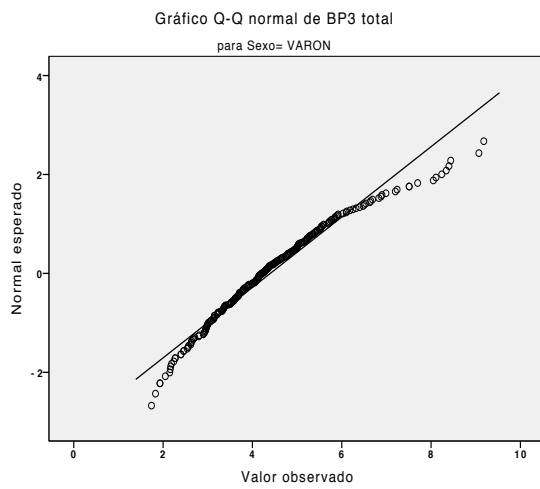


Figura 103. Gráfico Q-Q de IGFBP3 en niños

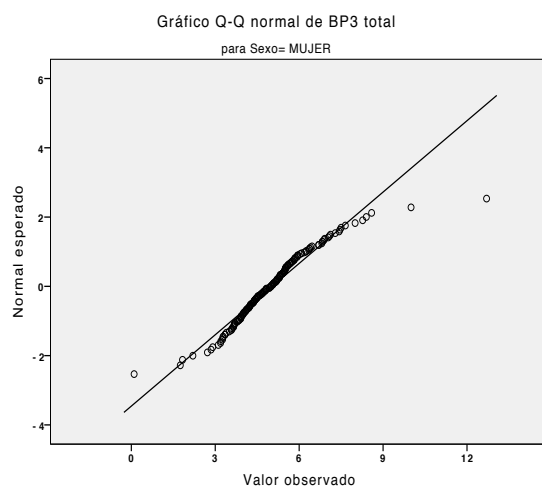


Figura 104. Gráfico Q-Q de IGFBP3 en niñas

No se objetivan diferencias significativas entre los estadios puberales II-V (Tras realizar test Kruskal-Wallis con  $p=0,92$ ). se observan diferencias significativas al estratificar por sexo y al comparar pacientes prepuberales y pacientes puberales (tabla 74).

IGFBP3		SW (p)	Mediana	P25	P75	Rango intercuartílico	P (U)
<b>Total</b>			4,5	3,7	5,4	1,7	
<b>Sexo</b>	Niños	0,96 (0,00)	4,2	3,4	5,2	1,8	0,00
	Niñas	0,94 (0,00)	5	4,1	5,7	1,6	
<b>Tanner</b>	Tanner 1	0,93 (0,00)	4,2	3,5	5	1,5	0,00
	Tanner>1	0,99 (0,4)	5,6	4,9	6,8	1,9	
<b>Niños</b>	Tanner1	0,96 (0,00)	4,1	3,2	4,8	1,6	0,00
	Tanner>1	0,98 (0,85)	5,7	4,9	6,9	2	
<b>Niñas</b>	Tanner I	0,85 (0,00)	4,6	3,9	5,3	1,4	0,00
	Tanner >I	0,98 (0,24)	5,6	5,1	6,5	1,4	

Tabla 74. Niveles de IGFBP3 estratificados por sexo y edad. SW: Shapiro-Wilk. U: U de Mann-Whitney. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

### 3. IGF1 (ng/ml)

Durante el transcurso del estudio se produjo un cambio en la determinación de IGF1 por parte del laboratorio adoptando un nuevo estándar (WHO NBSC IS 02/254) que modificó los valores de IGF1 totales siendo éstos más bajos con el nuevo método como fue demostrado en un estudio realizado en nuestro laboratorio<sup>(189)</sup>, por lo que los valores de IGF1 previos a octubre de 2016 se convirtieron según la fórmula descrita para poder comparar todos los valores de IGF1 en igualdad de condiciones:

$$\text{Nuevo método} = 6,053 + 0,754(\text{antiguo método}) \quad (\rho=0,00; R^2=0,994)$$

Tras realizar test de Shapiro-Wilk (tabla 75) y los gráficos Q-Q (Figuras 105 y 106) se comprueba que la IGF1 no sigue una distribución normal.

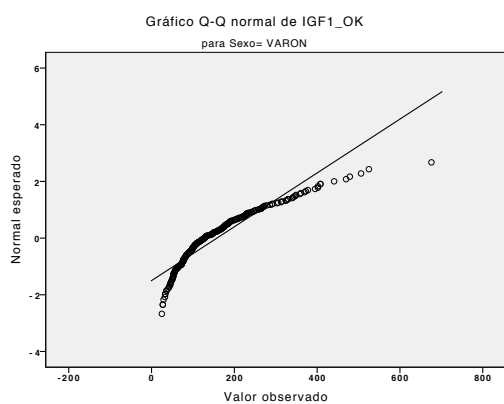


Figura 105. Gráfico Q-Q de IGF1 en niños

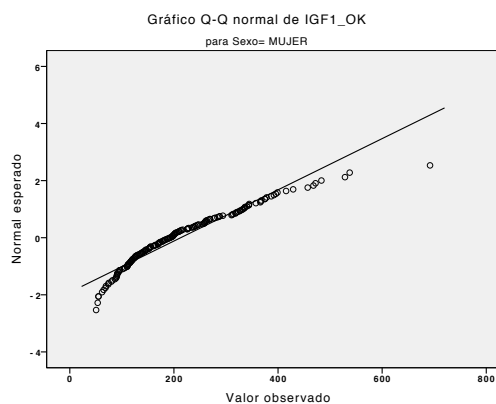


Figura 106. Gráfico Q-Q de IGF1 en niñas

Se objetivan diferencias en los niveles de IGF1 entre sexos y presencia o ausencia de pubertad (tabla 65). Se objetivan diferencias significativas entre los estadios puberales II-V (Tras realizar test Kruskal-Wallis con  $p=0,013$ ).

IGF1		SW (p)	Mediana	P25	P75	Rango intercuartílico	P (U)
<b>Total</b>			154,6	95,8	237,9	142,1	
<b>Sexo</b>	Niños	0,88 (0,00)	127,5	81,5	206,6	125,1	0,00
	Niñas	0,94 (0,00)	191,2	125,1	271,1	146	
<b>Tanner</b>	Tanner 1	0,93 (0,00)	124,7	86,6	181,5	94,9	0,00
	Tanner>1	0,97 (0,02)	306	229,2	372,5	143,3	
<b>Niños</b>	Tanner1	0,92 (0,00)	108,5	76,9	170,1	93,2	0,00
	Tanner>1	0,97 (0,85)	291,1	231,1	375,1	144	
<b>Niñas</b>	Tanner I	0,91 (0,00)	153,5	112	204	92	0,00
	Tanner >I	0,97 (0,18)	313,1	223,8	369,7	145,9	

Tabla 75. Niveles de IGF1 estratificados por sexo y edad. SW: Shapiro-Wilk. U: U de Mann-Whitney. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

Ya que la IGF1 que circula unida a IGFBP3 y ALS no se considera activa, podría ser de utilidad crear índices que relacionen estos tres componentes y ver como varían en los distintos tipos de TB y en aquellos niños en los que se inicia tratamiento con GH para valorar los posibles efectos secundarios.

#### 4. Índice molar IGF1/IGFBP3 (%)

Ya que el peso molecular de IGF1 (7.6 kDa) e IGFBP3 (29 kDa) son muy diferentes, esta ratio debe expresarse como ratio molar. La ratio entre IGF1 e IGFBP3 deben determinarse tras expresar ambas concentraciones en nanomol/l.

Considerando la gran diferencia en el peso molecular entre IGF1 e IGFBP3, la ratio molar expresada como porcentaje, indica la abundancia relativa de IGF1 en comparación con IGFBP3.

Tras realizar test de Shapiro-Wilk y gráficos Q-Q se comprueba que la ratio molar IGF1/IGFBP3 sigue una distribución no normal (Figura 107 y tabla 76).

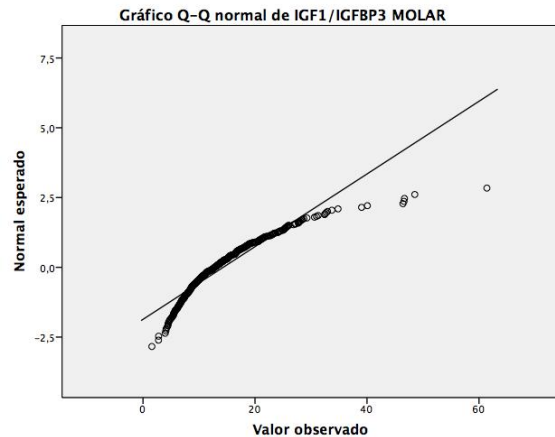


Figura 107. Gráfico Q-Q del índice IGF1/IGFBP3.

Objetivamos que existen diferencias significativas en los valores del índice IGF1/IGFBP3 molar entre niños y niñas y entre niños puberales y prepuberales (tabla 76). No se objetivan diferencias significativas entre los estadios puberales II-V (Tras realizar test Kruskal-Wallis con  $p=0,05$ ).

IGF1/IGFBP3		SW (p)	Mediana	P25	P75	Rango intercuartílico	P (U)
<b>Total</b>		0,079 (0,00)	12,8	8,8	17,6	8,8	
<b>Sexo</b>	Niños	0,852 (0,00)	11,3	8	16	8	0,00
	Niñas	0,888 (0,00)	14,4	10,4	19,5	9,1	
<b>Tanner</b>	Tanner 1	0,812 (0,00)	11,2	8,2	15,2	7	0,00
	Tanner>1	0,963 (0,01)	20,35	15,3	25,2	9,9	
<b>Niños</b>	Tanner 1	0,796 (0,00)	10,2	7,5	14,3	6,8	0,00
	Tanner>1	0,956 (0,09)	20,1	15,2	25,9	10,7	
<b>Niñas</b>	Tanner I	0,800 (0,00)	12,8	9,9	16,6	6,7	0,00
	Tanner >I	0,955 (0,00)	20,4	16	24,3	8,3	

Tabla 76. Niveles de IGF1/IGFBP3 estratificados por sexo y edad. SW: Shapiro-Wilk. U: U de Mann-Whitney. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

### 5. Índice IGFBP3/ALS molar:

Ya que la ALS solo se une a IGFBP3 cuando ésta se presenta en forma de complejo binario con IGF1, el cálculo de la ratio molar IGFBP3/ALS puede ser un parámetro importante para valorar aquellos niños con deficiencia parcial de ALS, revelando una cantidad limitada de ALS.

Tras realizar test de Shapiro-Wilk y gráficos Q-Q se comprueba que la ratio molar IGFBP3/ALS sigue una distribución no normal (figura 108 y tabla 77)

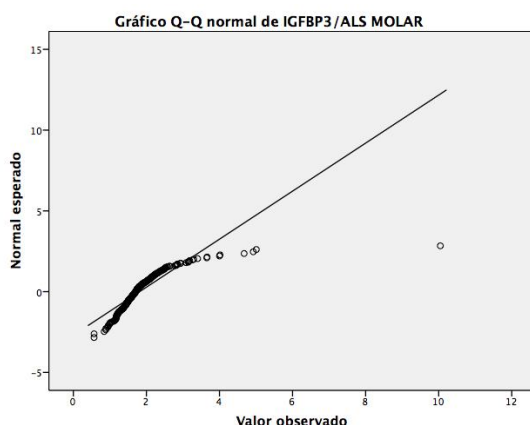


Figura 108. Gráfico Q-Q del índice IGFBP3/ALS.

Al comparar distintos grupos poblacionales aparecen diferencias al comparar los niños puberales y prepuberales ( $p=0,01$ ). No se objetivan diferencias significativas entre sexos ni entre niñas puberales y prepuberales (tabla 77). Tampoco se observan diferencias los estadios puberales II-V (Tras realizar test Kruskal-Wallis con  $p=0,697$ ).

IGFBP3/ALS		SW (p)	Med	P25	P75	Rango intercuartílico	P (U)
<b>Total</b>		0,685 (0,00)	1,70	1,47	2,02	0,55	
<b>Sexo</b>	Niños	0,881 (0,00)	1,72	1,5	2,02	0,52	0,289
	Niñas	0,577 (0,00)	1,69	1,44	2,02	0,58	
<b>Tanner</b>	Tanner 1	0,641 (0,00)	1,72	1,5	2,01	0,51	0,044
	Tanner >1	0,805 (0,00)	1,63	1,35	2,05	0,5	
<b>Niños</b>	Tanner 1	0,909 (0,00)	1,73	1,54	2,05	0,51	0,01
	Tanner >1	0,739 (0,00)	1,55	1,37	1,88	0,51	
<b>Niñas</b>	Tanner I	0,505 (0,00)	1,67	1,46	1,97	0,51	0,907
	Tanner >I	0,847 (0,00)	1,7	1,34	2,1	0,76	

Tabla 77. Niveles de IGF1/IGFBP3 estratificados por sexo y edad. SW: Shapiro-Wilk. U: U de Mann-Whitney. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. Med: Mediana. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

### 5. Índice IGF1/ALS (MOLAR)

No está claro, en la práctica clínica, como de útil sería la información suministrada por la ratio molar IGF1/ALS. Sería fisiológicamente más relevante, usar la ratio IGFBP3/ALS

## 6. Correlaciones entre ratios:

Los índices propuestos se correlacionan entre sí de forma directa (tabla 78).

El índice IGF1/IGFBP3 molar expresado en porcentaje se correlaciona con la edad, la talla y el IMC expresados en SD (tabla 79).

El índice IGFBP3/ALS no se correlaciona con la edad, el IMC ni talla expresados en SD. Los índices IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS no se correlacionan con la LRN expresada en SD (tabla 79).

R PEARSON (p)		IGF1/IGFBP3	IGF1BP3/ALS	EDAD
MUESTRA	IGF1/IGFBP3	1	-0,312 (0,00)	0,508 (0,00)
	IGFBP3/ALS	-0,312 (0,00)	1	-0,044 (NS)
NIÑOS	IGF1/IGFBP3	1	-0,337 (0,00)	0,534 (0,00)
	IGFBP3/ALS	-0,337 (0,00)	1	-0,089 (NS)
NIÑAS	IGF1/IGFBP3	1	-0,320 (0,00)	0,443 (0,00)
	IGFBP3/ALS	-0,320 (0,00)	1	-0,006 (NS)

Tabla 78. Correlaciones entre los distintos índices calculados. Se muestra el coeficiente de correlación y su significación estadística entre paréntesis)

R PEARSON (p)	IMC SD	TALLA SD	LRN SD	EDAD
IGF1/IGFBP3	0,172 (0,00)	0,110 (0,02)	-0,89 (NS)	0,508 (0,00)
IGFBP3/ALS	0,073 (NS)	-0,048 (NS)	0,049 (NS)	-0,044 (NS)

Tabla 79. Correlación de los índices IGF1/IGFBP3 molar e IGFBP3/ALS molar con talla, índice de masa corporal (IMC), talla y longitud de recién nacido (LRN). SD: desviación estándar. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3.



## ANEXO II: SCRIPTS

### 1. Estimación de modelos:

```

###Modelo GAMLSS
library(repmis) # source_file: load Rda from Github
library(ggplot2) # ggplot
library(gamlss) # lms()
library(tidyverse)

###Para definir las variables y grupo de datos:
DATOSSX<-split(DATOS, DATOS$Sexo)
DATOSNIÑAS<-DATOSSX[["1"]]
DATOSNIÑOS<-DATOSSX[["0"]]
ALS <- DATOSNIÑOS$ALS

#Donde ALS es la variable a estudio por lo que para la estimación de los distintos modelos
se sustituiría ALS por las diferentes variables (IGFBP3, IGF1, IGF1/IGFBP3 e IGFBP3/ALS)

DATOSNIÑOSTANNER<-split(DATOSNIÑOS, DATOSNIÑOS$TANNER)
DATOSNIÑASTANNER<-split(DATOSNIÑAS, DATOSNIÑAS$TANNER)
DATOSNIÑOSTANNER1<-DATOSNIÑOSTANNER[["0"]]
DATOSNIÑASTANNER1<-DATOSNIÑASTANNER[["0"]]
DATOSNIÑOSTANNERMAYOR1<-DATOSNIÑOSTANNER[["1"]]
DATOSNIÑASTANNERMAYOR1<-DATOSNIÑASTANNER[["1"]]
age <- DATOSNIÑOS$age
new <- data.frame (ALS=DATOSNIÑOS$ALS,age=DATOSNIÑOS$age )

#Donde DATOSNIÑOS se irá sustituyendo por los nombres de los diferentes grupos de
datos a analizar (DATOSNIÑOS, DATOSNIÑAS, DATOSNIÑOSTANNER1,
DATOSNIÑASTANNER1, DATOSNIÑOSTANNERMAYOR1, DATOSNIÑASTANNERMAYOR1)

###Para dibujar el gráfico de dispersion:
ggplot(new, aes(x=age, y=ALS)) +
  geom_point(shape = 1, color = "#0052bb", size = 1.5) +
  ggtitle("") +
  xlab("Age") + ylab("ALS") + ylim(c(200,3000))+
  theme_bw()

###Para dibujar el histograma:
ggplot() +
  geom_histogram(data = new, aes(x = ALS),
  alpha = 0.5, fill = "gray50") + geom_histogram(
  data = data.frame(new), aes(x = ALS), alpha = 0.3, fill = "firebrick") +
  labs(title = "Distribución real vs Distribución simulada") +theme_bw()

```

```

dim(new)
####Para estimar el modelo:
distribuciones <- fitDist(new$ALS, k = 3, type = "realplus",
                          trace = FALSE, try.gamlss = TRUE)
q=distribuciones$fits %>%
  enframe(name = "distribucion", value = "GAIC") %>%
  arrange(GAIC)
q
#K=3 Corresponde a AIC
summary(distribuciones)
summary(BCPEo())
BCPEo()
BCPE()
simulacion<-rBCPEo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
                  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
                  nu =distribuciones$nu.coefficients,
                  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))

```

#Donde BCPEo es el modelo elegido por lo que habrá que elegir el modelo correcto para cada variable y grupo de datos estudiados.

```

m3<-gamlss(ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
          nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
          family="BCPEo",
          data=new,k=3)
#ver modelo y el que hace log --> pb()

```

####Para dibujar los gráficos de residuos:

```

wp (m3)
plot (m3)

```

####Para calcular los percentiles:

```

p3<-round(qBCPEo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p05<-round(qBCPEo(0.050, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p95<-round(qBCPEo(0.950, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p97<-round(qBCPEo(0.97, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p10<-round(qBCPEo(0.100, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p25<-round(qBCPEo(0.250, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p50<-round(qBCPEo(0.500, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)

```

```
p75<-round(qBCPEo(0.750, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p90<-round(qBCPEo(0.900, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
```

###Para dibujar la gráfica de percentiles:

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
na.tabla<-distinct(na.tabla)
na.tabla<-arrange(na.tabla,age)
plot(na.tabla$age,na.tabla$mu,type="l",xlim=c(2,15),
ylim=c(0,3000),col="black",
xlab="Age", ylab="ALS",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p2.5,col="lightblue2",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p10,col="cornflowerblue",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p90,col="cornflowerblue",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p97.5,col="lightblue2",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p25,col="blue",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p75,col="blue",lwd=3)
lines(na.tabla$age,na.tabla$p50,col="black",lwd=3)
```

```
centiles.fan(m3,new$age,cent=c(3,10,25,50,75,90,97), ylab="ALS", xlab="Edad", ylim =
c(200,3500))
```

###Para calcular mediana y cuantiles:

```
new%>%mutate(agefr=floor(age))%>%group_by(agefr)%>%mutate(P50=median(ALS,
rm.na=T))%>%distinct(agefr,P50)
#new%>%mutate(agefr=floor(age))%>%group_by(agefr)%>%summarise(quantile(ALS,c(
.1, 0.25, 0.5, 0.75, 0.9, 0.99)))
#https://tbradley1013.github.io/2018/10/01/calculating-quantiles-for-groups-with-
dplyr-summarize-and-purrr-partial/
p <- c(.03, 0.25, 0.5, 0.75, 0.97)
p_names <- map_chr(p, ~paste0(.x*100, "%"))
p_funs <- map(p, ~partial(quantile, probs = .x, na.rm = TRUE)) %>%
set_names(nm = p_names)
p_funs
new%>%mutate(agefr=floor(age))%>%group_by(agefr)%>%summarise_at(vars(ALS),
funs(!!!p_funs))
```

## 2. Creación de fórmulas para cálculo de desviaciones estándar:

La fórmula para calcular SDS es:

$$SDS = \frac{\text{valor observado} - \text{valor de la mediana de población de referencia}}{\text{valor de la desviación estándar de la población de referencia}}$$

Para calcular la desviación estándar de la población de referencia se utiliza la función *sd* () de R para cada grupo de observaciones por sexo y edad.

Para calcular la mediana de la población de referencia se utiliza la función *median* () de R para cada grupo de observaciones por sexo y edad, la mediana corresponde con el percentil 50 calculado por el método GAMLSS.

```
DATOSSX<-split(DATOS, DATOS$Sexo)
DATOSNIÑAS<-DATOSSX[["1"]]
DATOSNIÑOS<-DATOSSX[["0"]]
DATOSNIÑOSTANNER<-split(DATOSNIÑOS, DATOSNIÑOS$TANNER)
DATOSNIÑASTANNER<-split(DATOSNIÑAS, DATOSNIÑAS$TANNER)
DATOSNIÑOSTANNER1<-DATOSNIÑOSTANNER[["0"]]
DATOSNIÑASTANNER1<-DATOSNIÑASTANNER[["0"]]
DATOSNIÑASEDAD<-split(DATOSNIÑAS, DATOSNIÑAS$EDADREDONDEADA)
DATOSNIÑOSEDAD<-split(DATOSNIÑOS, DATOSNIÑOS$EDADREDONDEADA)
DATOSNIÑASTANNER1EDAD<-split(DATOSNIÑASTANNER1,
DATOSNIÑASTANNER1$EDADREDONDEADA)
DATOSNIÑOSTANNER1EDAD<-split(DATOSNIÑOSTANNER1,
DATOSNIÑOSTANNER1$EDADREDONDEADA)
DATOSNIÑAS2<-DATOSNIÑASEDAD[["2"]]
DATOSNIÑAS3<-DATOSNIÑASEDAD[["3"]]
...
DATOSNIÑAS14<-DATOSNIÑASEDAD[["14"]]
DATOSNIÑOS2<-DATOSNIÑOSEDAD[["2"]]
...
DATOSNIÑOS14<-DATOSNIÑOSEDAD[["14"]]

ALS <- DATOSNIÑAS2$ALS
sd (ALS)
median (ALS)
```

#Donde *ALS* es la variable a estudio por lo que para la estimación de los distintos modelos se sustituiría *ALS* por las diferentes variables (*IGFBP3*, *IGF1*, *IGF1/IGFBP3* e *IGFBP3/ALS*)  
#Donde *DATOSNIÑAS2* se irá sustituyendo por los nombres de los diferentes grupos de datos a analizar (Ej: *DATOSNIÑAS3*, *DATOSNIÑAS12*, *DATOSNIÑOS14*, *DATOSNIÑOSTANNER113*...)

# ANEXO III: Resultados estimación de modelos

## 1. ALS

### 1.A. ALS en niños:

#### Elección de modelo:

La mejor familia de distribución, de acuerdo con GAIC (k=3) está almacenada en

```
distribuciones <- fitDist(new$ALS, k = 3, type = "realplus",
  trace = FALSE, try.gamlss = TRUE)
q=distribuciones$fits %>%
  enframe(name = "distribucion", value = "GAIC") %>%
  arrange(GAIC)
q
```

Distribución	GAIC
<chr>	<dbl>
1 IG	4033.
2 LNO	4034.
3 LOGNO2	4034.
4 LOGNO	4034.
5 GA	4035.
6 GIG	4035.
7 BCPE	4036.
8 BCPEo	4036.
9 GG	4036.
10 BCCGo	4036.

GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien.

```
summary(distribuciones)
```

#### Modelo elegido: BCPE

```
BCPEo()
```

GAMLSS Family: BCPEo Box-Cox Power Exponential-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCPEo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients, tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
```

```
m3<-gamlss(ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCPEo",
  data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new)
p3<-round(qBCPEo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p05<-round(qBCPEo(0.050, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p95<-round(qBCPEo(0.950, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p97<-round(qBCPEo(0.97, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p10<-round(qBCPEo(0.100, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p25<-round(qBCPEo(0.250, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p50<-round(qBCPEo(0.500, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p75<-round(qBCPEo(0.750, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
p90<-round(qBCPEo(0.900, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

**1.B. ALS en niñas:**

Elección modelo: La mejor familia de distribución, de acuerdo con GAIC (k=3):

Distribución	GAIC
<chr>	<dbl>
1 BCCG	2644.
2 BCCGo	2644.
3 exGAUS	2645.
4 GG	2646.
5 BCTo	2647.
6 BCT	2647.
7 WEI	2647.
8 WEI2	2647.
9 WEI3	2647.
10 BCPEo	2647.

```
summary(distribuciones)
Family: c("BCCG", "Box-Cox-Cole-Green")
```

```
Call: gamlssML(formula = y, family = DIST[i])
Fitting method: "nlminb"
Coefficient(s):
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
eta.mu    1735.797   37.9638445  45.72238 < 2.22e-16 ***
eta.sigma  -1.2989370   0.0572237  -22.69927 < 2.22e-16 ***
eta.nu     0.7887343   0.1859747   4.24108  2.2244e-05 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
Degrees of Freedom for the fit: 3 Residual Deg. of Freedom 171
Global Deviance: 2635.18
      AIC: 2641.18
      SBC: 2650.65
Modelo elegido: BCCG
```

```
BCCG ()
GAMLSS Family: BCCG Box-Cox-Cole-Green
Link function for mu: identity
Link function for sigma: log
Link function for nu: identity
simulacion<-rBCCG(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu = distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))

m3<-gamlss(ALS~age, sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCCG",
  data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=174

p3<-round(qBCCG(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

**1.C. ALS en niños prepuberales**

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 BCPE	3256.
2 BCPEo	3256.
3 GA	3260.
4 GG	3262.
5 BCCGo	3263.
6 BCCG	3263.

7 GIG	3263.
8 IG	3263.
9 LNO	3264.
10 LOGNO	3264.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCPEo

BCPEo()

GAMLSS Family: BCPEo Box-Cox Power Exponential-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCPEo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCPEo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

dim(new) #n=221

```
p3<-round(qBCPEo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
  tau=m3$tau.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
  digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 1.D. ALS en niñas prepuberales

Elección modelo

Distribución	GAIC
1 BCT	1759.
2 BCTo	1759.
3 BCPEo	1760.
4 BCPE	1760.
5 BCCGo	1760.
6 BCCG	1760.
7 exGAUS	1761.
8 GB2	1762.
9 GG	1763.
10 WEI2	1764.

summary(distribuciones)

Family: c("BCT", "Box-Cox t")



Call: gamlssML(formula = y, family = DIST[i])  
 Fitting method: "nlminb"

Coefficient(s):

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
eta.mu	1600.7537	38.633704	41.43412	< 2.22e-16 ***
eta.sigma	-1.489433	0.109752	-13.57093	< 2.22e-16 ***
eta.nu	0.564992	0.363778	1.55312	0.1203941
eta.tau	1.810175	0.559373	3.23608	0.0012118 **

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*'

Degrees of Freedom for the fit: 4 Residual Deg. of Freedom 113

Global Deviance: 1747.09

AIC: 1755.09

SBC: 1766.14

Modelo elegido: BCT

BCCT ()

GAMLSS Family: BCT Box-Cox t

Link function for mu : identity

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCT(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
```

```
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
```

```
nu =distribuciones$nu.coefficients,
```

```
tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
```

```
m3<-gamlss(ALS~age, sigma.fo=~pb(age),
```

```
nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
```

```
family="BCT",
```

```
data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=117
```

```
p3<-round(qBCT(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
```

```
tau=m3$tau.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
```

```
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 2. IGFBP3

### 2.A. IGFBP3 en niños:

Elección del modelo:

```
distribuciones <- fitDist(new$IGFBP3, k = 3, type = "realplus",  
  trace = FALSE, try.gamlss = TRUE)
```

```
q=distribuciones$fits %>%  
  enframe(name = "distribucion", value = "GAIC") %>%  
  arrange(GAIC)
```

q

Distribución	GAIC
1 LNO	909.
2 LOGNO2	909.
3 LOGNO	909.
4 IG	910.
5 GA	910.
6 GIG	912.
7 GG	912.
8 BCCGo	912.
9 BCCG	912.
10 exGAUS	914.

GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien.

```
summary(distribuciones)
```

Modelo elegido: BCCG

```
BCCG()
```

GAMLSS Family: BCCG Box-Cox-Cole-Green

Link function for mu : identity

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

```
simulacion<-rBCCG(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,  
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),  
  nu =distribuciones$nu.coefficients)
```

```
m3<-gamlss(IGFBP3~age, sigma.fo=~pb(age),  
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),  
  family="BCCG",  
  data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=265
```

```
p3<-round(qBCCGo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

### 2.B. IGFBP3 en niñas:

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 exGAUS	594.
2 BCT	594.
3 BCTo	594.
4 GB2	595.
5 BCPEo	597.
6 BCPE	597.
7 GA	599.
8 LNO	600.
9 LOGNO	600.
10 LOGNO2	600.

```
summary(distribuciones)
```

Modelo elegido: BCT

BCT ()

GAMLSS Family: BCT Box-Cox t

Link function for mu: identity

Link function for sigma: log

Link function for nu: identity

Link function for tau: log

```
simulacion<-rBCT(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
nu =distribuciones$nu.coefficients,
tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
```

```
m3<-gamlss(IGFBP3~age, sigma.fo=~pb(age),
nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age), family="BCT", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=174
```

```
p3<-round(qBCT(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 2.C. IGFBP3 en niños prepuberales

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 GA	695.
2 LNO	695.
3 LOGNO2	695.
4 LOGNO	695.
5 IG	696.
6 BCCG	697.
7 BCCGo	697.
8 GG	697.
9 GIG	697.
10 exGAUS	698.

```
summary(distribuciones)
```

Modelo elegido: BCCG

```
BCCG()
```

GAMLSS Family: BCCG Box-Cox-Cole-Green

Link function for mu: identity

Link function for sigma: log

Link function for nu: identity

```
simulacion<-rBCCG(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,  
                  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),  
                  nu =distribuciones$nu.coefficients,  
tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))  
m3<-gamlss(IGFBP3~age), sigma.fo=~pb(age),  
           nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),  
           family="BCCG", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=221
```

```
p3<-round(qBCCG(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv,  
nu=m3$nu.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,  
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 2.D. IGFBP3 en niñas prepuberales

Elección modelo

Distribución	GAIC
1 BCTo	379.
2 BCT	379.
3 GB2	380.
4 exGAUS	382.
5 BCPEo	383.
6 BCPE	383.
7 LNO	388.
8 LOGNO	388.
9 LOGNO2	388.
10 IG	390.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCTo

BCTo()

GAMLSS Family: BCTo Box-Cox-t-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCTo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(IGFBP3~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCTo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

dim(new) #n=117

```
p3<-round(qBCCG(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 3.IGF1

### 3.A. IGF1 en niños:

Elección de modelo:

La mejor familia de distribución, de acuerdo con GAIC (k=3) está almacenada en

```
distribuciones <- fitDist(new$IGF1, k = 3, type = "realplus",
  trace = FALSE,try.gamlss = TRUE)
```

```
q=distribuciones$fits %>%
  enframe(name = "distribucion", value = "GAIC") %>%
  arrange(GAIC)
```

q

distribucion	GAIC
1 IG	3103.
2 GIG	3104.
3 LNO	3104.
4 LOGNO	3104.
5 LOGNO2	3104.
6 BCPE	3106.
7 BCPEo	3106.
8 GG	3107.
9 BCCG	3107.
10 BCCGo	3107.

GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien.

```
summary(distribuciones)
```

Modelo elegido: BCPEo

```
BCPEo()
```

GAMLSS Family: BCPEo Box-Cox Power Exponential-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCPEo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
```

```
m3<-gamlss(IGF1~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCPEo",
  data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=265
```

```
p3<-round(qBCPEo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
  tau=m3$tau.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
  digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

### 3.B. IGF1 en niñas:

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 IG	2097
2 LNO	2098
3 LOGNO2	2098
4 LOGNO	2098
5 GIG	2098
6 GA	2098
7 GG	2100
8 BCCG	2100
9 BCCGo	2100
10 BCPE	2100

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCCG

BCCG ()

GAMLSS Family: BCCG Box-Cox-Cole-Green

Link function for mu: identity

Link function for sigma: log

Link function for nu: identity

```
simulacion<-rBCCG(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(IGF1~age, sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCCG", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

dim(new) #n=174

```
p3<-round(qBCCG(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

### 3.C. IGF1 en niños prepuberales

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 GIG	2453.
2 LNO	2453.
3 LOGNO	2453.

4 LOGNO2	2453.
5 IG	2453.
6 GA	2453.
7 GG	2454.
8 BCCG	2454.
9 BCCGo	2454.
10 BCPE	2455.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCCG

BCCG()

GAMLSS Family: BCCG Box-Cox-Cole-Green

Link function for mu : identity

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

```
simulacion<-rBCCG(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
```

```
m3<-gamlss(IGF1~age, sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCCG", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=221
```

```
p3<-round(qBCCG(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
  tau=m3$tau.fv),digits=3)
```

```
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
  digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

### 3.D. IGF1 en niñas prepuberales

Elección modelo

Distribución	GAIC
1 LNO	1330.
2 LOGNO2	1330.
3 LOGNO	1330.
4 IG	1330.
5 GA	1332.
6 GG	1333.
7 BCCGo	1333.
8 BCCG	1333.
9 GIG	1333.
10 IGAMMA	1335.



summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCCG

```
BCCG()
GAMLSS Family: BCCG Box-Cox-Cole-Green
Link function for mu : identity
Link function for sigma: log
Link function for nu : identity
simulacion<-rBCCG(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients,
  tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(IGF1~age), sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
  family="BCCG", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=117
```

```
p3<-round(qBCCG(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
  digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 4. ÍNDICE IGF1/IGFBP3 molar

### 4.A. IGF1/IGFBP3 en niños:

Elección del modelo:

```
distribuciones <- fitDist(new$IGF1IGFBP3, k = 3, type = "realplus",
  trace = FALSE,try.gamlss = TRUE)
```

```
q=distribuciones$fits %>%
  enframe(name = "distribucion", value = "GAIC") %>%
  arrange(GAIC)
```

q

Distribución	GAIC
1 IG	1703.
2 LNO	1703.
3 LOGNO	1703.
4 LOGNO2	1703.
5 GG	1705.
6 BCCGo	1705.
7 BCCG	1705.
8 GIG	1705.

9 exGAUS	1706.
10 BCPE	1708.

GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCCGo

BCCGo()

GAMLSS Family: BCCGo Box-Cox-Cole-Green-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

```
simulacion<-rBCCGo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
  nu =distribuciones$nu.coefficients)
m3<-gamlss(IGFBP3~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
  nu.fo=~age, family="BCCGo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

dim(new) #n=265

```
p3<-round(qBCCGo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

#### **4.B. IGF1/IGFBP3 en niñas:**

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 exGAUS	1159.
2 BCTo	1162.
3 BCT	1162.
4 GA	1162.
5 GB2	1162.
6 BCCGo	1163.
7 BCCG	1163.
8 LNO	1163.
9 LOGNO2	1163.
10 LOGNO	1163.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCTo

BCTo ()

GAMLSS Family: BCTo Box-Cox-t-orig.

```

Link function for mu : log
Link function for sigma: log
Link function for nu : identity
Link function for tau : log
simulacion<-rBCTo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
                 sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
                 nu=distribuciones$nu.coefficients, tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(IGF1IGFBP3~pb(age), sigma.fo=~pb(age),nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age),
family="BCTo", data=new,k=3)
    
```

Cálculo percentiles:

```

p3<-round(qBCTo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05,
mu=round(m3$mu.fv, digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
    
```

**4.C. IGF1/IGFBP3 en niños prepuberales**

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 LNO	1314.
2 LOGNO2	1314.
3 LOGNO	1314.
4 IG	1314.
5 GG	1317.
6 BCCGo	1317.
7 BCCG	1317.
8 GIG	1317.
9 exGAUS	1318.
10 BCPEo	1320.

summary(distribuciones)

```

family: c("LNO", "Box-Cox")
Call: gamlss(formula = y ~ 1, family = DIST[i], trace = FALSE)
Fitting method: RS()
    
```

```

-----
Mu link function: identity
Mu Coefficients:
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 2.33426   0.03087  75.61 <2e-16 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
    
```

```

-----
Sigma link function: log
Sigma Coefficients:
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -0.78107   0.04767 -16.38 <2e-16 ***
---
    
```

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Modelo elegido: LNO ()

LNO()

GAMLSS Family: LNO Box-Cox

Link function for mu : identity

Link function for sigma: log

Link function for nu :

```
simulacion<-rLNO(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,  
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),  
nu =distribuciones$nu.coefficients)
```

```
m3<-gamlss(IGF1IGFBP3~age, sigma.fo=~pb(age),  
family="LNO",  
data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=220
```

```
p3<-round(qLNO(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv),digits=3)na.tabla<-  
data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,  
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

#### 4.D. IGF1/IGFBP3 en niñas prepuberales

Elección modelo

Distribución	GAIC
1 GA	683.
2 exGAUS	683.
3 BCCGo	684.
4 BCCG	684.
5 GG	685.
6 WEI2	685.
7 WEI	685.
8 WEI3	685.
9 BCT	686.
10 BCTo	686.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCCGo

BCCGo()

GAMLSS Family: BCCGo Box-Cox-Cole-Green-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

```
simulacion<-rBCCGo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,  
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),  
nu =distribuciones$nu.coefficients,  
tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
```

```
m3<-gamlss(IGF1IGFBP3~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
nu.fo=~age, family="BCCGo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
p3<-round(qBCCGo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 5. ÍNDICE IGFBP3/ALS molar

### 5.A. IGFBP3/ALS en niños:

Elección del modelo:

```
distribuciones <- fitDist(new$BP3ALS, k = 3, type = "realplus",
trace = FALSE,try.gamlss = TRUE)
```

```
q=distribuciones$fits %>%
enframe(name = "distribucion", value = "GAIC") %>%
arrange(GAIC)
```

q

Distribución	GAIC
1 BCPEo	329.
2 BCPE	329.
3 GB2	330.
4 exGAUS	331.
5 BCTo	333.
6 BCT	333.
7 IGAMMA	335.
8 BCCG	338.
9 BCCGo	338.
10 GG	338.

GAIC es prácticamente igual para todas las distribuciones por lo que todas ajustarían más o menos bien.

```
summary(distribuciones)
```

Coefficient(s):

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
eta.mu	0.5422116	0.0136341	39.76888	< 2e-16 ***
eta.sigma	-1.3544171	0.0578485	-23.41317	< 2e-16 ***
eta.nu	-0.3584468	0.2250274	-1.59290	0.111182
eta.tau	0.2362611	0.1295051	1.82434	0.068101 .

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*'

Degrees of Freedom for the fit: 4 Residual Deg. of Freedom 260

Global Deviance: 316.661

AIC: 324.661  
SBC: 338.965

Modelo elegido: BCPEo

BCPEo()

GAMLSS Family: BCPEo Box-Cox Power Exponential-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCPEo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,  
                  sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),  
                  nu =distribuciones$nu.coefficients)  
m3<-gamlss(BP3ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),  
          nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age), family="BCPEo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

dim(new) #n=265

```
p3<-round(qBCPEo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)  
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,  
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

## 5.B. IGFBP3/ALS en niñas:

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 BCT	246.
2 BCTo	246.
3 GB2	249.
4 BCPEo	251.
5 BCPE	251.
6 exGAUS	265.
7 BCCG	266.
8 BCCGo	266.
9 IGAMMA	267.
10 GG	269.

summary(distribuciones)

Modelo elegido: BCTo

BCTo ()

GAMLSS Family: BCTo Box-Cox-t-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCTo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
```

```
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
nu =distribuciones$nu.coefficients,
tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(BP3ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age), family="BCTo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=174
p3<-round(qBCTo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv,
tau=m3$tau.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

### 5.C. IGFBP3/ALS en niños prepuberales

Elección modelo:

Distribución	GAIC
1 exGAUS	258.
2 BCPEo	260.
3 BCPE	260.
4 GB2	260.
5 IGAMMA	261.
6 BCTo	263.
7 BCT	263.
8 BCCG	263.
9 BCCGo	263.
10 GG	263.

```
summary(distribuciones)
```

Modelo elegido: BCPEo

BCPEo()

GAMLSS Family: BCPEo Box-Cox Power Exponential-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

Link function for tau : log

```
simulacion<-rBCPEo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
nu =distribuciones$nu.coefficients)
m3<-gamlss(BP3ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
nu.fo=~age, tau.fo=~pb(age), family="BCPEo", data=new,k=3)
```

Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=220
```

```
p3<-round(qBCPEo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv),digits=3)na.tabla<-
data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```

### 5.D. IGFBP3/ALS en niñas prepuberales

#### Elección modelo

Distribución	GAIC
1 BCCG	139.
2 BCCGo	139.
3 BCPE	141.
4 BCPEo	141.
5 BCT	142.
6 BCTo	142.
7 GG	143.
8 GB2	145.
9 exGAUS	158.
10 IGAMMA	164.

```
summary(distribuciones)
```

#### Modelo elegido: BCCGo

```
BCCGo()
```

GAMLSS Family: BCCGo Box-Cox-Cole-Green-orig.

Link function for mu : log

Link function for sigma: log

Link function for nu : identity

```
simulacion<-rBCCGo(n = dim(new)[1], mu = distribuciones$mu.coefficients,
sigma = exp(distribuciones$sigma.coefficients),
nu =distribuciones$nu.coefficients,
tau = exp(distribuciones$tau.coefficients))
m3<-gamlss(BP3ALS~pb(age), sigma.fo=~pb(age),
nu.fo=~age, family="BCCGo", data=new,k=3)
```

#### Cálculo percentiles:

```
dim(new) #n=115
```

```
p3<-round(qBCCGo(0.03, mu=m3$mu.fv, sigma = m3$sigma.fv, nu=m3$nu.fv),digits=3)
na.tabla<-data.frame(age=new$age,p3, p05, mu=round(m3$mu.fv,
digits=3),p97,p10,p25,p50,p75,p90)
```



# ANEXO IV: Resultados extra del análisis multivariante.

## PACIENTES CON TALLA BAJA IDIOPÁTICA, TBI Y RCCD

En los biplots en planos 1-3 (figura 109) y 2-3 (figura 110), observamos que IGF1 e IGFBP3 se correlacionan entre sí, pero no con la talla y la ALS. Estos biplots no nos permiten diferenciar los pacientes con TBI de distinta etiología (RCCD, TBF y TBI propiamente dicha) ya que los pacientes se reparten de forma difusa tanto en el eje X como en el Y.

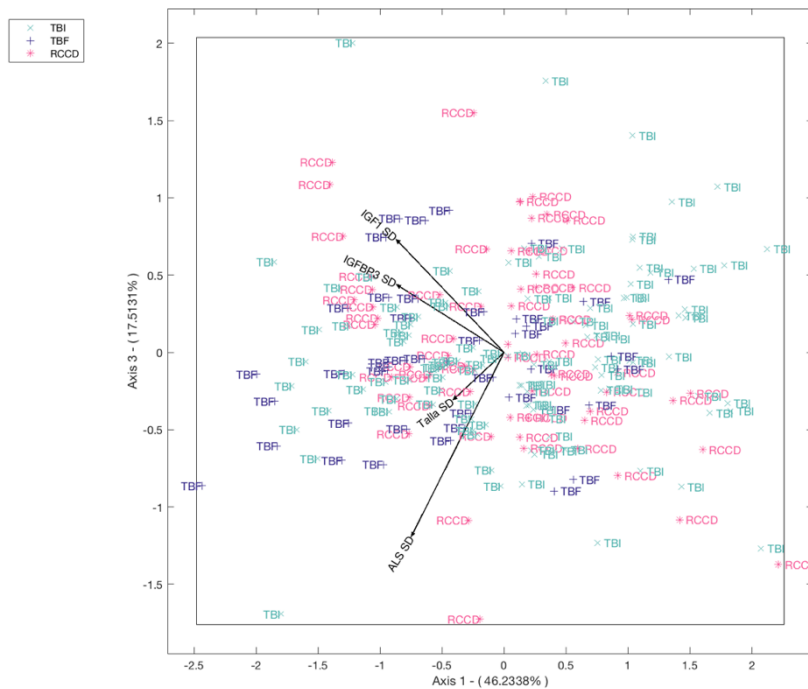
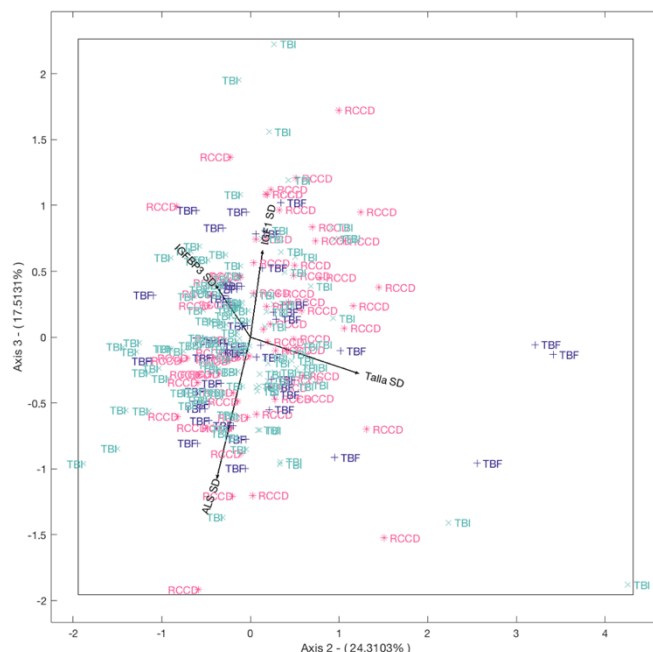


Figura 109. Representación multivariante de los pacientes con TBI, TBF y RCCD mediante HJ-biplot en ejes 1-3. TBI: Talla baja idiopática. TBF: Talla baja familiar. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

Figura 110. Representación multivariante de los pacientes con TBI, TBF y RCCD mediante HJ-biplot en ejes 2 y 3. TBI: Talla baja idiopática. TBF: Talla baja familiar. RCCD: Retraso constitucional del crecimiento y el desarrollo. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.



## PACIENTES CON TALLA BAJA CON Y SIN TRATAMIENTO CON GHR

En la representación 1-3 (figura 111) vemos que IGF1 e IGFBP3 se correlacionan entre ellas, pero no con ALS. Observamos también que existen diferencias en los valores de todos los factores de crecimiento. Los valores son más altos en los pacientes con tratamiento, ya que se encuentran a la izquierda de la gráfica, en la cabeza del vector. El índice IGF1/IGFBP3 tiene una gran contribución al eje 1 por lo que sería el que mayor contribución tiene en la diferenciación de los clústeres.

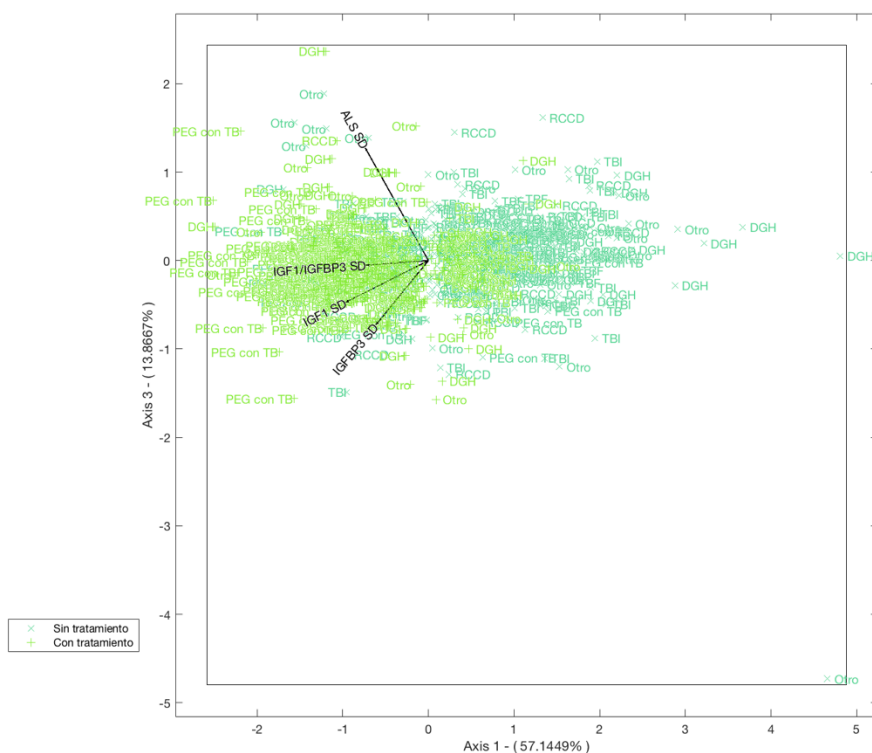


Figura 111. Representación por HJ-biplot en plano 1-3 del análisis multivariante de los pacientes con talla baja con y sin tratamiento con GHR.

GHR: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

En el biplot de eje 2-3 (figura 112) se observa que IGF1 se correlaciona de forma positiva con IGFBP3 y de forma negativa con ALS. El análisis en estos ejes no nos permite hacer una clasificación de los pacientes con y sin tratamiento con GHR ya que aparecen todos de forma dispersa alrededor de las variables. En este biplot la ALS es la que mayor calidad de representación tiene (eje 2) por lo que no sería una buena variable de discriminación.

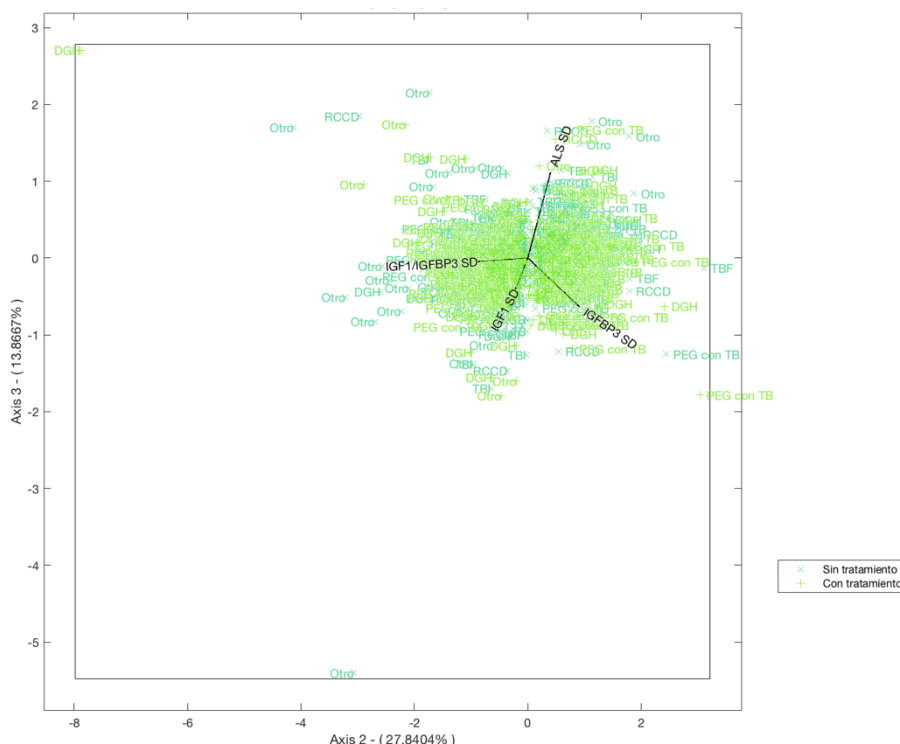


Figura 112. Representación por HJ-biplot en plano 2-3 del análisis multivariante de los pacientes con talla baja con y sin tratamiento con GHR.

GHR: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

## ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO RELACIONADOS CON LA DOSIS DE GHR EN PACIENTES DE TALLA BAJA DE DISTINTA ETIOLOGÍA EN TRATAMIENTO CON GHR.

En el biplot de plano 1-2 (figura 113) observamos que los valores de IGF1 y ALS e IGFBP3 medidos en SD se correlacionan de forma positiva en los niños que reciben tratamiento con GHR. Además, el pequeño tamaño del vector de GHR nos indica que existe poca variabilidad en las dosis de tratamiento.

Existen diferencias según el tipo de talla baja. Así, vemos un clúster de los niños PEG con talla baja en el que parece que los factores de crecimiento son más altos en estos pacientes, situándose en la zona positiva del vector de ALS, IGF1 e IGFBP3 SD. Por otro lado, los niños con diagnóstico de DGH se sitúan mayoritariamente en la cola del vector de todos los factores de crecimiento por lo que sus niveles serían menores.

En la figura 114, con representación de los ejes 1 y 3, observamos que los niveles de IGFBP3 y la dosis de GHR se correlacionan entre sí y tienen una alta contribución al eje 3. Los pacientes con DGH presentan niveles de estas dos variables menores que los pacientes PEG, con TBI y los pacientes con talla baja por otra etiología ya que se sitúan en la parte baja de la gráfica y en la cola de los vectores de dosis de GHR e IGFBP3.

Observamos también que las variables IGF1, ALS e IGFBP3 se correlacionan entre ellas, pero no parecen hacerlo con la dosis de GHR.

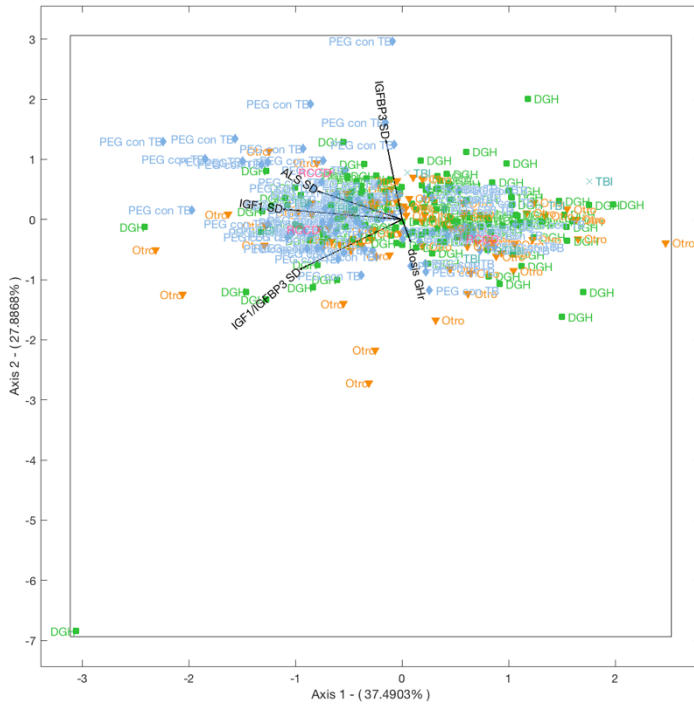


Figura 113. Representación por HJ-biplot del análisis multivariante de los pacientes con talla baja y tratamiento con GHr en plano 1-2. GHr: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGF1/IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

Figura 114. Representación por HJ-biplot del análisis multivariante de los pacientes con talla baja y tratamiento con GHr en plano 1-3. GHr: Hormona de crecimiento recombinante. DGH: Déficit de hormona de crecimiento. TBI: Talla baja idiopática. PEG: Pequeño para la edad gestacional. TB: Talla baja. IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1. IGF1/IGFBP3: Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina tipo 3. ALS: Subunidad ácido lábil. IGF1/IGFBP3: Índice molar IGF1/IGFBP3. SD: desviaciones estándar.

