

ORIGINAL

Composición de la microbiota en pacientes con déficit de hormona de crecimiento antes y después de recibir tratamiento



Patricia García Navas^{a,*}, María Yolanda Ruíz del Prado^b, Pablo Villoslada Blanco^c, Emma Recio Fernández^c, María Ruíz del Campo^a y Patricia Pérez Matute^{c,d}

^a Sección de Endocrinología Infantil, Servicio de Pediatría, Hospital San Pedro, Logroño, La Rioja, España

^b Servicio de Pediatría, Hospital San Pedro, Logroño, La Rioja, España

^c Unidad de Enfermedades Infecciosas, Microbiota y Metabolismo, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), Logroño, La Rioja, España

^d Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Rioja, Logroño, La Rioja, España

Recibido el 5 de diciembre de 2023; aceptado el 25 de marzo de 2024

Disponibile en Internet el 29 de abril de 2024

PALABRAS CLAVE

Microbiota;
Déficit de hormona de crecimiento;
Translocación bacteriana;
Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1)

Resumen

Introducción: La hormona de crecimiento (GH) y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) tienen efecto modulador sobre la funcionalidad intestinal y la microbiota. Nuestro objetivo fue investigar si los pacientes con déficit de GH y, por lo tanto, con niveles bajos de GH e IGF-1 se asocian con cambios en la fisiología/integridad intestinal, así como en la composición de la microbiota intestinal.

Material y métodos: Se realizó un estudio de casos y controles en 21 pacientes con déficit de GH previo al inicio y tras 6 meses de tratamiento con GH y en 20 controles sanos. Se estudiaron los cambios antropométricos, analíticos, de translocación bacteriana y también se determinó la composición del microbioma mediante secuenciación masiva del gen del ARNr 16S.

Resultados: El déficit de GH se acompañó de un incremento significativo en los niveles séricos de sCD14, un marcador de translocación bacteriana ($p < 0,01$). Dicho incremento fue revertido por el tratamiento con GH. No se observaron diferencias en la composición, ni en α o la β -diversidad de la microbiota intestinal entre los casos y los controles, ni tras recibir tratamiento.

Conclusiones: Nuestro trabajo demuestra por primera vez que un déficit de GH no se acompaña de cambios en la composición de la microbiota intestinal en comparación con controles sanos, ni tampoco se ve modificada tras 6 meses de tratamiento. Sin embargo, este déficit de GH y niveles bajos de IGF-1 si se asoció con un incremento en la traslocación bacteriana, que se vio revertido tras el tratamiento.

© 2024 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: pnavas1710@gmail.com (P. García Navas).

<https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2024.03.006>

1695-4033/© 2024 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Microbiota;
Growth;
Growth hormone
deficiency;
Bacterial
translocation;
Insulin-like growth
factor 1 (IGF-1)

Composition of the microbiota in patients with growth hormone deficiency before and after treatment with growth hormone

Abstract

Introduction: Growth hormone (GH) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) have modulatory effects on bowel function and its microbiota. Our aim was to investigate whether low levels of GH and IGF-1 in patients with GH deficiency are associated with changes in gut physiology/integrity as well as in the composition of the gut microbiota.

Materials and methods: We conducted a case-control study in 21 patients with GH deficiency, at baseline and after 6 months of GH treatment, and in 20 healthy controls. We analysed changes in anthropometric and laboratory characteristics and bacterial translocation and studied the composition of the microbiome by means of massive 16S rRNA gene sequencing.

Results: Growth hormone deficiency was accompanied by a significant increase in serum levels of sCD14, a marker of bacterial translocation ($P < .01$). This increase was reversed by GH treatment. We did not find any differences in the composition or α - or β -diversity of the gut microbiota after treatment or between cases and controls.

Conclusions: Our work is the first to demonstrate that the presence of GH deficiency is not associated with differences in gut microbiota composition in comparison with healthy controls, and changes in microbiota composition are also not found after 6 months of treatment. However, GH deficiency and low IGF-1 levels were associated with an increase in bacterial translocation, which had reversed after treatment.

© 2024 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La microbiota se define como la comunidad de microorganismos que habitan en un ambiente específico. En general, los microorganismos comensales habitan todas las superficies epiteliales del cuerpo. La proporción de bacterias respecto a las células humanas es 1,3/1 y el peso oscila entre 0,2-0,4 kg. La microbiota podría considerarse el último órgano del cuerpo y, por tanto, el ser humano es un metaorganismo o superorganismo que alberga sus células (propias) y las de todos los microorganismos que habitan en él¹. El término «microbiota» se emplea casi exclusivamente para referirse al componente bacteriano y está formada, mayoritariamente, por 4 filos bacterianos: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria y Actinobacteria².

El establecimiento de la microbiota es un proceso dinámico a lo largo de la vida³⁻⁵. Se ve influido por factores como el tipo de parto, la administración de antibióticos perinatales o la lactancia materna⁶. Posteriormente, la composición y la funcionalidad de la microbiota no es estable, y puede verse impactado por la dieta, el uso de antibióticos y otros eventos en la vida (pubertad, embarazo, menopausia)^{7,8}.

En cada una de las diferentes localizaciones del organismo se pueden encontrar ecosistemas microbianos complejos. El más numeroso y complejo es el intestinal, especialmente a nivel del íleon y colon, donde el componente bacteriano se ha adaptado a la vida en la luz del intestino. Estas comunidades tienen un comportamiento simbiótico y mutualista con células eucariotas humanas, siendo necesarias para el correcto funcionamiento de nuestro organismo. Alteraciones en la composición y

funcionalidad de la microbiota (disbiosis) se ha asociado con diversas enfermedades^{9,10}.

Entre las diferentes funciones que ejerce la microbiota, cabe destacar su papel en el crecimiento¹¹. De hecho, varios estudios han demostrado que los ratones libres de gérmenes, que carecen de microbiota intestinal, presentan unos niveles de factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) y de proteína transportadora 3 del factor de crecimiento similar a la insulina (IGFBP-3) reducidos y tienen un crecimiento deficiente, con una disminución del crecimiento lineal y del peso corporal, lo que sugiere que los mamíferos requieren de la microbiota intestinal para garantizar un crecimiento óptimo¹²⁻¹⁴. En este sentido, estudios en modelos clínicos de animales han demostrado que los niveles fisiológicos de hormona de crecimiento (GH) mantienen la integridad intestinal y mejoran la función digestiva. Este efecto de la GH ocurre de manera sinérgica con el IGF-1, como se observa en el crecimiento óseo, metabólico y la homeostasis intestinal¹⁵⁻¹⁸ sugiriendo algún tipo de asociación entre GH-IGF-1 y la microbiota intestinal.

La somatostatina es secretada por el hipotálamo e inhibe la GH, además de prevenir la secreción de ácidos gástricos y disminuir la motilidad intestinal. En algunos estudios en modelos de ratón con trastornos diarreicos congénitos se ha observado que dichos animales presentan un incremento en los niveles de somatostatina y una disminución de hormonas intestinales junto con disbiosis en la microbiota intestinal lo que subraya esa posible asociación entre microbiota intestinal y el eje GH/IGF-1, aunque se necesitan más estudios en este campo^{15,19}.

El déficit de GH en niños tiene una prevalencia de al menos 1:3.480 niños, y se puede dar de manera aislada

Tabla 1 Comparación de los controles y pacientes con déficit de hormona de crecimiento, antes y después de recibir tratamiento durante 6 meses

	Controles	Casos antes del tratamiento	Casos tras 6 meses de tratamiento	Valor de p casos-controles	Valor de p casos pre y tras tratamiento (pareado)
Número de pacientes	20	21	21	—	—
Talla (SDS)	0,14 ± 0,82	-2,37 ± 0,29	-2,08 ± 0,29	0,000*	0,000*
Peso (SDS)	-0,52 ± 0,65	-1,45 ± 0,58	-1,40 ± 0,51	0,000*	0,122
IMC (kg/m ²)	15,7 ± 1,97	15,99 ± 3,02	16,26 ± 3,02	0,725	0,449
IMC (SDS)	-0,74 ± 0,62	-0,77 ± 0,83	-0,94 ± 0,67	0,890	0,054
IGF-1 (ng/ml)	161,15 ± 77,75	157,76 ± 88,37	235,05 ± 108,21	0,897	0,000*
IGF-1 (SDS)	0,29 ± 0,99	-0,39 ± 0,78	0,69 ± 0,73	0,019*	0,000*
IGFBP-3 (mg/l)	4,54 ± 1,24	4,79 ± 1,44	5,21 ± 1,24	0,548	0,160
Glucosa (mg/dl)	86,40 ± 8,41	80,48 ± 7,61	88,62 ± 8,44	0,023*	0,001*
Insulina (μU/ml)	7,35 ± 4,84	9,85 ± 9,23	11,15 ± 5,63	0,362	0,436
Índice HOMA	0,23 ± 0,16	0,28 ± 0,26	0,35 ± 0,18	0,511	0,171
HbA1c (%)	5,18 ± 0,28	5,09 ± 0,25	5,12 ± 0,21	0,292	0,321
Triglicéridos (mg/dl)	60,10 ± 24,99	53,24 ± 16,84	66,71 ± 22,14	0,307	0,004*
Colesterol total (mg/dl)	166,75 ± 24,34	166,33 ± 26,95	160,05 ± 25,85	0,959	0,017*
HDL (mg/dl)	62,75 ± 15,27	66,33 ± 8,78	63,43 ± 12,34	0,360	0,150
LDL (mg/dl)	92,15 ± 24,30	89,57 ± 23,73	83,38 ± 19,90	0,733	0,034*

Las variables cuantitativas se representan como media ± media de error estándar. El valor de p se refiere a la comparación entre 2 grupos. El asterisco (*) indica diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).

HbA1c: hemoglobina glicosilada; HDL: lipoproteínas de alta densidad; IGFBP-3: proteína transportadora 3 del factor de crecimiento similar a la insulina; IGF-1: factor de crecimiento similar a la insulina 1; IMC: índice de masa muscular; LDL: lipoproteínas de baja densidad; SDS: desviaciones estándar.

o asociada a otros déficits hipofisarios. Clínicamente se caracteriza por un hipocrecimiento armónico y posnatal. Presentan una respuesta disminuida a los test de estímulo y unos niveles reducidos de IGF-1 e IGFBP-3. El tratamiento indicado es la GH humana recombinante²⁰. Por todo ello, y dadas las características analíticas de estos pacientes, con niveles de GH e IGF-1 disminuidos, el objetivo del presente trabajo fue investigar si dichas alteraciones se asociaban con cambios en la fisiología/integridad intestinal, así como en la composición de la microbiota intestinal (tabla 1).

Material y métodos

Diseño del estudio

Estudio unicéntrico de casos y controles en el que se incluyeron un total de 42 individuos de edades comprendidas entre los 4 y los 14 años (n = 21 casos y n = 20 controles). En los casos se llevó a cabo un seguimiento longitudinal para comparar la microbiota intestinal y la translocación bacteriana antes y después de recibir tratamiento con GH durante 6 meses.

Los casos se reclutaron de las consultas de endocrinología infantil de un hospital terciario (mayo 2020-junio 2022) en el momento previo al inicio del tratamiento con GH. Se incluyeron aquellos pacientes que cumplían los criterios de déficit de GH: hipocrecimiento patológico y 2 test de estímulo de GH con una respuesta escasa (GH < 7 ng/ml)²⁰.

Los controles son pacientes pareados en edad y sexo. Se incluyeron niños a los que se les iba a realizar una extracción

analítica como preoperatorio para cirugías traumatológicas, urológicas u otorrinolaringológicas.

Los criterios de exclusión fueron pacientes que presentaban enfermedad infecciosa, autoinmune, síndromes malabsortivos, obesidad o talla baja sin déficit de GH. También aquellos que recibieron tratamiento en los últimos 3 meses con antibióticos, probióticos o inmunosupresores²¹.

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación con medicamentos de la comunidad autónoma (ref n. PI-399). Se obtuvo el consentimiento informado por parte de los padres o tutores legales de los pacientes.

Variables bioquímicas analizadas

Se cuantificaron los niveles de glucosa, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y triglicéridos (mediante un autoanalizador módulo c702, Cobas® 8000, Roche Diagnostics), insulina por electroquimioluminiscencia (analizador e802, Cobas® 8000, Roche Diagnostics), hemoglobina glicosilada (HbA1c) (analizador D100, Bio-Rad), IGF-1 e IGFBP-3 por quimioluminiscencia (Imulite 2000, Siemens).

Translocación bacteriana

Se cuantificaron los niveles séricos del cluster soluble de diferenciación 14 (sCD14) y proteína transportadora de lipopolisacáridos (LPB) mediante tecnología Luminex®, un tipo de inmunoanálisis que mide con precisión múltiples análisis en una muestra. La tecnología Luminex® xMAP® es un

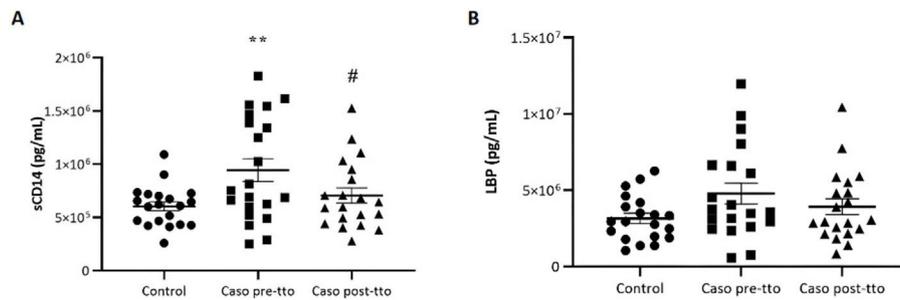


Figura 1 Niveles de translocación bacteriana (A: sCD14 y B: LBP) en la población pediátrica de estudio. ** $p < 0,01$ vs. control y # $p < 0,05$ vs. casos pre-tratamiento con hormona de crecimiento.

sCD14: Cluster soluble de diferenciación 14, LBP: proteína transportadora de lipopolisacáridos.

inmunoanálisis basado en perlas que permite la detección de hasta 100 análisis simultáneamente, de forma similar a lo realizado en estudios previos del grupo^{22,23}.

Extracción del ADN, secuenciación del gen 16S rRNA y análisis bioinformático

Los participantes del estudio recogieron sus muestras fecales en un recipiente estéril, según las instrucciones facilitadas por escrito por los investigadores del estudio, las cuales fueron alicuotadas y almacenadas a -80°C para su análisis posterior. A continuación, las muestras de heces se descongelaron y se extrajo el ADN fecal utilizando el Real Microbiome Fecal DNA Kit (Durviz, Valencia, España) siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, la pureza, la concentración y la calidad de las mismas se determinaron con un espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo ScientificTM, EE. UU.), un fluorómetro QubitTM 3.0 (Thermo Fisher Scientific, MA, EE. UU.) y un analizador de fragmentos (Agilent, EE. UU.).

Las muestras se amplificaron para las regiones hipervariables V3-V4 del gen 16S del ARNr bacteriano. La secuenciación se realizó mediante un secuenciador Illumina (MiSeqTM, $2 \times 300\text{bp}$, *paired end*) en la plataforma de genómica y bioinformática del centro de investigación biomédica. El primer paso fue comprobar la calidad de las lecturas mediante el programa FastQC²⁴. Posteriormente se utilizó el *pipeline* Qiime2²⁵ para el análisis bioinformático. En primer lugar, se eliminó el ruido de las lecturas crudas ya demultiplexadas (asignados los códigos de barras a las muestras a las que pertenecen) utilizando el *software* DADA2²⁶. En este paso se lleva a cabo el *trimming* de los adaptadores y los cebadores, el filtrado de las lecturas de baja calidad, la desreplicación de las secuencias para reducir la repetición, la unión de las lecturas pareadas, la identificación de las ASV (del inglés, *Amplicon Sequence Variants*) y la eliminación de quimeras. En segundo lugar, se utilizó la base de datos SILVA²⁷ entrenada con los cebadores de amplificación de las regiones V3-V4 para realizar la asignación taxonómica. Posteriormente, se analizaron la diversidad α y β : la α -diversidad es una medida de la diversidad de especies dentro de una muestra concreta, mientras que la β -diversidad describe la similitud entre las comunidades microbianas de distintas muestras, facilitando la identificación de diferencias entre ellas. La α -diversidad se analizó utilizando los índices *Observed Features*, *Chao1 index* y

Fisher's Alpha, basados en la riqueza, *Pielou's index* se basa en la igualdad y *Shannon index* y *Simpson index* basados en la diversidad (riqueza + igualdad). La β -diversidad se analizó mediante PERMANOVA (999 permutaciones) sobre la métrica Bray Curtis y se visualizó mediante PCoA (del inglés *Principal Coordinate Analysis*) utilizando el *software* R Studio (versión 1.4.1105). Finalmente, se realizó el análisis de la abundancia diferencial utilizando la metodología ANCOM²⁸ a nivel taxonómico de filo, orden y género. Esta metodología se basa en la estructura subyacente en los datos y se usa ampliamente para comparar la composición de los microbiomas en 2 o más poblaciones, sin suposiciones sobre distribución de la población.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante los programas SPSS[®] v.22 (SPSS[®] Inc. Chicago, IL, EE. UU.) y GraphPad Prism 8 (GraphPad Prism[®], La Jolla, California, EE. UU.), considerando un nivel de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

El análisis de la normalidad de los datos, se llevó a cabo mediante el test de normalidad de Shapiro-Wilk.

La comparación entre 2 grupos se realizó mediante la prueba t no pareada o U de Mann-Whitney, según la normalidad de los datos. Además, en el caso de estudios longitudinales, la comparación entre dos grupos se realizó con la ayuda de la prueba t pareada o de Wilcoxon en función de la normalidad de los datos.

Para comparar las variables cualitativas se utilizó la prueba Chi-Cuadrado y si no se daban las condiciones de aplicación, el test exacto de Fisher. El análisis comparativo de los tres grupos se realizó con análisis de la varianza (ANOVA) seguido de un análisis *post hoc* mediante la prueba de Tukey.

Resultados

Descripción demográfica, bioquímica y metabólica de los casos en comparación con una población control y de los casos tras el tratamiento con la hormona de crecimiento

La edad media fue un año menor en los controles 8,08, frente a 9,11 de los casos. En cuanto a pubertad tan solo el 10% de los controles la había iniciado frente al 28,6% de

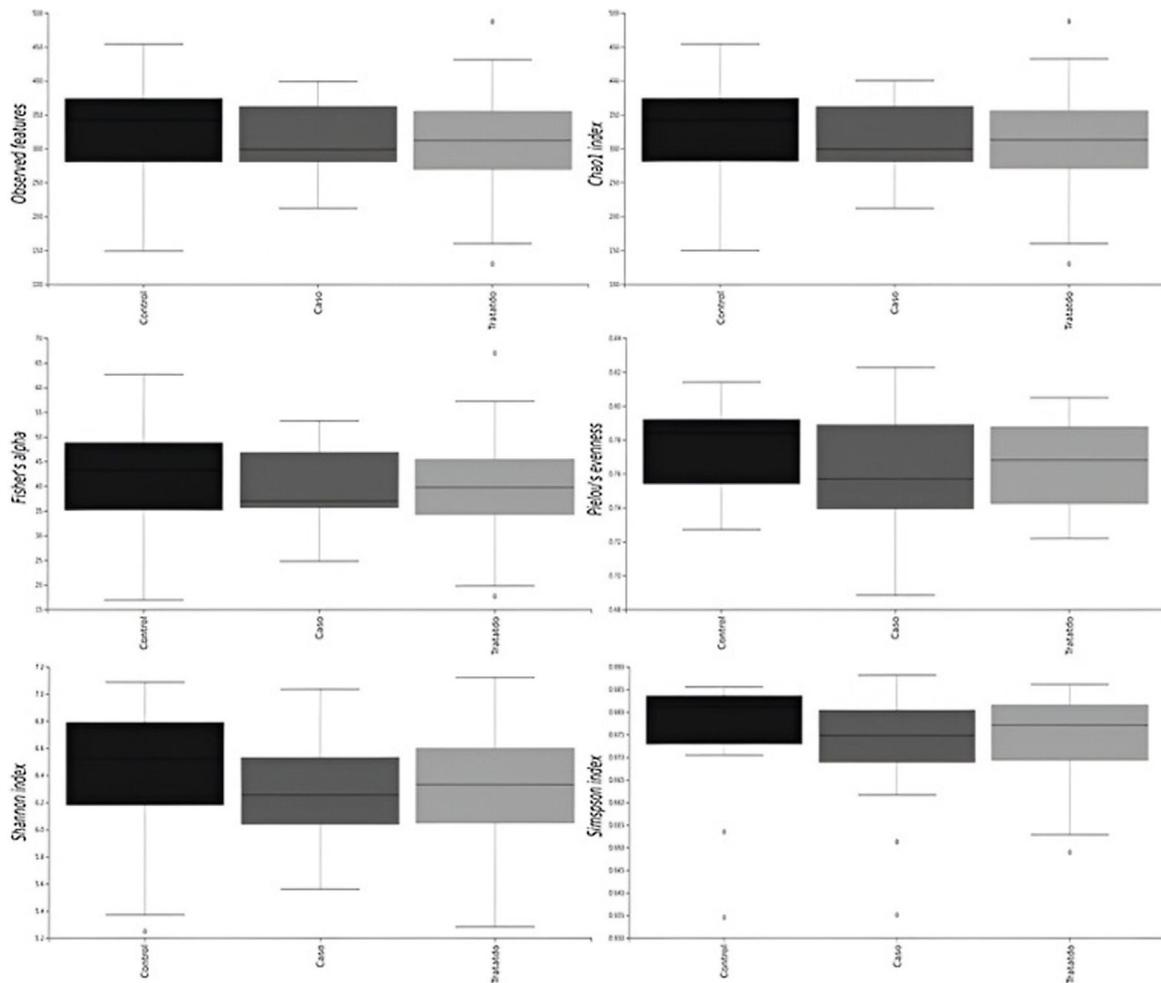


Figura 2 Índices de α -diversidad de bacterias en las muestras de heces de la población de estudio.

los casos, a pesar de observarse diferencias estas no son estadísticamente significativas. Ninguno de los casos presentaba un déficit de GH secundario a otra enfermedad, ni una deficiencia de GH combinada con otros déficits hipofisarios.

En la [tabla 1](#) se realiza la comparación de la población control, los casos antes de iniciar el tratamiento y tras 6 meses recibiéndolo. Como era esperable, se observó una menor talla en los casos y una mejora de esta tras el tratamiento con la GH ($p < 0,01$). El peso no presentó cambios, aunque sí se produjo una reducción, marginalmente significativa ($p = 0,054$) de las desviaciones estándar del IMC, sin llegar a ser estadísticamente significativo.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa en las cifras de IGF-1 entre los casos y controles, y un aumento de los niveles séricos de IGF-1 tras iniciar el tratamiento, cambios esperados. IGFBP-3 presentó una cierta tendencia al incremento tras el tratamiento, aunque sin alcanzar la significación estadística.

Tras iniciar el tratamiento con la GH, en el metabolismo glucémico se vieron cambios significativos únicamente en la glucemia ($p < 0,01$), sin afectarse los niveles de insulina, HbA1c o el índice de resistencia a la insulina HOMA.

El metabolismo lipídico presentó una reducción significativa en los niveles de colesterol y LDL tras el tratamiento con

GH ($p < 0,01$ y $p < 0,05$, respectivamente). Por otra parte, los triglicéridos séricos aumentaron ($p < 0,01$) tras dicho tratamiento.

Translocación bacteriana

La [figura 1](#) muestra los resultados obtenidos en el análisis de la translocación bacteriana.

Los niveles de sCD14 se vieron incrementados en los casos en comparación con el control ($p < 0,01$) ([fig. 1A](#)). El tratamiento con la GH fue capaz de reestablecer estos niveles ($p < 0,05$). Se observó un perfil muy similar al analizar los niveles de LBP, aunque en este caso no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas ([fig. 1B](#)).

Alpha diversidad del bacterioma intestinal

Se realizó la comparación entre controles y casos antes y después del tratamiento. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con ninguno de los índices analizados, aunque sí puede observarse una cierta tendencia a verse disminuido en los casos y a

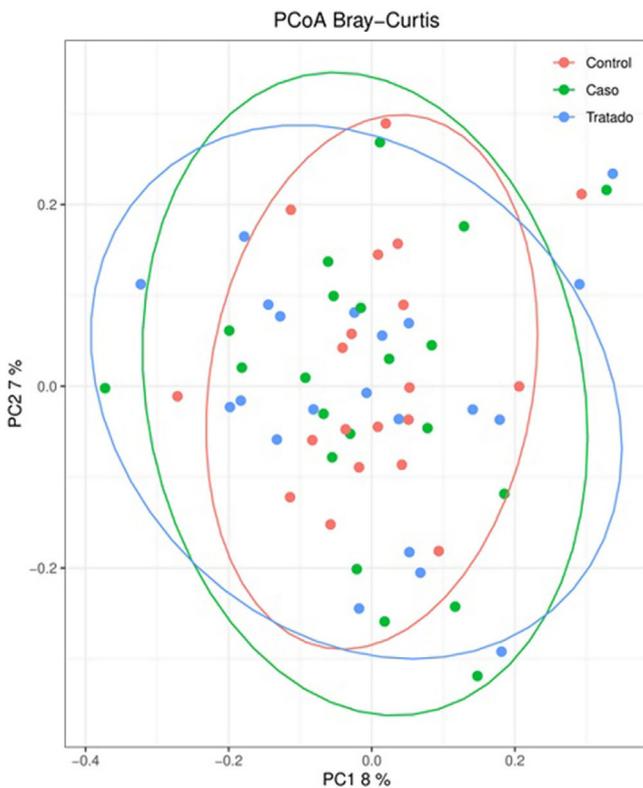


Figura 3 PCoA de las comunidades bacterianas en las muestras de heces de la población de estudio (15% de la variación total [componente 1 = 8% y componente 2 = 7%]). Los resultados se han representado de acuerdo a los dos primeros componentes principales. Cada círculo representa una muestra: los círculos rojos representan individuos control, los círculos verdes representan los casos y los círculos azules representan los casos tras el tratamiento. La agrupación de las muestras se presenta mediante su elipse del intervalo de confianza del 95%. PCoA: análisis de coordenadas principales.

incrementarse tras el tratamiento durante 6 meses con hormona de crecimiento (fig. 2).

Beta diversidad de bacterioma intestinal

La figura 3 muestra el análisis de coordenadas principales (PCoAs) de las comunidades bacterianas entre los diferentes grupos incluidos en el estudio. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Composición de la microbiota intestinal

En cuanto a la abundancia relativa no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en ningún orden taxonómico bacteriano en los 3 grupos estudiados, ni a nivel de filo, género o especie.

Discusión

El presente estudio describe, por primera vez, la composición de la microbiota intestinal de niños con déficit de GH frente a controles sanos, así como la evolución de la

composición de dicha microbiota tras el tratamiento durante 6 meses con la GH.

Los niveles de glucosa aumentaron de manera significativa tras el tratamiento con la GH. Esta hormona aumenta la sensibilidad a la insulina al mejorar la composición corporal, debido a la ganancia de masa magra y a la disminución de la adiposidad. Sin embargo, también estimula la glucogenólisis, la gluconeogénesis y la lipólisis, por lo que aumentan los niveles de glucosa en sangre. Esto se ha estudiado previamente en pacientes con déficit de GH a los que se les suspende el tratamiento observándose una disminución de las cifras de glucosa que se incrementan tras la reintroducción del tratamiento²⁹. De hecho, en una revisión de los estudios realizados sobre los cambios metabólicos que surgen tras el tratamiento con la GH se observó un empeoramiento inicial en el metabolismo de la glucosa, por la disminución de la sensibilidad a la insulina presentando una mejora a largo plazo debido a los cambios corporales que presenta el tratamiento, contrarrestando así los efectos antagonistas de la insulina iniciales de la GH, lo que conducirá a una mejora general de la sensibilidad a la insulina³⁰.

Además, nuestro estudio demuestra cambios en el perfil lipídico tras 6 meses con la medicación ya que estos niños presentaron una reducción significativa de las cifras de colesterol total y de LDL, similar a lo descrito en la bibliografía²⁹, dado que la GH favorece la utilización de la grasa como fuente de energía, disminuyendo con ello la adiposidad e incrementando la masa magra corporal. No se observan cambios, sin embargo, en las cifras de HDL de forma similar a lo descrito en otros trabajos pudiendo deberse, al menos en parte, a ser un periodo escaso de seguimiento tras el inicio de la medicación^{31,32}.

Es muy interesante el incremento observado en la translocación bacteriana en los niños con déficit de GH, sugiriendo un incremento de la permeabilidad intestinal y, por tanto, del paso de microorganismos o partes de los mismos al torrente sanguíneo que pueden inducir una cascada inflamatoria en diferentes tejidos y, con ello, comprometer la salud del individuo ya que un incremento de translocación bacteriana se ha asociado con un estado inflamatorio crónico y mayor riesgo cardiovascular¹⁰. Este incremento en la translocación bacteriana puede relacionarse con los bajos niveles de IGF-1 observados en estos niños en base a un estudio que lo demostró³³.

Estudios previos también han demostrado que el receptor de IGF-1 (IGF-1R) —a través del cual ejerce sus funciones la IGF-1— es capaz de modular la barrera intestinal³⁴. En este contexto, nuestro estudio demuestra que tras el tratamiento con GH se produce un incremento significativo en los niveles de IGF-1 e IGF-1R, similar al observado en trabajos previos³⁵ y en paralelo con la reducción observada en la translocación bacteriana^{36,37}, lo que subraya esa asociación bidireccional entre IGF-1 y la funcionalidad del intestino/microbiota¹³.

Sin embargo, estos cambios en la translocación bacteriana no se vieron acompañados de cambios a nivel de la composición de la microbiota. De hecho, en nuestro trabajo no se observan diferencias en la composición bacteriana entre los niños sanos (controles) y los niños con déficit de GH, a pesar de observarse diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IGF-1 entre ambos grupos. El tratamiento con la GH incrementó dichos niveles, como era

de esperar, pero este incremento no se asoció con cambios en la microbiota intestinal, ni a nivel de alfa, beta o abundancia diferencial. Es posible que el aumento en los niveles de IGF-1, no sean lo suficientemente elevados como para observarse cambios a nivel de la microbiota o que sea preciso prolongar durante más tiempo el estudio para llegar a observarlos. De hecho, en los estudios realizados en ratones se observa que aquellos que no tienen hormona de crecimiento presentan una microbiota más inmadura, con una menor diversidad de género y unos niveles reducidos de filos Proteobacteria, Campylobacterota y Actinobacteria^{12,14,38,39}. Es posible que no observemos diferencias en nuestro estudio por no ser déficit de GH total (GH < 3 ng/ml tras 2 test de estímulo)²⁰, ya que en la mayoría de los casos estudiados a pesar de presentar un déficit de GH este es parcial. De hecho, en un artículo publicado sobre las características de la microbiota en pacientes con adenoma hipofisario secretor de GH⁴⁰, se observan cambios en la microbiota, produciéndose una menor diversidad microbiana en los pacientes con un exceso de GH, presentando cambios estadísticamente significativos tanto en la α -diversidad como en la β -diversidad. Se observaron, de hecho, unos cambios de más de 400 ng/ml en las cifras de IGF-1 de los pacientes antes y después de la cirugía. En nuestro estudio los cambios que presentan los pacientes tras el tratamiento, a pesar de ser estadísticamente significativos, no llegan a los 100 ng/ml de diferencia, lo que podría explicar también, al menos en parte, la ausencia de cambios en la composición de la microbiota de nuestros pacientes.

Las principales limitaciones de nuestro estudio residen en el pequeño tamaño muestral de cada uno de los grupos, incluir pacientes con déficit de GH parciales, así como realizar un seguimiento de estudio durante un tiempo limitado a 6 meses. Con una mayor cantidad de pacientes se podría realizar una estratificación por edad o por estadio puberal. Son necesarios estudios con un mayor número de pacientes y un tiempo de tratamiento más prolongado, así como observar los cambios que presentan los pacientes tras la retirada de la medicación.

Conclusiones

Nuestro trabajo demuestra por primera vez que un déficit de GH (hipocrecimiento patológico y 2 test de estímulo de GH con una respuesta escasa < 7 ng/ml) en niños no se acompaña de cambios en la composición de la microbiota intestinal en comparación con la microbiota de niños sanos, ni tampoco se ve modificada tras el tratamiento durante 6 meses con la GH. Sin embargo, este déficit de crecimiento y niveles bajos de IGF-1 y GH sí se asoció con un incremento en la traslocación bacteriana, que se vio revertido tras el tratamiento, subrayando el papel beneficioso de la GH e IGF-1, no solo a nivel de crecimiento, sino también de la integridad del intestino y, por ende, de todos los ejes relacionados con él: eje intestino/cerebro, intestino/hígado, etc. Sin embargo, se necesitan más estudios (con periodos prolongados de tratamiento, o con déficits más severos de GH) para conocer en detalle la asociación entre GH-IGF-1 e intestino y su repercusión en la salud de los niños, tanto a corto como a largo plazo.

Financiación

El trabajo ha sido financiado por el Instituto de Estudios Riojanos (IER) mediante las ayudas para estudios científicos de temática riojana.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016;14:e1002533, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>.
2. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, et al. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science.* 2008;320:1647–51, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1155725>.
3. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: A molecular and culture-based investigation. *PLoS One.* 2008;3:e3056, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0003056>.
4. Ardisson AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, Rechcigl KT, Li N, Drew JC, et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PLoS One.* 2014;9:e90784, [10.1371/journal.pone.0090784](http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090784) Erratum in: *PLoS One.* 2014;9:e101399.
5. Gosalbes MJ, Llop S, Vallès Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy.* 2013;43:198–211, <http://dx.doi.org/10.1111/cea.12063>.
6. Álvarez-Calatayud G, Guarner F, Requena T, Marcos A. Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutr Hosp.* 2018;35(N.º Extra. 6):11–5, <http://dx.doi.org/10.20960/nh.2280>.
7. Ottman N, Smidt H, De Vos WM, Belzer C. The function of our microbiota: Who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol.* 2012;2:104.
8. Hernández Hdez A, Coronel Rodríguez C, Monge Zamorano M, Quintana Herrera C. Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Pediatr Integral.* 2015;XIX:337–54.
9. Del Campo-Moreno R, Alarcón-Cavero T, DÀuria G, Delgado-Palacio S, Ferrer-Martínez M. Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36:241–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2017.02.007>.
10. Villanueva-Millán MJ, Pérez-Matute P, Oteo JA. Gut microbiota: A key player in health and disease. A review focused on obesity. *J Physiol Biochem.* 2015;71:509–25, <http://dx.doi.org/10.1007/s13105-015-0390-3>.
11. Schwarzer M, Strigini M, Leulier F. Gut Microbiota and Host Juvenile Growth. *Calcif Tissue Int.* 2018;102:387–405, <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-017-0368-y>.
12. Schwarzer M, Makki K, Storelli G, Machuca-Gayet I, Srutkova D, Hermanova P, et al. Lactobacillus plantarum strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition. *Science.* 2016;351:854–7, <http://dx.doi.org/10.1126/science.aad8588>.
13. Yan J, Charles JF. Gut Microbiota and IGF-1. *Calcif Tissue Int.* 2018;102:406–14, <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-018-0395-3>.

14. De Vadder F, Joly A, Leulier F. Microbial and nutritional influence on endocrine control of growth. *J Mol Endocrinol*. 2021;66:R67–73, <http://dx.doi.org/10.1530/JME-20-0288>.
15. Jensen EA, Young JA, Mathes SC, List EO, Carroll RK, Kuhn J, et al. Crosstalk between the growth hormone/insulin-like growth factor-1 axis and the gut microbiome: A new frontier for microbial endocrinology. *Growth Horm IGF Res*. 2020;53–54:101333, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ghir.2020.101333>.
16. Young JA, Jensen EA, Stevens A, Duran-Ortiz S, List EO, Berryman DE, et al. Characterization of an intestine-specific GH receptor knockout (IntGHRKO) mouse. *Growth Horm IGF Res*. 2019;46–47:5–15, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ghir.2019.05.001>.
17. Yakar S, Isaksson O. Regulation of skeletal growth and mineral acquisition by the GH/IGF-1 axis: Lessons from mouse models. *Growth Horm IGF Res*. 2016;28:26–42, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ghir.2015.09.004>.
18. Kaymakci A, Guven S, Ciftci I, Akillioglu I, Aktan M, Eker HH, et al. Protective effects of growth hormone on bacterial translocation and intestinal damage in rats with partial intestinal obstruction. *Bratisl Lek Listy*. 2014;115:395–9, <http://dx.doi.org/10.4149/blt.2014.078>.
19. Terry NA, Ngaba LV, Wilkins BJ, Pi D, Gheewala N, Kaestner KH. Lipid malabsorption from altered hormonal signaling changes early gut microbial responses. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2018;315:G580–91, <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00135.2018>.
20. Guerrero-Fdez J, González Casado I, Barrera Bonis N, Itza Martín N, Mora Palma C, Salamanca Fresno L. *Manual de Diagnóstico y Terapéutica en Endocrinología Pediátrica*. 2018:3–92.
21. Villoslada-Blanco P, Pérez-Matute P, Íñiguez M, Recio-Fernández E, Jansen D, de Coninck L, et al. Impact of HIV infection and integrase strand transfer inhibitors-based treatment on the gut virome. *Sci Rep*. 2022;12:21658, <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-25979-5>.
22. R&D. Luminex Assay. [consultado 8 Feb 2023]. Disponible en: <https://www.rndsystems.com/resources/technical/luminex-assay-principle>
23. Villoslada-Blanco P, Pérez-Matute P, Íñiguez M, Recio-Fernández E, Blanco-Navarrete P, Metola L, et al. Integrase Inhibitors Partially Restore Bacterial Translocation, Inflammation and Gut Permeability Induced by HIV Infection: Impact on Gut Microbiota. *Infect Dis Ther*. 2022;11:1541–57, <http://dx.doi.org/10.1007/s40121-022-00654-4>.
24. FastQC. [consultado 8 Feb 2023]. Disponible en: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
25. Qiime2. Qiime2. [consultado 16 Feb 2023]. Disponible en: <https://qiime2.org/>
26. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016;13:581–3, <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
27. SILVA. [consultado 16 Feb 2023]. Disponible en: <https://www.arb-silva.de/>
28. Mandal S, Van Treuren W, White RA, Eggesbø M, Knight R, Pedada SD. Analysis of composition of microbiomes: A novel method for studying microbial composition. *Microb Ecol Health Dis*. 2015;26:27663, <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.27663>.
29. Lee YJ, Choi Y, Yoo HW, Lee YA, Shin CH, Choi HS, et al. Metabolic Impacts of Discontinuation and Resumption of Recombinant Human Growth Hormone Treatment during the Transition Period in Patients with Childhood-Onset Growth Hormone Deficiency. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2022;37:359–68, <http://dx.doi.org/10.3803/EnM.2021.1384>.
30. Ciresi A, Giordano C. Glucose Metabolism in Children With Growth Hormone Deficiency. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:321, <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2018.00321>.
31. Sas T, Mulder P, Hokken-Koelega A. Body composition, blood pressure, and lipid metabolism before and during long-term growth hormone (GH) treatment in children with short stature born small for gestational age either with or without GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:3786–92, <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.85.10.6917>.
32. Süleyman Ersin Ü. The effects of growth hormone treatment on lipid parameters. *Clin Case Rep Rev*. 2016;2:383–6, <http://dx.doi.org/10.15761/CCRR.1000223>.
33. Huang KF, Chung DH, Herndon DN. Insulinlike growth factor 1 (IGF-1) reduces gut atrophy and bacterial translocation after severe burn injury. *Arch Surg*. 1993;128:47–53, discussion 53–54.
34. Dong CX, Zhao W, Solomon C, Rowland KJ, Ackery C, Robine S, et al. The intestinal epithelial insulin-like growth factor-1 receptor links glucagon-like peptide-2 action to gut barrier function. *Endocrinology*. 2014;155:370–9, <http://dx.doi.org/10.1210/en.2013-1871>.
35. Ranke MB. Short and Long-Term Effects of Growth Hormone in Children and Adolescents With GH Deficiency. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:720419, <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2021.720419>.
36. Gómez-de-Segura IA, Prieto I, Grande AG, García P, Guerra A, Mendez J, et al. Growth hormone reduces mortality and bacterial translocation in irradiated rats. *Acta Oncol*. 1998;37:179–85, <http://dx.doi.org/10.1080/028418698429748>.
37. Kaymakci A, Guven S, Ciftci I, Akillioglu I, Aktan M, Eker HH, et al. Protective effects of growth hormone on bacterial translocation and intestinal damage in rats with partial intestinal obstruction. *Bratisl Lek Listy*. 2014;115:395–9, <http://dx.doi.org/10.4149/blt.2014.078>.
38. Yan J, Herzog JW, Tsang K, Brennan CA, Bower MA, Garrett WS, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113:E7554–63, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1607235113>.
39. Jensen EA, Young JA, Jackson Z, Busken J, List EO, Carroll RK, et al. Growth Hormone Deficiency and Excess Alter the Gut Microbiome in Adult Male Mice. *Endocrinology*. 2020;161:bqaa026, <http://dx.doi.org/10.1210/endo/bqaa026>.
40. Lin B, Wang M, Gao R, Ye Z, Yu Y, He W, et al. Characteristics of Gut Microbiota in Patients with GH-Secreting Pituitary Adenoma. *Microbiol Spectr*. 2022 Feb 23;10:e0042521, <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.00425-21>.