



Perché i Pigmei sono piccoli? Studio dei fattori coinvolti nella regolazione della loro crescita

Carolina Bianco, Francesca Cantoni, Sara Pagani, Maria Chiara Leoni, Margherita Pozzi,
Kamilia Laarej, Cristina Meazza

Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

Abstract

Perché i Pigmei sono piccoli? Studio dei fattori coinvolti nella regolazione della loro crescita

I Pigmei rappresentano la forma estrema di bassa statura non dovuta ad alcuno stato patologico e la loro crescita ha da sempre interessato il mondo occidentale. Inoltre, esistendo tratti pigmei anche tra i soggetti caucasici con ritardo di crescita, clinicamente indistinguibili dall'ipopituitarismo, approfondire le conoscenze dei meccanismi coinvolti nella crescita dei Pigmei potrebbe aiutare a comprendere meglio anche il meccanismo patogenetico alla base di queste forme patologiche.

Lo scopo di questo studio è stato quindi quello di valutare la funzionalità dell'asse GH/IGF-I in una popolazione di Pigmei del sud-est del Camerun per evidenziare se questi presentino una ridotta velocità di crescita sin dai primi anni di vita o se la loro bassa statura sia dovuta ad un mancato *spurt* puberale.

Sono stati esaminati 15 bambini e 35 adulti Pigmei e 14 soggetti adulti Bantu di statura normale come popolazione di controllo. Peso e altezza sono stati misurati in ogni soggetto e, dopo aver ottenuto il consenso informato, è stato prelevato un campione di sangue per il dosaggio dei livelli circolanti di GH, IGF-I e GHBP.

I nostri risultati hanno dimostrato che l'altezza dei Pigmei si colloca già dalla prima infanzia più di due deviazioni standard al di sotto del 3° percentile delle curve standard di riferimento per una popolazione caucasica, e si mantiene tale anche durante l'età adulta. Dal calcolo del BMI, indice dello stato nutrizionale, che è risultato nella norma, si è potuto escludere la malnutrizione come possibile causa della bassa statura dei Pigmei.

Sia nei bambini che negli adulti, anche i livelli sierici di GH in condizioni basali, sono risultati nella norma, mentre le concentrazioni di IGF-I e GHBP sono risultate significativamente ridotte rispetto ai valori trovati nei soggetti Bantu ed anche rispetto agli standard europei di riferimento per sesso ed età.

Con questo studio si è, quindi, dimostrato che la bassa statura dei Pigmei è il risultato di un rallentamento della velocità di crescita presente già dalla prima infanzia, che correla con i bassi valori di IGF-I e GHBP, e non la conseguenza di un mancato *spurt* puberale, come affermato da numerosi studi precedenti.

Why Pygmies are short? Study of factors involved in the regulation of their growth

Pygmies exhibit an extreme form of non-disease related short stature, showing a similar endocrine profile of Caucasian individuals with idiopathic short stature. In fact, the study of these subjects may significantly improve the knowledge of the mechanisms regulating normal growth in humans.

In this study we investigated height and hormonal levels in an ethnic group of Pygmies called Babinga, living in the forest of Cameroon, to evaluate if a defect in GH/IGF-I axis is already present in childhood or if their short stature is due to a lack of adolescent growth spurt.

We enrolled 50 Babinga Pygmies, 15 children and 35 adults, and 14 black sympatric adults African Bantu farmers, as control population of normal stature. For each subject body weight and height were measured and blood samples were collected for measuring GH, IGF-I and GHBP circulating levels. We obtained their informed consent relying on local interpreters-nurses.

No signs of malnutrition were observed among Pygmies following standard clinical examination, confirmed by normal body mass index (BMI). The heights of Babinga Pygmies of different ages were almost closely below the 3rd percentile of the European population with a mean height <2 SDS. Hormonal findings show that both Pygmy children and adults have normal basal levels of GH, while IGF-I and GHBP circulating levels are below the normal range compared to sex and age-matched European standards.

Our results indicate that growth failure in Pygmies occurs already in childhood, in accordance to reduced circulating IGF-I and GHBP levels, and is not due to the lack of adolescent growth spurt, as suggested by many previous studies.

Introduzione

I Pigmei rappresentano la forma estrema di bassa statura non dovuta ad uno stato patologico. La popolazione dei Pigmei è caratterizzata da una bassa statura con un'altezza media di 144 cm e un peso di 40 Kg nel maschio adulto [1]. Infatti, lo studio di questi soggetti ha contribuito e può ancora contribuire significativamente ad approfondire la conoscenza dei meccanismi che regolano i normali processi di accrescimento nell'uomo. La popolazione dei Pigmei è caratterizzata da una bassa statura con un'altezza media di 144 cm e un peso di 40 Kg nel maschio adulto [1].

Nel tentativo di comprendere le basi biologiche della bassa statura dei Pigmei africani, i primi ricercatori si sono focalizzati principalmente sullo studio dell'asse *growth hormone- insulin growth factor-I* (GH/IGF-I). I Pigmei hanno normali livelli di GH dopo appropriati stimoli farmacologici, escludendo quindi un deficit di GH come causa della loro ipostaturalità [2]. I livelli di IGF-I sono significativamente inferiori nei Pigmei sia rispetto ai soggetti africani di statura normale (Bantu), che vivono nelle loro stesse condizioni ambientali, sia rispetto ai soggetti di controllo caucasici, mentre la concentrazione plasmatica di IGF-II, considerata una somatomedina di mantenimento, è nella norma [3-4]. Inoltre, la somministrazione di GH per cinque giorni non aumenta in modo significativo i livelli di IGF-I. Tutti questi dati suggeriscono che vi sia una iporesponsività degli organi target del GH all'ormone stesso.

Dai primi studi effettuati sui Pigmei di varie età è emerso che durante l'infanzia i Pigmei e i soggetti di controllo mostravano simili livelli di IGF-I e IGF-II e non differivano in modo significativo nella velocità di crescita, anche se un leggero ritardo di crescita si manifestava a partire dai tre-quattro anni. Durante l'adolescenza, invece, mancava nei Pigmei il fisiologico aumento dei livelli di IGF-I e la conseguente aumentata escrezione di GH [1]. Si è riscontrato, inoltre, che nei Pigmei i livelli di *GH Binding Protein* (GHBP) sono significativamente ridotti, mentre nei bambini sono paragonabili a quelli dei controlli [5]. Questi dati suggeriscono che vi sia una incapacità del recettore del GH di aumentare durante la crescita e soprattutto durante la pubertà.

Al contrario, in uno studio longitudinale più recente, Bailey ha valutato l'altezza di bambini Pigmei di età certa dalla nascita fino a cinque anni dimostrando che la bassa statura è presente in questa popolazione sin dalla prima infanzia [6]. Il gene del GHR nei Pigmei è stato completamente sequenziato e risulta normale [7].

Lo scopo di questo studio è stato quello di evidenziare se la bassa statura, la ridotta velocità di crescita e la disfunzione dell'asse GH/IGF-I siano presenti nei Pigmei sin dai primi anni di vita o se intervengano solo dopo il periodo puberale.

Abbiamo, quindi, valutato la statura, il peso e il BMI di bambini e adulti Pigmei del Camerun e di soggetti adulti Bantu, studiati come controlli africani di statura normale. In questi soggetti abbiamo anche dosato i livelli circolanti di GH, IGF-I e GHBP per correlarli ai dati auxologici.

Materiali e Metodi

Soggetti studiati

Nel Febbraio 2006, il gruppo di ricerca del Centro di Ricerca di Auxologia, Fondazione IRCCS San Matteo di Pavia, ha organizzato una spedizione nel sud-est del Camerun per raggiungere una popolazione di Pigmei di etnia Babinga che vive ai margini della foresta nelle Riserve del Dja e del Lobo, al confine con il Congo, il Gabon e la Repubblica Centro-Africana.

In questo studio sono stati esaminati 15 bambini Pigmei Babinga (8 femmine e 9 maschi, di età compresa tra 1 e 12 anni) e 35 Pigmei adulti (13 maschi e 22 femmine, con un'età media di 36 ± 15 anni). Inoltre, sono stati studiati 14 soggetti africani Bantu (11 maschi e 3 femmine, con un'età media di 37 ± 10 anni). I Bantu sono stati scelti come popolazione di controllo per i Pigmei poiché essi vivono nelle stesse condizioni ambientali e hanno una dieta ed uno stato nutrizionale simili. Sono stati esclusi dallo studio i soggetti affetti da patologie clinicamente evidenti. I Pigmei sono stati informati sui metodi e le finalità dello studio con l'aiuto di infermieri locali come interpreti e i soggetti che hanno partecipato hanno espresso un consenso orale. L'età dei bambini e degli adolescenti è stata ricavata dai registri scolastici, mentre quella degli adulti è stata ottenuta, con l'aiuto del capo villaggio, mettendo in relazione la nascita dei soggetti con alcuni eventi importanti per la comunità e con le attività riguardanti l'agricoltura e la caccia. Per nessuno dei soggetti inclusi nello studio è stato possibile determinare la data di nascita precisa. Per ogni soggetto sono stati misurati l'altezza ed il peso corporeo, ed è stato prelevato un campione di sangue su quale sono stati dosati i livelli circolanti di GH, IGF-I e GHBP. Il peso corporeo è stato misurato utilizzando delle bilance elettroniche portatili; l'altezza è stata ottenuta ponendo i soggetti scalzi nella posizione di Frankfurt su una superficie perpendicolare ad un muro verticale, approssimando agli 0.5 cm più vicini. Attraverso questi due parametri si è poi calcolato il *body mass index* ($BMI = \text{kg}/\text{m}^2$), un buon indice dello stato nutrizionale dei soggetti in esame. L'altezza e il BMI sono stati espressi come *standard deviation score* (SDS), corretti per sesso ed età e derivati dagli standard internazionali di Tanner e Whitehouse [8].

Metodi

I campioni ematici di ogni soggetto, sono stati centrifugati per separare il siero dalla componente corpuscolata. I sieri così ottenuti sono stati mantenuti in frigorifero per tre giorni, quindi sono stati congelati per il trasporto e poi conservati ad una temperatura di -20°C fino al momento del dosaggio dei livelli di GH, IGF-I e GHBP.

I dosaggi ormonali sono stati effettuati tramite tecniche immunometriche: Immulite, dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida, per determinare i livelli circolanti di GH e IGF-1 ed Elisa (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) per il dosaggio dei livelli circolanti di GHBP.

Analisi statistica

La distribuzione normale delle variabili è stata valutata mediante il test di Shapiro e i dati sono presentati come media e deviazione standard.

E' stato utilizzato il test Mann-Whitney per confrontare i gruppi per età, altezza (SDS), BMI (SDS), livelli circolanti di GH, IGF-I e GHBP. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato essere statisticamente significativo. Le analisi sono state condotte con il programma Statistica per Windows (StaSoft, 2004, Tulsa OK, USA).

Risultati

Nelle tabelle 1, 2 e 3 sono riportati i dati antropometrici e ormonali dei soggetti studiati. Come è evidenziato dai valori di BMI (Pigmei bambini: 0.04 ± 0.75 SDS; Pigmei adulti: -0.35 ± 0.60 SDS; Bantu adulti: 0.26 ± 1.03 SDS), in nessun soggetto è stato riscontrato alcun segno di malnutrizione dal punto di vista clinico.

Esprimendo i valori delle altezze in SDS, abbiamo riscontrato che i Pigmei adulti sono significativamente più bassi dei Bantu (Pigmei: -2.44 ± 0.99 SDS; Bantu: -0.61 ± 0.85 SDS; $p < 0.00001$) e hanno un'altezza di almeno 2 SD al di sotto della media di riferimento per soggetti caucasici. Anche i bambini, fin dal primo anno di vita, presentano una statura (-3.77 ± 1.23 SDS) al di sotto dei *range* di normalità di Tanner e Whitehouse [8].

Le figure 1 e 2 rappresentano le altezze dei Pigmei, maschi e femmine, di età compresa tra 1 e 70 anni, e dei Bantu adulti confrontate con il 5° ed il 3° percentile delle curve standard di riferimento di Tanner e Whitehouse [8]. Questi grafici indicano che sia durante il corso della crescita, sia al raggiungimento della statura finale, le altezze dei Pigmei si trovano sempre al di sotto del 3° percentile rispetto alla popolazione caucasica. L'altezza dei bambini si colloca al di sotto del 3° percentile già nella prima infanzia e nel periodo prepuberale. Solo un soggetto maschio dell'età di 13 anni ha un valore di altezza sopra il 3° percentile. I soggetti Bantu adulti presentano, invece, una statura paragonabile a quella degli adulti di riferimento di origine caucasica.

I dosaggi ormonali effettuati in questo studio dimostrano che i livelli basali di GH nei Pigmei sono paragonabili a quelli dei soggetti Bantu (Pigmei: 2.49 ± 2.65 ng/ml; Bantu: 1.64 ± 2.17 ng/ml) e anche i bambini Pigmei non presentano difetti nella secrezione di GH, almeno in condizioni basali (7.89 ± 6.76 ng/ml).

Nonostante i valori di GH siano normali, i Pigmei hanno ridotti livelli circolanti di IGF-I, confrontati con quelli degli standard caucasici di riferimento per età e sesso. La figura 3 mostra come nei Pigmei, dall'infanzia all'età adulta, le concentrazioni di IGF-I siano generalmente inferiori alla media di almeno 1 SD. I Bantu, al contrario, presentano livelli circolanti di IGF-I paragonabili a quelli dei soggetti caucasici.

Anche i livelli di GHBP, che rappresenta la parte solubile circolante del recettore del GH, sono generalmente inferiori rispetto ai *range* di normalità per l'età (0-5 anni: 773 ± 159 pmol/ml; 5-10 anni: 993 ± 216 pmol/ml; 10-20 anni: 1110 ± 240 pmol/ml) nei bambini Pigmei. Anche gli adulti Pigmei hanno livelli di GHBP significativamente inferiori a quelli di soggetti Bantu di pari età e sesso (Pigmei: 325 ± 173 pmol/ml; Bantu: 806 ± 654 pmol/ml; $p < 0.05$).

Discussione

La bassa statura dei Pigmei è tuttora un enigma. Numerosi studi sostengono che i Pigmei crescano con una normale velocità di crescita durante la prima infanzia [1, 9]. Durante la pubertà, quando normalmente la velocità di crescita aumenta, i Pigmei mostrano una crescita costante ma priva del classico *spurt* adolescenziale. Quindi, sembra che la bassa statura dei Pigmei non sia dovuta a un rallentamento della crescita prima della pubertà ma all'assenza dell'accelerazione tipica dell'adolescenza. Tutti questi studi sono però stati condotti su soggetti di età non precisamente nota ed erano studi non longitudinali. Più recentemente, Bailey ha dimostrato che i Pigmei sono già piccoli alla nascita in rapporto ad altre popolazioni africane, crescendo poi con una velocità ridotta sin dalla prima infanzia e non solo dopo la pubertà [6]. Questo autore, però, si è limitato a registrare dati auxologici ma non ha trovato alcuna giustificazione a questa osservazione.

In questo studio abbiamo valutato la funzionalità dell'asse GH/IGF-I nei soggetti Pigmei per verificare se questi fattori siano coinvolti nel deficit di crescita caratteristico di questa popolazione e se un'eventuale anomalia sia presente già dalla prima infanzia.

Il nostro studio dimostra che la ridotta velocità di crescita e, quindi, la bassa statura è presente nei Pigmei sin dal primo anno di vita e persiste per tutto il corso della vita. Inoltre, abbiamo evidenziato che i livelli basali di GH sono normali mentre i livelli di IGF-I e GHBP sono significativamente inferiori nei Pigmei rispetto ai valori normali dei soggetti caucasici e anche ai valori di soggetti Bantu, utilizzati come controlli in quanto vivono nelle stesse condizioni ambientali dei Pigmei. Questi risultati confermano dati precedentemente riportati da altri autori che sostengono che la bassa statura dei Pigmei sia dovuta ad anomalie dell'asse GH/IGF-I [3, 10] e che mostrano una normale secrezione di GH e ridotti livelli di GH e IGF-I. La ridotta secrezione di IGF-I e GHBP è presente sin dal primo anno di vita e persiste anche in età adulta, in accordo con la ridotta velocità di crescita di questa popolazione fino all'età adulta.

In studi precedenti è stata dimostrata anche una mancata risposta dell'IGF-I in seguito alla somministrazione di GH nei Pigmei, suggerendo, quindi, l'esistenza di un'anomalia del recettore del GH, come osservato nella sindrome di Laron [11]. Il sequenziamento del GHR non ha, però, mostrato l'esistenza di alcuna mutazione particolare a carico del gene di questa molecola [7].

In conclusione, i nostri dati indicano che la crescita ridotta dei Pigmei, che porta ad una bassa statura finale, non inizia solo alla pubertà ma è presente dalla nascita e persiste fino all'età adulta. Parimenti, i livelli di IGF-I e GHBP sono ridotti nell'infanzia e non aumentano durante la pubertà.

Tabelle e Figure

Soggetti	Sesso	Età (anni)	Altezza (SDS)	BMI (SDS)	GH (ng/ml)	IGF-I (SDS)	GHBP (pmol/ml)
1	M	1	-	-	5.56	-2.32	205
2	F	2	-5.21	0.62	2.05	-2.86	210
3	M	3	-3.69	-0.22	6.84	-3.96	100
4	F	4	-1.05	0.53	8.60	-2.13	240
5	F	4	-4.23	-1.03	2.56	-1.90	220
6	F	5	-2.61	0.08	13.30	-0.64	275
7	M	5	-5.29	1.20	1.75	-0.93	305
8	M	6	-3.55	-0.25	19.50	-2.85	300
9	M	7	-5.06	0.14	1.94	-2.85	240
10	F	9	-3.51	0.61	13.30	-1.43	340
11	M	9	-3.67	0.66	1.49	-3.19	245
12	M	10	-2.08	-1.00	7.58	-2.90	225
13	M	10	-4.97	0.72	1.93	-3.30	235
14	M	12	-4.20	-0.23	9.06	-2.32	315
15	F	12	-3.64	-1.28	22.90	-2.15	310

Tabella 1. Dati antropometrici e biochimici dei bambini Pigmei.

Soggetti	Sesso	Età (anni)	Altezza (SDS)	BMI (SDS)	GH (ng/ml)	IGF-I (SDS)	GHBP (pmol/l)
1	F	13	-0.81	0.07	-	-	-
2	M	13	-1.38	-0.57	-	-	-
2	F	14	-1.50	0.17	6.190	-	175
3	F	14	-1.81	0.21	1.430	-2.28	499
4	F	14	-2.42	0.14	4.090	-4.47	457
5	F	18	-0.77	0.19	0.250	-2.35	583
6	F	20	-1.62	0.25	4.700	-0.51	643
7	F	20	-3.84	-0.72	0.280	-3.07	463
8	M	20	-3.53	-0.44	-	-	-
9	F	21	-2.13	-0.44	4.930	0.33	635
10	F	25	-2.47	0.29	0.880	-0.20	-
11	F	30	-2.82	0.17	0.700	-	-
12	F	30	-1.62	-0.80	-	-	-
13	F	30	-1.28	0.85	5.790	-2.21	443
14	F	35	-0.77	-0.79	0.540	-0.45	271
15	M	35	-2.43	0.46	1.370	-	-
16	M	35	-4.15	0.74	1.460	-2.22	197
17	M	35	-3.06	-0.11	0.160	-1.75	319
18	F	35	-2.82	-1.27	1.910	-3.52	196
19	F	39	-3.84	-0.72	2.240	-2.59	184
20	F	40	-1.28	-0.64	3.320	-0.32	419
21	F	40	-1.62	-0.06	4.960	-1.28	569
22	M	40	-2.28	-1.42	2.650	0.16	232
23	F	40	-2.13	-0.08	3.890	-1.62	280
24	F	40	-1.79	-0.68	2.190	-1.31	289
25	M	45	-2.59	-0.79	13.100	-4.64	75
26	M	45	-2.90	-0.92	3.660	-0.09	137
27	F	45	-2.99	-0.25	1.280	-2.08	162
28	M	45	-3.21	-1.28	0.230	-1.75	-
29	M	45	-4.31	-1.25	0.440	-2.76	-
30	M	46	-2.43	-0.08	0.310	-5.27	142
31	F	50	-2.65	-0.23	3.070	-1.86	431
32	F	60	-1.11	-0.21	1.680	-1.07	490
33	M	60	-3.84	-1.43	0.660	-0.67	160
34	M	70	-3.68	-0.33	0.110	-2.33	145
35	M	70	-3.06	-0.80	1.070	-0.15	180

Tabella 2. Dati antropometrici e biochimici degli adulti Pigmei.

Soggetti	Sesso	Età (anni)	Altezza (SDS)	BMI (SDS)	GH (ng/ml)	IGF-I (SDS)	GHBP (pmol/l)
1	M	22	0.39	-0.80	2.680	2.50	520
2	F	26	-0.94	1.01	0.099	0.59	1700
3	M	28	-1.02	0.57	0.708	-0.43	240
4	M	29	-1.49	-0.73	2.070	1.43	700
5	F	30	-1.65	-0.95	2.450	-2.25	200
6	M	33	1.50	-0.56	1.160	-2.45	2300
7	F	33	-1.28	1.17	0.122	-	450
8	M	35	-0.24	-0.12	0.206	-0.38	1800
9	M	38	-1.02	0.67	0.177	-0.42	900
10	M	40	-0.86	-0.12	6.420	-0.15	450
11	M	48	-1.02	1.89	0.050	-0.94	950
12	M	50	0.24	-0.42	0.572	0.48	230
13	M	52	-0.39	-0.28	6.150	-4.10	1050
14	M	54	-0.71	2.29	0.085	-0.59	340

Tabella 3. Dati antropometrici e biochimici degli adulti Bantu.

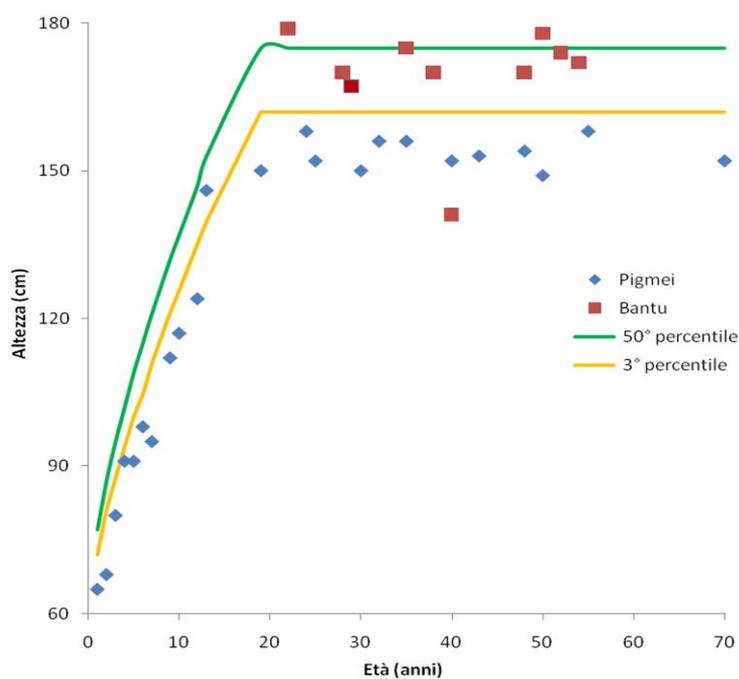


Figura 1. Altezza di Pigmiei maschi dall'infanzia all'età adulta e di Bantu adulti, confrontata con il 50° ed il 3° percentile della popolazione caucasica di riferimento.

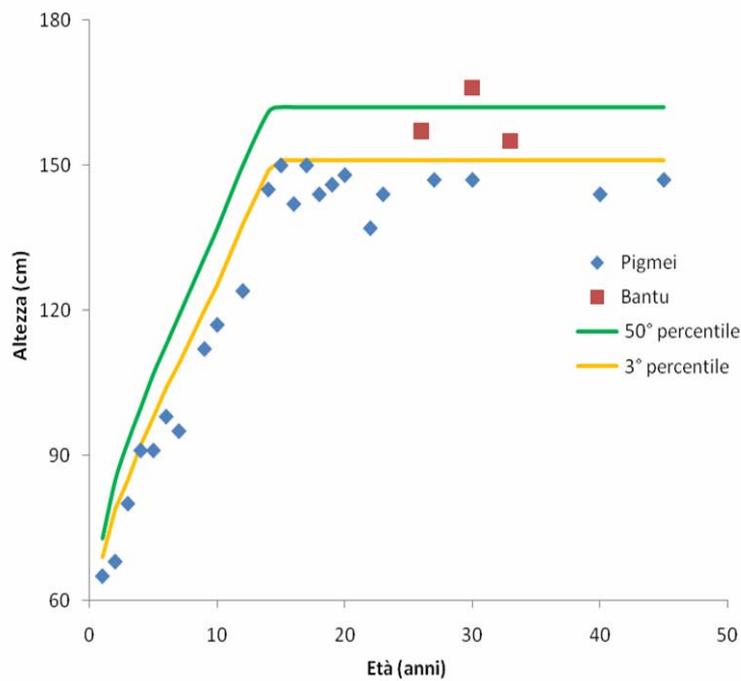


Figura 2. Altezza di Pigmeei femmine dall'infanzia all'età adulta e di Bantu adulte, confrontata con il 50° ed il 3° percentile della popolazione caucasica di riferimento.

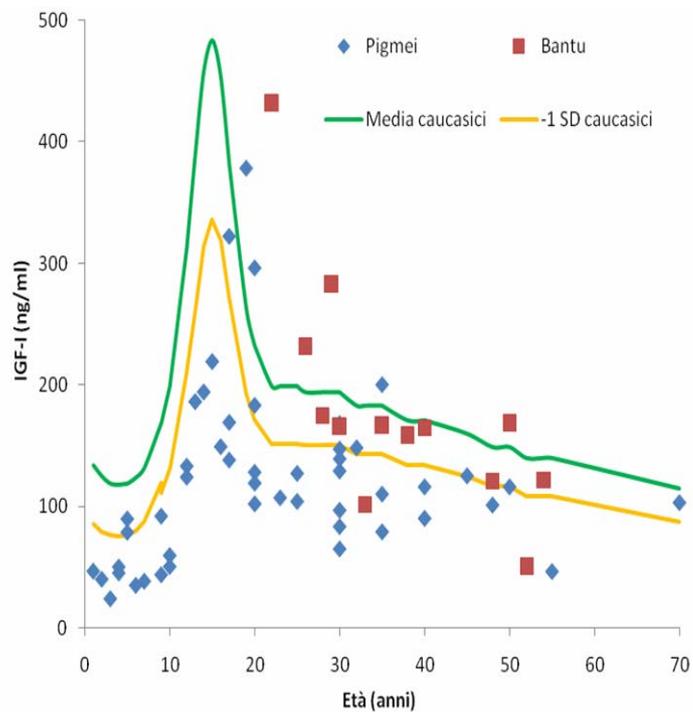


Figura 3. Valori di IGF-I nei Pigmeei dall'infanzia all'età adulta e di Bantu adulti, confrontati con i valori di riferimento caucasici.

Bibliografia

1. Merimee TJ, Zapf J, Hewlett BS et al. Insulin-like growth factors in Pygmies. The role of puberty in determining final stature. *New Engl J Med* 1987; 316: 906-911.
2. Rimoin DL, Merimee TJ, Rabinowitz D et al. Genetic aspects of clinical endocrinology. *Recent Progr Hormones Res* 1968; 24: 365.
3. Merimee TJ, Zapf J, Froesch ER. Dwarfism in the Pygmy: an isolated deficiency of IGF-I. *New Engl J Med* 1981; 305: 965.
4. Merimee TJ, Zapf J, Froesch ER. Insulin-like growth factors (IGFs) in Pygmies and subjects with the pygmy trait : characterization of the metabolic actions of IGF-I and IGF-II in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55: 1081-1088.
5. Baumann G, Shaw MA, Merimee TJ. Low levels of high-affinity growth hormone-binding protein in African Pygmies. *New Engl J Med* 1989; 320: 1705-1709.
6. Bailey RC. The comparative growth of Efe pygmies and African farmers from birth to age 5 years. *Ann Hum Biol* 1991; 18: 113- 120.
7. Merimee TJ, Hewlett BS, Wood WI et al. The growth hormone receptor gene in the African Pygmy. *Trans Assoc Am Physicians* 1989; 102: 163-169.
8. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child* 1976; 51: 170-179.
9. African Pygmies. *Academic Press*, Orlando, 1986.
10. African Pygmies. *Academic Press*, London, 1986.
11. Laron Z, Pertzelan A, Mannheimer S. Genetic pituitary dwarfism with high serum concentration of growth hormone-a new inborn error of metabolism. *Isr J Med Sci* 1966; 2: 152-155.