

## INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL EN ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

# Análisis molecular del eje GH/IGF-I en el hipocrecimiento postnatal: del laboratorio a la clínica

Ángel Campos Barros<sup>(1, 2)</sup>; Ana Gómez Núñez<sup>(1)</sup>; Elena Gallego Gómez<sup>(3)</sup>; Ricardo Gracia Bouthelier<sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup>: INGEMM (Instituto de Genética Médica y Molecular), IdiPAZ, UAM, Hosp. Univ. La Paz, Madrid; <sup>(2)</sup>: Centro de Investigación Biomédica en Enfermedades Raras (CIBERER, U753), Instituto Carlos III, Madrid; <sup>(3)</sup>: Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital Univ. 12 de Octubre, Madrid; <sup>(4)</sup>: Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hosp. Univ. La Paz, Madrid.

## Resumen:

La secuenciación del genoma humano y los avances tecnológicos que permitieron su realización han permitido acercar el análisis genético a la práctica clínica, contribuyendo a mejorar el diagnóstico diferencial de numerosas patologías y el manejo terapéutico de los pacientes. La evaluación genética de los pacientes con hipocrecimiento postnatal en el laboratorio de genética molecular durante las últimas décadas ha permitido la identificación de defectos moleculares en, prácticamente, todos los niveles del eje GHRH-GH-IGF-I, lo que ha llevado a la identificación de las bases moleculares predominantes de la deficiencia de GH y deficiencia primaria de IGF-I, incorporando la evaluación genética a los algoritmos diagnósticos. Sin embargo, a pesar de los considerables avances realizados, resumidos brevemente en nuestra contribución, con los conocimientos actuales, todavía se desconoce el defecto molecular subyacente en aproximadamente un 80% de los casos de hipocrecimiento armónico postnatal, probablemente debido a la elevada complejidad de la regulación funcional del eje GH-IGF-I en el crecimiento humano. No obstante, es predecible que la inminente implementación de nuevas técnicas de análisis masivo de secuencias (NGS) a costes razonables permita en un plazo de pocos años la identificación de nuevos genes y alteraciones genéticas implicados en la etiología de estas alteraciones del crecimiento.

**Palabras clave:** Hipocrecimiento armónico; diagnóstico molecular; déficit de GH, déficit de IGF-I; *IGFALS*, *GHRELIN*, *GHSR*, talla baja, resistencia a GH.

**Acreditaciones:** Estudio financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria del ISCIII (FIS 09/01266; IP: ACB).

## 1. Déficit de GH e hipocrecimiento postnatal

La deficiencia de hormona de crecimiento (DGH), representa una de las causas más frecuentes del hipocrecimiento armónico postnatal. Aunque su frecuencia es difícil de establecer y puede variar en función de los criterios diagnósticos y origen étnico de la población, se ha estimado una prevalencia de al menos 1/3.480 niños<sup>(1)</sup>. Estudios recientes han estimado una incidencia variable del 5-20% de DGH en una cohorte multiregional de 7.022 casos (edad 2-14 años) de talla baja<sup>(2)</sup>. Se ha estimado asimismo, que entre un 5-30% de pacientes con DGH tienen un familiar de primer grado igualmente afectado por talla baja, lo que sugiere una causa genética subyacente. El hecho de que solo el 20% de los casos esporádicos de DGH se deban a factores ambientales o a anomalías anatómicas del eje hipotálamo-hipofisario sugiere, asimismo, la posibilidad de que una fracción significativa de los casos esporádicos tenga igualmente una base genética.

### 1.1 Deficiencia aislada de GH

Se conocen 4 formas mendelianas de deficiencia aislada de GH (DAGH) que varían en cuanto a la severidad del déficit, el patrón de transmisión la respuesta al tratamiento con GH y a sus bases moleculares (Tabla 1). A pesar de los avances en la caracterización de las bases moleculares de la DAGH y de la disponibilidad de nuevas técnicas de análisis genómico que facilitan su estudio de forma masiva, hasta un 75-90% de los casos de DAGH asociados a hipocrecimiento siguen considerándose idiopáticos. En un estudio reciente<sup>(4)</sup> realizado en colaboración con la *Dutch Growth Foundation* (Holanda) la incidencia de mutaciones en el gen codificador de la GH (*GH1*) y gen codificador del

Tabla 1. Clasificación de la deficiencia aislada de GH (DAGH).

Tipo	Patrón de transmisión	Gen(es) involucrado(s)	Defecto molecular	Fenotipo
IA	AR	<i>GH1</i>	Delecciones completas; microdelecciones; mutaciones sin sentido en el péptido señal	Deficiencia completa de GH; hipocrecimiento severo; hipoglucemias; fenotipo peculiar; mala respuesta a rhGH por anticuerpos anti GH;
IB	AR	<i>GH1/GHRHR</i> <i>GHSR</i>	Mutaciones sin sentido/de cambio de sentido en homocigosis o heterocigosis combinada	Deficiencia parcial de GH; hipocrecimiento; hipoplasia hipofisaria; obesidad; buena respuesta a rhGH
II	AD	<i>GH1/GHSR</i>	Mutaciones en los puntos de empalme del exón/intrón 3 de <i>GH1</i> ; mutaciones de cambio de sentido en <i>GH1</i> o <i>GHSR</i>	Deficiencia parcial de GH; hipocrecimiento menos severo
III	ligado al X	<i>BTK</i> /otros genes?	Mutaciones en puntos de empalme	Hipocrecimiento con agammaglobulinemia

receptor de GHRH (GHRHR) fue del 6,2% y 0%, respectivamente, en una cohorte de 82 pacientes con talla baja (<-2 DE), déficit de GH y valores circulantes de IGF-I < -2 DE. El análisis de las correlaciones genotipo fenotipo mediante regresión logística puso de manifiesto que la probabilidad de presentar mutaciones en *GH1* sólo era estadísticamente significativa en los pacientes con fenotipos más severos (IGF-I < -4 DE y test de secreción de GH < 7 mU/L), lo que sugiere la existencia de otros *loci* o mecanismos implicados en la etiopatogénesis molecular de la mayoría de los casos de DAGH estudiados asociada a talla baja. La identificación de los mismos constituye uno de los objetivos de nuestro grupo de trabajo.

Si bien los mecanismos patogénicos implicados en estas formas idiopáticas de DAGH están todavía por identificar, la caracterización detallada de la regulación de la expresión de *GH1* ha puesto de manifiesto la existencia de elementos *cis* y *trans* en el promotor proximal así como en los flancos 5'- y 3'- de *GH1*, que intervienen en la regulación transcripcional de *GH1*<sup>(5-8)</sup>. Asimismo, en un segmento de 500 pb del promotor proximal adyacente al sitio de iniciación transcripcional de *GH1* se han identificado hasta 15 SNPs diferentes que pueden alterar las secuencias consenso de unión a factores de transcripción, que dan origen a 60 combinaciones haplotípicas distintas<sup>(9, 10)</sup> derivados de un proceso de conversión génica causada por el elevado grado de homología existente entre las secuencias de los 5 genes que componen el clúster de GH en el cromosoma 17<sup>(10)</sup>. Estudios funcionales mediante ensayos de gen reportero<sup>(9)</sup> indicaron que los diferentes haplotipos del promotor proximal pueden inducir cambios muy significativos en los niveles de expresión de GH (hasta 12x los niveles basales) lo que implica que

podrían afectar los niveles circulantes de GH mediante su efecto sobre el control transcripcional de *GH1*. Estudios poblacionales recientes han podido confirmar, en parte, dichos resultados, demostrando la existencia de una asociación entre una forma no severa de DAGH y la presencia de un polimorfismo en el lugar de unión del receptor de vitamina D en el promotor de *GH1*<sup>(11)</sup>. Asimismo, un laborioso estudio sobre la variabilidad polimórfica de toda la secuencia genómica de *GH1* en una muestra poblacional control española ha podido caracterizar la existencia de asociaciones significativas entre combinaciones de SNPs localizados tanto en el promotor proximal como en secuencias intrónicas y talla final adulta<sup>(12)</sup>, revalidando la hipótesis que postula la asociación entre variantes alélicas de la secuencia genómica de *GH1* y alteraciones de los niveles circulantes de GH.

Uno de los objetivos específicos perseguidos por nuestro grupo de trabajo es el de profundizar en el análisis de las secuencias reguladoras conocidas tanto del promotor proximal, como del LCR distal<sup>(7, 8)</sup> y del silenciador en el flanco 3'<sup>(6)</sup> y SNPs intrónicos, implicadas en el control transcripcional de *GH1* e identificar posibles mutaciones y haplotipos alélicos asociados a talla baja y/o DAGH, en una cohorte de pacientes con DAGH asociada a hipocrecimiento sin defecto molecular conocido en las secuencias codificantes de *GH1* y *GHRHR*.

#### 1.2 Papel de la vía de señalización de ghrelin en el control de la secreción de GH

Ghrelin es un péptido acilado de 28 aminoácidos identificado como el ligando endógeno del receptor del secretagogo de GH (GHSR), un receptor de membrana acoplado a proteína G con 7 dominios

transmembrana, implicado en la regulación de la secreción de GH a nivel hipotalámico e hipofisario. De producción preferente en una subpoblación de las células oxínticas de la mucosa gástrica, el péptido ghrelin se expresa igualmente en el núcleo arcuado hipotalámico, implicado en la regulación del apetito, y en la glándula pituitaria, donde parece regular la liberación de GH mediante un mecanismo autocrino o paracrino<sup>(13)</sup>. El gen humano que codifica el precursor de ghrelin (*GHRL*) se encuentra localizado en el cromosoma 3p25-26 y codifica hasta 10 variantes de transcripción distintas cuya función específica empieza a conocerse. El ARNm de la isoforma 1 (NM\_016362.3) da lugar a un péptido precursor de 117 aminoácidos conocido como preproghrelin<sup>(14)</sup>. Su procesamiento mediante la acilación de un residuo de serina en posición 3 (Ser3) por ácido octanoico, y el posterior clivaje del péptido señal da lugar a un fragmento amino terminal acilado de 28 aminoácidos que constituye la forma madura de ghrelin<sup>(13)</sup>. La acilación de ghrelin en la Ser3, catalizada por una Acil-transferasa específica (GOAT; *Ghrelin O-Acyl-Transferase*) recientemente identificada<sup>(15,16)</sup>, representa un paso esencial para su activación biológica y constituye además una peculiaridad singular de ghrelin, por ser éste el único péptido hormonal conocido, modificado por un ácido graso<sup>(13, 15, 16)</sup>. Tanto la forma acilada (*n-octanoil-ghrelin, acyl-ghrelin, AG*) como la no acilada (*des-acyl-ghrelin, DAG*) coexisten en la circulación, siendo el DAG circulante más abundante que AG (5:1), en condiciones fisiológicas<sup>(16, 17)</sup>. La incapacidad de DAG de desplazar a AG marcado radiactivamente de sus sitios de unión en hipotálamo y glándula hipofisaria, y su falta de actividad demostrable como secretagogo de GH, hizo que fuera considerado como una molécula no activa en la regulación de la secreción de GH. Sin embargo, se ha visto que la sobreexpresión de DAG en un modelo de ratón transgénico, genera un fenotipo de ratón pequeño, caracterizado por una disminución de peso y talla asociada a niveles circulantes de IGF-I significativamente disminuidos, lo que sugiere que DAG podría modular de alguna manera los efectos de AG endógeno sobre el eje de GH/IGF-I<sup>(18)</sup>. Si bien se ha demostrado fehacientemente que la aplicación exógena de ghrelin estimula la liberación de GH mediante interacción con el receptor GHSR-1a de forma dosis dependiente<sup>(13)</sup>, el postulado papel de ghrelin endógeno en la regulación de la secreción de GH y su lugar de acción no han podido ser establecidos con claridad.

Estudios previos han demostrado la capacidad de unión a membranas y estimulación de la liberación de GH en cultivos celulares hipofisarios, lo que indica que AG podría ejercer su acción secretagoga directamente a nivel hipofisario. No obstante, otros estudios han demostrado que secretagogos farmacológicos de GH, tales como la hexarelin, no son

capaces de estimular la secreción de GH en pacientes con defectos en el receptor de GHRH<sup>(19)</sup>, así como una marcada acción sinergística de ghrelin sobre la secreción de GH regulada por GHRH<sup>(20)</sup>, lo que parece indicar la existencia de un componente hipotalámico en la acción secretagoga de GH de ghrelin. En este sentido el estudio realizado por Nass *et al.*<sup>(21)</sup> puso de manifiesto que en individuos adultos mantenidos en un régimen normal de comidas regulares la AG endógena ejerce una acción amplificadora de los pulsos secretores de GH, regulados por las acciones contrapuestas de GHRH y somatostatina. Sus estudios pusieron igualmente de manifiesto, que el ayuno sostenido induce un incremento de la masa y amplitud del pulso de GH sin alterar su frecuencia, a pesar de una disminución aparente de los niveles circulantes de AG, lo que indica la existencia de mecanismos hipotalámicos o hipofisarios alternativos en este estado. En este sentido es importante resaltar también el trabajo realizado por García *et al.*<sup>(22)</sup> en el que se demuestra que tanto el secretagogo de GH, GHRP6, como ghrelin, son capaces de regular al nivel transcripcional la expresión del factor de transcripción Pit-1, en cultivos primarios de células adenohipofisarias de rata, mediante su interacción con el receptor GHSR-1a.

La identificación y caracterización funcional de las primeras mutaciones de *GHSR* en dos familias independientes<sup>(23)</sup>, confirmaron por primera vez la implicación de la vía de señalización de ghrelin en la etiología molecular de la DGH asociada a hipocrecimiento postnatal. Trabajos posteriores identificaron nuevas mutaciones de *GHSR* en pacientes con DGH y talla baja idiopática<sup>(24, 25)</sup> así como en pacientes con retraso constitucional del crecimiento<sup>(26)</sup>.

Por otra parte, sabemos que en el ser humano, al igual que en la rata, a nivel hipofisario la expresión de *GH1* está controlada principalmente por PIT1 mediante su interacción con 2 sitios de unión específicos, altamente conservados, localizados en el promotor proximal de *GH1*, y con otros tres sitios de unión específicos de PIT1 localizados en la región distal de control transcripcional (LCR) de *GH1*, localizada 14.5 kb aguas arriba de *GH1*<sup>(7, 8, revisado en 27)</sup>. Por todo lo expuesto resulta, por lo tanto, fundamentado considerar que la capacidad de control transcripcional de la expresión de PIT1 mediada por la interacción de AG con su receptor, GHSR-1a, confiere a la vía de señalización de ghrelin un potencial papel central en la regulación de la síntesis adicionalmente al observado control de la secreción de GH al nivel hipofisario. Por ello, los genes codificantes de los enzimas implicados en los mecanismos de acilación (GOAT) y desacilación de ghrelin (*LYPLAI, BCHE*) junto con los codificantes del péptido precursor (*GHRL*) y su receptor

(*GHSR*), constituyen excelentes candidatos funcionales potencialmente implicados como determinantes o modificadores genéticos de la deficiencia idiopática de GH, por lo que su estudio constituye otro de los objetivos principales de nuestro grupo de trabajo.

## 2. Determinantes genéticos de la resistencia a GH y deficiencia primaria de IGF-I e hipocrecimiento postnatal

Un considerable número de estudios en la literatura (5, 28) han puesto de manifiesto que aproximadamente el 25% de los casos diagnosticados como talla baja idiopática evaluados manifiestan un déficit de IGF-I en presencia de niveles normales o elevados de GH, lo que ha sido definido como deficiencia primaria de IGF-I (DPIGFI), en contraposición a la deficiencia de IGF-I secundaria a déficit de GH. Los pacientes con déficit del crecimiento postnatal asociado a DPIGFI representan el grupo más numeroso de casos de hipocrecimiento armónico postnatal.

### 2.1 Resistencia o insensibilidad a GH

La DPIGFI puede aparecer asociada a mutaciones en el gen de *GHR* que dan lugar a un síndrome de insensibilidad a GH (GHI), conocido como síndrome de Laron en su manifestación más severa (29), causada por mutaciones en homocigosis o en heterocigosis compuesta del gen *GHR*, o a mutaciones autosómico dominantes que se asocian con un fenotipo mucho más leve conocido como insensibilidad parcial a GH (30). Si bien desde su primera descripción en el año 1966, se han identificado más de 250 pacientes con mutaciones en el gen de *GHR* y se conocen más de 70 mutaciones diferentes de *GHR* que dan lugar a un fenotipo de déficit de hipocrecimiento asociado a déficit de IGF-I en presencia de valores normales de GH, la incidencia de este tipo de mutaciones en pacientes con deficiencia primaria de IGF-I es relativamente baja, explicando un porcentaje <10% de los casos de DPIGFI estudiados al nivel molecular (31, 32).

Defectos en los genes involucrados en la cascada de señalización post-receptor, fundamentalmente *STAT5b*, constituyen una segunda causa genética de baja frecuencia de resistencia a la acción de GH, caracterizada por un fenotipo de insensibilidad a GH e inmunodeficiencia (MIM 245590), que no altera el crecimiento intrauterino, se transmite según un patrón AR causando niveles muy disminuidos de IGF-I e IGBP3 y que puede presentarse con hiperprolactinemia. Hasta el momento se han identificado un total de 10 casos de DPIGFI debidos a 7 mutaciones diferentes de *STAT5b* (32). Si bien se ha observado un grado de afectación de la talla variable en los portadores heterocigotos de las mutaciones descritas hasta la fecha, de momento se

desconoce si la haploinsuficiencia de *STAT5b* por mutaciones en heterocigosis, puede asociar con un fenotipo menos severo de GHI y déficit del crecimiento por deficiencia primaria de IGF-I.

Otros defectos en la vía de señalización post-receptor se han visto, igualmente, en pacientes con síndrome de Noonan, en los que mutaciones en el gen *PTPN11*, que codifica SHP-2, una fosfatasa que interviene en la defosforilación de *STAT5b*, pueden afectar la acción de GH, disminuyendo los niveles de IGF-I y la respuesta al tratamiento con rhGH (33, 34).

Se han descrito igualmente, muy pocos casos de mutaciones del gen *GH1* que generan una GH biológicamente inactiva (MIM 262650), causantes de un fenotipo de GHI y talla baja caracterizado por un déficit de IGF-I en presencia de niveles normales de GH, descrito por primera vez por Kowarski et al (35).

### 2.2. Deficiencia primaria de IGF-I

Se conocen solamente 6 mutaciones del gen de *IGF1* (MIM 608747) que dan lugar a un fenotipo de DPIGFI más severo, con hipocrecimiento que se manifiesta tanto en el periodo prenatal como en el postnatal. Todos los pacientes descritos hasta la fecha presentaron un crecimiento intrauterino restringido al nacimiento, microcefalia, un rasgo característico que los distingue de los pacientes con síndrome de Silver-Russel (macrocefalia) y severo retraso del crecimiento postnatal que, en algunos casos, se acompañaba de déficit neurosensoriales y del desarrollo psicomotor (36-38). El fenotipo hormonal se caracteriza por presentar niveles indetectables de IGF-I, en los pacientes con mutaciones en homocigosis y <-2.0 DE, en los dos casos descritos con mutaciones de *IGF1* en heterocigosis (39, 40). Los niveles basales y post estimulación de GH se encuentran por encima de la normalidad, mientras que los niveles de IGFBP-3 y ALS se mantienen dentro de la normalidad o elevados en todos los casos descritos hasta la fecha. Los dos casos de mutaciones en heterocigosis en *IGF1* recientemente descritos (39, 40), sugieren, sin embargo, que pueden existir formas de DPIGFI asociadas a haploinsuficiencia de IGF-I, que se transmitan según un patrón AD, cuya incidencia y prevalencia deberá ser estudiada de forma más sistemática en este grupo numeroso de pacientes con DPIGFI sin defecto molecular conocido.

### 2.3. Deficiencia primaria de ALS

En el año 2004 Domené et al. (41), describieron la primera identificación de una mutación en el gen *IGFALS* en un paciente que presentó un déficit del crecimiento postnatal asociado a niveles muy disminuidos de IGF-I e IGFBP3, en presencia de valores

Tabla 2. Determinantes genéticos conocidos de la deficiencia primaria de IGF-I.

Genes involucrados	Patrón de transmisión	Defecto molecular	Fenotipo
<i>GHR</i>	AR/AD	Mutaciones sin sentido, de cambio de sentido, en puntos de empalme, microdeleciones/inserciones	<b>AR:</b> Síndrome de Laron; <b>AD:</b> Peso y talla normal al nacimiento; GH normal o supranormal; IGF-I, IGFBP3, ALS disminuidos;
<i>STAT5b</i>	AR	Mutaciones sin sentido, de cambio de sentido, en puntos de empalme, microdeleciones/inserciones	Resistencia a GH con <b>inmunodeficiencia</b> ; GH normal o supranormal; IGF-I, IGFBP3, ALS disminuidos; peso y talla normal al nacimiento; hiperprolactinemia; eccema atópico
<i>GH1</i>	AD	Mutaciones de cambio de sentido	Síndrome de Kowarski; GH normal o supranormal; IGF-I, IGFBP-3 y ALS disminuidos; peso y talla normal al nacimiento
<i>IGFALS</i>	AR/AD	Mutaciones de cambio de sentido, sin sentido, <i>micro indels</i>	<b>AR:</b> Peso y talla al nacimiento pueden ser disminuidos; IGF-I e IGFBP-3 muy disminuidos; ALS indetectable; retraso del desarrollo puberal; hiperinsulinemia; insulino-resistencia; <b>AD:</b> Peso y talla al nacimiento pueden ser inferiores a la norma <u>en niñas</u> ; déficit parcial de IGF-I, IGFBP3, y ALS; variabilidad fenotípica intrafamiliar, portadores no afectos
<i>IGF1</i>	AR/AD	Deleciones completas, mutaciones sin sentido, de cambio de sentido, en puntos de empalme	<b>CIR, microcefalia;</b> <b>AR:</b> niveles indetectables de IGF-I, retraso severo del crecimiento postnatal, niveles normales o elevados de IGFBP-3 y ALS ; <b>AD:</b> IGF-I <-2.0 DE; talla < -4.0DE

supranormales de GH. *IGFALS* es el gen codificante de la subunidad ácido lábil (ALS) del complejo ternario IGFBP3-IGF-I-ALS que regula la biodisponibilidad de IGF-I en el torrente circulatorio. Desde entonces tanto desde otros grupos <sup>(42-43)</sup> como desde nuestro grupo de trabajo <sup>(44)</sup> se han descrito hasta 16 nuevos casos que confirman la implicación de mutaciones en homocigosis en el gen *IGFALS*, codificante de la subunidad ácido-lábil (ALS), como la base molecular de la deficiencia primaria de ALS (ORPHA140941) asociada a marcados déficits circulantes de IGF-I, IGFBP-3 e hiperinsulinemia en pacientes con hipocrecimiento postnatal (<-2,5 DE) moderado, asociado en algunos casos a retrasos del desarrollo puberal. Concretamente nuestro grupo de trabajo realizó la identificación clínica y molecular de las tres primeras familias españolas con deficiencia primaria de ALS debida a mutaciones recesivas en el gen *IGFALS* <sup>(44)</sup>, caracterizando la mutación p.Asn276Ser, identificada hasta la fecha en un total de 5 familias españolas, como una mutación ancestral en la población española. Asimismo

en contribuciones más recientes <sup>(45)</sup>, hemos podido constatar que mutaciones en *IGFALS* representan el defecto molecular más frecuente (13%) en una cohorte de 92 pacientes con hipocrecimiento postnatal (talla <-2.0 DE) y déficit variable de IGF-I (<1.5 DE) (Campos-Barros *et al.* en preparación) en los que se examinaron los genes *GHR*, *IGFALS*, *IGF1* e *IGFBP3* de forma sistemática, lo que sugiere que se trata de una causa de hipocrecimiento postnatal más frecuente de lo que inicialmente se pensó. Asimismo, nuestros estudios y los de otros grupos <sup>(46)</sup> han permitido la detección de individuos con mutaciones en heterocigosis de *IGFALS* asociadas a déficit del crecimiento postnatal y niveles disminuidos de IGF-I, IGFBP3 y ALS, lo que sugiere que la deficiencia parcial de ALS puede representar un factor etiológico coadyuvante en el hipocrecimiento postnatal asociado a déficit moderado de IGF-I.

En conjunto, nuestros datos y los de otros autores indican que alteraciones en genes codificantes de factores reguladores de la biodisponibilidad de GH

e IGF-I pueden jugar un papel como determinantes o modificadores genéticos tanto de la deficiencia idiopática de GH como en la DPIGFI.

A pesar de los avances realizados en el conocimiento de las bases genéticas de la deficiencia idiopática de GH y deficiencia primaria de IGF-I asociadas a hipocrecimiento armónico en las últimas décadas, la contribución de los estudios genéticos a la identificación de las bases moleculares subyacentes sigue siendo relativamente modesta, identificándose un defecto molecular en sólo un 10-20% de los casos estudiados, lo que nos indica la existencia de otras causas genéticas todavía por identificar. No obstante, es predecible que la implementación de nuevas técnicas de análisis masivo de secuencias (NGS) y su probable rápida aplicación al diagnóstico clínico rutinario mediante el análisis de paneles de genes candidatos, exomas y/o genomas individuales, a costes razonables, nos permita en un plazo de pocos años identificar nuevos genes y alteraciones genéticas implicadas en la etiología molecular del hipocrecimiento armónico.

## Bibliografía

1. Lindsay R, Feldkamp M; Harris D, et al. Utah growth study: growth standards and the prevalence of growth hormone deficiency. *J Pediatr*. 1994; 125:29-35.
2. Giovenale D, Meazza C, Cardinale GM, et al. The Prevalence of Growth Hormone Deficiency and Celiac Disease in Short Children. *Clin Med & Res* 2006; 4: 180-183.
3. Campos Barros A, Argente J. Bases moleculares del hipocrecimiento armónico. *Rev Esp Ped* 2002; 58:73-90.
4. De Graaff LCG, Argente J, Veenma DCM, Herrebout MAC, Friesema ECH, Uitterlinden AG, Drent ML, Campos-Barros A, Hokken-Koelega ACS. Genetic Screening of a Dutch Population with Isolated Growth Hormone Deficiency. *Clin. Endocrinol (Oxford)* 2009; 70: 742-750 .
5. Mullis PE. Genetic control of growth. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:11-31.
6. Trujillo MA, Sakagashira M, Eberhardt NL. The human growth hormone gene contains a silencer embedded within an Alu repeat in the 3'- flanking region. *Mol Endocrinol* 2006; 2559-75.
7. Tamra L, Hunsaker, Holly S, Jefferson, J, Kaitlin Morrison, Andrew J, Franklin and Brian M. Shewchuk POU1F1-Mediated Activation of hGH-N by Deoxyribonuclease I Hypersensitive Site II of the Human Growth Hormone Locus Control Region. *J. Mol. Biol.* (2012) 415, 29–45.
8. Yugong Ho, Felice Elefant, Stephen A. Liebhaber, Nancy E. Cooke. Locus Control Region Transcription Plays an Active Role in Long-Range Gene Activation. *Molecular Cell* 2006; 23: 365–375.
9. Horan, M., Millar, DS, Hedderich J, et al. Human growth hormone 1 (GH1) gene expression: complex haplotype dependent influence of polymorphic variation in the proximal promoter and locus control region. *Human Mutation* 2003; 21, 408–423.
10. Wolf A, Millar DS, Caliebe A, et al. A gene conversion hotspot in the human growth hormone (GH1) gene promoter. *Hum Mut* 2009; 30:239-247.
11. Giordano M, Godi M, Mellone S, Petri A, Vivenza D, Tiradani L, Carlomagno Y, Ferrante D, Arrigo T, Cornelì G, Bellone S, Giacopelli F, Santoro C, Bona G, Momigliano-Richardi P. A functional common polymorphism in the vitamin D-responsive element of the GH1 promoter contributes to isolated growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1005-1012.
12. Esteban C, Audí L, Carrascosa A, et al. Human growth hormone (GH1) gene polymorphism map in a normal-statured adult population. *Clin Endocrinol* 2007; 66:258-268.
13. Kojima M & Kangawa K. Ghrelin: Structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85:495-522.
14. Wajnrajch MP, Ten IS, Gertner JM, Leibel RL. Genomic organization of the human Ghrelin gene. *The Journal of Endocrine Genetics* 2000; 1: 231-3.
15. Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell* 2008; 132:387-396.
16. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl Ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Comm* 2000; 279:909-913.
17. Liu J, Prudom C, Nass R, et al. Novel ghrelin assays provide evidence for independent regulation of ghrelin acylation and secretion in healthy young men. *J Clin Endocrinol & Metab* 2008; 93:1980-7.
18. Ariyasu H, Takaya K, Iwakura H, et al. Transgenic mice overexpressing des-acyl ghrelin show small phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 146: 355-64.
19. Maheshwari HG, Rahim A, Shalet SM, Baumann G. Selective lack of growth hormone (GH) response

- to the GH-releasing peptide hexarelin in patients with GH-releasing hormone receptor deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:956–959.
20. Hataya Y, Akamizu T, Takaya K, et al. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4552–4555.
21. Nass R, Farhy L, Liu J, Prudom C et al., Evidence for acyl-ghrelin modulation of growth hormone release in the fed state. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1988-94.
22. García A, Álvarez CV, Smith RG, Dieguez C. Regulation of PIT-1 expression by ghrelin and GHRP-6 through the GH secretagogue receptor. *Mol Endocrinol* 2001; 15:1484-1495.
23. Pantel J, Legendre M, Cabrol S, et al. Loss of constitutive activity of the growth hormone secretagogue receptor in familial short stature. *J Clin Invest* 2006; 116:760-768.
24. Hiroshi Inoue, Natsumi Kangawa, Atsuko Kinouchi, Yukiko Sakamoto, Chizuko Kimura, Reiko Horikawa, et al., on behalf of the Japan Growth Genome Consortium. Identification and Functional Analysis of Novel Human Growth Hormone Secretagogue Receptor (GHSR) Gene Mutations in Japanese Subjects with Short Stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E373–E378.
25. Pantel J., Legendre M., Nivot S., Morisset S., Vie-Luton M.P., Le Bouc Y., Epelbaum J., and Amselem S.. Recessive Isolated Growth Hormone Deficiency and Mutations in the Ghrelin Receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4334–4341.
26. Pugliese-Pires P.N., Fortin J.P., Arthur T., Latronico A.C., Mendonca B.B., F Villares. S. M., Parnhold J.J., Kopin A.S., Jorge A.A.L.. Novel inactivating mutations in the GH secretagogue receptor gene in patients with constitutional delay of growth and puberty. *European Journal of Endocrinology* 2011; 165: 233–241.
27. Campos-Barros A, Heath KE, Argente J. Genetic basis of proportional short stature. *Adv Exp Med Biol* 2005; 567:341-383.
28. Rosenfeld RG. Pharmacogenomics and pharmacoproteomics in the evaluation and management of short stature. *Eur J Endocrinol* 2007; 157: S27-S31.
29. 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.
30. Goddard AD, Covello R, Luoh SM, Clackson T, AttieKM Gesundheit N, Rundle AC, Wells JA, Carlsson LM. Mutations of the growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. The Growth Hormone Insensitivity Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1093–1098.
31. Bang P Statement 3: A low serum IGF-I level in idiopathic short stature patients indicates partial GH insensitivity. *Ped. Endocrinol. Rev.* 2008; 5 (Suppl.3): 841-846.
32. David A., Hwa V., Metherell L.A., Netchine I., Camacho-Hubner C., Clark A.J.L., Rosenfeld R.G., and Savage M.O.. Evidence for a Continuum of Genetic, Phenotypic, and Biochemical Abnormalities in Children with Growth Hormone Insensitivity. *Endocrine Reviews* 2011; 32 472–497.
33. 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; 90:5377–5381.
34. Binder G Response to growth hormone in short children with Noonan syndrome: correlation to genotype. *Horm Res* 2009; 72 (Suppl 2):52–56.
35. 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; 47:461–464.
36. Woods KA, Camacho-Hübner C, Savage MO, Clark AJ Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor-I gene. *N Engl J Med* 1996; 335:1363–1367.
37. Walenkamp MJ, Karperien M, Pereira AM, Hilhorst-Hofstee Y, van Doorn J, Chen JW, Mohan S, Denley A, Forbes B, van Duyvenvoorde HA, van Thiel SW, Sluimers CA, Bax JJ, de Laat JA, Breuning MB, Romijn JA, Wit JM. Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2855–2864.
38. Netchine I, Azzi S, Le Bouc Y, Savage MO. IGF1 molecular anomalies demonstrate its critical role in fetal, postnatal growth and brain development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25:181–190.
39. Fuqua JS, Hwa V, Rosenfeld RG. Identification of a heterozygous IGF1 gene splice mutation. Proc 8th Joint Meeting of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society/ European Society for Paediatric Endocrinology, New York, 2009 (Abstract P01-075).

40. van Duyvenvoorde HA, van Setten PA, Walenkamp MJ, van Doorn J, Koenig J, Gauguin L, Oostdijk W, Ruivenkamp CA, Losekoot M, Wade JD, De Meyts P, Karperien M, Noordam C, Wit JM. Short stature associated with a novel heterozygous mutation in the insulin-like growth factor 1 gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:E363–E367.
41. Domené HM, 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. *N Eng J Med* 2004; 350:570-577
42. Domené HM, Scaglia PA, Lteif A, Mahmud FH, Kirmain S, Frystyk J, Bedecarrás P, Gutiérrez M, Jasper HJ. Phenotypic effects of null and haploinsufficiency of acid labile subunit in a family with two novel IGFALS gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:4441-4450.
43. 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; 91:1826-1831.
44. Heath KE, Argente J, Barrios V, Pozo J, Díaz-González P, Martos GA, Caimari M, Gracia R, Argente J, Campos-Barros A. Primary acid-labile subunit (ALS) deficiency due to recessive IGFALS mutations results in postnatal growth deficit associated to low circulating IGF-I and IGFBP-3 levels, and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1616-24.
45. De Frutos S, Barroso E, Gomez A, Gracia-Bouthelier R, Gallego-Gómez E, Heath KE, Campos-Barros A. IGFALS mutations represent the most frequent molecular defect in a cohort of patients with primary IGF-I deficiency and postnatal growth deficit. *Horm Res* 2011; 76 (Suppl.2) 43.
46. Fofanova-Gambetti OV, Hwa V, Wit JM, Domené HM, Argente J, Bang P, Hogler W, Kirsch S, Pihoker C, Chiu HK, Cohen L, Jacobsen C, Jasper HG, Haeusler G, Campos-Barros A, Gallego-Gómez E, Gracia-Bouthelier R, van Duyvenvoorde HA, Pozo J, Rosenfeld RG. Impact of heterozygosity for acid-labile subunit (IGFALS) gene mutations on stature: results from the International Acid-Labile Subunit Consortium. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:4184–4191.