

Manuscript Number:

Title: Título: Mutación en heterocigosis en el gen del receptor de la hormona de crecimiento (GHR): resistencia parcial a la GH, etiología de la talla baja Title: Heterozygous mutation in the receptor gene of the growth hormone (GHR): partial GH resistance, etiology of short stature

Article Type: Nota Clínica

Keywords: Palabras clave: gen GHR; resistencia parcial a la GH; talla baja IGF-1

Keywords: GHR gene; partial resistance to GH; short stature; IGF-1

Corresponding Author: Dr. eva barrio, PhD

Corresponding Author's Institution: Universidad de Zaragoza

First Author: eva barrio, PhD

Order of Authors: eva barrio, PhD; SILVIA IZQUIERDO, PhD; Gracia María Lou-Francés, PhD; ANTONIO DE ARIBA, PhD; MARTA FERRER, PhD; JOSE IGNACIO LABARTA, PhD

Abstract: El déficit de GH corresponde con hipocrecimiento armónico postnatal. Varón de 8 años, 109.80 cm, y vc 5.3cm/año, madre 150 cm, sin déficit de GH. Estudio mutacional de GHR. GH normal en secreción nocturna y bajo IGF1. Mutación Arg161Cys en el exón 6, en heterocigosis, en GHR. La insensibilidad a la GH constituye un grupo de patologías muy heterogéneas asociadas con baja talla y resistencia a GH. Con fenotipo variable, la búsqueda de mutaciones en GHR permite filiar una talla baja idiopática en niños con GH normal y bajo IGF-1 y realizar asesoramiento genético.

Deficit of GH cause postnatal harmonic growth. Male 8 years old, 109.80 cm, gr 5.3 cm/year, mother 150 cm, without deficit of GH. Mutations in the GHR gene were performed. Genetic studies revealed the presence of Arg161Cys mutation in exon 6, heterozygous, in the GHR. GH insensitivity is a very heterogeneous group of diseases associated with short stature and resistance to GH action. Although the phenotype is quite variable for mutations in the GHR gene we found the etiology of idiopathic short stature and perform the genetic counseling.

Durante todos nuestros años de experiencia como grupo trabajando en el estudio de la genética del crecimiento, hemos ido observando que los paradigmas van cambiando a medida que la tecnología es más avanzada.

En los casos de hipocrecimiento, se tiende a un estudio personalizado en el que podamos dar asesoramiento clínico y genético a las familias de tal forma que puedan tomar decisiones importantes para su línea familiar.

El caso es el de un paciente que presenta talla baja, con antecedentes en rama materna y con padre ausente.

Se inicia el estudio bioquímico y genético del paciente.

Obtenemos la mutación ya descrita en síndrome de Laron en homocigosis o heterocigosis compuesta.

Nosotros hallamos la mutación en heterocigosis y continuamos el estudio familiar en la madre. No posee la mutación

El hecho de tener la mutación en heterocigosis le confiere al niño una resistencia parcial a la Hormona de Crecimiento (GH).

Con este hallazgo el paciente inicia un tratamiento con GH y se observa que reacciona muy bien

Este estudio ha sido muy útil, sobre todo a la hora de un tratamiento personalizado del niño

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Nota Clínica

Título: Mutación en heterocigosis en el gen del receptor de la hormona de crecimiento (*GHR*): resistencia parcial a la GH, etiología de la talla baja

Title: Heterozygous mutation in the receptor gene of the growth hormone (*GHR*): partial GH resistance, etiology of short stature

Autores: Eva Barrio-Ollero^{1*}, Silvia Izquierdo-Álvarez³, Antonio De Arriba-Muñoz², Marta Ferrer-Lozano², Gracia María Lou-Francés², José Ignacio Labarta-Aizpun²

¹Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza, Spain.

²Endocrinología Pediátrica. Servicio de Pediatría del Hospital Infantil. Hospital Universitario “Miguel Servet”, Zaragoza, Spain.

³Sección de Genética Clínica y Reproducción Asistida del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario “Miguel Servet”, Zaragoza, Spain.

***Autor para correspondencia:**

Eva Barrio Ollero.

Departamento de Anatomía e Histología Humanas. Facultad de Medicina. Edificio A. Universidad de Zaragoza, Pedro Cerbuna s/n. Spain.

Tfno: 976761671

E-mail de los autores:

barrioeva@gmail.com

sizquierdoalvarez@gmail.com

adearriba@salud.aragon.es

mferrer@salud.aragon.es

gracielaaloufrances@yahoo.es

jilabarta@salud.aragon.es

Título breve: Mutación gen *GHR*: resistencia parcial a la GH

Running title: Gene mutation *GHR*: GH resistance partial

Resumen

El déficit de GH corresponde con hipocrecimiento armónico postnatal. Varón de 8 años, 109.80 cm, y vc 5.3cm/año, madre 150 cm, sin déficit de GH. Estudio mutacional de *GHR*. GH normal en secreción nocturna y bajo IGF1. Mutación Arg161Cys en el exón 6, en heterocigosis, en *GHR*. La insensibilidad a la GH constituye un grupo de patologías muy heterogéneas asociadas con baja talla y resistencia a GH. Con fenotipo variable, la búsqueda de mutaciones en *GHR* permite filiar una talla baja idiopática en niños con GH normal y bajo IGF-1 y realizar asesoramiento genético.

Palabras clave: gen *GHR*; resistencia parcial a la GH; talla baja IGF-1

Abstract

Deficit of GH cause postnatal harmonic growth. Male 8 years old, 109.80 cm, gr 5.3 cm/year, mother 150 cm, without deficit of GH. Mutations in the *GHR* gene were performed. Genetic studies revealed the presence of Arg161Cys mutation in exon 6, heterozygous, in the *GHR*. GH insensitivity is a very heterogeneous group of diseases associated with short stature and resistance to GH action. Although the phenotype is quite variable for mutations in the *GHR* gene, we found the etiology of idiopathic short stature and perform the genetic counseling.

Keywords: *GHR* gene; partial resistance to GH; short stature; IGF-1

Introducción

La talla baja constituye uno de los principales motivos de consulta en Endocrinología Pediátrica¹. Debido a esto, es muy importante el estudio y evaluación del crecimiento del niño. Para la valoración de la talla, se debe tener en cuenta factores endógenos y exógenos: genéticos, hormonales, metabólicos, nutricionales y afectivos.

1 En la mayoría de niños la talla baja tiene un origen familiar, un retraso constitucional
2 del crecimiento o una combinación de ambos. En general, la realización de una buena
3 historia clínica y una exploración física permite clasificar a los niños de manera
4 adecuada sin necesidad de realizar exploraciones innecesarias. Sin embargo, en
5 algunos niños la presencia de retraso en el crecimiento o la talla baja son un signo
6 indicativo de alteración^{1,2}.
7
8
9

10 La talla baja se define auxológicamente como una talla que está por debajo de las dos
11 desviaciones estándar (SDS) sin hallazgos de patología evidente tras una evaluación
12 completa por un endocrino pediátrico que incluya niveles de la hormona del
13 crecimiento (GH) estimulados. La terminología utilizada para denominar y clasificar los
14 problemas de retraso de crecimiento es variada. Uno de los criterios preferidos para
15 clasificar la talla baja es: talla baja patológica en los casos en que se conoce la
16 etiopatogenia que ha ocasionado el hipocrecimiento y talla baja idiopática (TBI) para
17 los casos en que se desconoce la etiología y en donde estarían incluidas las
18 denominadas variantes de la normalidad².
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

38 El déficit de GH representa una de las causas más frecuentes del hipocrecimiento
39 armónico postnatal. Aunque su frecuencia es difícil de establecer y puede variar en
40 función de los criterios diagnósticos y origen étnico de la población, se ha estimado
41 una prevalencia de al menos 1/3480 niños³. Estudios recientes han estimado una
42 incidencia variable del 5-20% del déficit de GH en una cohorte multiregional de 7022
43 casos (edad 2-14 años) de talla baja⁴. La resistencia a la GH se caracteriza por la
44 detección de concentraciones normales o elevadas de GH y muy disminuidas de IGF-1
45 y de IGFBP-3.
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

La GH regula numerosos procesos metabólicos, para ello tiene que unirse a su receptor, GHR que es una proteína dimérica transmembranosa. Biológicamente, la GH se une a su receptor, GHR, el cual dimeriza para activar la cascada de señales intracelulares que conducen a la producción de IGF1.

El gen *GHR* (OMIM-600946) consta de 10 exones, de los cuales 9 son codificantes, codifica una proteína con 3 dominios: un dominio extracelular que comprende el sitio de unión al ligando, en este caso la GH (el sitio 1 de alta afinidad de la molécula de GH se une a una primera molécula de receptor y el sitio 2, de baja afinidad, se une a una segunda molécula de receptor) y que genera la proteína de transporte que circula en sangre GHBP, otro dominio transmembranoso y, por último, un dominio intracelular con actividad tirosin-quinasa. Tiene una longitud de 87 Kb y codifica una proteína de 246 aminoácidos. Los exones 2-7 codifican la región extracelular⁵. Existen dos isoformas en humanos generadas por la delección del exón 3 que se producen por *splicing* alternativo. El gen GHR se engloba dentro de la superfamilia de receptores de citoquinas. En contraposición a los receptores de insulina, los receptores de citoquinas carecen de actividad tirosina quinasa, a pesar de encontrarse estrechamente asociados con proteínas quinasa codificadas por otros genes.

Se han descrito numerosas mutaciones en este gen, la mayoría puntuales con cambio de aminoácido aunque también pueden afectar las zonas de corte y empalme y también se han descrito delecciones⁶. El síndrome de resistencia a la GH, grave, clásicamente denominado síndrome de Laron, es muy poco frecuente, suele heredarse de forma recesiva aunque se describen algunas mutaciones con efecto dominante^{7,8}.

Métodos

Varón de 8 años con talla baja 109.80 cm, peso 17.900 gr, y velocidad de crecimiento de 5.3 cm/año, remitido a la consulta de Endocrinología Pediátrica, peso al nacer de 3080 gr, talla de 48 cm, perímetro cefálico de 32.5 cm y test apgar de 7/10. Comedor irregular, pero despierto y activo.

Madre estudiada por talla baja en la infancia sin déficit de GH. En la familia materna solo la madre del niño presentaba talla baja 150 cm.

En la fig. 1a se detalla el árbol con las tallas paterna y materna.

Se analizó el perfil hormonal en el caso índice (ver tabla 1) y un test de secreción nocturna de GH. La secreción integrada debe de ser superior a 3.5 ng/mL. Se tomaron muestras cada 20-30 minutos y se valoraron el número de picos (en condiciones normales se obtienen 6-8 picos), y la amplitud de los picos. Este test permite diagnosticar los pacientes con déficit neurosecretor de GH, ya que en ellos la alteración radica en ese patrón de secreción⁶.

Se realizó el estudio genético para buscar posibles mutaciones en el gen *GHR*. Se extrajeron al paciente 10 mL de sangre periférica en contenedor con EDTA y se hizo la extracción de ADN mediante el robot EZ1 de Qiagen. El ADN obtenido se cuantificó con un biofotómetro presentando una concentración de 85 ng/mL (Absorbancia 260nm/280nm= 1.7). Se procedió a la amplificación por PCR de todas las zonas codificantes y las correspondientes zonas de *splicing* y mediante secuenciación Sanger en equipo Abi Prism 3100XL de Applied Biosystems de 16 capilares se analizaron todos los exones y zonas de *splicing* del gen *GHR*.

Resultados

Se detectaron niveles normales de GH (test de secreción nocturna, ver fig. 1b) y bajos de IGF1 (ver tabla 1). Durante el día, el plasma tiene una concentración de GH estable y relativamente baja (< 2 ng/mL), con varios picos secretores (aproximadamente 3 horas antes de las comidas y después del ejercicio). En contraste, durante la noche, adultos y niños muestran un aumento de la actividad secretora (aproximadamente 90 minutos antes del inicio del sueño), alcanzando el pico más alto durante el sueño profundo.

El estudio genético reveló la presencia de la mutación Arg161Cys en el exón 6, en heterocigosis (ver fig. 1c), de la secuencia del gen *GHR* cuyo fenotipo está relacionado con una insensibilidad parcial a la GH, tal y como se describe en la base de datos de mutaciones HGMD (CM984041) descrito por primera vez en⁷. La madre no presentó la mutación hallada en el caso índice y el padre no se hizo el estudio genético (fig. 1a).

Discusión

La insensibilidad a la GH constituye un grupo de patologías muy heterogéneas que están asociadas con baja talla y una resistencia a la acción de la GH. Si bien el fenotipo es bastante variable, presentando formas muy severas como el síndrome de Laron⁸, causada por mutaciones en homocigosis o en heterocigosis compuesta del gen *GHR*, o a mutaciones de herencia autosómica dominante que se asocian con un fenotipo mucho más leve conocido como insensibilidad parcial a GH⁹.

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 del gen *GHR* que dan lugar a un fenotipo de hipocrecimiento asociado a déficit de IGF-I en presencia de valores normales de GH.

1 El síndrome de Laron presenta un retraso en el crecimiento severo (-4 a -10 SDS) con
2 una GH normal incluso elevada y un IFG1 bajo⁹.
3

4 Por otra parte, los niños afectados con talla baja idiopática, tienen un retraso del
5 crecimiento moderado sin anomalías endocrinas específicas, de tal manera que
6 presenta una sensibilidad parcial a la GH.
7
8
9

10 En trabajos previos se demuestra e hipotetiza que mutaciones en heterocigosis en el
11 gen *GHR* con efecto menos grave podrían contribuir a un porcentaje no determinado,
12 de retrasos de crecimiento hasta ahora considerados idiopáticos, en muchos casos
13 familiares⁸, este es nuestro caso. El fenotipo del probando encaja perfectamente con
14 esta teoría.
15
16
17

18 A diferencia de los niños en los que la deficiencia de GH puede ser idiopática, en los
19 adultos nunca es idiopática. Los niños diagnosticados de déficit de GH idiopático
20 pueden tener una respuesta de GH normal al hacerles una reevaluación en la vida
21 adulta, sin embargo los niños con tumores hipofisarios, hipotalámicos, que han
22 recibido radiación o que tienen otros déficits hormonales, generalmente son
23 deficitarios en la vida adulta.
24
25
26

27 La transición a la vida adulta de los adolescentes con deficiencia de GH requiere un
28 nuevo estudio para confirmar la deficiencia de la hormona en el adulto. Hasta un 20%
29 de los pacientes tratados por deficiencia de GH de comienzo en la infancia tienen
30 niveles hormonales suficientes cuando se repite el estudio en la vida adulta.
31
32
33

34 El estudio de la secreción nocturna de la GH ha aportado rigor para el correcto análisis
35 e interpretación de la fisiopatología de la hormona de crecimiento que debe
36 conducirnos a un diagnóstico apropiado seguido de una actitud terapéutica racional en
37 manos de profesionales expertos¹⁰, como sucede en el caso índice.
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Como conclusión, es un gran avance para los clínicos que la búsqueda y hallazgo de mutaciones en heterocigosis encontradas en el gen *GHR*¹⁰ permitan encontrar y caracterizar la etiología de una talla baja idiopática en niños, con valores normales de la GH y bajos de IGF-1 especialmente y poder realizar el asesoramiento genético pertinente a los familiares.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias Bibliográficas

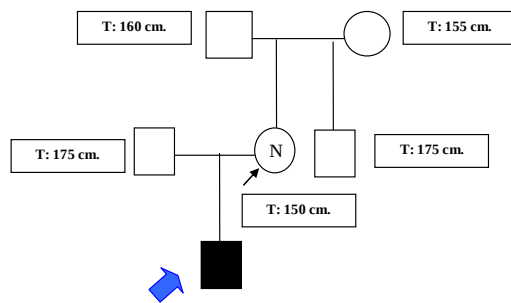
1. Pombo M, Castro Feijoo L, Cabanas Rodríguez P. El niño de talla baja. *Protoc Diagn Ter Pediatr*. 2011; 1:236-54.
2. Rogol AD, Hayden GF. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. *J Pediatr*. 2014;164 Suppl 5:S1-14.e6.
3. Cohen LE. Idiopathic short stature: a clinical review. *JAMA*. 2014;311:1787-96.
4. Soriano-Guillén L, Argente J. Talla baja idiopática y tratamiento con hormona de crecimiento biosintética: reflexiones clínicas y éticas ante un diagnóstico arbitrario. *An Pediatr (Barc)*. 2012;76:53-7.
5. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature (Lond)*. 1987; 330: 537-43.
6. Tauber MT, Porra V, Dastot F, Molinas C, Amselem S, Cholin S, et al. Heterozygous mutation in the WSXWS equivalent motif of the growth hormone receptor in a child with poor response to growth hormone therapy. *Growth Horm IGF Res*. 1998;8:211-6.
7. Amselem S, Duquesnoy P, Duriez B, Dastot F, Sobrier ML, Valleix S, et al. Spectrum of growth hormone receptor mutations and associated haplotypes in Laron syndrome. *Hum Mol Genet*. 1993 Apr;2(4):355-9.
8. Laron Z. Laron syndrome (primary growth hormone resistance or insensitivity): the personal experience 1958-2003. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1031-44.

9. Allen DB, Cuttler L. Clinical practice. Short stature in childhood—challenges and choices. *N Engl J Med*. 2013; 368:1220-8.
10. Wit JM, de Luca F. Atypical defects resulting in growth hormone insensitivity, *Growth Horm IGF Res*. 2015 Nov 30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ghir.2015.11.005>

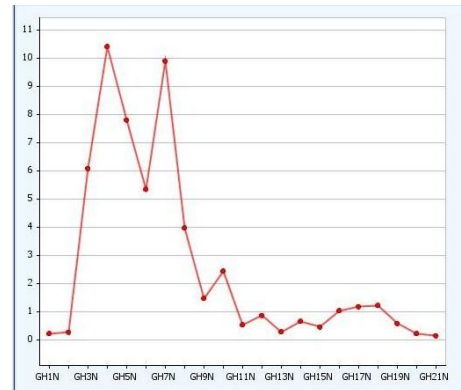
Tabla 1. Resultados de los estudios hormonales en el caso índice.

<i>Parámetros</i>	<i>Intervalos de referencia</i>	<i>Resultados en caso índice</i>
Laboratorio Medicina Nuclear		
Somatomedina (IGF-I)	-----	120 ng/mL
IGF-BP-3	-----	4.01 µg/mL
GH - Hormona del crecimiento	0.13-5.74	18.63 ng/mL
Perfil tiroideo		
TSH en suero	0.34-5.60	6.03 µUI/mL
T4 Libre (Tiroxina) en suero	0.58-1.64	0.86 ng/dL
Perfil hormonal		
LH Hormona Luteinizante	1.26-10.05	0.16 mUI/mL
FSH Hormona Foliculostimulante	1.27-19.26	0.80 mUI/mL
Prolactina	2.64-13.13	9.00 ng/mL
Testosterona	1.75-7.81	<0.10 ng/mL
ACTH	5-46	32.1 pg/mL
Cortisol en suero	5.00-38.00	13.84 µg/dL
Insulina	2.00-29.10	0.10 µUI/mL
GH – Hormona del crecimiento	0.15-3.00	0.10 ng/mL
IGF-I (somatomedina C en suero)	74.0-388.0	122.0 ng/mL
IGF-BP	1.8-7.1	3.7 µg/mL

a



b



c

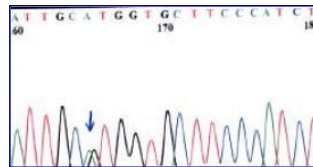


Figura 1. a. Árbol genealógico con las tallas. b. Gráfico resultados valores GH en el Test de Secreción Nocturna. c. Fragmento de la secuencia en la que se observa en heterocigosis la mutación Arg161Cys en el exón 6 del gen GHR.