I. INTRODUCCIÓN

1.1 TRASTORNOS DEL CRECIMIENTO

Se denomina crecimiento al conjunto de cambios continuos que conducen a un ser viviente desde el nacimiento a la madurez. Este proceso es complejo y multifactorial e incluye fenómenos de hipertrofia e hiperplasia tisulares. Dentro de la especie humana hay condicionantes genéticos ó biológicos a los que se suman factores externos ó ambientales y variaciones del propio crecimiento a lo largo del tiempo que darán lugar a la talla adulta (Tanner, 1986). Los factores genéticos no determinan únicamente la talla definitiva, sino también el tiempo y la forma en que dicha talla se alcanza. En 1985 Tanner y Davies, construyeron curvas de estatura, ilustrando sus gráficas y los cambios dramáticos en la velocidad de crecimiento durante los años de la pubertad, tanto en niños como en niñas. En los niños el inicio de la pubertad varia de 9-14 años y en las niñas oscila entre los 8.6- 12 años (Jiménez-Hernández *et al.,* 1990).

El retraso constitucional del crecimiento y la pubertad (RCC) es la causa más común de talla baja y retardo puberal. Esto se debe a una variación del desarrollo normal en la que el desarrollo puberal se alcanza tardíamente, a causa de una maduración atrasada del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. Por definición, se puede considerar que el retardo puberal en mujeres es cuando no hay desarrollo mamario ni vello pubiano a la edad de 13 años y en los varones cuando a los 14 años no han tenido aumento testicular con ausencia o presencia de vello pubiano (García *et al.,* 1993).

La frecuencia estimada de retrasos del crecimiento asociados a trastornos de la producción y/o la acción de la HGH, es de aproximadamente uno de cada 4000 a 10000 recién nacidos vivos (Vimpani *et al.,* 1977; Rona *et al, 1977;* Lacey *et al.,* 1974; Lindsay *et al,* 1993). En tanto que la mayor parte de los casos son esporádicos y se atribuyen a agresiones cerebrales y anomalías del desarrollo, un 5-30% de los pacientes tienen un familiar afectado de primer grado, lo que sugiere una causa genética (Lacey *et al.,* 1974; Lindsay *et al.,* 1993).

Así mismo, también hay evidencia de factores ambientales y de anomalías anatómicas hipotálamo-hipofisiarias que producen déficit de HGH. Estos constituyen menos del 20% de los casos esporádicos (Cacciari *et al,* 1990). Es conveniente tener en cuenta que muchos casos de familiares afectados pasan desapercibidos, ya que en los trastornos autosómicos recesivos la probabilidad de tener un hijo afectado es de ¼ y la probabilidad de tener 2 hijos con la enfermedad es de 1/16, lo cual es difícil dado el tamaño actual de las familias.

El enanismo es un trastorno del crecimiento, producido en parte por desequilibrios glandulares endocrinos, para los cuales se han descrito algunas causas (tabla 1).

Tabla 1. Causas endocrinas de talla baja.

Secreción disminuida de HGH	Causas hipotalámicas
	Secreción disminuida de GRH (hormona liberadora de HGH)
	Lesiones orgánicas
	Causas hipofisarias
	Secreción disminuida de GH aislada ó asociada a otras hormonas hipofisarias
	Lesiones orgánicas
	Deficiencia funcional de HGH (Deprivación emocional)
Actividad defectuosa de la HGH	Receptores defectuosos de HGH (enanismo de Laron)
	Secreción de formas normales de HGH
	Alteración nutricional de la formación de somatomedina inducida por la HGH
Respuesta esquelética alterada a la somatomedina (o HGH)	Talla baja constitucional
	Disgenesia gonadal (Síndrome de Turner)
	Enfermedad renal crónica
	Enfermedad inflamatoria crónica
	Exceso de corticoides
	Enfermedades hipofisarias y suprarrenales
	Tratamiento con dosis farmacológicas de corticoides
Hipotiroidismo (primario o secundario)	
Pubertad precoz	Orgánica
	Central (SNC) ("pubertad precoz verdadera" con cierre precoz de las epífisis óseas)
	Pseudopubertad precoz
	Idiopática ("pubertad precoz verdadera")
Diabetes mellitus	
Insuficiencia corticosuprarrenal	

(Fuente: Catálogo Merck. Sharp y Dohme, 1994)

1.2 LA GLÁNDULA PITUITARIA PRODUCE LA HGH.

La glándula pituitaria (hipófisis) desempeña un papel importantísimo en el funcionamiento normal del cuerpo humano, por la diversidad de hormonas que produce. Entre ellas destacan las hormonas de acción directa como la del crecimiento(HGH), que determina dicho proceso, y la gonadotrófica, que estimula la diferenciación sexual de los individuos. Sin embargo, el más importante de los roles de esta glándula es el de dirigir, mediante hormonas de acción indirecta, el funcionamiento de las demás glándulas endocrinas, actuando como la directora de la «orquesta endocrina». No obstante la importancia de sus funciones, es la más pequeña de las glándulas endocrinas conocidas. Su peso es de alrededor de medio gramo en el ser humano adulto, y mide un centímetro de largo y 1.5 cm de ancho, con un espesor de 6 milímetros. Se encuentra situada en una depresión o cavidad del hueso esfenoidal, llamada la silla turca (figura 1).

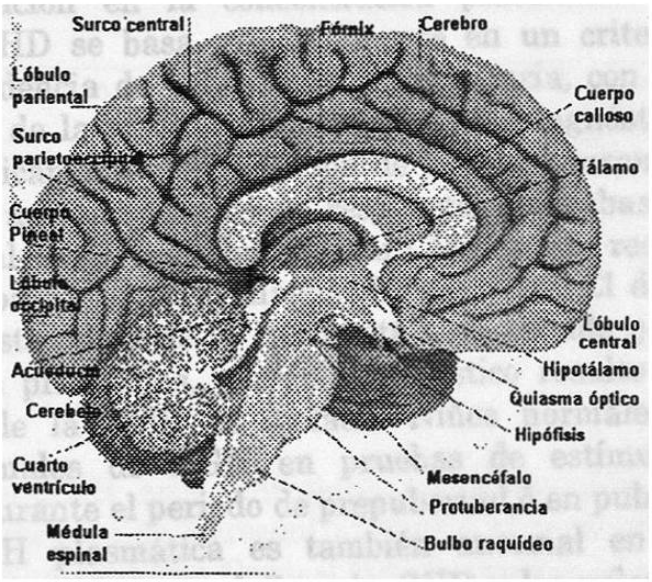

Figura 1. La glándula pituitaria. Esta glándula juega un papel muy importante en el sistema endocrino, pues su función es unir a éste con el sistema nervioso central. Esta pequeña glándula se localiza en la base del cerebro y cuenta con dos partes: pituitaria anterior (adenohipófisis) y pituitaria posterior (neurohipófisis).
La pituitaria anterior recibe señales del hipotálamo, las cuales pueden estimular ó inhibir la secreción de hormonas, que después son secretadas al flujo sanguíneo donde actúan sobre órganos blanco específicos. Las hormonas secretadas por la adenohipófisis son:
Estimulante del tiroides(TSH), folículo-estimulante(FSH), luteinizante(LH), prolactina (PRL), adrenocorticotrópica (ACTH) y la HGH.

1.3 CARACTERÍSTICAS DE LA DEFICIENCIA DE HORMONAS HIPOFISIARIAS

En niños la deficiencia de FSH y LH puede causar eunocoidísmo y falta de desarrollo sexual. La FSH y LH tienen un efecto indirecto en el crecimiento de los huesos por obstrucción de la epífisis. La deficiencia de GH en niños se presenta como retardo del crecimiento y maduración sexual retrasada. Estos pacientes pueden presentar hipoglucemia debido a la pérdida del efecto gluconeogénico de la HGH, el cuál contrarresta el efecto de la insulina. En los adultos la deficiencia HGH se presenta como debilidad, disminución de tolerancia al ejercicio y decremento del funcionamiento social.

1.3.1 DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE DEFICIENCIA DE HGH (GHD)

La deficiencia de la hormona del crecimiento (GHD) se puede diagnosticar por una disminución en la concentración plasmática de la HGH. El diagnóstico de GHD se basa principalmente en un criterio auxológico en niños y en la evidencia de enfermedad de pituitaria, con otras deficiencias conjuntas del eje de la pituitaria, en adultos. El diagnóstico GHD luego se confirma bioquímicamente por medición de la HGH durante varias pruebas estimulantes. Se aceptan niveles de respuesta a pruebas provocativas por abajo de 10 ng/ml como pre-requisito para terapia de reemplazamiento en niños. Esta prueba confirma el diagnóstico de GHD. El diagnóstico es fácil cuando la respuesta pobre de la HGH está acompañada por hipoglucemia y otras deficiencias pituitarias, pero el diagnóstico resulta difícil cuando la respuesta baja de la HGH es aislada. Niños normales a veces tienen respuestas anormales de HGH en pruebas de estímulo, lo cual pasa principalmente durante el periodo de prepubertad ó en pubertad atrasada. El nivel de la HGH plasmática es también anormal en la obesidad. La concentración de la HGH que define la GHD y los valores de la HGH en suero, obtenidos con una sola muestra pueden variar considerablemente dependiendo del ensayo utilizado.
Las pruebas empleadas para valorar la secreción de HGH pueden ser del tipo farmacológico, fisiológico, por determinación de los valores plasmáticos de GRF, por determinación plasmática de somatomedina, por determinación de HGH en orina y finalmente por determinación de IGF-I en saliva y orina (Tabla 2).

Tabla 2. Determinaciones para valoración de la secreción de HGH

Nº	Pruebas
1	Fisiológicas (sueño, ejercicio).
2	Farmacológicas (Hipoglucemia/Insulínica, Clonidina, L-Dopa, Propranolol)
3	Determinación de los niveles plasmáticos de GRF
4	Concentraciones plasmáticas de Somatomedina C
5	Perfil secretorio de HGH de 24 h.
6	Determinación de niveles de la HGH en orina de 24 h.
7	Valoración de las concentraciones de IGF-I en orina
8	Estudio de las concentraciones de IGF-I e IGF-II

1.4 SECRECIÓN Y ACCIÓN DE LA HGH

La secreción de HGH está controlada por interacción de componentes neuronales y mecanismos de retrocontrol. Según el conocimiento reciente, se indica que el Sistema Nervioso Central (SNC) controla la secreción de HGH por medio de los factores hipotalámicos: GHRH (Hormona liberadora de la GH) que es estimulante y SS (Somatostatina), que inhibe la liberación de HGHs, los cuales una vez liberados desde sus somas neuronales correspondientes, alcanzan la eminencia media y son vertidos en el sistema portal hipofisiario desde donde son transportados a la hipófisis (Ceda *et al*, 1987) donde interactúan provocando la secreción de la HGH (Fig. 2).

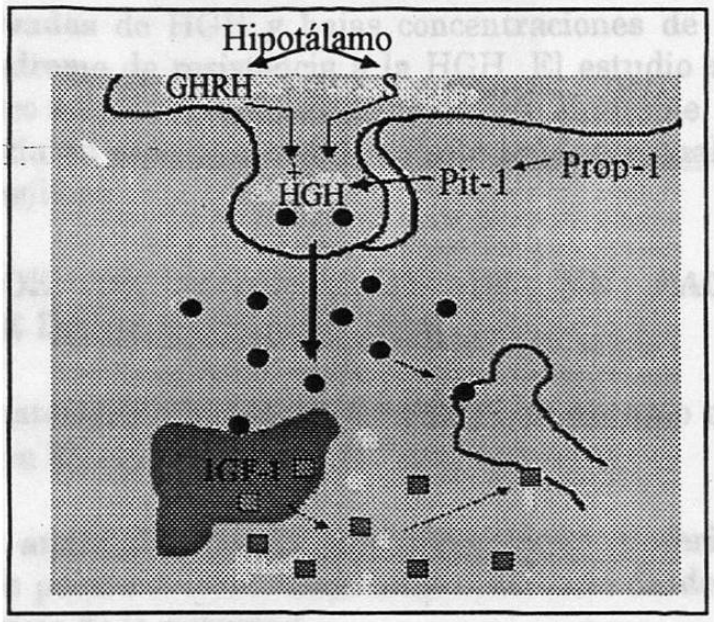

Figura 2. Mecanismo de secreción y acción de la HGH. Cascada de transactivación donde se muestran los genes y hormonas principales que intervienen en la secreción de HGH. Tomado de Ceda, *et al*, 1987.

En conclusión, la secreción de la HGH está controlada por GHRH y SS. Pero en adición a lo anterior, algunas hormonas periféricas modulan la expresión del gen hGH-N, estando entre ellas: las hormonas tiroideas (T3), la hidrocortisona, el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) y la insulina, que actúan de manera directa en la expresión del gen. La hormona T3 y la hidrocortisona estimulan la producción del RNAm del gen hGH-N, en cambio IGF-I y la insulina inhiben al gen.

El déficit de HGH puede resultar de una lesión intracraneal ó aparecer en ausencia de cualquier anomalía anatómica subyacente. Estas categorías del déficit se distinguen con los términos de orgánica e idiopática. Las estadísticas de distribución de las diferentes formas muestran que un 20-25% pertenecen a lesión hipotalámico-hipofisiaria, un 10% son hereditarias y el 70% son de origen idiopático (tabla 3).

Así mismo se debe considerar que puede haber resistencia hormonal por:

1) Sensibilidad anormalmente disminuida, cuando se requieren concentraciones hormonales mayores para obtener una respuesta considerada normal.
2) Disminución de la respuesta, cuando la respuesta máxima está disminuida sin ninguna alteración en la sensibilidad.

Las alteraciones de un síndrome de resistencia hormonal se localizan en tres áreas: pre-receptor, receptor y post-receptor. En 1966 se describió el primer caso de enanismo familiar distinto de los casos de GHD que tenía tasas

plasmáticas elevadas de HGH y bajas concentraciones de somatomedinas, debido a un síndrome de resistencia a la HGH. El estudio de receptores en hígado es el único método de demostración de este síndrome de resistencia a HGH por carencia de receptores GHR en este tejido (la cual probablemente ocurre en otros tejidos).

1.5 CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE UN PACIENTE CON SOSPECHA DE DEFICIENCIA DE HGH.

1.-Talla baja patológica (de más de 2.5-3 DS), en un niño con proporciones normales (Figura 3).

2.-Crecimiento anormal para la edad cronológica (inferior a 7 cm/año durante los tres primeros años e inferior a 4 cm /año desde la edad de tres años hasta el inicio de la pubertad.

3.-Retraso en la maduración esquelética (edad ósea mayor de 2 DS por debajo de la media para la edad cronológica).

4.- Consideraciones clínicas particulares: historia clínica de trauma craneal, tumor del SNC, hipoxemia, hemorragia intracraneal, displasia septo-óptica, antecedentes de radioterapia, hipoglucemia y presencia de micropene.

Se han tenido problemas para la elección del método más adecuado para definir GHD en adultos. Ya que la secreción de HGH disminuye con la senescencia y también está reducida en la obesidad, estos factores deben ser tomados en cuenta en una evaluación de este tipo de desorden. Se han investigado las cualidades diagnósticas de medición, siendo las siguientes pautas:

a) El pico de GH responde a hipoglucemia inducida por insulina (ITT).
b) Niveles de IGF-I en suero.
c) Niveles de proteína 3 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina (IGFBP-3).

Al llevar a cabo esta serie de pruebas en 23 pacientes considerados deficientes de HGH y en 35 sujetos normales de edad similar se ha llegado a la conclusión de que la ITT, es la única prueba capaz de distinguir pacientes con GHD de sujetos normales (Ho KK *et al*, 1994). Por lo anterior se puede decir que la deficiencia de HGH en adultos puede diagnosticarse confiablemente por el ITT. Los tipos de trasmisión genética de la GHD se explicarán en la sección 1.7.

Figura 3. Enanismo hipofisiario. Se muestra una adolescente de 17 años con deficiencia de HGH comparada con una adolescente sana de la misma edad.

1.6 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA HGH.

La HGH tiene la función principal de estimular el crecimiento longitudinal de los huesos y de promover el crecimiento post-natal, el cual se encuentra asociado a una gran variedad de factores fisiológicos, anatómicos y metabólicos. Además, incrementa el uso de la glucosa en músculo y tejido adiposo, aumenta el transporte de aminoácidos y estimula la glucogénesis. Los efectos de esta hormona se ejercen por la acción directa mediada por receptores de membrana e indirectamente sobre los tejidos (Phillips, 1989), estos últimos efectos están mediados por proteínas como las somatomedinas o factores de crecimiento similares a insulina (IGFs). En cuanto a estructura, la HGH consiste de una cadena polipeptídica con un PM aproximado de 22 kDa y una longitud de 191 aminoácidos. Tiene dos puentes disulfuro intracatenarios entre restos de cisteína localizados en las posiciones 53 y 165 y entre la 182 y 189. Recién sintetizada, cuenta con un péptido señal de 26 aminoácidos para dirigir el transporte de la pre-hormona a través de la membrana del retículo endoplásmico hacia la cisterna, donde es secretada al torrente sanguíneo (Paladini, 1982).

Lewis y cols. en 1978 aislaron una variante a partir de la hipófisis, la cual tiene una deleción de los residuos 32 a 46 de la isoforma 22 kDa y PM de 20kDa. Esta variante tiene actividad biológica alterada y se verifica por el hecho de que no tiene los efectos rápidos tipo insulina, por lo que se puede decir que esta propiedad depende de dichos residuos eliminados.

1.6.1 LOCALIZACIÓN DEL GEN hGH-N.

El gen hGH-N, que produce la HGH, forma parte de un grupo de genes emparentados denominado locus hGH-hPL que incluye también genes que codifican para el lactógeno placentario (HPL). Estos genes abarcan un área de aproximadamente 50 kb (Chen *et al.* , 1989), que se localiza entre las bandas q22-24 del brazo largo del cromosoma 17 (George *et al.,* 1981; Harper *et al.,* 1982). Se cuenta con la secuencia de cada uno de sus genes, así como de sus secuencias flanqueantes, dando en total 66.45 kb (Chen *et al.,* 1989).

El locus hGH-hPL está constituido por cinco genes orientados en la misma dirección transcripcional de 5´a 3´, y tienen un alto grado de similitud (92 a 98%) en sus secuencias (Barsh *et al.,* 1983; Hirt *et al,* 1987). Cada uno de dichos genes consta de cinco exones con cuatro intrones intercalados (figura 4). Dos de ellos codifican para HGHs, normal y variante, que se expresan en los somatotrófos de la pituitaria y en las células del sincitiotrofoblasto placentario, respectivamente (Frankenne *et al.,* 1987). Los otros tres genes restantes codifican para HPLs. Todos los genes del locus se originaron por duplicación a partir de un ancestro común (Barsh *et al.* , 1983; Chen *et al.,* 1989), (figura 4).

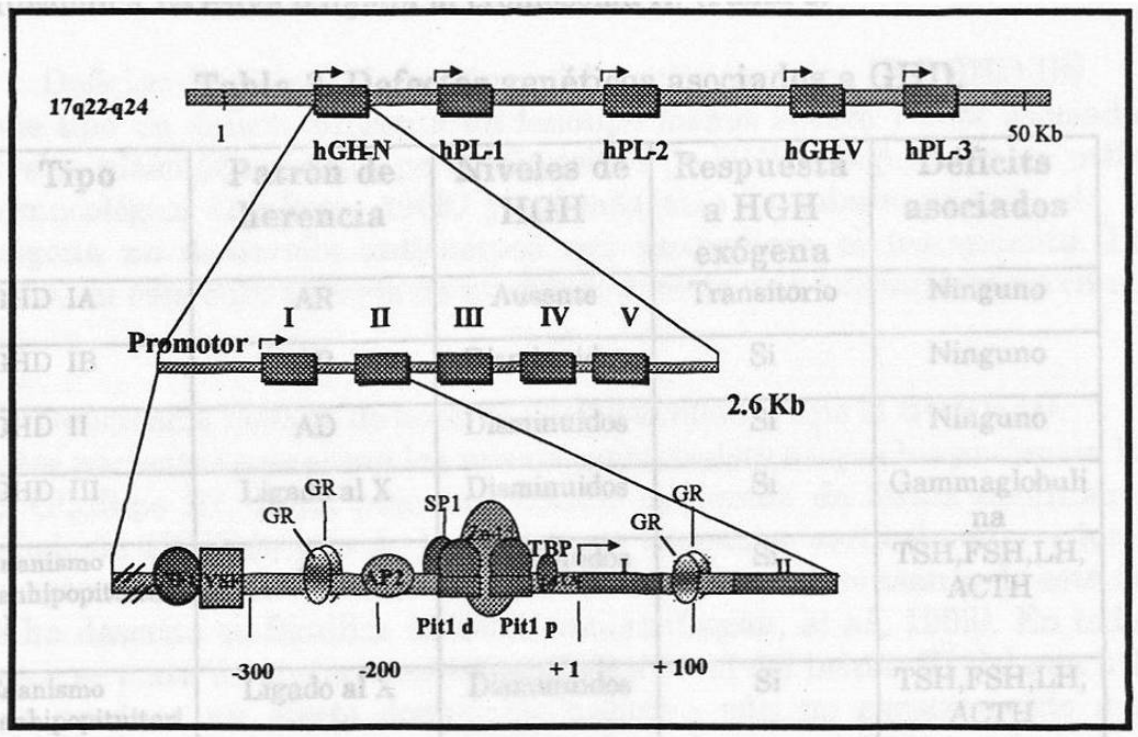

Figura 4. Estructura del gen hGH-N. Este se encuentra en el extremo 5´del locus y su organización es típica de todos los miembros de esta familia, destacándose entre sus peculiaridades su promotor que dicta su expresión en la hipófisis. Tomado de Castrillo *et al,* 1998.

1.7 ALTERACIONES GENÉTICAS DE hGH-N.

En cuanto a los defectos genéticos que producen deficiencia de la HGH se encuentran los siguientes:

a) Alteraciones del gen hGH-N.

b) Alteraciones en loci distantes que causan deficiencias de GH por mecanismos epistáticos (Prop1, Pit1).

c) Alteraciones de genes que controlan la respuesta a la GH (GHR).

En la actualidad se conocen cuatro tipos mendelianos de déficit aislado de la GH. Su clasificación se ha basado en el modo de herencia y en el grado de deficiencia de la GH (Phillips III, 1989). El tipo IA se hereda de modo autosómico recesivo, se caracteriza por la ausencia de GH endógena y reacción inmune a GH exógena, por lo que es difícil de tratar. El tipo IB también se hereda de forma autosómica recesiva, presenta niveles disminuidos de GH endógena y responde al tratamiento con GH exógena. El tipo II se hereda de forma autosómica dominante y cuenta con niveles bajos de GH endógena. Los tipos I y II son debidos a mutaciones en el locus hGH-N. El tipo III ligado al cromosoma X, cursa con niveles disminuidos de GH endógena. El panhipopituitarismo, una alteración que se caracteriza por deficiencia de varias hormonas hipofisiarias, puede tener formas de herencia autosómica recesiva o ligada al cromosoma X. (Tabla 3)

Tabla 3. Defectos genéticos asociados a GHD.

Tipo	Patrón de herencia	Niveles de HGH	Respuesta a HGH exógena	Déficits asociados
IGHD IA	AR	Ausente	Transitorio	Ninguno
IGHD IB	AR	Disminuidos	Si	Ninguno
IGHD II	AD	Disminuidos	Si	Ninguno
IGHD III	Ligado al X	Disminuidos	Si	Gammaglobulina
Enanismo panhipopituitario I	AR	Disminuidos	Si	TSH,FSH,LH, ACTH
Enanismo panhipopituitario II	Ligado al X	Disminuidos	Si	TSH,FSH,LH, ACTH
Enanismo de Laron	AR	Normal ó disminuidos	No	Ninguno
HGH bioinactiva	¿?	Normal	Si	Ninguno

Fuente: Phillips III, 1989.

1.7.1 DEFICIENCIAS AISLADAS FAMILIARES DE HGH.

a) Deficiencia aislada de hormona del crecimiento tipo IA (IGHD IA).
Este tipo de defecto es el más severo. Los niveles circulantes de HGH no se pueden detectar ni en condiciones basales, ni después de un estímulo provocativo (Illig, 1971). Si bien se desconoce su incidencia, se estima que han sido publicados 50 casos, no relacionados entre sí en todo el mundo (Phillips III, 1989; Hjelle, 1981; Goosens, 1986). Además, cuando un paciente recibe HGH exógena, la mayor parte de ellos desarrolla anticuerpos anti-HGH, los cuales bloquean la respuesta del tratamiento (Phillips, 1989). Por otro lado, además de la deleciones, se han descrito otras mutaciones en el gen hGH-N relacionadas con este fenotipo y niveles plasmáticos indetectables de HGH (Phillips III, 1982; Phillips III, 1992; Igarashi, 1993).
En cuanto a las bases moleculares, este defecto se debe a una deleción de ambos alelos del gen hGH-N (Phillips III, 1981). Las pruebas analíticas demuestran un déficit total selectivo de HGH, con normalidad en el resto de las hormonas hipofisiarias. Los pacientes afectados presentan características físicas inconfundibles del enanismo hipofisiario tales como las siguientes:
Cráneo grande, frente abombada, nariz chata, puente nasal hundido, expresión inteligente, rasgos faciales de muñeco, proporciones corporales respetadas y obesidad relativa. En este caso se trata de una ausencia completa de HGH y no de un déficit clásico.

b) Deficiencia aislada de hormona del crecimiento tipo IB (IGHD IB).
Este tipo de defecto presenta un fenotipo menos severo y está asociado con niveles plasmáticos bajos pero detectables de HGH, después de un estímulo farmacológico (Phillips, 1989) y además tras la administración de HGH exógena no desarrolla anticuerpos que neutralicen el tratamiento. Por lo tanto, en este caso se trata de un déficit y no de una ausencia como en el tipo IA.

c) Deficiencia aislada de hormona del crecimiento tipo II (IGHD II).
Estos pacientes presentan las mismas características que los pacientes IGHD IB (Phillips III, 1989) pero este defecto se hereda de forma dominante. El déficit de HGH de uno de los padres se transmite verticalmente a los hijos receptores del alelo afectado. La alteración molecular causante de este déficit se ha descrito en familias no relacionadas (Cogan, *et al.*, 1993). En todos los casos se trata de mutaciones en un alelo a nivel del intrón III del gen hGH-N que produce un efecto dominante negativo aún no caracterizado a nivel molecular, lo que origina una pérdida del exón 3 en el RNA maduro y afecta la actividad de la proteína generada.
Tani y cols. en 1987 describieron cinco casos de IGHD en tres generaciones sucesivas. Los tres pacientes que fueron estudiados no presentaron anormalidad en los genes de HGH en un análisis de Southern blot. La hormona fue detectada en el plasma por radioinmunoanálisis (RIA) pero los

niveles fueron claramente más bajos que en niños normales y no se obtuvo un aumento significativo con la prueba de tolerancia a insulina ó con la prueba triple Arginina-TRH-LHRH. Tampoco tuvieron efecto alguno las inyecciones repetidas del GHRF.
Phillips y Cogan en 1994 se refirieron a la forma autosómica dominante de la deficiencia como IGHD II, ellos indicaron que la severidad clínica variaba considerablemente entre parientes y que los pacientes afectados respondían bien al tratamiento sin desarrollar anticuerpos.

d) Deficiencia aislada de hormona del crecimiento tipo III (IGHD III).
Se han reportado tres familias con este tipo de deficiencia la cual muestra un patrón de herencia ligado al cromosoma X , en la que todos los varones afectados tenían también hipogammablobulinemia (Fleisher, 1980; Conley, 1992) lo que ha sugerido que este desorden se debe a un síndrome de genes continuos. El tratamiento de estos pacientes con GH se asoció con un incremento de los linfocitos B y niveles plasmáticos elevados de inmunoglobulinas (Rappaport, 1993). Actualmente existen evidencias que sugieren la presencia de varios loci en el cromosoma X capaces de intervenir en la regulación de la HGH (Ogata, 1992).

1.7.2 PANHIPOPITUITARISMO

Algunos casos autosómicos recesivos tienen anomalías anatómicas con silla turca pequeña o alargada. Los loci responsables aún no se han establecido, excepto para un subtipo autosómico recesivo que se asocia a déficits de GH, PRL y TSH, con normalidad del resto de la función hipofisiaria (Witt, 1989). Este fenotipo humano es parecido al fenotipo de lo ratones enanos Snell y Jackson, donde el fenotipo es causado por mutaciones en el locus Pit-1, con deficiencias de GH, PRL y TSH.
De este modo, se han podido describir algunas mutaciones en el gen Pit1 relacionadas con panhipopituitarismo en humanos. Sin embargo, muchos de los casos de enanismo panhipopituitario no están ligados a alteraciones del gen Pit-1, por ello ha sido necesaria la evaluación de otros genes entre los que se encuentra el factor transcripcional que activa al gen Pit-1, llamado gen Prophet 1 (Prop-1).

Alteraciones genéticas de los genes: Pit-1 y Prop-1

En la región promotora del gen hGH-N se encuentran los dos sitios de unión para el factor de transcripción específica de HGH, conocido como Pit-1 (Meyes y Habener, 1993) que es parte de una familia de péptidos fijadores a sitios específicos en el DNA. El gen Pit-1 contiene dos dominios (dominio específico POU y homeodominio POU), se localiza en el cromosoma 3p11(Ohta, *et al.* 1992), consta de seis exones y cinco intrones. Este factor participa en la

activación específica de los genes GH, PRL y TSH (Bodner, *et al.* 1988; Ingraham, *et al.* 1988) y se han reportado anomalías en el mismo causantes de patología en el crecimiento humano (Figura 5).
Es necesaria la presencia de Pit-1 para transducir el efecto de GHRH sobre la síntesis de la HGH y su falta de activación ocasiona deficiencia congénita en la síntesis de esta (Struthers, *et al.* 1991). Se ha sugerido que la expresión del gen del receptor de GHRH podría controlarse directa o indirectamente por Pit-1 (Casanueva, 1992).
La expresión de Pit-1 en el somatotropo en una determinada fase embrionaria, activa permanentemente al gen GH específicamente en este tipo celular. Entre otros factores, el AMPc y los glucocorticoides regulan la expresión del gen Pit-1.

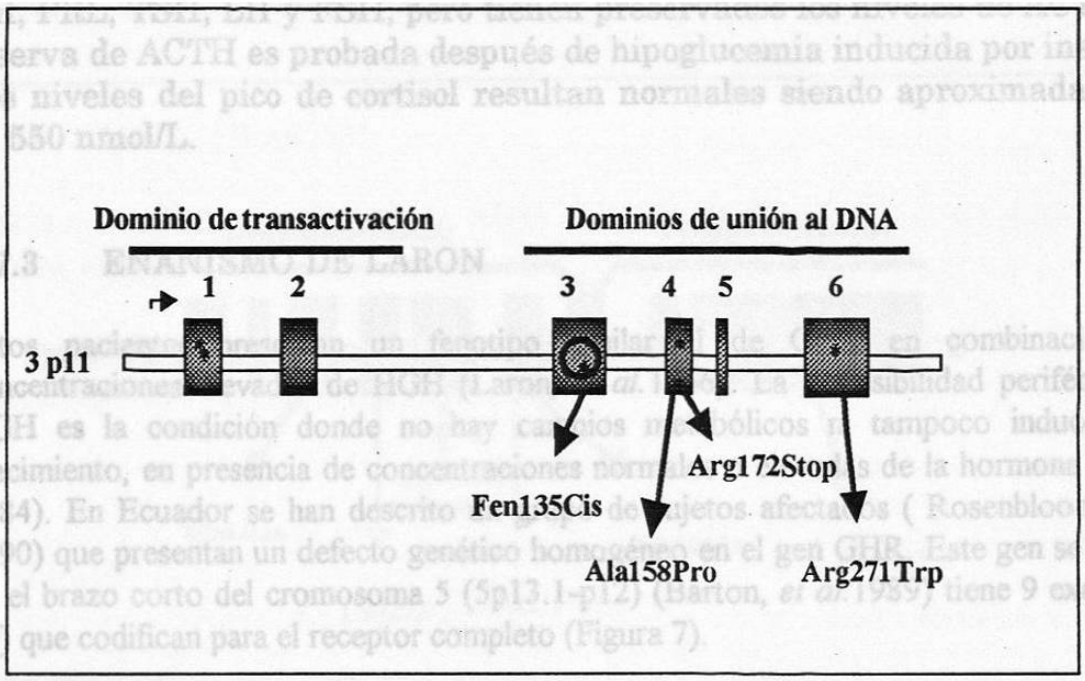

Figura 5. Mutaciones descritas en el gen Pit-1. Se han reportado mutaciones en los exones 1, 3, 4 y 6 del gen Pit-1, siendo la más frecuente la del exón 3, que se trata de una transición de fenilalanina a cisteína en la posición 135 (Fen135Cis). Tomado de Pellegrini *et al*, 1996.

Recientemente se ha identificado un nuevo factor de transcripción, el Prop-1, que tiene un homeodominio pareado. Este factor es específico de la pituitaria y se expresa solo en la etapa embrionaria temprana en ratón, habiendo sido clonado recientemente por Duquesnoy y cols. en *1998*. Con el fin de estudiar su participación en la deficiencia combinada de hormonas de la pituitaria (CPHD), estos autores aislaron el DNAc humano y determinaron la organización intrón/exón y la localización cromosómica de este gen en el humano, demostrando luego por procesamiento *in vitro* su importancia funcional en la producción de somatotropinas, lactotropinas, tirotropinas y gonadotropinas.
Se han buscado defectos genéticos en Prop-1 en pacientes con CPHD que presentan deficiencia múltiple de hormonas (GH, PRL, TSH, LH y FSH) y

En 1999 Deladoey y cols. analizaron 73 pacientes, encontrando que 35 de ellos tenían CPHD causada por un defecto genético de PROP1. Las alteraciones encontradas incluían: mutaciones sin sentido, mutaciones de cambio de marco de lectura y mutaciones de procesamiento. Además de lo anterior encontraron repeticiones en tandem GA, en el gen PROP 1 en la posición 296-302 que representan "hot spot" para CPHD.
Las consecuencias de la anormalidad de Prop-1 incluyen deficiencia de gonadotropina, así como también deficiencias en somatotropinas, lactotropinas y tirotropinas dependientes de Pit-1. La severidad del fenotipo de deficiencia de hormona es compatible con la pérdida completa de actividad de PROP1.
En resumen los pacientes con defectos en Prop-1 tienen niveles alterados de GH, PRL, TSH, LH y FSH, pero tienen preservados los niveles de ACTH. La reserva de ACTH es probada después de hipoglucemia inducida por insulina. Los niveles del pico de cortisol resultan normales siendo aproximadamente de 550 nmol/L.

1.7.3 ENANISMO DE LARON

Estos pacientes presentan un fenotipo similar al de GHD en combinación con concentraciones elevadas de HGH (Laron, *et al.* 1966). La insensibilidad periférica a la HGH es la condición donde no hay cambios metabólicos ni tampoco inducción de crecimiento, en presencia de concentraciones normales o elevadas de la hormona (Laron, 1984). En Ecuador se han descrito un grupo de sujetos afectados (Rosenbloom, *et al.* 1990) que presentan un defecto genético homogéneo en el gen GHR. Este gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 5 (5p13.1-p12) (Barton, *et al.* 1989) tiene 9 exones (2-10) que codifican para el receptor completo (Figura 7).

Alteraciones en el gen GHR (receptor de HGH)

En principio, se debe considerar que hay dos tipos de resistencia hormonal:
a) Por sensibilidad disminuida anormalmente, cuando se requieren concentraciones hormonales mayores para obtener una respuesta considerada normal
b) Por disminución de la respuesta, cuando la respuesta máxima está disminuida sin ninguna alteración en la sensibilidad.
Las alteraciones de un síndrome de resistencia hormonal se localizan en tres áreas: Pre-receptor, receptor y post-receptor. En 1966 se describió el primer caso de enanismo familiar distinto de los casos de GHD que tenía tasas plasmáticas elevadas de HGH y bajas concentraciones de somatomedinas, debido a un síndrome de resistencia a la HGH. Anteriormente el estudio de receptores en hígado era el único método de demostración de este síndrome de resistencia a la hormona por carencia de receptores GHR en este y

probablemente en otros tejidos, ahora también se cuenta con metodologías moleculares como la PCR.

Hasta el momento en el gen del receptor se han reportado deleciones que incluyen a los exones 3, 4, 5 y 6, lo que causa la suspensión del paso de la señal al nivel de la región codificada por el exón 7, con la pérdida de los dominios transmembranal y citoplásmico del receptor. Aunadas a estas alteraciones se han descrito 18 mutaciones puntuales en distintas regiones del gen GHR (Figura 6) que comprometen la estructura de diferentes regiones del receptor (Amselem, *et al*,1989). La mutación puntual más frecuente es la encontrada en el exón 6 (Figura 7) correspondiendo al cambio de una adenina por una guanina en el codon 180 (Berg, *et al*, 1993).

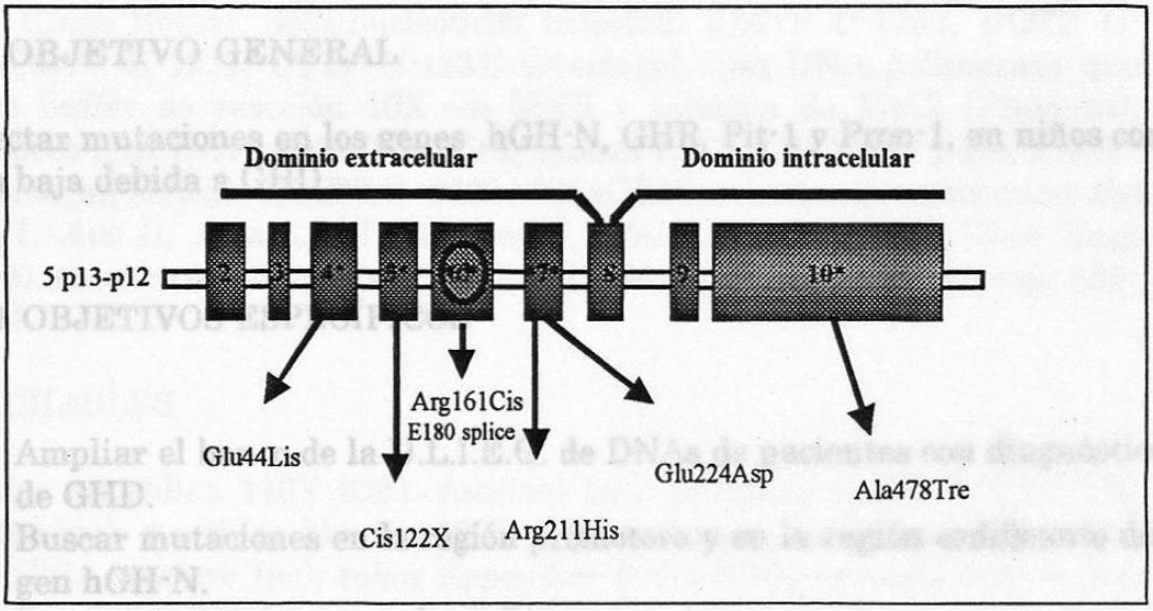

Figura 7. Mutaciones descritas en el gen GHR. En la figura se ilustran las mutaciones puntuales que se han reportado en los exones 4, 5, 6, 7 y 10, siendo las más frecuentes las detectadas en el exón 6. Una de ellas corresponde al cambio de arginina por cisteína en el codón 161, asimismo es importante la mutación E180 splice (empalme), generada por la transición de A por G que conduce a una deleción de 24 nucleótidos del exón 6. Tomado de Goddar *et al*, 1995.

1.8 JUSTIFICACIÓN

La deficiencia de HGH en humanos tanto aislada como asociada a otras anomalías, es hereditaria en el 10% de los casos. Aunque las alteraciones endocrinas constituyen una minoría entre las causas de retraso del crecimiento, resulta muy importante tratar de identificarlas debido a que pueden ser susceptibles a tratamiento. En la actualidad no es posible identificar mediante pruebas bioquímicas convencionales un trastorno hipofisiario específico en individuos con talla baja. Por lo tanto resulta imprescindible aplicar metodologías moleculares que permitan detectar con certeza las alteraciones genéticas que generan defectos en el crecimiento de los individuos con GHD.

1.9 OBJETIVO GENERAL

Detectar mutaciones en los genes hGH-N, GHR, Pit-1 y Prop-1, en niños con talla baja debida a GHD.

1.9.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Ampliar el banco de la U.L.I.E.G. de DNAs de pacientes con diagnóstico de GHD.
b) Buscar mutaciones en la región promotora y en la región codificante del gen hGH-N.
c) Detectar mutaciones en el gen Pit-1.
d) Buscar mutaciones en el gen Prop-1.
e) Rastrear mutaciones en el gen GHR.