

*Suemi Marui
Silvia Leão Corral Souza
Luciani R. S. de Carvalho
Alexander A. de Lima Jorge
Berenice B. de Mendonça
Ivo J. Prado Arnhold*

*Disciplina de Endocrinologia, Faculdade
de Medicina da Universidade de
São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP.*

RESUMO

A integridade do eixo GHRH-GH-IGF-I é fundamental para o crescimento normal de um indivíduo. Mutações nos genes responsáveis por cada uma das etapas deste eixo resultam em baixa estatura grave. Podemos dividir os distúrbios de crescimento em: 1. Deficiência de GH associada a deficiências de outros hormônios hipofisários por alterações em fatores de transcrição envolvidos na organogênese hipofisária (HESX1/RPX, LHX3 e LHX4, PROP-1, PIT-1); 2. Deficiência isolada de GH (receptor do GHRH:GHRHR, GH-1, GH bioinativo); e 3. Insensibilidade ao GH (receptor de GH:GHR, gene da IGF-I e receptor da IGF-I:IGFR). Serão discutidos também os genes implicados na baixa estatura da Síndrome de Turner (SHOX) e Síndrome de Noonan (PTPN11). Atualmente estamos analisando no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular da Disciplina de Endocrinologia da FMUSP - LIM 42 os genes *HESX-1*, *LHX3*, *LHX4*, *PROP-1*, *GHRHR*, *GH-1*, *GHR*, *SHOX* e *PTPN11* em pacientes com baixa estatura e características clínicas e laboratoriais que sugerem o envolvimento destes genes. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/4:444-456)

Descritores: Nanismo; Hormônio de crescimento; Hipófise; Fatores de transcrição; Turner; Noonan

ABSTRACT

The Genetic Bases of Growth Abnormalities.

The integrity of the GHRH-GH-IGF-I axis is important for normal growth. Mutations in genes involved in any of the steps result in short stature. Disorders of this axis can be divided in: 1) GH deficiency combined with deficiencies of other pituitary hormones due to alterations in transcription factors involved in pituitary organogenesis (HESX1/RPX, LHX3 e LHX4, PROP-1, PIT-1); 2. Isolated GH deficiency (GHRH receptor, GH-1, bioinactive GH); and 3. GH insensitivity (GH receptor, IGF-I gene and IGF-I receptor). Genes involved in the short stature of Turner Syndrome (SHOX) and Noonan Syndrome (PTPN11) will be discussed. Presently our laboratory is studying *HESX-1*, *LHX3*, *LHX4*, *PROP-1*, *GHRHR*, *GH-1*, *GHR*, *SHOX* and *PTPN11* genes in patients with short stature with clinical and hormonal features suggesting involvement of these genes. (Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/4:444-456)

Keywords: Dwarfism; Growth hormone; Pituitary; Transcription factors; Turner; Noonan

*Recebido em 01/07/2002
Revisado em 26/07/2002
Aceito em 29/07/2002*

Abreviaturas: GH: hormônio de crescimento; GHBP: proteína carreadora de GH; IGF-I: *insulin-like growth factor 1*; IGFBP-3: proteína carreadora de IGF-I tipo 3; GHRH: hormônio liberador de GH; GHRHR: receptor de GHRH; rhGH: GH recombinante humano; GHR: receptor de GH; IGFR: receptor de IGF-I; kB: quilobase

É SABIDO, ATÉ PELA POPULAÇÃO LEIGA, que a estatura da população em geral apresenta uma alta heritabilidade. Sabe-se que esta herança é poligênica, porém os genes envolvidos ainda não são todos conhecidos. Baseadas em estudos de populações, foram calculadas estimativas de estatura alvo de acordo com a estatura dos pais. O modelo de Tanner indica uma estatura alvo calculada pela média da altura dos pais (AMP) +6,5cm para meninos e AMP -6,5cm para meninas (1). Estudo de 2402 indivíduos por Luo e cols. determinou uma função linear em que a estatura alvo de meninos é igual a $45,99 + 0,78 \times \text{AMP}$ e para as meninas $37,85 + 0,75 \times \text{AMP}$ em cm (2). Ambos os métodos de previsão apresentam um intervalo de confiança amplo de ± 10 cm. Como a estatura final é atingida ao final da puberdade, além dos fatores hereditários, é influenciada por fatores ambientais durante a gestação, infância e puberdade. Como a altura dos pais também está sujeita a estes fatores ambientais, estes métodos de previsão podem não representar perfeitamente a predisposição genética. É possível prever que, com a determinação do genoma de um indivíduo e identificação de todos os genes responsáveis pela estatura, será possível determinar a estatura alvo genética com maior precisão. Embora a totalidade dos genes que contribuem para o crescimento normal ainda não seja conhecida, recentemente, diversas causas de baixa estatura, com padrão de herança mendeliana, foram atribuídas a mutações em genes implicados no crescimento. A determinação correta da etiologia da baixa estatura é fundamental para o melhor entendimento da organogênese hipofisária e dos eventos envolvidos no controle da estatura. O diagnóstico genético também permite o aconselhamento familiar, um prognóstico mais preciso das outras deficiências hormonais e até mesmo a terapêutica mais adequada para o distúrbio do crescimento.

O catálogo *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM, www.ncbi.nlm.nih.gov/omim) contém mais de 400 doenças hereditárias que causam baixa estatura, e é uma ferramenta útil de pesquisa.

Neste capítulo abordaremos os genes responsáveis pelo eixo GHRH-GH-IGF-I, além dos genes SHOX e PTPN11 responsáveis pela síndrome de Turner e Síndrome de Noonan, respectivamente. Os genes responsáveis por outras endocrinopatias que também podem causar baixa estatura, como hipotireoidismo, raquitismo, entre outras, não serão incluídas neste capítulo.

O eixo GHRH-GH-IGF-I inclui: ligantes (GH e IGF-I), fatores de transcrição envolvidos na formação da hipófise (HESX1, LHX3, LHX4, PROP-1,

PIT-1), agonistas (GHRH), antagonistas (somatostatina) e receptores (GHRHR, GHR e IGFR). Qualquer defeito em uma das etapas desta via determina um fenótipo comum: a baixa estatura.

Podemos dividir os distúrbios do eixo GHRH-GH-IGF-I em:

- 1) Deficiência de GH associada a outros hormônios hipotálamo-hipofisários por defeitos em fatores de transcrição envolvidos na organogênese hipofisária;
- 2) Deficiência isolada de GH; e
- 3) Insensibilidade ao GH.

FATORES DE TRANSCRIÇÃO ENVOLVIDOS NA FORMAÇÃO DA HIPÓFISE

Os fatores de transcrição controlam a transcrição de genes-alvo pela ligação do homeodomínio do fator de transcrição com sítios específicos de DNA na região promotora do gene alvo. O homeodomínio dos fatores de transcrição é constituído, em geral, por 60 aminoácidos, que apresentam uma certa homologia entre os diversos fatores. A região do gene que codifica o homeodomínio é denominada *homeobox*. Além do homeodomínio, os fatores de transcrição apresentam características estruturais que permitem classificá-los em subgrupos que apresentam domínios estruturais comuns (*paired-like*, POU, LIM etc.). Apresentam ainda domínios de ativação (ou repressão) transcricional. Após a ligação do homeodomínio ao gene-alvo, o domínio de ativação transcricional recruta co-ativadores ou co-repressores ou interage diretamente com o DNA.

HESX-1/RPX

O *HESX1* (*Homeobox embryonic stem cell*), também denominado *RPX* (*Rathke pouch homeobox*), é um gene pertencente à classe *paired-like homeobox* e está localizado no cromossomo 3p 21.1-21.2 (3). Hermesz e cols. descreveram que *Hesx-1* é o marcador mais precoce do primórdio da hipófise, sugerindo que ele tem um papel no início da determinação ou diferenciação da hipófise (4). O camundongo transgênico com nocaute deste gene evidenciou um fenótipo semelhante à síndrome da displasia do septo óptico (DSO) no homem. A DSO é caracterizada pela presença de dois dos seguintes critérios: hipoplasia do nervo óptico; alterações radiológicas de linha média (como ausência do septo pelúcido, agenesia de corpo caloso etc.) e hipoplasia hipofisária. Poucos pacientes com DSO apresentam mutações em homozigose ou em heterozigose no gene

HESX1 (5-7). Até o momento foram descritas 4 diferentes mutações do gene *HESX1*. O quadro clínico e radiológico é bastante heterogêneo comparando as diferentes mutações, e também entre portadores da mesma mutação (tabela 1). Em comum, todos os pacientes portadores de mutação no gene *HESX1* apresentam deficiência de GH, isolada ou associada à deficiência de outros hormônios hipofisários. Vale ressaltar que alguns dos pacientes com mutação no *HESX1* também apresentaram a neurohipófise ectópica, localizada na eminência média ou na haste hipofisária.

O modo de herança é autossômico recessivo na mutação homocigótica. Os pacientes com formas heterocigóticas apresentavam pais normais com a mesma mutação, indicando uma herança autossômica dominante com penetrância incompleta.

Recentemente, identificamos uma nova mutação homocigótica envolvendo um aminoácido pertencente ao domínio repressor do *HESX1* em uma paciente com pan-hipopituitarismo, neurohipófise ectópica, sem alterações de vias ópticas ou do cérebro anterior.

LHX3

O *LHX3* (ou Lim3, P-lim) pertence aos fatores de transcrição da classe homeodomínio LIM envolvidos na organogênese de diversos órgãos, principalmente tecidos neurais. A denominação LIM origina-se das três iniciais das proteínas homeodomínio que apresentam este domínio em comum: LIN-11, ISLET-1 e MEC-3 (8). O gene *LHX3* humano está localizado no cromossomo 9q 34.3 (9,10). Netchine e cols. descreveram uma nova síndrome associada a mutações em homocigose ou heterocigose composta no gene

LHX3 em humanos (11). Os pacientes apresentam deficiência completa de todos os hormônios hipofisários, exceto de ACTH, associada a rigidez da coluna cervical, com ombros elevados, limitando a rotação da cabeça a 75-80°. Dois destes pacientes apresentavam hipoplasia hipofisária severa, enquanto que um paciente apresentou inicialmente aumento da hipófise, evoluindo posteriormente para hipoplasia. Assim o *LHX3* é essencial para a diferenciação e proliferação das linhagens celulares da adenohipófise, sendo que mutações neste gene causam desde aumento hipofisário até hipoplasia hipofisária severa e consequentemente pan-hipopituitarismo em humanos. O modo de herança é autossômico recessivo.

LHX4

O *LHX4* (ou Gsh4) também pertence aos fatores de transcrição da classe homeodomínio LIM. O gene *LHX4* humano está localizado no cromossomo 1q25 (12). Recentemente, Machinis e cols. relataram uma família com uma mutação em heterocigose em um sítio de *splicing* do gene *LHX4* (12). Todos os pacientes apresentam baixa estatura por hipopituitarismo (deficiência de GH, PRL, TSH e ACTH), associada a hipoplasia hipofisária e defeitos cerebrais (malformação de Chiari). A neurohipófise estava em posição ectópica ou normal. Portanto, o *LHX4* também participa na regulação, proliferação e diferenciação das linhagens celulares da hipófise. Interessantemente, os pacientes com esta mutação no *LHX4* não apresentavam deficiência de gonadotrofinas, eram férteis e transmitiram a condição aos descendentes. O modo de herança é autossômico dominante.

Tabela 1. Quadro clínico e radiológico dos pacientes com mutações no *HESX1*.

Mutação	Deficiência hipofisária	Nervo óptico	Corpo caloso	Localização da Neurohipófise	Associação	Referência
R160C HMZ	Pan-hipo	↓	Agenesia	Haste	Consangüinidade +	(5)
	Pan-hipo	↓	↓	Eminência média	Consangüinidade +	
S170L HTZ	GH	↓	NL	NR	Dismorfismo	(7)
	GH ??	NL	NL	NR	Irmão afetado	
	GH	NL	NL	Eminência média	Haste hipofisária afilada	
T181A HTZ	GH	NL	NL	Não visualizada	Hipófise hipoplásica	(7)
Q6L HTZ	Pan-hipo	NL	NL	Ectópica	NR	(7)

HMZ: homocigoto; HTZ: heterocigoto; ↓: diminuído; NL: normal; NR: não relatado; ?: duvidoso.

PROP-1

O *PROP-1* (*Prophet of Pit-1*) é um fator de transcrição do tipo homeodomínio *paired-like*, que é expresso especificamente nas células embrionárias da hipófise (13). A designação de *Prophet of Pit-1* indica um gene cujo produto normalmente precede o PIT-1 e é necessário para a expressão do gene *PIT-1* (13). O gene *PROP-1* está envolvido na ontogênese, diferenciação e função dos somatotrófos, lactotrófos, e tireotrófos, e provavelmente dos gonadotrófos (13). A primeira mutação identificada foi no camundongo Ames, um modelo animal de pan-hipopituitarismo (13). O gene *PROP-1* humano está localizado no cromossomo 5q35. O *PROP-1* se liga como um dímero aos elementos promotores de outras proteínas *paired-like* incluindo HESX-1 e ao PIT-1. Onze diferentes mutações, todas localizadas dentro do homeodomínio do gene *PROP-1*, foram identificadas em pacientes com pan-hipopituitarismo, todos com herança autossômica recessiva (14-18). Mutações no gene *PROP-1* é a causa genética mais freqüente de pan-hipopituitarismo (19). A alteração encontrada mais freqüente é a deleção em uma repetição AG: 301-302delAG. Esta mutação leva à formação de uma proteína truncada no códon 109 (17,20). A proteína mutante perde as propriedades de ligação ao DNA e também a capacidade de ativação da transcrição. Cogan e cols. demonstraram que famílias afetadas com a mutação 301-302delAG, provenientes de diversos países, não eram relacionadas, afastando a possibilidade de um efeito fundador (21). A ocorrência freqüente desta mutação sugere que a repetição AG no exon 2 (GAGAGAG) predispõe a um alinhamento incorreto durante a replicação cromossômica. A deleção 301-302delAG introduz um novo sítio para a enzima de restrição *Bcg* I, permitindo o rastreamento de pacientes com pan-hipopituitarismo para a presença desta deleção pela digestão com esta enzima. Três outras deleções também resultam em proteína truncada: 149-150delGA (16,22) e 150delA (23) e 112-124del (24) assim como uma nova mutação do tipo *nonsense* R99X (25). As proteínas mutantes perderiam os domínios funcionais de ligação ao DNA e ativação da transcrição. Também foram relatadas mutações do tipo *missense*, R73C (16,26), R73H (25), F88S (27), F117I (16,20) e R120C (16,20,23), que levam à perda parcial ou completa da função. Existe também uma mutação recorrente no sítio acceptor de *splicing* (processamento) no intron 2 c.343-2 A>T (16,26,27). É notável a variabilidade no fenótipo dos pacientes com mutações no gene *PROP-1*, incluindo o início do aparecimento das deficiências hormonais (16,23), tamanho hipofisário (14,20,23,26) e secreção de corti-

sol (14,28). A maioria dos pacientes com mutações no gene *PROP-1* apresenta deficiências hormonais de GH, PRL e TSH, LH e FSH (20), mas também podem apresentar ao longo dos anos insuficiência adrenal (14,28). A variabilidade do fenótipo pode ser explicada, em parte, pela perda parcial ou total da capacidade de ligação ao DNA e/ou da atividade da transcrição (20). A maioria dos pacientes com pan-hipopituitarismo por alterações moleculares no gene *PROP-1* apresenta parênquima hipofisário diminuído à ressonância nuclear magnética (16,20,23,26,28), porém alguns pacientes podem ter um período de aumento hipofisário seguido por uma hipoplasia severa (14).

A identificação de mutações no gene *PROPI* em diversos pacientes com pan-hipopituitarismo demonstrou ser este gene o mais freqüentemente envolvido no hipopituitarismo de causa genética até o momento.

PIT-1

O *PIT-1*, também conhecido por *GHF1* (*GH factor 1*) tem sido oficialmente denominado de *POU1F1* (*POU domain class 1, transcription factor 1*). *PIT-1* está localizado no cromossomo 3p11 e pertence à família POU dos genes homeobox. POU é um acrônimo para Pit, Oct1, e Unc. O PIT-1 contém 2 domínios protéicos, POU-específico e POU-homeo, ambos necessários para a ligação ao DNA de genes que codificam o GH e PRL. O *PIT-1* é também importante para a regulação dos genes que codificam a PRL e a subunidade β do TSH. A proteína PIT-1 geralmente necessita se ligar como um dímero para ativar a transcrição. Os camundongos Snell e Jackson, modelos animais de pan-hipopituitarismo, apresentam alterações no *Pit-1* (29). Pacientes com pan-hipopituitarismo por mutação no *PIT-1* foram descritos por diversos grupos em 1992 (30-33). Várias mutações no *PIT-1* têm sido reconhecidas em casos esporádicos e em famílias afetadas com pan-hipopituitarismo (30-44). A herança pode ser autossômica recessiva, causada por mutações em homozigose ou heterozigose composta, que produzem vários graus de perda de ligação ao DNA ou perda da ativação da transcrição (31,32,34-36,40,45). A herança também pode ser autossômica dominante, causada por mutações em heterozigose, porque a proteína mutante tem uma afinidade aumentada pelos sítios promotores de GH e PRL, causando um efeito dominante negativo sobre a proteína normal (33,38,41,46,47). A mutação R271W em heterozigose é de longe a mais freqüente e ocorre em um dinucleotídeo CpG, provável motivo da freqüente recorrência.

Aproximadamente metade dos pacientes afetados é diagnosticada por baixa estatura, porém, a outra metade apresenta um quadro grave de hipotireoidismo congênito, o cretinismo. Estes pacientes são uma exceção, pois o hipotireoidismo secundário não é acompanhado de hipotireoidismo grave. Todos os pacientes com mutação no *PIT-1* apresentam deficiência de GH, PRL e TSH com a hipófise de tamanho normal ou reduzido (19,32).

Um resumo das deficiências hormonais associadas a alterações na região hipofisária-hipotalâmica em cada um dos genes que levam ao hipopituitarismo está na tabela 2.

DEFICIÊNCIA ISOLADA DE HORMÔNIO DE CRESCIMENTO

A deficiência isolada de GH hereditária foi classificada de acordo com o modo de herança mendeliana em tipo I (autossômica recessiva), tipo II (autossômica dominante) e tipo III (ligada ao cromossomo X) (48-50) (tabela 3).

GHRHR (Receptor do hormônio liberador de GH)

O gene do receptor de GHRH (*GHRHR*) humano está localizado no cromossomo 7p14 e faz parte da grande família dos receptores acoplados à proteína G. Em 1993, Lin e cols. identificaram uma mutação no gene *Ghrhr* em um modelo animal com nanismo, o camundongo *little* (51). Este camundongo apresenta deficiência isolada de GH associada a hipoplasia da adenohipófise com modo de herança autossômico recessivo (52). Em 1996, Wajnrajch e cols. (53) descreveram a primeira mutação no *GHRHR* humano (E72X) em uma família consanguínea com deficiência isolada de GH proveniente da Índia. Esta mutação também está presente em outros pacientes com defi-

ciência isolada de GH provenientes da mesma região, indicando um gene fundador comum (54,55). Salvatori e cols. (56) identificaram uma mutação no sítio de *splicing* do *GHRHR* em homozigose em vários membros de uma comunidade brasileira altamente consanguínea da região de Carretéis no município de Itabaianinha (Sergipe). Desde então, várias mutações estão sendo descritas associadas à deficiência isolada de GH em casos familiares (57-61), com prevalência de até 10% (59). A herança da doença é sempre autossômica recessiva e os pacientes portadores de mutações apresentam hipófise de tamanho normal ou reduzido (59,60,62).

Atualmente, mutações no gene *GHRHR* são a causa mais freqüente de deficiência de GH tipo I.

GH-1

O gene *GH-1* faz parte de um conjunto de cinco genes relacionados: *GH-1*, *CSHP-1* (*chorionic somatomammotropin pseudogene*), *CSH-1* (*chorionic somatomammotropin*), *GH-2* e *CHS-2* localizados no cromossomo 17q 23 em humanos. Estes genes são separados por regiões intergênicas de 6 a 13kb e apresentam semelhança na estrutura (63). A partir deste gene ocorre a síntese do GH, um único polipeptídeo de 191 aminoácidos, pelas células acidófilas da hipófise anterior.

As principais características da deficiência isolada de GH causada por mutações no gene *GH-1* estão na tabela 3.

A deficiência isolada de GH tipo IA é causada por deleções, micro-deleções ou mutações do tipo *nonsense* no *GH-1* e é transmitida de maneira autossômica recessiva. Os pacientes com a deficiência de GH IA freqüentemente apresentam uma resposta transitória ao tratamento com hormônio de crescimento, seguida do desenvolvimento de altos níveis de anticorpos anti-GH, que impedem o crescimento. Acredita-se que a falta completa de GH durante o período de instalação da tolerância imunológica no

Tabela 2. Características dos diversos genes candidatos relacionados ao hipopituitarismo.

Deficiência Hormonal	RNM da hipófise	Posição da Neurohipófise	Malformações associadas	Gene Candidato
GHou GH+TSH+LH/FSH+ACTH	NL ou ↓	Tópica ou ectópica	Displasia do septo óptico	<i>HESX-1</i>
GH+TSH+PRL	NL ou ↓	Tópica	ND	<i>PIT-1</i>
GH+TSH+PRL+LH/FSH com ou sem ACTH	↑ NL ou ↓	Tópica	ND	<i>PROP-1</i>
GH+TSH+PRL+ LH/FSH	↑ ou ↓	Tópica	Ombros elevados e antevertidos	<i>LHX3</i>
GH+TSH+PRL+ ACTH	NL ou ↓	Tópica ou ectópica	Malformação de Chiari	<i>LHX4</i>

RNM: ressonância nuclear magnética; ↑: aumentada; ↓: diminuída; ND: não determinada.

Tabela 3. Modo de herança da deficiência isolada de GH familiar.

DEFICIÊNCIA ISOLADA DE GH FAMILIAL	
Gene	Herança
<i>GHRHR</i>	Autossômica recessiva
<i>GH-1</i>	
IA	Autossômica recessiva
IB	Autossômica recessiva
II	Autossômica dominante
III	Ligada ao X
GH bioinativo	Não determinada
<i>GHR</i> (Síndrome de Laron)	Autossômica recessiva ou dominante
<i>IGF-1</i>	Autossômica recessiva
<i>IGF-1R</i>	Alteração no cromossomo 15

Tabela 4. Características da deficiência isolada de GH causada por mutações no *GH-1*.

Tipo	IA	IB	II	III
Herança	AR	AR	AD	Ligada ao X
Nível de GH	Ausente	↓	↓	↓
Resposta a rhGH	Apenas inicial	Boa	Boa	Boa
Ac anti-GH	Sim	Não	Não	ND
Associação	-	-	-	Agamaglobulinemia
Mutação mais freqüente	Deleção 6,7kb	Missense	Região de <i>splicing</i> (perda do exon 3)	Região de <i>splicing</i>

AR: autossômica recessiva; AD: autossômica dominante; ↓: diminuído; Ac: anticorpos; ND: não determinado.

feto explique o reconhecimento do GH exógeno como uma proteína estranha, desencadeando a reação imunológica (64). A alteração mais freqüentemente observada é a deleção de 6,7kb, que é facilmente rastreada através de digestão enzimática com a enzima *Sma I* (64,65).

A deficiência isolada de GH tipo IB é também transmitida de maneira autossômica recessiva e é a mais freqüente (50,66). Pode ser causada por mutações menos graves do *GH-1*, porém muitas famílias não tiveram o diagnóstico genético definido ou apresentaram mutação no *GHRHR* (59).

A deficiência isolada de GH tipo II difere do tipo I por ter um modo de herança autossômico dominante. Isso ocorre por causa do efeito dominante-negativo das mutações do *GH-1*. A maioria ocorre por mutações nas regiões de *splicing* que levam à perda do exon 3 do *GH-1* (67,68).

A deficiência isolada de GH tipo III tem modo de herança ligada ao X. Em algumas famílias, todos os casos apresentam agamaglobulinemia associada à deficiência de GH. Isso sugere que seja uma doença por defeito de gene contíguo no braço longo do cromossomo X (Xq21.3-q22) (69).

Recentemente, Moseley e cols. descreveram uma mutação exônica, situada em uma região de aumento do processamento de um sítio de *splicing* (*exonic splice enhancer*) (70). Esta região, normalmente, contribui para a utilização de um sítio de *splicing* próximo, porém mais fraco. A mutação

nesta região levou à utilização de um outro sítio de *splicing*, resultando em perda de um exon e tradução de uma molécula de GH incompleta. É possível que também em outros genes, mutações tidas como *missense* têm seu efeito deletério, não por codificar um aminoácido distinto, mas por causar um defeito de *splicing* e, conseqüentemente, um defeito mais grave na proteína.

GH BIOINATIVO

Em 1978, Kowarski e cols. descreveram duas crianças com fenótipo semelhante aos de crianças com deficiência de GH (baixa estatura severa e níveis baixos de IGF-I), mas que apresentavam secreção elevada de GH, e sugeriram que estas crianças possuíam uma molécula de GH biologicamente inativa (71). Mutações em heterozigose no gene *GH-1* que causam a produção de uma molécula anômala de GH com estas características foram descritas em apenas dois casos na literatura (72,73). Esta molécula de GH anômala possui uma afinidade aumentada pela sua proteína carreadora (GHBP) e inibe a ligação da molécula de GH normal ao receptor ou ainda dificulta a dimerização do receptor. Mais recentemente outros autores avaliaram 200 crianças com baixa estatura (altura < -2,5 DP, secreção estimulada e ritmo de GH normal, IGF-I reduzido e ótima resposta ao tratamento com hGH) e identificaram apenas 3 possíveis portadoras de GH bioinativo (1,5%). O estudo do

gene *GH-1* não identificou mutações na região codificadora, mas ensaios de bioatividade demonstraram uma menor atividade do GH circulante destas crianças, sugerindo a presença de outros mecanismos que possam causar este fenômeno (74). Embora o encontro de níveis baixos de IGF-I e normais de GH em pacientes com baixa estatura seja freqüente, a demonstração inequívoca de um GH bioinativo tem sido extremamente rara.

INSENSIBILIDADE AO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO

GHR (Receptor de GH)

A ação do GH se faz pela ligação com dois receptores de GH que então sofrem dimerização e subseqüentemente levam à ativação de uma proteína que se encontra associada ao receptor, chamada Janus quinase (JAK2). A ativação da JAK2 desencadeia a ativação de diversas proteínas intracelulares que medeiam as ações metabólicas e proliferativas do GH (75).

A síndrome de Laron ou síndrome da insensibilidade completa ao GH caracteriza-se pela presença do fenótipo de deficiência grave de GH, mas com a presença de níveis normais ou elevados de GH e ausência de resposta de crescimento durante tratamento com rhGH (76).

O gene do receptor de GH (*GHR*) está localizado no cromossomo 5 p13.1-12 e pertence à família dos receptores das citocinas/hematopoetinas (77,78). Estudos do *GHR* em pacientes com síndrome de Laron têm identificado uma variedade de mutações, principalmente no domínio extracelular, causando diminuição da capacidade de ligação do hormônio ao receptor (79,80). Mutações no domínio intracelular, que impedem a fixação do receptor à membrana celular (81), ou que impedem a ativação da cascata de sinalização intracelular (82), também foram identificadas em pacientes com síndrome de Laron. As mutações encontradas são na maioria em homozigose ou heterozigose composta. Não é claro se os indivíduos heterozigotos podem apresentar o fenótipo de insensibilidade ao GH (83). Porém, a descoberta de herança autossômica dominante da síndrome de Laron e os estudos em animais nocaute para o *GHR* demonstrando o efeito negativo da haploinsuficiência deste receptor sobre o crescimento (84), mantém em aberto a discussão sobre o efeito das mutações em heterozigose do *GHR*.

Goddard e cols. descreveram pela primeira vez a presença de mutações no gene *GHR* em crianças com baixa estatura idiopática que apresentavam níveis

baixos de IGF-I e de sua proteína carreadora (GHBP) (85). Outras publicações se seguiram e atualmente há 8 mutações descritas como responsáveis pela insensibilidade parcial ao GH com uma freqüência entre 3 a 5% em crianças com baixa estatura idiopática (82,85-88). Em nosso grupo encontramos 2 mutações em heterozigose em 47 crianças (4,2%) com baixa estatura idiopática selecionadas por apresentarem níveis de IGF-I e/ou IGFBP-3 ≤ -1 DP para idade e sexo (89).

IGF-I (Gene IGF-I)

Woods e cols. descreveram um paciente com intensa deficiência no crescimento pré e pós-natal, surdez sensorial e retardo mental (90). Os valores de GH e IGFBP-3 eram normais com níveis de IGF-I indetectáveis. O paciente apresenta uma deleção de 2 exons do gene *IGF-I*, resultando em uma proteína truncada, caracterizando a insensibilidade ao GH, também chamada síndrome de Laron tipo II (pós-receptor). Este achado torna evidente a participação da IGF-I não só no crescimento pós-natal, mas também no crescimento intrauterino, e possivelmente, no desenvolvimento neurológico.

A pesquisa de alterações no gene *IGF-I* em diversos pacientes com retardo de crescimento intra-uterino não identificou novas alterações neste gene. Com apenas um caso descrito até o momento, esta causa de baixa estatura provavelmente é extremamente rara.

IGF-IR (Receptor de IGF-I)

Pacientes com deleções da região cromossômica 15 q25-q26, onde está localizado o gene do receptor de IGF-I (*IGF-IR*) (91), apresentam também insensibilidade ao GH pós-receptor (Síndrome de Laron tipo II). Os pacientes apresentam retardo de crescimento intrauterino, micrognatia, alterações renais, hipoplasia pulmonar e deficiência de crescimento sem boa resposta ao uso de rhGH (92).

As principais características dos pacientes com insensibilidade ao GH e com GH bioinativo estão na tabela 5.

CROMOSSOMOS SEXUAIS: O GENE SHOX

Um papel de genes localizados nos cromossomos sexuais no controle do crescimento foi sugerido por Jacobs e cols. em 1961 (93). Estes autores basearam sua hipótese em dados de um grupo de pacientes com amenorréia primária e baixa estatura; nessas pacientes, o cariótipo mostrava deleção, pelo menos, do braço curto do cromossomo X.

Tabela 5. Características dos pacientes com insensibilidade ao GH e GH bioativo.

	Síndrome de Laron tipo I	Síndrome de Laron tipo II (pós-receptor)	GH Bioativo
Herança	AR	AR	ND
Nível de GH	NL ou ↑	NL ou ↑	NL ou ↑
Nível de IGF-I	↓	↓	↓
Resposta a rhGH	Ruim	Ruim	Boa
Geração de IGF-I com rhGH	Não gera	ND	Gera
Alteração genética	GHR	Pós-Receptor	ND
Mecanismo	Mutações no <i>GHR</i>	Deleção do <i>IGF-I</i> ou <i>IGF-IR</i>	Moléculas de tamanhos diferentes
Associação	acrohipoplasia	Surdez, retardo mental	-

AR: autossômica recessiva; ND: não determinada; NL: normal; ↑: aumentado; ↓: diminuído.

As alterações fenotípicas associadas ao cariótipo 45,X na síndrome de Turner, sendo a baixa estatura uma das mais frequentes, seriam atribuídas à monozigose dos genes no cromossomo X que não sofreriam inativação e que seriam comuns aos cromossomos X e Y (94,95). Essa região homóloga no braço curto dos cromossomos sexuais foi chamada de região pseudoautossômica 1 (PAR1): banda Xp22.3 e banda Yp11.32 (96).

Rao e cols. identificaram o gene *SHOX* (*Short stature HOmeoboX - containing gene*), que faz parte da família *homeobox* (97), e origina dois diferentes transcritos por *splicing* alternativo, o *SHOXa* e *SHOXb*. Deleção e mutações *nonsense* e *missense* do gene *SHOX* foram encontradas (97-100) em pacientes com baixa estatura idiopática (velocidade de crescimento no terceiro percentil ou -2 desvios-padrão (DP) da média da população normal). A altura final desses pacientes mostrou que a haplo-insuficiência do *SHOX* reduz a estatura final em 10 a 12cm (101). Alterações do gene *SHOX* foram encontradas em 2,4% dos pacientes com baixa estatura idiopática, sem deformidades ósseas detectadas clínica ou radiologicamente (97,98,102-106).

Além disso, o *SHOX* foi definido como o gene relacionado à discondrosteose de Leri-Weill (107, 108) e pode estar alterado em pacientes com baixa estatura e algumas características fenotípicas da discondrosteose, com um quadro muito leve, muitas vezes notado apenas radiologicamente (99,101-103,105).

Acredita-se que a haplo-insuficiência do *SHOX* esteja relacionada à baixa estatura da síndrome de Turner, assim como a algumas de suas características fenotípicas (102,104,109,110).

Em conclusão, o gene *SHOX* está relacionado a uma situação peculiar, na qual mutações afetando um único gene envolvido no desenvolvimento podem levar a múltiplos fenótipos (110).

SÍNDROME DE NOONAN E O GENE *PTPN11*

A síndrome de Noonan é uma síndrome bem conhecida de anormalidades congênitas múltiplas, caracterizada por alterações faciais típicas, baixa estatura, defeitos cardíacos congênitos (mais frequentemente estenose de valva pulmonar ou cardiomiopatia hipertrófica), deformidade torácica e criptorquidia em homens (111-118). Foi definida como uma entidade clínica distinta da síndrome de Turner em 1963 e pode ocorrer como uma doença esporádica ou em um padrão consistente com herança autossômica dominante (119).

O diagnóstico da síndrome de Noonan ainda é baseado apenas nas características clínicas; estabelecer o diagnóstico pode ser muito difícil, especialmente em idades mais avançadas, quando o fenótipo é menos típico. O diagnóstico clínico é baseado em um sistema de pontuação, com critérios maiores e menores, proposto por van der Burgt em 1994 (119) (tabela 6).

A incidência estimada é de 1/1000 a 1/2500 nascidos vivos (116-119). A prevalência elevada da síndrome não sugere um rearranjo cromossômico ainda não detectado, deve-se considerar a heterogeneidade genética (120). Vários genes autossômicos dominantes diferentes poderiam ser responsáveis, assim como não podem ser excluídos genes dominantes ligados ao X. Também deve-se considerar a dificuldade de determinar se algumas das manifestações são parte da síndrome de Noonan ou resultam da inclusão de entidades etiologicamente distintas na categoria de síndrome de Noonan (121). Algumas das características clínicas são muito semelhantes às da síndrome de Turner, embora a função gonadal esteja geralmente preservada na síndrome de Noonan.

Em 2001, Tartaglia e cols. estudaram um gene localizado na região 12q 24.1, chamado *PTPN11* (122). A proteína codificada por esse gene, SHP-2, é

Tabela 6. Critérios diagnósticos para a síndrome de Noonan (119).

Parâmetro	Sinais Maiores (A)	Sinais Menores (B)
1. Face	Típica: fronte ampla; hipertelorismo; ptose; fissura palpebral direcionada para baixo; micrognatia; orelhas de implantação baixa, anguladas posteriormente com hélice grossa; pescoço largo e curto.	Sugestiva: alterações faciais sutis da síndrome de Noonan.
2. Coração	Estenose da valva pulmonar e/ou ECG típico (alargamento do complexo QRS, desvio do eixo para a esquerda, ondas Q gigantes e um padrão negativo nas derivações precordiais esquerdas).	Outros defeitos
3. Altura	< 3º Percentil	< 10º Percentil
4. Parede torácica	Pectus carinatus/ excavatum	Tórax em escudo
5. História familiar	Parente em 1º grau com síndrome de Noonan típica	Parente em 1º grau sugestivo de síndrome de Noonan
6. Outros	Associação de retardo mental, displasia linfática e criptorquidia (sexo masculino).	Presença de, pelo menos, um destes sinais: retardo mental, displasia linfática ou criptorquidia.

Diagnóstico definitivo da síndrome de Noonan: 1A + (um de 2A-6A ou dois de 2B-6B); ou 1B + (dois de 2A-6A ou três de 2B-6B).

essencial em várias vias de transdução do sinal intracelular, incluindo as das cascatas de sinalização de fatores de crescimento, citoquinas e hormônios. A proteína SHP-2 tem um papel na modulação da proliferação, diferenciação e migração celular. Em 22 indivíduos (casos esporádicos e familiares) com a síndrome de Noonan, foram encontradas mutações no gene *PTPN11* em 50% (7 casos esporádicos) (122). Portanto, nem todos os casos de síndrome de Noonan estão associados a mutações no gene *PTPN11*. Acredita-se que haja heterogeneidade genética. Além disso, também há grande variabilidade fenotípica da doença, sugerindo a presença de síndromes clínicas distintas, de diferentes etiologias, enquadradas sob o mesmo diagnóstico (120).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às Dras. Vivian Estefan, Maria Geralda Farah Osorio e Suely B. Oliveira pela dedicação no seguimento ambulatorial dos pacientes e à FAPESP pelo apoio financeiro (97/ 12611-0, 98/ 15267-0, 99/08655-7, 99/10692-8 e 00/14092-4).

REFERÊNCIAS

1. Tanner JM, Goldstein H, Whitehouse RH. Standards for children's height at ages 2-9 years allowing for heights of parents. **Arch Dis Child** 1970;45:755-62.
2. Luo ZC, Albertsson-Wikland K, Karlberg J. Target height as predicted by parental heights in a population-based study. **Pediatr Res** 1998;44:563-71.

3. Watkins-Chow DE, Camper SA. How many homeobox genes does it take to make a pituitary gland? **Trends Genet** 1998;14:284-90.
4. Hermesz E, Mackem S, Mahon KA. Rpx: a novel anterior-restricted homeobox gene progressively activated in the prechordal plate, anterior neural plate and Rathke's pouch of the mouse embryo. **Development** 1996;122:41-52.
5. Dattani MT, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Martensson IL, et al. Mutations in the homeobox gene HESX1/Hesx1 associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. **Nat Genet** 1998;19:125-33.
6. Dattani ML, Martinez-Barbera J, Thomas PQ, Brickman JM, Gupta R, Wales JK, et al. Molecular genetics of septo-optic dysplasia. **Horm Res** 2000;53:26-33.
7. Thomas PQ, Dattani MT, Brickman JM, McNay D, Warne G, Zacharin M, et al. Heterozygous HESX1 mutations associated with isolated congenital pituitary hypoplasia and septo-optic dysplasia. **Hum Mol Genet** 2001;10:39-45.
8. Zhadanov AB, Bertuzzi S, Taira M, Dawid IB, Westphal H. Expression pattern of the murine LIM class homeobox gene Lhx3 in subsets of neural and neuroendocrine tissues. **Dev Dyn** 1995;202:354-64.
9. Sloop KW, Meier BC, Bridwell JL, Parker GE, Schiller AM, Rhodes SJ. Differential activation of pituitary hormone genes by human Lhx3 isoforms with distinct DNA binding properties. **Mol Endocrinol** 1999;13:2212-25.
10. Sloop KW, Showalter AD, Von Kap-Herr C, Pettenati MJ, Rhodes SJ. Analysis of the human LHX3 neuroendocrine transcription factor gene and mapping to the subtelomeric region of chromosome 9. **Gene** 2000;245:237-43.
11. Netchine I, Sobrier ML, Krude H, Schnabel D, Maghnie M, Marcos E, et al. Mutations in LHX3 result in a new syndrome revealed by combined pituitary hormone deficiency. **Nat Genet** 2000;25:182-6.

12. Machinis K, Pantel J, Netchine I, Leger J, Camand OJ, Sobrier ML, et al. Syndromic short stature in patients with a germline mutation in the lim homeobox *lhx4*. **Am J Hum Genet** 2001;69:961-8.
13. Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, et al. Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. **Nature** 1996;384:327-33.
14. Mendonca BB, Osorio MGF, Latronico AC, Estefan V, Lo LSS, Arnhold IJP. Longitudinal hormonal and pituitary imaging changes in two females with combined pituitary hormone deficiency due to deletion of A301,G302 in the PROP-1 gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:942-5.
15. Rosenbloom AL AA, Brown MR, Fisher DA, Baumbach L, Parks JS. Clinical and biochemical phenotype of familial anterior hypopituitarism from mutation of the PROP1 gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:50-7.
16. Deladoey J, Fluck C, Buyukgebiz A, Kuhlmann BV, Eble A, Hindmarsh PC, et al. "Hot spot" in the PROP1 gene responsible for combined pituitary hormone deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:1645-50.
17. Fofanova OV TN, Kinoshita E, et al. A mutational hot spot in the PROP-1 gene in Russian children with combined pituitary hormone deficiency. **Pituitary** 1999;1:45-9.
18. Nogueira CR, Sabacan L, Jameson JL, Medeiros-Neto G, Kopp P. Combined pituitary hormone deficiency in an inbred Brazilian kindred associated with a mutation in the PROP-1 gene. **Mol Genet Metab** 1999;67:58-61.
19. Parks JS, Brown MR, Hurley DL, Phelps CJ, Wajnrajch MP. Heritable disorders of pituitary development. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:4362-70.
20. Wu W CJ, Pfäffle RW, et al. Mutations in PROP1 cause familial combined pituitary hormone deficiency. **Nat Genet** 1998;18:147-9.
21. Cogan JD WW, Phillips JA, et al. The PROP-1 2-bp deletion is a common cause of combined pituitary hormone deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3346-9.
22. Fofanova O, Takamura N, Kinoshita E, Parks JS, Brown MR, Peterkova VA, et al. Compound heterozygous deletion of the PROP-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:2601-4.
23. Krzisnik C KZ, Battelino T, Brown M, Parks JS, Laron Z. The "Little People" of the island of Krk - Revisited. Etiology of hypopituitarism revealed. **J Endocrine Genet** 1999; 1:9-19.
24. Agarwal G, Bhatia V, Cook S, Thomas PQ. Adrenocorticotropin deficiency in combined pituitary hormone deficiency patients homozygous for a novel PROP1 deletion. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:4556-61.
25. Vallette-Kasic S, Barlier A, Teinturier C, Diaz A, Manavela M, Berthezene F, et al. PROP1 gene screening in patients with multiple pituitary hormone deficiency reveals two sites of hypermutability and a high incidence of corticotroph deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:4529-35.
26. Duquesnoy P, Roy A, Dastot F, Ghali I, Teinturier C, Netchine I, et al. Human Prop-1: cloning, mapping, genomic structure. Mutations in familial combined pituitary hormone deficiency. **FEBS Lett** 1998;437:216-20.
27. Osorio MG, Kopp P, Marui S, Latronico AC, Mendonca BB, Arnhold IJ. Combined pituitary hormone deficiency caused by a novel mutation of a highly conserved residue (F88S) in the homeodomain of PROP-1. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:2779-85.
28. Pernasetti F, Toledo SP, Vasilyev VV, Hayashida CY, Cogan JD, Ferrari C, et al. Impaired adrenocorticotropin-adrenal axis in combined pituitary hormone deficiency caused by a two-base pair deletion (301-302delAG) in the prophet of Pit-1 gene. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:390-7.
29. Li S, Crenshaw EB 3rd, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene *pit-1*. **Nature** 1990;347:528-33.
30. Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino N, Mizuno Y, et al. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. **Nat Genet** 1992;1:56-8.
31. Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Fujimoto S, Matsuo N, Inagaki H, et al. Mutations in the Pit-1 gene in children with combined pituitary hormone deficiency. **Biochem Biophys Res Commun** 1992;189:851-5.
32. Pfäffle RW, DiMattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, et al. Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. **Science** 1992;257:1118-21.
33. Radovick S, Nations M, Du Y, Berg LA, Weintraub BD, Wondisford FE. A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. **Science** 1992;257:1115-8.
34. Cohen LE, Wondisford FE, Salvatoni A, Maghnie M, Brucker-Davis F, Weintraub BD, et al. A "hot spot" in the Pit-1 gene responsible for combined pituitary hormone deficiency: clinical and molecular correlates. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:679-84.
35. Irie Y, Tatsumi K, Ogawa M, Kamijo T, Preeyasombat C, Suprasongsin C, et al. A novel E250X mutation of the PIT1 gene in a patient with combined pituitary hormone deficiency. **Endocr J** 1995;42:351-4.
36. Pellegrini-Bouiller I, Belicar P, Barlier A, Gunz G, Charvet JP, Jaquet P, et al. A new mutation of the gene encoding the transcription factor Pit-1 is responsible for combined pituitary hormone deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:2790-6.
37. Aarskog D, Eiken HG, Bjerknes R, Myking OL. Pituitary dwarfism in the R271W Pit-1 gene mutation. **Eur J Pediatr** 1997;156:829-34.
38. Arnhold IJ, Nery M, Brown MR, Voss TC, VanderHeyden TC, Adess ME, et al. Clinical and molecular characterization of a Brazilian patient with Pit-1 deficiency. **J Pediatr Endocrinol Metab** 1998;11:623-30.
39. Fofanova OV, Takamura N, Kinoshita E, Yoshimoto M, Tsuji Y, Peterkova VA, et al. Rarity of PIT1 involvement in children from Russia with combined pituitary hormone deficiency. **Am J Med Genet** 1998;77:360-5.
40. Pernasetti F, Milner RD, al Ashwal AA, de Zegher F, Chavez VM, Muller M, et al. Pro239Ser: a novel recessive mutation of the Pit-1 gene in seven Middle Eastern children with growth hormone, prolactin, and thyrotropin deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:2079-83.

41. Rodrigues Martineli AM, Braga M, De Lacerda L, Raskin S, Graf H. Description of a Brazilian patient bearing the R271W Pit-1 gene mutation. **Thyroid** 1998;8:299-304.
42. Tatsumi K, Miyai K, Amino N. Genetic basis of congenital hypothyroidism: abnormalities in the TSH-beta gene, the PIT1 gene, and the NIS gene. **Clin Chem Lab Med** 1998;36:659-62.
43. Ward L, Chavez M, Huot C, Lecocq P, Collu R, Decarie JC, et al. Severe congenital hypopituitarism with low prolactin levels and age-dependent anterior pituitary hypoplasia: a clue to a PIT-1 mutation. **J Pediatr** 1998;132:1036-8.
44. Vallette-Kasic S, Pellegrini-Bouiller I, Sampieri F, Gunz G, Diaz A, Radovick S, et al. Combined pituitary hormone deficiency due to the F135C human Pit-1 (pituitary-specific factor 1) gene mutation: functional and structural correlates. **Mol Endocrinol** 2001;15:411-20.
45. Brown MR, Parks JS, Adess ME, Rich BH, Rosenthal IM, Voss TC, et al. Central hypothyroidism reveals compound heterozygous mutations in the Pit-1 gene. **Horm Res** 1998;49:98-102.
46. Okamoto N, Wada Y, Ida S, Koga R, Ozono K, Chiyo H, et al. Monoallelic expression of normal mRNA in the PIT1 mutation heterozygotes with normal phenotype and biallelic expression in the abnormal phenotype. **Hum Mol Genet** 1994;3:1565-8.
47. Nogueira CR, Leite CC, Chedid EP, Liberman B, Pimentel-Filho FR, Kopp P, et al. Autosomal recessive deficiency of combined pituitary hormones (except ACTH) in a consanguineous Brazilian kindred. **J Endocrinol Invest** 1997;20:629-33.
48. Cuttler L. The Regulation of Growth Hormone Secretion. **Endocrinol Metab Clin North Am** 1996;25:523-40.
49. Shalet SM, Toogood A, Rahim A, Brennan BMD. The Diagnosis of Growth Hormone deficiency in Children and Adults. **Endocr Rev** 1998;19:203-23.
50. Wagner JK, Eble A, Hindmarsh PC, Mullis PE. Prevalence of human GH-1 gene alterations in patients with isolated growth hormone deficiency. **Pediatr Res** 1998;43:105-10.
51. Lin SC, Lin CR, Gukovsky I, Lusic AJ, Sawchenko PE, Rosenfeld MG. Molecular basis of the little mouse phenotype and implications for cell type-specific growth (see comments). **Nature** 1993;364:208-13.
52. Godfrey P, Rahal JO, Beamer WG, Copeland NG, Jenkins NA, Mayo KE. GHRH receptor of little mice contains a missense mutation in the extracellular domain that disrupts receptor function. **Nat Genet** 1993;4:227-32.
53. Wajnrajch MP, Gertner JM, Harbison MD, Chua SC Jr, Leibel RL. Nonsense mutation in the human growth hormone-releasing hormone receptor causes growth failure analogous to the little (lit) mouse. **Nat Genet** 1996;12:88-90.
54. Maheshwari HG, Silverman BL, Dupuis J, Baumann G. Phenotype and genetic analysis of a syndrome caused by an inactivating mutation in the growth hormone-releasing hormone receptor: Dwarfism of Sindh. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:4065-74.
55. Netchine I, Talon P, Dastot F, Vitaux F, Goossens M, Amselem S. Extensive phenotypic analysis of a family with growth hormone (GH) deficiency caused by a mutation in the GH-releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:432-6.
56. Salvatori R, Hayashida CY, Aguiar-Oliveira MH, Phillips JA 3rd, Souza AH, Gondo RG, et al. Familial dwarfism due to a novel mutation of the growth hormone-releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:917-23.
57. Marui S, Mendonça BB, Stefan V, Arnhold IJP. Two Novel Exonic and Intronic Mutations that Predict Abnormal Splicing of the Mrna GHRH Receptor (GHRHR) Gene in Patients with Sporadic Isolated GH Deficiency (IGHD). **Pediatr Res** 2001;49(6, Suppl, Part 2):34A(abstract).
58. Roelfsema F, Biermasz NR, Veldman RG, Veldhuis JD, Frolich M, Stokvis-Brantsma WH, et al. Growth hormone (GH) secretion in patients with an inactivating defect of the GH-releasing hormone (GHRH) receptor is pulsatile: evidence for a role for non-GHRH inputs into the generation of GH pulses. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:2459-64.
59. Salvatori R, Fan X, Phillips JA, Espigares-Martin R, Martin De Lara I, Freeman KL, et al. Three New Mutations in the Gene for the Growth Hormone (GH)-Releasing Hormone Receptor in Familial Isolated GH Deficiency Type IB. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:273-9.
60. Salvatori R, Fan X, Phillips JA 3rd, Prince M, Levine MA. Isolated growth hormone (GH) deficiency due to compound heterozygosity for two new mutations in the GH-releasing hormone receptor gene. **Clin Endocrinol (Oxf)** 2001;54:681-7.
61. Horikawa R. (Isolated GH deficiency due to inactivating mutation of GHRH receptor). **Nippon Rinsho** 2002;60:297-305.
62. Murray RA, Maheshwari HG, Russell EJ, Baumann G. Pituitary hypoplasia in patients with a mutation in the growth hormone-releasing hormone receptor gene. **AJNR Am J Neuroradiol** 2000;21:685-9.
63. Owerbach D, Rutter WJ, Martial JA, Baxter JD, TB S. Genes for growth hormone, chorionic somatomammotropin and growth hormone-like genes on chromosome 17 in humans. **Science** 1980;209:289-92.
64. Arnhold IJ, Osorio MG, Oliveira SB, Estefan V, Kamijo T, Krishnamani MR, et al. Clinical and molecular characterization of Brazilian patients with growth hormone gene deletions. **Braz J Med Biol Res** 1998;31:491-7.
65. Kamijo T, Phillips JAD. Detection of molecular heterogeneity in GH-1 gene deletions by analysis of polymerase chain reaction amplification products. **J Clin Endocrinol Metab** 1992;74:786-9.
66. Abdul-Latif H, Liberman E, Brown MR, Carmi R, Parks JS. Growth hormone deficiency type IB caused by cryptic splicing of the GH-1 gene. **J Pediatr Endocrinol Metab** 2000;13:21-8.
67. Kamijo T, Hayashi Y, Shimatsu A, Kinoshita E, Yoshimoto M, Ogawa M, et al. Mutations in intron 3 of GH-1 gene associated with isolated GH deficiency type II in three Japanese families. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1999;51:355-60.
68. Binder G, Keller E, Mix M, Massa GG, Stokvis-Brantsma WH, Wit JM, et al. Isolated GH deficiency with dominant inheritance: new mutations, new insights. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:3877-81.
69. Sitz KV, Burks AW, Williams LW, Kemp SF, Steele RW. Confirmation of X-linked hypogammaglobulinemia with isolated growth hormone deficiency as a disease entity. **J Pediatr** 1990;116:292-4.

70. Moseley CT, Mullis PE, Prince MA, Phillips JA 3rd. An exon splice enhancer mutation causes autosomal dominant GH deficiency. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:847-52.
71. 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;47:461-4.
72. Takahashi Y, Kaji H, Okimura Y, Goji K, Abe H, Chihara K. Brief report: short stature caused by a mutant growth hormone. **N Engl J Med** 1996;334:432-6.
73. Takahashi Y, Shirono H, Arisaka O, Takahashi K, Yagi T, Koga J, et al. Biologically inactive growth hormone caused by an amino acid substitution. **J Clin Invest** 1997;100:1159-65.
74. Binder G, Benz MR, Elmlinger M, Pflaum CD, Strasburger CJ, Ranke MB. Reduced human growth hormone (hGH) bioactivity without a defect of the GH-1 gene in three patients with rhGH responsive growth failure. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1999;51:89-95.
75. Kopchick JJ, Andry JM. Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction. **Mol Genet Metab** 2000;71:293-314.
76. Laron Z. An update on Laron syndrome. **Arch Dis Child** 1993;68:345-6.
77. Barton DE, Foellmer BE, Wood WI, Francke U. Chromosome mapping of the growth hormone receptor gene in man and mouse. **Cytogenet Cell Genet** 1989;50:137-41.
78. Arden KC, Boutin JM, Djiane J, Kelly PA, Cavenee WK. The receptors for prolactin and growth hormone are localized in the same region of human chromosome 5. **Cytogenet Cell Genet** 1990;53:161-5.
79. Phillips JA 3rd. Molecular biology of growth hormone receptor dysfunction. **Acta Paediatr Suppl** 1992;383:127-31.
80. Berg MA, Argente J, Chernausek S, Gracia R, Guevara-Aguirre J, Hopp M, et al. Diverse growth hormone receptor gene mutations in Laron syndrome. **Am J Hum Genet** 1993;52:998-1005.
81. Woods KA, Fraser NC, Postel-Vinay MC, Savage MO, Clark AJ. A homozygous splice site mutation affecting the intracellular domain of the growth hormone (GH) receptor resulting in Laron syndrome with elevated GH-binding protein. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:1686-90.
82. Ayling RM, Ross R, Towner P, Von Laue S, Finidori J, Moutoussamy S, et al. A dominant-negative mutation of the growth hormone receptor causes familial short stature. **Nat Genet** 1997;16:13-4.
83. Rosenbloom AL, Guevara-Aguirre J, Berg MA, Francke U. Stature in Ecuadorians heterozygous for growth hormone receptor gene E180 splice mutation does not differ from that of homozygous normal relatives. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:2373-5.
84. List EO, Coschigano KT, Kopchick JJ. Growth hormone receptor/binding protein (GHR/BP) knockout mice: a 3-year update. **Mol Genet Metab** 2001;73:1-10.
85. Goddard AD, Covello R, Luoh SM, Clackson T, Attie KM, Gesundheit N, et al. Mutations of the growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. The Growth Hormone Insensitivity Study Group. **N Engl J Med** 1995;333:1093-8.
86. Goddard AD, Dowd P, Chernausek S, Geffner M, Gertner J, Hintz R, et al. Partial growth-hormone insensitivity: the role of growth-hormone receptor mutations in idiopathic short stature. **J Pediatr** 1997;131:S51-5.
87. Sanchez JE, Perera E, Baumbach L, Cleveland WW. Growth hormone receptor mutations in children with idiopathic short stature. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:4079-83.
88. Salerno M, Balestrieri B, Matrecano E, Officioso A, Rosenfeld RG, Di Maio S, et al. Abnormal GH receptor signaling in children with idiopathic short stature. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:3882-8.
89. Jorge A. Estudo do receptor de GH em crianças com baixa estatura Idiopática por provável insensibilidade primária ao hormônio de crescimento Endocrinologia. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
90. Woods KA, Camacho-Hubner C, Savage MO, Clark AJ. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor 1 gene. **N Engl J Med** 1996;335:1363-7.
91. Francke U, Yang-Feng TL, Brissenden JE, Ullrich A. Chromosomal mapping of genes involved in growth control. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol** 1986;51:855-66.
92. Roback EW, Barakat AJ, Dev VG, Mbikay M, Chretien M, Butler MG. An infant with deletion of the distal long arm of chromosome 15 (q26.1—qter) and loss of insulin-like growth factor 1 receptor gene. **Am J Med Genet** 1991;38:74-9.
93. Jacobs PAH, Buckton KE, Court Brown WM, King MJ, McBride JA, MacGregor TN, et al. Cytogenetic studies in primary amenorrhoea. **Lancet** 1961;i:1183-9.
94. Ellison WJWZ, Webster M, Chiong W. PHOG, a candidate gene for involvement in the short-stature of Turner syndrome. **Am J Hum Genet** 1996;59:A-32.
95. Ellison JW, Wardak Z, Young MF, Gehron Robey P, Laig-Webster M, Chiong W. PHOG, a candidate gene for involvement in the short stature of Turner syndrome. **Hum Mol Genet** 1997;6:1341-7.
96. Rappold GA. The pseudoautosomal regions of the human sex chromosomes. **Hum Genet** 1993;92:315-24.
97. Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, et al. Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. **Nat Genet** 1997;16:54-63.
98. Ogata T. SHOX: pseudoautosomal homeobox containing gene for short stature and dyschondrosteosis. **Growth Horm IGF Res** 1999;9 Suppl B:53-7; discussion 57-8.
99. Binder G, Schwarze CP, Ranke MB. Identification of short stature caused by SHOX defects and therapeutic effect of recombinant human growth hormone. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:245-9.
100. Rappold GA, Fukami M, Niesler B, Schiller S, Zumkeller W, Bettendorf M, et al. Deletions of the Homeobox Gene SHOX (Short Stature Homeobox) Are an Important Cause of Growth Failure in Children with Short Stature. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:1402-6.
101. Ogata T, Onigata K, Hotsubo T, Matsuo N, Rappold G. Growth hormone and gonadotropin-releasing hormone analog therapy in haploinsufficiency of SHOX. **Endocr J** 2001;48:317-22.

102. Blaschke RJ, Rappold GA. SHOX: growth, Leri-Weill and Turner syndromes. **Trends Endocrinol Metab** 2000; 11:227-30.
103. Ogata T, Matsuo N, Nishimura G. SHOX haploinsufficiency and overdosage: impact of gonadal function status. **J Med Genet** 2001;38:1-6.
104. Clement-Jones M, Schiller S, Rao E, Blaschke RJ, Zuniga A, Zeller R, et al. The short stature homeobox gene SHOX is involved in skeletal abnormalities in Turner syndrome. **Hum Mol Genet** 2000;9:695-702.
105. Ogata T, Muroya K, Matsuo N, Shinohara O, Yorifuji T, Nishi Y, et al. Turner syndrome and Xp deletions: clinical and molecular studies in 47 patients. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:5498-508.
106. Reinehr T, Jauch A, Zoll B, Engel U, Bartels I, Andler W. Short stature in a mother and daughter caused by familial der(X)t(X;X)(p22.1-3;q26). **Am J Med Genet** 2001; 102:81-5.
107. Belin V, Cusin V, Viot G, Girlich D, Toutain A, Moncla A, et al. SHOX mutations in dyschondrosteosis (Leri-Weill syndrome). **Nat Genet** 1998;19:67-9.
108. Shears DJ, Vassal HJ, Goodman FR, Palmer RW, Reardon W, Superti-Furga A, et al. Mutation and deletion of the pseudoautosomal gene SHOX cause Leri-Weill dyschondrosteosis. **Nat Genet** 1998;19:70-3.
109. Kosho T, Muroya K, Nagai T, Fujimoto M, Yokoya S, Sakamoto H, et al. Skeletal features and growth patterns in 14 patients with haploinsufficiency of SHOX: implications for the development of Turner syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:4613-21.
110. Rao E, Blaschke RJ, Marchini A, Niesler B, Burnett M, Rappold GA. The Leri-Weill and Turner syndrome homeobox gene SHOX encodes a cell-type specific transcriptional activator. **Hum Mol Genet** 2001;10:3083-91.
111. Noonan JA. Hypertelorism with Turner phenotype. A new syndrome with associated congenital heart disease. **Am J Dis Child** 1968;116:373-80.
112. Nora JJ, Nora AH, Sinha AK, Spangler RD, Lubs HA. The Ullrich-Noonan syndrome (Turner phenotype). **Am J Dis Child** 1974;127:48-55.
113. Duncan WJ, Fowler RS, Farkas LG, Ross RB, Wright AW, Bloom KR, et al. A comprehensive scoring system for evaluating Noonan syndrome. **Am J Med Genet** 1981;10:37-50.
114. Mendez HM, Opitz JM. Noonan syndrome: a review. **Am J Med Genet** 1985;21:493-506.
115. Ranke MB, Heidemann P, Knupfer C, Enders H, Schmaltz AA, Bierich JR. Noonan syndrome: growth and clinical manifestations in 144 cases. **Eur J Pediatr** 1988;148:220-7.
116. Allanson JE, Hall JG, Hughes HE, Preus M, Witt RD. Noonan syndrome: the changing phenotype. **Am J Med Genet** 1985;21:507-14.
117. Allanson JE, Hall JG, Van Allen MI. Noonan phenotype associated with neurofibromatosis. **Am J Med Genet** 1985;21:457-62.
118. Sharland M, Morgan M, Smith G, Burch M, Patton MA. Genetic counseling in Noonan syndrome. **Am J Med Genet** 1993;45:437-40.
119. van der Burgt I, Berends E, Lommen E, van Beersum S, Hamel B, Mariman E. Clinical and molecular studies in a large Dutch family with Noonan syndrome. **Am J Med Genet** 1994;53:187-91.
120. van Der Burgt I, Brunner H. Genetic heterogeneity in Noonan syndrome: evidence for an autosomal recessive form. **Am J Med Genet** 2000;94:46-51.
121. Baraitser M, Patton MA. A Noonan-like short stature syndrome with sparse hair. **J Med Genet** 1986;23:161-4.
122. Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R, Zampino G, Brunner HG, Kremer H. Mutations in PTPN11, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. **Nat Genet** 2001;29:465-8.

Endereço para correspondência:

Ivo J.P. Arnhold
Laboratório de Hormônios e Genética Molecular
Disciplina de Endocrinologia - Hospital das Clínicas
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 155
PAMB - 2º andar, bloco 6
05403-900 São Paulo, SP
e.mail: iarnhold@usp.br