

Análisis genético de la talla baja

C. Quinteiro García^a, L. Castro-Feijóo^b, L. Loidi Fernández de Trocóniz^a, J. Barreiro Conde^b, F. Domínguez Puente^c y M. Pombo^b

^aUnidad de Medicina Molecular. ^bUnidad de Endocrinología, Crecimiento y Adolescencia. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario. USC. ^cDepartamento de Fisiología. USC. Santiago de Compostela.

El proceso del crecimiento que lleva a un individuo a alcanzar su talla final continúa siendo pobremente conocido debido a su gran complejidad. Sabemos que el crecimiento longitudinal es un rasgo multifactorial influenciado por muchos aspectos reguladores o permisivos, pero determinado genéticamente. En los últimos años se ha conocido un número creciente de genes implicados en la etiología de la talla baja, sometidos a intrincadas relaciones entre sí y cuyos efectos están modificados por factores ambientales, por lo que aún no podemos resumir su funcionamiento con una historia sencilla y uniforme a pesar de que la patología relacionada con un fallo en el crecimiento afecta al 2 o 3 por ciento de los individuos en la población general¹ y tiene un interés médico y social relevante.

En este trabajo, abordaremos las categorías más importantes en las que se pueden agrupar los pacientes con retraso en el crecimiento y las relacionaremos con las alteraciones genéticas subyacentes en cada caso. Además, esbozaremos hacia donde se dirigen las principales líneas de investigación en la patología molecular del eje GH-IGF1.

Se han propuesto varias clasificaciones para estudiar la talla baja. De ellas, nos parece de mayor utilidad la clasificación diagnóstica que se basa en la localización de la alteración subyacente^{2,3}. Según ésta, las alteraciones del crecimiento se pueden agrupar en tres grandes apartados:

– Alteraciones primarias del crecimiento: causadas por un defecto intrínseco en el hueso y/o en el tejido conectivo. En estos casos, los pacientes frecuentemente tienen alteraciones dismórficas y su talla es desproporcionada. Engloban una variedad de patologías que afectan al crecimiento desde una edad muy temprana de la vida, por lo que suelen manifestarse clínicamente alrededor del nacimiento. Se incluyen en esta categoría las displasias óseas, enfermedades metabólicas, anomalías cromosómicas como el síndrome de Turner, de Noonan, de Down y otras. También el retraso del crecimiento intrauterino sin recuperación del crecimiento después del nacimiento.

– Alteraciones secundarias del crecimiento: están causadas por factores que se sitúan fuera del hueso y/o el tejido conectivo. En estos casos la edad ósea con frecuencia está retrasada. Forman parte de este grupo numerosas enfermedades sistémicas, la mayoría de ellas constituyen cuadros clínicos de cierta gravedad, que suelen ser crónicos como hepatopatías, cardiopatías congénitas, insuficiencia renal, fibrosis quística, etc., así como diversas patologías endocrinas como las alteraciones del eje somatotropo, hipotiroidismo y la diabetes mellitus mal controlada. Igualmente se consideran alteraciones secundarias del crecimiento las originadas por causas psicosociales y las de origen iatrogénico.

– Talla baja idiopática: este diagnóstico se hace cuando un niño tiene una talla y un peso normal al nacimiento, su retraso en el crecimiento es proporcionado, no tiene enfermedades endocrinas ni sistémicas, no tiene problemas psicosociales y lleva una dieta adecuada. Esta categoría se subdivide en talla baja familiar y no familiar.

Claramente, los factores genéticos juegan un papel etiológico en varias de las patologías que conducen a estos trastornos del crecimiento. Sin embargo, aún es un tema por resolver el conocer cuantas y cuales enfermedades monogénicas pueden estar detrás del fallo del crecimiento en el grupo de pacientes con talla baja idiopática⁴.

CAUSAS HEREDITARIAS DE TALLA BAJA

Las alteraciones del crecimiento con un origen genético pueden asociarse con anomalías cromosómicas, enfermedades monogénicas o con síndromes de etiología desconocida. El fallo en el crecimiento se ha observado en alteraciones cromosómicas numéricas (trisomía del cromosoma 13, trisomía del cromosoma 21, síndrome de Turner), estructurales (síndrome de Williams, translocaciones no balanceadas), mosaicismos (síndrome de Turner) y en los casos de disomía uniparental (síndrome de Silver-Russell). Ejemplos de enfermedades monogénicas lo tenemos en las displasias óseas: mutaciones en el gen

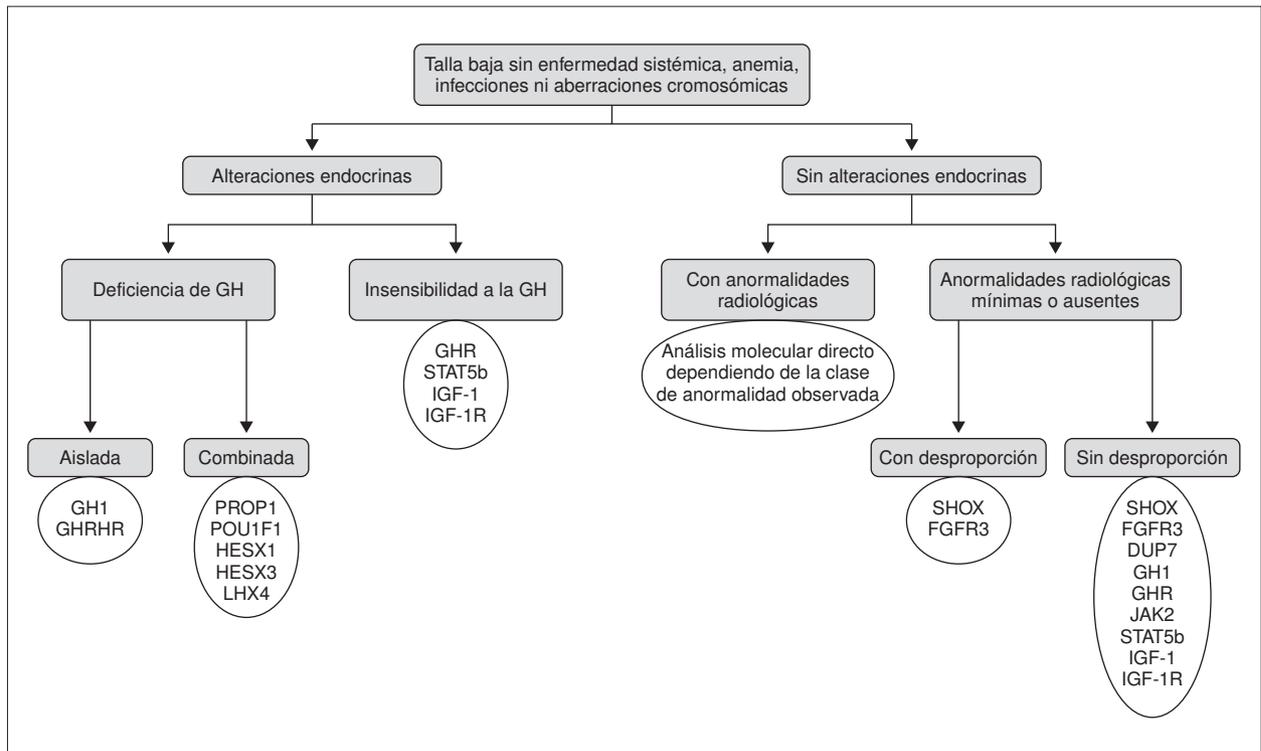


Figura 1. Diagrama de flujo del análisis molecular de la talla baja.

FGFR3 pueden causar hipocondroplasia, acondroplasia o displasia tanatofórica; mutaciones en el gen SHOX pueden causar discondrosteosis de Leri-Wiell, displasia mesomélica de Langer; mutaciones en LMNA pueden causar una constelación de distintos síndromes entre los que se encuentra el síndrome Hutchinson-Gilford Progeria. Del mismo modo, son enfermedades monogénicas las causadas por mutaciones en los genes que intervienen en el eje hipotálamo-hipófisis-GH.

Como la talla baja es una condición muy heterogénea, realizar su diagnóstico puede ser extremadamente difícil. Sin embargo, hacerlo de una forma apropiada es importante para el pronóstico y para evaluar la posibilidad de tratamiento. La historia clínica, el examen físico y la interpretación de las características del crecimiento son indispensables para alcanzar el diagnóstico correcto. Si estas investigaciones orientan hacia un determinado diagnóstico, se deben realizar las pruebas complementarias que lo confirmen. Si la exploración no orienta a ningún diagnóstico, es necesario un análisis inicial más amplio para excluir la existencia de alguna enfermedad sistémica⁵.

Partiendo de pacientes con retraso del crecimiento en los que se ha descartado la existencia de alguna enfermedad sistémica, anemia, infección y anomalías cromosómicas, se ha propuesto un diagrama de flujo para el análisis molecular de la talla baja² (fig. 1). Si el paciente es sugestivo de padecer alguna patología endocrina, será necesario saber si existe o no déficit de GH y si este déficit es aislado o se presenta combinado con otros défi-

cits de hormonas hipofisarias. Las prioridades en el análisis de las secuencias de los genes debe tener en consideración el reducir la inversión de costo y de tiempo. Así, en la deficiencia aislada de GH es más frecuente encontrar mutaciones en el gen GH1 que en el gen GHRHR. Lo mismo ha de considerarse en los casos en que el déficit hormonal es múltiple, donde es más frecuente encontrar mutaciones en PROP1 que en POU1F1. Sin olvidar, que se han descrito casos de deficiencia combinada de hormonas hipofisarias en pacientes con mutaciones en otros genes implicados en el desarrollo hipofisario: HESX1, LHX3, LHX4^{6,7}.

Si lo que se sospecha es una insensibilidad a la GH se debe solicitar el análisis del gen RGH⁸, teniendo en cuenta que las características del crecimiento del único paciente que se ha comunicado con mutaciones en homocigosis en el gen de STAT5b son indistinguibles de las observadas en los pacientes con mutaciones en homocigosis en el gen RGH⁹. En estos casos, parece razonable el asumir el análisis molecular de los genes de IGF1 y IGF1R, pero hasta el momento sólo se ha descrito un caso de delección en el gen IGF1¹⁰ y en cuanto al gen IGF1R se han comunicado grandes delecciones cromosómicas de las zonas 15q26.1-qter donde se encuentra este gen¹¹ y, recientemente, en dos pacientes con fallo en el crecimiento intrauterino y postnatal se encontraron mutaciones puntuales¹².

Cuando las anomalías radiológicas orienten hacia un diagnóstico preciso, especialmente hacia una de las

displasias óseas, se debe realizar el diagnóstico molecular siempre que sea posible. Es muy amplio el número de genes donde se han identificado mutaciones en este grupo de enfermedades y en algunas de ellas está identificado el locus. En esta situación, aunque no esté identificado el gen causante de la enfermedad podemos realizar estudios de ligamiento, ya que muchas displasias óseas siguen patrones de herencia claramente establecidos, lo que se debe considerar al proporcionar consejo genético a la familia.

El grupo más difícil para diagnosticar son los niños con talla baja, cariotipo normal, análisis de sangre normal, ninguna enfermedad sistémica concomitante y con cambios radiológicos mínimos o ausentes. Sin embargo, en esos niños hay un grupo de genes que vale la pena analizar en un intento de alcanzar el diagnóstico. La mayoría de las veces estos niños se quedan marcados con el diagnóstico de talla baja idiopática, que es un diagnóstico insatisfactorio para el paciente, sus padres y el clínico. En los niños con hipocrecimiento disarmónico deben ser investigados los genes *FGFR3* y *SHOX*. Se han descrito mutaciones en estos genes en pacientes con talla baja con desproporción como único hallazgo. En formas leves de hipocondroplasia se debe investigar el codón Lys650 de *FGFR3*¹³. El estudio del gen *SHOX* está especialmente indicado cuando la talla baja es desproporcionada, con acortamiento mesomérico de miembros¹⁴. También se han descrito algunos casos de mutaciones en este gen en casos de talla baja armónica, aunque estudiando retrospectivamente la historia de estos pacientes se pudo constatar que tenían grados muy ligeros de desproporción o que tenían familiares de primer grado con talla baja desproporcionada, *cubitus valgus* o deformidad de Madelung¹⁵.

La disomía uniparental se presenta cuando los dos cromosomas homólogos de un par cromosómico en particular derivan de uno de los dos progenitores. Si los pacientes tienen talla baja proporcionada se debe considerar el estudio molecular de la disomía uniparental del cromosoma 7, aunque sólo se han comunicado dos casos en que los pacientes tenían talla baja sin otros datos del síndrome de Silver-Russell¹⁶. Basándose en trabajos de screening se ha sugerido que este análisis debe hacerse sólo en casos con retraso intrauterino severo y hallazgos compatibles con el síndrome Silver-Russell¹⁷. También es posible estudiar casos de disomía uniparental de otros cromosomas gracias al análisis molecular de varios marcadores polimórficos, que en el caso de ser informativos nos indicarán el origen parental de cada uno de los homólogos del par que estamos investigando.

En los pacientes con talla baja sin desproporción esquelética se ha realizado el análisis molecular de los genes *GH1* y *RGH* bajo la hipótesis de que mutaciones en estos genes causarían cuadros parciales de deficiencia de GH y de insensibilidad a la GH, respectivamente. Se han

demostrado mutaciones en heterocigosis en el gen *GH1* en pacientes con deficiencia sérica de la hormona y un cuadro clínico compatible, por lo que son diagnosticados de deficiencia aislada de GH autosómica dominante, y también en pacientes sin ninguna anomalía bioquímica pero con retraso en el crecimiento, en esta última situación, las mutaciones llevarían a una deficiencia de GH de forma autosómica recesiva¹⁸. En el gen *RGH* también se han identificado mutaciones en heterocigosis en un número pequeño de pacientes con talla baja y valores hormonales en el rango de la normalidad, hablándose entonces de insensibilidad parcial a la GH. En consecuencia, ambos genes deberían analizarse. Este análisis es más importante en los casos sin retraso en el crecimiento intrauterino, ya que la GH no juega un papel importante en este periodo del desarrollo.

Por otra parte, se ha indicado que aproximadamente un 25 por ciento de los niños con talla baja idiopática tienen una deficiencia primaria de *IGF-1*^{19,20}. Los genes candidatos a estudiar en esta situación serían: *GH1*, *RGH*, *JAK2*, *STAT5b*, otros componentes de la cascada de señalización intracelular de GH e *IGF1*. Mientras que, en los casos de los pacientes con niveles normales de *IGF1* la patología molecular afectaría a los receptores de IGF, proteínas de unión de IGF, péptidos de señalización intracelular, sin olvidar los elementos respuesta epifisarios a las IGF y otros factores de crecimiento que con toda probabilidad serán descubiertos²¹.

El diagrama de flujo del análisis molecular de la talla baja deberá aumentar y ajustarse en el futuro cuando dispongamos de más datos sobre estos genes y sobre su repercusión en el crecimiento longitudinal de los individuos. En el momento actual, podemos decir que los defectos moleculares del eje GH-IGF1 siguen representando un terreno fértil para la investigación clínica y genética.

CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO: ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN Y PROTEÓMICA

Todos los genes que hemos nombrado en este diagrama de flujo tienen en común, aparte de su participación en el periodo de crecimiento, el que presentan una pobre correlación genotipo-fenotipo, incluso intrafamiliarmente. Esto no es de extrañar si consideramos que los procesos biológicos celulares son extremadamente complejos, con muchas vías metabólicas que solapan sus acciones, y en donde han de tenerse en cuenta los factores medioambientales que modulan la predisposición genética de los individuos y la expresión génica. De hecho, sólo un 2 por ciento del total de nuestras enfermedades tiene una causalidad monogénica. No obstante, existen fuertes evidencias de que los factores genéticos juegan un papel importante en la determinación de la talla del individuo, originadas por: los miembros de una misma familia suelen tener una talla semejante²², los estudios de medidas antropométricas en gemelos²³ y los análisis de ligamien-

to realizados en todo el genoma en múltiples poblaciones²⁴. Una consecuencia práctica del alto grado de heredabilidad de la talla es que la predicción de la talla diana de un paciente debe tomar la talla de los padres en consideración²⁵.

Recientemente se han publicado un par de trabajos en los que se realizan estudios estructurales, funcionales y de expresión del gen GH1 que codifica la GH. Por una parte, se han estudiado la región del promotor proximal de GH1 y la zona LCR (región de control de locus), zonas que han demostrado ser muy polimórficas²⁶. Los promotores y las LCR son regiones de ADN localizadas en la zona 5' de un gen. La ARN polimerasa se une a las secuencias promotoras con el fin de iniciar la transcripción del ADN en ARNm. Las LCR intervienen en la regulación de la transcripción de los genes que están agrupados en cluster. Gracias al análisis de los diferentes haplotipos encontrados, estos autores concluyen que la variación de la talla de un adulto atribuible a la variación polimórfica del promotor de GH1 es de un 3,3 por ciento, aunque dicen que este cálculo es muy cauteloso y que probablemente la repercusión en la talla del individuo sea mayor. Por otra parte, en otro trabajo del mismo grupo²⁷ se estudia la secuencia de todo el gen GH1, la región 5' promotora y la región LCR en tres grupos de individuos, un grupo de pacientes con talla baja, baja velocidad de crecimiento y edad ósea retrasada; otro, con talla baja y deficiencia aislada de GH idiopática y un grupo control de 154 individuos. Identifican mutaciones en heterocigosis en los tres grupos, aunque con más frecuencia en los casos de los pacientes con talla baja, con y sin déficit aislado de GH. Encuentran 25 mutaciones, de las cuales 24 son mutaciones no descritas anteriormente y en 15 de ellas, basándose en estudios funcionales, concluyen que probablemente tienen un significado causal en el fenotipo de los pacientes. A pesar de ello, no todos los miembros de la familia que tenían una lesión determinada manifestaron talla baja, indicando que la mutación presenta una penetrancia variable o quizás, lo más probable, que sus efectos estén enmascarados por la influencia de factores genéticos adicionales. Otro modelo alternativo que se maneja para explicar este hecho es la existencia de haploinsuficiencia, que implicaría una relación directa y gradual entre el nivel de la síntesis de GH y la altura alcanzada.

En la práctica, cada una de las variantes detectadas tanto a nivel del promotor como en la secuencia de GH1 podrían ejercer sólo un efecto relativamente menor sobre los niveles circulantes de GH y la talla del individuo. No obstante, contribuirían aumentando las probabilidades de conducir el fenotipo hacia una talla baja si actúan de una forma concordante con las variantes de otras proteínas del eje de la GH, un concepto conocido como "sinergismo de heterocigosis" descrito inicialmente en las enfermedades por errores congénitos del metabolismo que

muestran una considerable variación en la severidad de los síntomas²⁸. De esta forma, el sinergismo de heterocigosis viene a describir la suma de efectos que se produce cuando más de un locus está afectado y nos brindaría un mejor entendimiento de las enfermedades, de acuerdo con la línea del concepto tradicional de herencia multifactorial, donde la influencia de múltiples loci (heterocigosis para mutaciones en dos o más genes relacionados con el crecimiento) y la influencia del medio ambiente interactúan para producir el fenotipo final.

Todo carácter variable, como la altura de los individuos, depende de la acción aditiva de un gran número de causas individualmente pequeñas e independientes por lo que tendrá una distribución poblacional normal (gaussiana) donde desaparece la relación simple uno a uno entre genotipo y fenotipo, con excepción de los fenotipos extremos donde una mutación que anule la funcionalidad de la proteína causa un cuadro clínico completo, por ejemplo, la delección en homocigosis del gen GH1 conduce a una deficiencia aislada de GH tipo IA. Así, el fenotipo de cada persona es la suma de la contribución de cada alelo en los loci relevantes y de esta manera, entrarían en juego todos aquellos "cambios" que encontramos en los genes estudiados en los pacientes con talla baja y que por sí mismos, apelando a los mecanismos clásicos de patogenidad (alteración del procesamiento del ARNm, cambio de aminoácido, codón de parada, etc.) no parecen justificar *per se* la disminución de la talla de nuestros pacientes, pero la suma del efecto de todas estas variantes sí que conduciría a un fenotipo de talla baja.

En la tabla 1 se presentan los cambios nucleotídicos del gen GH1 encontrados en los 172 pacientes, que hasta ahora hemos estudiado. De la misma forma que con GH1, hemos detectado una gran variabilidad en la secuencia de los otros genes implicados en la patología del crecimiento que analizamos en nuestro laboratorio: PROP1, POU1F1, RGH y SHOX. El abordaje de estos genes lo realizamos mediante amplificación por PCR y posterior secuenciación cíclica directa y bidireccional, este es el motivo que nos ha llevado a realizar estos hallazgos.

Es necesario hacer estudios de asociación con estos datos y admitir que el entendimiento de la relación fenotipo-genotipo es mucho más complejo de lo que esperábamos inicialmente: un impacto directo y mensurable de una única mutación en un único gen y poder predecir con certeza el pronóstico y las estrategias terapéuticas para cada paciente. La realidad, es que en muchas enfermedades sólo un subconjunto de mutaciones conducen a un fenotipo que se puede predecir.

Parece claro, además, que si la secuencia del ADN de los genes individuales es esencial, no lo es todo para determinar la extensión y las consecuencias de las alteraciones génicas en el origen de las enfermedades. En este sentido, el desarrollo de la proteómica, ciencia que estu-

TABLA 1. Gen GH1: variantes alélicas encontradas por nuestro grupo en individuos de talla baja

J03071	Posición relativa	Variantes alélicas	Id SNP	Localización	Tipo	Descripción	Identificaciones previas
5133	-92	T > G		5' no traducida	No codificante	c.1-92T > G	
5157	-68	A > G	rs6171	5' no traducida	No codificante	c.1-68A > G	-6
5159	-66	C > G		5' no traducida	No codificante	c.1-66C > G	
5162	-63	A > G; A > T		5' no traducida	No codificante	c.1-63A > G; c.1-63A > T	-1
5178	-47	G > A; G > T		5' traducida	No codificante	c.1-47G > A; c.1-47G > T	+ 16
5179	-46	G > A		5' traducida	No codificante	c.1-46G > A	
5185	-40	C > T		5' traducida	No codificante	c.1-40C > T	
5187	-38	A > C		5' traducida	No codificante	c.1-38A > C	
5188	-37	A > C	rs6172	5' traducida	No codificante	c.1-37A > C	+ 25
5220	-5	C > T		5' traducida	No codificante	c.1-5C > T	
5221	-4	G > T	rs6173	5' traducida	No codificante	c.1-4G > T	+ 59
5231	+ 7	A > G	rs2001345	exón 1	Sentido equivocado	Thr3Ala	Thr-24Ala
5286	+ 62	A > G		intrón I	No codificante	c.10 + 52A > G	
5290	+ 66	A > T		intrón I	No codificante	c.10 + 56A > T	
5395	+ 170	C > T		intrón I	No codificante	c.11-100C > T	
5443	+ 218	T > C	rs3744287	intrón I	No codificante	c.11-52T > C	
5750	+ 525	G > C		intrón II	No codificante	c.171 + 95G > C	
6118	+ 893	G > A		exón 4	Sinónima	Ser111Ser	Ser85
6137	+ 912	T > C		exón 4	Sentido equivocado	Pro118Leu	Pro92 Leu
6148	+ 923	T > C		exón 4	Sinónima	Ser121Ser	Ser95
6172	+ 947	C > T		exón 4	Sinónima	Tyr129Tyr	Tyr103
6191	+ 966	G > A	rs5388	exón 4	Sentido equivocado	Val 136Iso	Val110Iso
6232	+ 1.007	G > A		exón 4	Sinónima	Thr149Thr	Thr123
6263	+ 1.038	C > T		intrón IV	No codificante	c.456 + 22C > T	
6359	+ 1.134	T > G		intrón IV	No codificante	c.456 + 58T > G	
6331	+ 1.106	T > A	rs2665802	intrón IV	No codificante	c.456 + 90T > A	P1
6358	+ 1.133	T > A		intrón IV	No codificante	c.456 + 117T > A	
6635	+ 1.410	C > G		exón 5	Sinónima	Val 199Val	Val173
6653	+ 1.428	C > G		exón 5	Sentido equivocado	Ile205Met	Ile179Met

J03071: Número de acceso de la secuencia de referencia del GeneBank.

Posición relativa: con respecto a la A del codón ATG que codifica la metionina inicial de la proteína.

Variantes alélicas: cambio de nucleótido detectado.

Id SNP: código de identificación en la base de datos Single Nucleotide Polymorphism del NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Localización: situación en el gen.

Descripción: identificación de las variantes de secuencia según HGVS (Human Genome Variation Society)²⁹.

P1: polimorfismo P1 del intrón 4³⁰.

dia el proteoma (definido simplemente como el complemento proteico del genoma) vendrá a romper esta visión reduccionista que mantenemos ahora. El proteoma representa el juego completo de proteínas expresado por una célula durante su tiempo de vida y es mucho más complejo que el genoma. Cada vez más, se comprende que las funciones celulares se realizan por complejos moleculares que actúan acompasadamente y no por moléculas únicas. Se han identificado aproximadamente unas 1000 proteínas diferentes en el proteoma de la hipófisis humana, todas ellas con diferentes roles funcionales y con diferencias en su expresión en relación con la raza, sexo y edad del individuo³¹. Es posible que esta heterogeneidad, que indica cambios dinámicos en el patrón de

expresión proteica, pueda contribuir a que una proteína mutada no se exprese en "su" tiempo y espacio específico en la cascada de regulación del desarrollo y diferenciación celular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ranke MB. Toward a consensus on the definition of idiopathic short stature. *Horm Res* 1996;45:64-67.
2. Kant SG, Wit JM, Breuning MH. Genetic analysis of short stature. *Horm Res* 2003;60:157-65.
3. Cassorla F, Gaete X. Clasificación y valoración de la talla baja. En: Pombo M, ed. *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 3.ª edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana 2002; p. 275-89.

4. Ezquieta B, Cueva E, Oliver A, Gracia R. SHOX intragenic microsatellite analysis in patients with short stature. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002;15:139-48.
5. Castro-Feijóo L y Pombo M. Diagnóstico del retraso del crecimiento. *Endocrinol Nutr* 2003;50:216-36.
6. Dattani MT. DNA testing in patients with GH deficiency at the time of transition. *Growth Hormone & IGF Research* 2003;13:264-8.
7. Quinteiro García C, Castro-Feijóo L, Loidi Fernández de Trocóniz L, Barreiro Conde J, Fernández Toral J, Domínguez Puente F, Pombo Arias M. Contribución de la genética molecular al diagnóstico de las alteraciones del eje de la hormona de crecimiento. *An Esp Pediatr* 2001;54(Supl 4):318-26.
8. Quinteiro C, Castro-Feijóo L, Loidi L, Barreiro J, Fuente M, Domínguez F, Pombo M. Novel Mutation involving the translation initiation codon of the growth hormone receptor gene (RGH) in a patient with Laron syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002;15:1041-5.
9. Kofoed EM, Hwa V, Little B, Woods KA, Buckway CK, Tsubaki J, Pratt KL, Bezrodnik L, Jasper H, Tepper A, Heinrich JJ, Rosenfeld RG. Growth hormone insensitivity associated with a STST5b mutation. *N Engl J Med* 2003;335:1342-9.
10. 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 I gene. *N Engl J Med* 1996;335:1363-7.
11. Roback EW, Barakat AJ, Dev VG, Mbikay M, Cheretien 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.
12. Abuzzahab MJ, Schnider A, Goddard A, Grigorescu F, Lautier C, Keller E, Kiess W, Klammt J, Kratzsch J, Osgood D, Pfaffle R, Raile Seidel B, Smith RJ, Chernausek SD. Intrauterine Growth retardation (IUGR) study group. IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. *N Engl J Med* 2003;23:2111-222.
13. Bellus GA, Spector EB, Speiser PW, Weaver CA, Garber AT, Bryke CR, Israel J, Rosengren SS, Webster MK, Donoghue DJ, Francomano CA. Distinct missense mutations of the FGFR3 Lys650 codon modulate receptor kinase activation and the severity of the skeletal dysplasia phenotype. *Am J Hum Genet* 2000;67:1411-21.
14. Schiller S, Spranger S, Schechinger B, Fukami M, Merker S, Drop SL, Troger J, Knoblauch H, Kunze J, Seidel J, Rappold GA. Phenotypic variation and genetic heterogeneity in Leri-Weill syndrome. *Eur J Hum Genet* 2000;8:54-62.
15. Rappold GA, Fukami M, Niesler B, Schiller S, Zunkeller W, Betendorf M, Heinrich U, Vlachopapadoupoulou E, Reinerhr T, Oginata K, Ogata T. 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.
16. Preece MA, Abu-Amero SN, Ali Z, Abu-Amero KK, Wakeling EL, Stanier P, Moore GE. An analysis of the distribution of hetero- and iso-disomic regions of chromosome 7 in five mUPD7 Silver-Russell syndrome probands. *J Med Genet* 1999;36:457-60.
17. Hannula K, Lipsanen-Nyman M, Kristo P, Kaitila I, Simola KO, Lenko HL, Tapanainen P, Holmberg C, Kere J. Genetic screening for maternal uniparental disomy of chromosome 7 in prenatal and post-natal growth retardation of unknown cause. *Pediatrics* 2002;109:441-8.
18. Leiberman E, Pesler D, Parvari R, Elbedour K, Abdul-Latif H, Brown MR, Parks JS, Carmi R. Short stature in carriers of recessive mutation causing familial isolated growth hormone deficiency. *Am J Med Genet* 2002;90:188-92.
19. Attie KM, Carlsson LM, Rundle Ac, Sherman BM. Evidence for partial growth hormone insensitivity among patients with idiopathic short stature. The National Cooperative Growth Study. *J Pediatr* 1995;127:244-50.
20. Buckway CK, Guevara-Aguirre J, Pratt KL, Burren CP, Rosenfeld RG. The IGF-I generation test revised: a marker of GH sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5176-83.
21. Rosenfeld RG and Hwa V. Editorial: Toward a molecular basis for idiopathic short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1066-7.
22. Preece MA. The genetic contribution to stature. *Horm Res* 1996;45(Suppl 2):56-8.
23. Chatterjee S, Das N, Chatterjee P. The estimation of the heritability of anthropometric measurements. *Appl Human Sci* 1999;18:1-7.
24. Hirschhorn JN, Lindgren CM, Daly MJ, Kirby A, Schaffner SF, Burt NP, Altshuler D, Parker A, Rioux JD, Platko J, Gaudet D, Hudson TJ, Groop LC, Lander ES. Genomewide linkage analysis of stature in multiple populations reveals several regions with evidence of linkage to adult height. *Am J Hum Genet* 2001;69:106-16.
25. 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.
26. Horan M, Millar DS, Hedderich J, Lewis G, Newsway V, Mo N, Fryklund L, Procter AM, Krawczak M, Cooper DN. Human Growth hormone 1 (GH1) gene expression: complex haplotype-dependent influence of polymorphic variation in the proximal promoter and locus control region. *Hum Mutat* 2003; 21:408-23.
27. Millar DS, Lewis MD, Horan M, Newsway V, Easter TE, Gregory JW, Fryklund L, Norin M, Crowne EC, Davies SJ, Edwards P, Kirk J, Waldron K, Smith PJ, Phillips III JA, Scanlon MF, Krawczak M, Cooper DN, Procter AM. Novel mutations of the growth hormone 1 (GH1) disclosed by modulation of the clinical selection criteria for individuals with short stature. *Hum Mutat* 2003; 21:424-40.
28. Vockley J, Rinaldo P, Bennett MJ, Matern D, Vladutiu GD. Synergists heterozygosity: disease resulting from multiple partial defects in one or more metabolic pathways. *Mol Genet Metab* 2000;71:10-8.
29. den Dunnen JT and Antonarakis SE. Nomenclature for the description of sequence variations. Human Genome Variation Society. <http://www.genomic.unimelb.edu.au/mdi/mutnomen/recs.html>
30. Hasegawa Y, Fujii K, Yamada M, Igarashi Y, Tachibana K, Tanaka T, Onigata K, Nishi Y, Kato S, Hasegawa T. Identification of novel human GH1 gene polymorphisms that are associated with growth hormone secretion and height. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1290-5.
31. Zhan X. and Desiderio DM. Heterogeneity analysis of the human pituitary proteome. *Clin Chem* 2003;49:1740-51.