
MONOGRAFÍA

Polimorfismos del receptor de GH en pacientes acromegálicos

GH Receptor Polymorphisms in Acromegalic Patients

Céspedes ME

Hospital J. M. Ramos Mejía. Urquiza 609, CABA (1221)

RESUMEN

El receptor de la hormona de crecimiento (GHR) (hormona de crecimiento. media los efectos de GH. Se identificaron varias isoformas de dicho receptor, producto de polimorfismos en las secuencias codificantes del gen del GHR. La isoforma (d3-GHR) carece de una secuencia de 22 aminoácidos codificada por el exón 3, y si bien su capacidad de unión al ligando se mantiene intacta, afectaría las propiedades funcionales del GHR, y podría facilitar la activación del GHR. Se observó que el 50 % de los pacientes acromegálicos tienen al menos un alelo d3.

Se reportó que el alelo d3 contribuyó como predictor de respuesta posquirúrgica con niveles significativamente menores de hormona de crecimiento (GH) a diferencia de los fl-GHR (forma completa), con similares niveles de IGF-1 (insulin-like growth factor 1). La ausencia del exón 3 se asoció además con mayor probabilidad de no alcanzar IGF-I normal después del tratamiento tanto quirúrgico como médico. Los portadores d3-GHR se asocian con menor dosis requerida de PEG (Pegvisomant), siendo el mecanismo de esta mayor sensibilidad desconocido. Estos pacientes también podrían tener mayor prevalencia de comorbilidades acromegálicas.

Estos estudios demuestran la importancia del genotipo del GHR, no solo como variable predictora de evolución clínica, sino que su evaluación podría ser útil para individualizar la terapia óptima en cada paciente.

Rev Argent Endocrinol Metab 52:163-169, 2015

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Palabras clave: acromegalia, receptor de la hormona de crecimiento, polimorfismos del GHR, isoformas del GHR

ABSTRACT

The growth hormone receptor mediates the effects of GH. Several isoforms of this receptor, as a product of polymorphisms in the coding sequences of GHR gene, have been identified. The d3-GHR isoform lacks a 22-amino-acid sequence encoded by exon 3, and although its ligand binding capacity remains intact, its deletion would affect the functional properties of GHR, and could facilitate the activation of the GHR. It has been reported that 50 % of acromegalic patients have at least one d3 allele.

The d3 allele has been shown to contribute to predict postoperative response presenting significantly lower levels of GH in contrast to fl-GHR (full-length), with similar levels of IGF-1. The absence of exon 3 was also associated with a greater likelihood of failing to achieve normal IGF-I after both surgical and medical treatment. In carriers of d3-GHR, lower doses of PEG (Pegvisomant) were required; the mechanism of this increased sensitivity is unknown. These patients may also have a higher prevalence of acromegalic comorbidities. These studies demonstrate the importance of the GHR genotype, which may not only contribute to predict clinical outcome, but also help to identify the optimal therapy for each patient. **Rev Argent Endocrinol Metab 52:163-169, 2015**

No conflicts of interest exist.

Key words: acromegaly, receptor of growth hormone, GHR polymorphisms, isoforms of GHR

INTRODUCCIÓN

La acromegalia es el síndrome clínico que resulta de la elevación crónica y persistente de los niveles circulantes de GH. La misma actúa a través de su receptor periférico, el cual constituye el efector más importante de la acción hormonal. El GHR media los efectos de la GH, estimulando el metabolismo intermedio, la proliferación y diferenciación celular, lo que en última instancia se traduce en crecimiento corporal acral exagerado, alteraciones orgánicas, tanto estructurales como funcionales, y metabólicas que ocurren en la acromegalia.

Se han identificado varias isoformas de dicho receptor, producto de polimorfismos en las secuencias codificantes del gen del GHR, una de las cuales carece de una secuencia de 22 aminoácidos codificada por el exón 3, que si bien su capacidad de unión al ligando se mantiene intacta, esta delección del exón 3 afecta las propiedades funcionales del GHR.

Hay factores desconocidos aún, que determinan la evolución y el comportamiento de la enfermedad. Dada la morbimortalidad que conlleva la acromegalia, resulta crucial intentar dilucidarlos, particularmente en pacientes con enfermedad más agresiva.

En esta monografía se destaca entonces si el genotipo del GHR influye de alguna manera en la expresión clínica y/o bioquímica de la acromegalia, además de valorar por otro lado, si existe alguna repercusión en cuanto a la evolución de la enfermedad y si condiciona la respuesta a una terapéutica determinada.

EL RECEPTOR DE GH

La GH promueve el crecimiento y diferenciación tisular, ya sea directamente a través de su GHR e indirectamente a través de la estimulación de la síntesis hepática de IGF-1, el cual tiene efectos proliferativos, antiapoptóticos e importantes funciones metabólicas, además de una vida media más prolongada que la GH.

El GHR se expresa en muchos tejidos: el hígado contiene abundantes receptores para GH; otros tejidos periféricos también expresan GHR en menor cantidad, incluyendo el músculo y la grasa⁽¹⁾. Es una proteína de 620 aminoácidos, de 70 kd, proteína clase I de la superfamilia de los receptores citoquinas, y contiene tres dominios:

1. uno extracelular (DEC): dominio de unión a la hormona,
2. un dominio transmembrana, y
3. un dominio citoplasmático: componente de señalización.

La superfamilia de receptores de GH es homóloga con los receptores de prolactina, relacionados además funcional y estructuralmente a una gran variedad de factores de crecimiento como interleucinas 2 a 7, eritropoyetina, interferón, y factor estimulante de colonias. Su activación ocurre cuando se forma el complejo GH/GHR, que consiste en una molécula de GH ligada secuencialmente a dos moléculas de GHR, que conducen a la dimerización del receptor, y es seguida por una rápida activación de la tirosinkinasa JAK2 que conduce a la fosforilación de moléculas de señalización intracelular, incluyendo los activadores de señal de transducción de las proteínas transcripción (STAT 1, 3 y 5). Estas proteínas fosforiladas son translocadas directamente al núcleo celular, donde provocan expresión de genes GH específicos mediante su unión al ADN nuclear e inician la transcripción proteica⁽¹⁾. El gen del GHR está localizado en el brazo corto del cromosoma 5 (región p13.1-p12) y contiene nueve exones que codifican el receptor⁽²⁾.

ISOFORMAS DEL GHR

Varias isoformas del GHR se han identificado, una de estas isoformas carece de una secuencia de 22 aminoácidos codificada por el exón 3⁽³⁾. Así, en la región codificante del ARNm que compromete al DEC del receptor, se pueden hallar 2 isoformas: una que contiene al exón 3 dando la forma completa del GHR o full-length (fl) y otra que carece del mismo (d3). El mecanismo por el cual se produce esta isoforma, se cree que podría ser por una *delección genómica* de 2.7 pb que incluiría al exón 3 y no a un "splicing" alternativo, como se pensaba en un principio^(2,4). Esto induce cambios conformacionales en el DEC que podría facilitar la activación inducida por el ligando del GHR. Es decir, son dos transcripciones de ARNm, que difieren en la codificación del mismo, en uno contiene el exón 3 (fl-GHR) y en otro falta (d3-GHR). Estudios "in vitro", mostraron una mayor capacidad transcripcional del d3-GHR comparada con fl-GHR⁽⁵⁾.

De la heterogeneidad de ambas isoformas resultan los genotipos homocigota para fl, homocigota para d3 y heterocigota fl/d3 para el GHR. En la mayoría de los estudios que han examinado la fre-

cuencia de distribución de estas isoformas de GHR en los controles sanos, aproximadamente la mitad de los sujetos son homocigotos para la fl-GHR, y el polimorfismo d3-GHR se produce en el 30-40 % en estado heterocigoto y en el 10-20 % en homocigoto⁽⁶⁾.

Durante muchos años, el significado funcional de tales expresiones dismórficas se desconocía porque la afinidad de unión "in vitro" de ambos (fl-GHR y d3-GHR) para GH 22-kDa, GH 20-kDa, GH placentaria (GHV), lactógeno placentaria, prolactina ovina, y otros ligandos, parecía ser la misma⁽⁷⁾. Por lo tanto, cualquier diferencia funcional o biológica entre las dos isoformas del receptor debía proceder de diferencias en la dimerización inducida por el ligando, la señal de transducción o el reciclaje de los receptores. Más recientemente, experimentos en células de cultivo de fibroblastos cotransfectadas HEK 293 (Human Embryonic Kidney 293 cells) han demostrado que la transducción de señal inducida por GH es significativamente mayor a través de homo o heterodímeros d3-GHR que a través de homodímeros fl-GHR. En este estudio, la diferencia en la activación de STAT5 de células transfectadas llevando al menos un alelo d3-GHR comparadas con células homocigotas para el fl-GHR fue particularmente evidente a mayores concentraciones de GH (3-50 ng/ml)⁽⁵⁾.

Algunos estudios que involucran niños nacidos pequeños para su edad gestacional^(5,8), niños con talla baja idiopática⁽⁵⁾, niñas con síndrome de Turner⁸ y los niños con severa deficiencia de GH⁽⁹⁾, sugirieron que la presencia del polimorfismo d3-GHR les confiere una mayor respuesta a la administración exógena de GH humana recombinante. Sin embargo, otros autores no han podido confirmar estos resultados^(10,11). A partir de estos hallazgos, se comenzó a evaluar qué es lo que ocurre con el GHR en pacientes acromegálicos, su implicancia y significado en cuanto a la evolución y tratamiento.

GHR Y ACROMEGALIA

La acromegalia representa un estado de exceso de GH con un fenotipo variable, que no depende únicamente del grado de hipersomatotropinemia. El espectro clínico varía desde una condición relativamente asintomática con lento y progresivo compromiso acral, a un severo trastorno incapacitante, que incluye cefalea, artropatía, síndromes de compresión nerviosa, diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial (HTA) e incluso miocardiopa-

tía, que finalmente compromete la expectativa y la calidad de vida. En la mayoría, pero no en todos los pacientes, el fenotipo clínico se correlaciona con el grado de hipersecreción de GH y con el resultante exceso de producción de IGF-1⁽¹²⁾.

Como con muchas otras enfermedades crónicas, los factores genéticos y ambientales juegan un rol en la variabilidad clínica del fenotipo acromegálico. Es en este sentido, en que se comenzó a estudiar qué es lo que ocurría con el d3-GHR, con el fin de determinar si tenía alguna relevancia su evaluación; es decir, intentar dilucidar si pacientes con acromegalia que tienen el genotipo d3-GHR podrían tener una mayor morbilidad clínica, entre otras cosas. Lo que se observó fue que el 50 % de los pacientes acromegálicos tienen al menos un alelo d3 y estos pacientes, niveles de GH más bajos para cualquier concentración de IGF-1 sérica comparadas con los portadores homocigotos de fl-GHR⁽¹³⁾; y también se asociaron a valores más bajos de GH después del tratamiento. La mayoría de los pacientes que tenían cifras elevadas de IGF-I en presencia de valores de GH normalizados postcirugía eran portadores de al menos un alelo d3 y casi el 40 % de los pacientes portadores del alelo d3-GHR mostraron resultados de GH e IGF-1 discordantes luego del tratamiento con SSA (análogos de somatostatina)⁽¹⁴⁾. Dicho de otro modo, la mayoría de los pacientes d3-GHR no parecerían mostrar concordancia en los niveles de GH e IGF-1; esto podría significar que, entre los pacientes portadores d3-GHR, hay diferente sensibilidad del GHR debido a factores desconocidos o a diferencias en la sensibilidad a la GH.

En los individuos sanos, la prevalencia del polimorfismo representa alrededor del 50 % de la población general⁽⁶⁾. Estas diferencias en la sensibilidad de hormona de crecimiento podrían ser compensadas por el ajuste en la secreción de GH. Es decir, el control normal de retroalimentación negativa de la secreción de GH debe compensar las diferencias en la sensibilidad de GH a nivel de tejido blanco, y es este mecanismo de adaptación el que está claramente atenuado en la acromegalia⁽¹⁵⁾. De este modo, a concentraciones de GH suprafiológicas encontradas en la acromegalia, las diferencias en la señalización a través de la isoforma de GHR pueden contribuir a la variabilidad del fenotipo clínico visto en esta compleja enfermedad.

Tener un GHR más sensible podría explicar en parte, algunos casos inusuales de acromegalia con elevaciones séricas menores de GH pero valores

claramente anormales en los niveles IGF-1⁽¹²⁾. Del mismo modo, las diferencias en el genotipo GHR podrían ser responsables de las discordancias postoperatorias en los niveles de GH e IGF-1⁽¹⁶⁾. Bianchi y col., observaron que el polimorfismo de d3 fue capaz de influir en gran medida en la respuesta bioquímica al tratamiento quirúrgico. Los portadores d3-GHR mostraron niveles significativamente menores de GH en relación con los fl-GHR, con similares niveles de IGF-I. Estos hallazgos concuerdan con la hipótesis de que, en presencia de niveles de GH cercanos al valor normal, la supersensibilidad del GHR podría ser desenmascarada⁽¹⁴⁾.

Por otra parte entonces, el alelo d3 contribuyó como variable independiente a disminuir los niveles de GH después de la cirugía junto con los niveles GH prequirúrgicos. Esto podría confirmar, una mayor relevancia clínica de la determinación de la isoforma d3 en la acromegalia, que podría llegar a ser un predictor importante del resultado del tratamiento de la enfermedad⁽¹⁴⁾.

Más aún, recientemente se asoció a los pacientes acromegálicos portadores de la isoforma d3 a una situación de mayor riesgo para las complicaciones más graves de la enfermedad, así como un control bioquímico más difícil⁽¹⁷⁾. Estos hallazgos avalan la existencia de una subpoblación acromegálica con GHR más sensibles. Mercado y col.⁽¹⁷⁾ encontraron que, los portadores d3-GHR tenían una prevalencia de DM entre el 44 y 47 % (diferente a la prevalencia previamente reportada por el autor del 32 % en población acromegálica general), y esto hace suponer que los portadores d3-GHR están en mayor riesgo de ser diabéticos que los sujetos homocigotos para el genotipo fl-GHR.

Más sorprendente fueron los resultados del análisis multivariado según el cual la ausencia del exón 3 tanto homo como heterocigoto se asoció con una mayor probabilidad de no alcanzar IGF-I normal después del tratamiento tanto quirúrgico como médico⁽¹⁷⁾. Según reportes de Bianchi y col., alrededor de un 20 % de los pacientes con niveles elevados de IGF-I después de la cirugía tienen niveles de GH que podrían ser definidos como normales de acuerdo a consensos mundiales. Curiosamente, el 70 % de estos pacientes eran portadores del alelo d3, lo que sugiere que, aún niveles muy bajos de GH podrían mantener actividad biológica significativa en presencia de un receptor supersensible⁽¹⁴⁾. Estos autores no encontraron asociación con formas más agresivas de enfermedad en aquellos pacientes con

niveles más bajos de GH sérica portadores d3-GHR como fue sugerido previamente^(13,17), lo cual podría ser debido a que la población estudiada con niveles de GH muy elevados, podría enmascarar la sensibilidad diferente del receptor, si bien se observó una tendencia hacia niveles de GH más bajos en los portadores d3-GHR.

Otro estudio más reciente⁽¹⁸⁾ evaluó a 86 pacientes acromegálicos con polimorfismo d3-GHR y su impacto a largo plazo, en pacientes con enfermedad ya en remisión, es decir curados. Lo que se observó fue que el polimorfismo d3-GHR se asoció con una mayor prevalencia de pólipos adenomatosos colónicos y dolicocolon. Los pacientes con al menos un alelo d3 presentaron una mayor prevalencia de osteoartritis, más pronunciada en cadera. La prevalencia de la otras comorbilidades asociadas con la acromegalia, tales como síndrome metabólico o fracturas vertebrales y no vertebrales, no difiere entre los genotipos. Tampoco se halló efecto del polimorfismo a largo plazo en la DM tipo 2, y esto concuerda con el hecho de estas comorbilidades parecen ser complicaciones reversibles de la acromegalia luego del control bioquímico⁽¹⁹⁾.

Como se mencionó anteriormente, Mercado y col.⁽¹⁷⁾ hallaron una mayor prevalencia de DM tipo 2 en pacientes con acromegalia activa con el genotipo d3, lo cual podría explicarse por el hecho de que la DM tipo 2 es más frecuentemente observada en la enfermedad activa, pero por otro lado es potencialmente reversible luego del control bioquímico de la enfermedad⁽¹⁹⁾. La HTA no mejora con el tratamiento exitoso de la acromegalia, por lo tanto podría ser considerada como una complicación crónica de la enfermedad. En este sentido, no hubo un efecto significativo del genotipo d3-GHR sobre su prevalencia; así como tampoco sobre la densidad mineral ósea⁽¹⁸⁾. No está claro si estos resultados son debidos a la excesiva actividad de la GH durante la enfermedad no controlada o son mera consecuencia de la presencia del polimorfismo d3-GHR.

Por otro lado, trabajos recientes evaluaron si el polimorfismo d3 tenía alguna relevancia en el tratamiento con PEG, análogo de GH obtenido mediante ingeniería genética con propiedades antagónicas a nivel del GHR. Como fue mencionado, el polimorfismo d3 del gen GHR se ha asociado con un aumento de la capacidad de respuesta a la GH humana recombinante en pacientes pediátricos. En este sentido, se realizó un estudio con 19 pacientes acromegálicos tratados con PEG para analizar si el d3-GHR podría influir en la capa-

cidad de respuesta a dicha terapia⁽²⁰⁾. Se reportó que el genotipo d3-GHR se asoció con un menor tiempo de tratamiento para la normalización de IGF-1 y una disminución del 27 % de la dosis de PEG requerida, de modo que solo uno de los nueve portadores del alelo d3 requirió una dosis de al menos 20 mg/d de PEG, en comparación con siete de los 10 del grupo fl-GHR; es decir, aquellos no portadores d3-GHR. Esto sugiere que la presencia del genotipo d3-GHR podría hacer a estos pacientes supersensibles al PEG.

En otro estudio⁽²¹⁾, se evaluaron 44 pacientes acromegálicos con enfermedad activa y resistencia a SSA. Los resultados mostraron que d3-GHR se asocia con una mayor sensibilidad a la terapia de PEG en acromegálicos resistentes, en términos de dosis más bajas requeridas y menos tiempo necesario para normalizar IGF-1. Sin embargo, no todos los resultados avalan esta posibilidad, recientemente Filopanti y col., evaluaron 127 pacientes acromegálicos tanto con monoterapia con PEG como terapia combinada con PEG más SSA, pero no confirmó una mejor respuesta a PEG en portadores d3-GHR⁽²²⁾. Este mecanismo planteado de una mayor sensibilidad al PEG en d3-GHR es esencialmente desconocido. Varias hipótesis se podrían formular para explicar estos resultados, la explicación más intuitiva podría ser que los receptores d3 tienen una afinidad mayor por PEG que para la GH nativa. Sin embargo, la unión de GH a las dos isoformas de GHR se ha estudiado en varios estudios sin conclusiones definitivas⁽⁵⁾. Una hipótesis alternativa podría ser que los pacientes que expresan d3-GHR podrían tener una ventaja funcional en términos de dimerización del receptor o transducción de señal, y bloqueando un receptor con propiedades funcionales mejoradas podría conducir a una amplificación de la inhibición de acción de PEG. Por otra parte, las diferencias en la habilidad de internalizar PEG también podrían explicar estos resultados. Por último, en presencia de menores niveles circulantes de GH endógena, podrían ser necesarios dosis más bajas de PEG para competir a nivel del receptor⁽²⁰⁾.

Los estudios experimentales han demostrado que la transducción de señal de GH a través de d3-GHR es de aproximadamente un 30 % superior que a través de fl-GHR⁽⁵⁾, y estos datos experimentales han sido apoyados por estudios clínicos^(17,23). Con respecto al fenómeno de escape, reportado en el tratamiento con PEG, se observó que la dosis en la que ocurrió dicho fenómeno fue menor en los pa-

cientes d3-GHR (15 mg en el grupo d3-GHR vs 27 mg en el grupo fl-GHR, $p < 0.002$)⁽²²⁾. El mecanismo de este fenómeno de escape no se entiende claramente, en este estudio la taquifilaxia relacionados con los anticuerpos anti-PEG había sido descartada previamente en el tratamiento a corto plazo con PEG⁽²⁴⁾, aunque la taquifilaxia a largo plazo o el aumento de los niveles de proteína de unión a GH podrían competir con PEG por el GHR y podrían hipotéticamente ser factores contribuyentes⁽²²⁾.

CONCLUSIONES

En la acromegalia, varios factores que no están claramente identificados podrían modular la expresión fenotípica de la hipersecreción de GH en términos de presentación clínica y/o bioquímica, además de intervenir en su evolución posterior.

De todo lo expuesto surge la importancia del genotipo del GHR, no solo para determinar la evolución clínica de aquellos pacientes acromegálicos que lo poseen, sino que además su estudio podría ser de utilidad para individualizar la opción terapéutica más adecuada.

Como se deja entrever, se requerirán más estudios, preferentemente prospectivos, para determinar su verdadero impacto clínico. De esta manera, el mayor entendimiento de la enfermedad abrirá probablemente un abanico de posibilidades, pudiendo constituir una nueva concepción en la evaluación de esta patología.

AGRADECIMIENTOS

A toda la División Endocrinología del Hospital J. M. Ramos Mejía, por la dedicación y generosidad con que me han brindado todos los conocimientos; y en particular a la Dra. Amelia Rogozinski, no solo por su aporte académico cotidiano sino por su invaluable apoyo en la confección de esta monografía.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Shlomo Melmed, David Kleinberg, Edward O. Reiter, Ron G. Rosenfeld.** Anterior Pituitary. Normal and Aberrant Growth. Williams Textbook of Endocrinology. 11th Edition. Chapter 8 and 23, 2007
2. **Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, Rotwein PS, Parks JS, Laron Z, Wood WI.** Characterization of the human growth hormone receptor gene and demon-

- stration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:8083-8087, 1989
3. **Mercado M, Dávila N, McLeod JF, Baumann G.** Distribution of growth hormone receptor messenger ribonucleic acid containing and lacking exon 3 in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 78:731-735, 1994
 4. **Pantel J, Machinis K, Sobrier ML, Duquesnoy P, Goossens M, Amselem S.** Species-specific alternative splice mimicry at the growth hormone receptor locus revealed by the lineage of retroelements during primate evolution. *J Biol Chem* 275:18664-18669, 2000
 5. **Dos Santos C, Essieux L, Teinturier C, Tauber M, Goffin V, Bougnères P.** A common polymorphism of the growth hormone receptor is associated with increased responsiveness to growth hormone. *Nat Genet* 36:720-724, 2004
 6. **Audi L, Esteban C, Carrascosa A, Espadero R, Pérez-Arroyo A, Arjona R, Clemente M, Wollman H, Fryklund L, Parodi LA.** Exon 3-deleted/fulllength growth hormone receptor polymorphism genotype frequencies in Spanish short small-for-gestational-age (SGA) children and adolescents (n=247) and in adult control population (n=289) show increase fl/fl in short SGA. *J Clin Endocrinol Metab* 91:5038-5043, 2006
 7. **Sobrier ML, Duquesnoy P, Duriez B, Amselem S, Goossens M.** Expression and binding properties of two isoforms of the growth hormone receptor. *FEBS Lett* 319:16-20, 1993
 8. **Binder G, Baur F, Schweizer R, Ranke MB.** The d3-growth hormone (GH) receptor polymorphism is associated with increased responsiveness to GH in Turner syndrome and short small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol Metab* 91:659-664, 2006
 9. **Jorge AA, Marchisotti FG, Montenegro LR, Carvalho LR, Mendonca BB, Arnhold IJ.** Growth hormone (GH) pharmacokinetics: influence of GH receptor exon 3 retention or deletion on first-year growth response and final height in patients with severe GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 91:1076-1080, 2006
 10. **Carrascosa A, Esteban C, Espadero R, Fernández-Cancio M, Andaluz P, Clemente M, Audi L, Wollman H, Fryklund L, Parodi L, Spanish SGA StudyGroup.** The d3/fl-growth hormone (GH) receptor polymorphism does not influence the effect of GH treatment (66 mcg/kg per day) or the spontaneous growth in short non-GH-deficient small-for-gestational-age children: results from a two-year controlled prospective study in 170 Spanish patients. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3281-3286, 2006
 11. **Blum WF, Machinas K, Shavrikova EP, Keller A, Stobbe H, Pfaeffle RW, Amselem S.** The growth response to growth hormone (GH) treatment in children with isolated GH deficiency is independent of the presence of the exon3-minus isoform of the GH receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4171-4174, 2006
 12. **Mercado M, Espinosa de los Monteros AL, Sosa E, Cheng S, Mendoza V, Hernández I, Sandoval C, Guinto G, Molina M.** Clinical-biochemical correlations in acromegaly at diagnosis and the real prevalence of biochemically discordant disease. *Horm Res* 62:293-299, 2004
 13. **Schmid C, Krayenbuehl PA, Bernays RL, Zwimpfer C, Maly FE, Wiesli P.** Growth hormone (GH) receptor isoform in acromegaly: lower concentrations of GH but not insulin-like growth factor-1 in patients with a genomic deletion of exon 3 in the GH receptor gene. *Clin Chem* 53:1484-1488, 2007
 14. **Bianchi A, Giustina A, Cimino V, Pola R, Angelini F, Pontecorvi A, De Marinis L.** Influence of Growth Hormone Receptor d3 and Full-Length Isoforms on Biochemical Treatment Outcomes in Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 94(6):2015-2022, 2009
 15. **Jaffe CA, Pan W, Brown MB, DeMott-Frieberg R, Barkan AL.** Regulation of GH secretion in acromegaly: reproducibility of daily GH profiles and attenuated negative feedback by IGF-I. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4364-4370, 2001
 16. **Espinosa de los Monteros AL, Sosa E, Cheng S, Ochoa R, Sandoval C, Guinto G, Mendoza V, Hernández I, Molina M, Mercado M.** Biochemical evaluation of disease activity after pituitary surgery in acromegaly: a critical analysis of patients who spontaneously change disease status. *Clin Endocrinol* 64:245-249, 2006
 17. **Mercado M, González B, Sandoval C, Esquenazi Y, Mier F, Vargas G, de los Monteros AL, Sosa E.** Clinical and biochemical impact of the d3 growth hormone receptor genotype in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3411-3415, 2008
 18. **Wassenaar M, Biermasz N, Pereira A, Van der Klaauw A, Smit J, Roelfsema F, Van der Straaten T, Cazemier M, Hommes D, Kroon H, Kloppenburg M, Guchelaar H, Romijn J.** The Exon-3 Deleted Growth Hormone Receptor Polymorphism Predisposes to Long-Term Complications of Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(12):4671-8, 2009
 19. **Biermasz NR, Pereira AM, Smit JW, Romijn JA, Roelfsema F.** Morbidity after long-term remission for acromegaly: persisting joint-related complaints cause reduced quality of life. *J Clin Endocrinol Metab* 90:2731-2739, 2005
 20. **Bianchi A, Mazziotti G, Tilaro L, Cimino V, Veltri F, Gaetani E, Pecorini G, Pontecorvi A, Giustina A, De Marinis L.** Growth hormone receptor polymorphism and the effects of pegvisomant in acromegaly. *Pituitary* 12:196-199, 2009
 21. **Bernabeu I, Alvarez-Escolá C, Quinteiro C, Lucas T, Puig-Domingo M, Luque-Ramírez M, Miguel-Novoa P, Fernandez-Rodriguez E, Halperin I, Loidi L, Casanueva F, Marazuela M.** The Exon 3-Deleted Growth Hormone Receptor Is Associated with Better Response to Pegvisomant Therapy in Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(1):222-9, 2010
 22. **Filopanti M, Olgiati L, Mantovani G, Corbetta S, Arosio M, Gasco V, De Marinis L, Martini**

- C, Bogazzi F, Cannavò S, Colao A, Ferone D, Arnaldi G, Pigliaru F, Peri A, Angeletti G, Jaffrain-Rea ML, Lania AG, Spada A.** Growth hormone receptor variants and response to pegvisomant in monotherapy or in combination with somatostatin analogs in acromegalic patients: a multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(2):E165-72, 2012
23. **Wassenaar MJ, Dekkers OM, Pereira AM, Wit JM, Smit JW, Biermasz NR, Romijn JA.** Impact of the exon 3-deleted growth hormone (GH) receptor polymorphism on baseline height and the growth response to recombinant human GH therapy in GH-deficient (GHD) and non-GHD children with short stature: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 94(10):3721-3730, 2009
24. **Van der Lely AJ, Hutson RK, Trainer PJ, Besser GM, Barkan AL, Katznelson L, Klibanski A, Herman-Bonert V, Melmed S, Vance ML, Freda PU, Stewart PM, Friend KE, Clemmons DR, Johannsson G, Stavrou S, Cook DM, Phillips LS, Strasburger CJ, Hackett S, Zib KA, Davis RJ, Scarlett JA, Thorner MO.** Long-term treatment of acromegaly with pegvisomant, a growth hormone receptor antagonist. *Lancet* 358(9295):1754-1759, 2001