

ENDOCRINOLOGÍA NEONATAL

Actualización del hipopituitarismo congénito. Aspectos clínicos y genéticos

Francisco Javier Rodríguez Contreras¹, Ángel Campos Barros², Isabel González Casado³

¹ Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM). Hospital Universitario La Paz. Madrid

² Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM), IdiPAZ, CIBERER (U753), ISCIII. Hospital Universitario La Paz. Madrid

³ Servicio de Endocrinología Pediátrica. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Introducción

El término hipopituitarismo hace referencia a la insuficiente secreción de una o varias hormonas hipofisarias. Cuando la alteración afecta exclusivamente a un único eje hipofisario hablamos de deficiencia aislada, y cuando afecta a dos o más ejes, de deficiencia combinada de hormonas hipofisarias (DCHH). Esta insuficiente función de la hipófisis puede deberse a un defecto hipotalámico o a una alteración propiamente hipofisaria.

Existen pocos datos sobre la epidemiología del hipopituitarismo, si bien un estudio español realizado en adultos estableció en 1999 una prevalencia de 45,5 casos/100.000 habitantes, y una incidencia de 4,2 casos/100.000 habitantes y año⁽¹⁾.

Según el problema esté o no presente en el momento del nacimiento, hablamos de hipopituitarismo congénito (HC) o adquirido. Entre las causas adquiridas se encuentran tumores, enfermedades infiltrativas, traumatismos, autoinmunidad... Entre las causas congénitas se incluyen, en principio, la patología perinatal (hipoxia perinatal, parto traumático) y las alteraciones genéticas.

En este trabajo nos centraremos en el HC, y en concreto en los avances desde el punto de vista de la etiología genética.

Visión tradicional

La concepción tradicional de la etiología genética del HC ha sido, al igual que ha ocurrido con muchas otras patologías en un primer momento, la de una etiología probablemente monogénica y de herencia mendeliana con penetrancia completa (todos los portadores expresan un fenotipo patológico), capaz de explicar

un fenotipo más o menos homogéneo y predecible. A esto contribuyeron las publicaciones que describían los primeros pacientes en los que se encontraba alguna variante patogénica en los genes *PROP1*, *POU1F1* (antes llamado *PIT1*), *LHX3*, *LHX4* y *HESX1*. En estos casos, la herencia mendeliana, ya fuera dominante o recesiva, era la norma y la patología de los pacientes quedaba claramente justificada por los hallazgos genéticos.

Pero con el paso de los años hemos podido comprobar que únicamente un porcentaje muy bajo de los pacientes con HC estudiados muestran alteraciones en alguno de estos genes que puedan explicar su fenotipo patológico⁽²⁻⁵⁾.

Sobre el fenotipo clínico, además de ser concebido inicialmente como relativamente homogéneo y predecible, pronto fue establecida una diferenciación bastante estanca entre los casos con alteración en factores de transcripción “tempranos” (como *LHX3*, *LHX4* o *HESX1*), capaces de dar lugar a alteraciones extra-hipofisarias de manera sindrómica, y los casos con alteración en factores de transcripción “tardíos” (como *PROP1* y *POU1F1*), dando éstos lugar a cuadros clínicos exclusivamente de disfunción hipofisaria⁽⁶⁾.

Pero además de ir descubriendo otros muchos factores implicados, también hemos ido profundizando en el conocimiento del fenotipo clínico de los pacientes con anomalías en estos pocos genes “tradicionales”, alcanzando conclusiones que contradicen en cierta medida nuestra concepción previa del cuadro clínico clásico y estereotipado⁽⁷⁾.

Si bien aún queda mucho camino por recorrer y muchas lagunas pendientes de esclarecer, los avances en los últimos años han permitido ahondar en una concepción distinta, mucho más amplia, heterogénea

y, en definitiva, más compleja, de la etiología genética del HC, cuyos principales ejes o conceptos trataremos de plantear a continuación. Algunos de estos conceptos, relacionados entre sí, se comentarán de manera independiente (con su posible reiteración) por motivos didácticos. No nos centraremos aquí en las alteraciones claramente aisladas de un único eje hipofisario, ya que tienen la suficiente entidad como para ser tratadas de manera independiente.

Heterogeneidad clínica y dificultades terminológicas

En la práctica clínica diaria todos hemos podido comprobar cómo el HC no es, por lo general, una patología clínicamente homogénea. Así, bajo el término hipopituitarismo englobaremos pacientes con deficiencias hipofisarias de distinta intensidad y repercusión, con afectación de ejes hipofisarios diferentes, con o sin otras anomalías asociadas anatómicas y/o funcionales desde el punto de vista neurológico, visual, auditivo... o incluso directamente formando parte de cuadros clínicos con grandes malformaciones cerebrales o síndromes clínicos complejos afectando a varios órganos o sistemas. Por tanto, podemos decir que el término hipopituitarismo (es decir, la insuficiente secreción de una o varias hormonas hipofisarias) en muchos casos no hará referencia a una patología en sí misma, sino a un signo clínico punto en común de una amplia variedad heterogénea de patologías diferentes.

Por otro lado, tampoco ayuda a esclarecer la situación la existencia de importantes dificultades terminológicas a la hora de abordar este tema, que permiten que los distintos autores no siempre pretendan expresar lo mismo al utilizar los mismos términos. A modo de ejemplo, repasamos a continuación algunos conceptos que se utilizan en la literatura científica:

- **Déficit combinado de hormonas hipofisarias (DCHH):** algunos autores utilizan este término para hablar de la combinación de hiposecreción en dos o más ejes hipofisarios cualesquiera, mientras que clásicamente se ha considerado que se trata de la presencia de déficit de GH asociado a la deficiencia en uno o más del resto de ejes hipofisarios. Algunos autores incluyen las deficiencias de hormona antidiurética como un eje más y otros sólo se refieren a los ejes adenohipofisarios. Algunos autores consideran el término "hipopituitarismo" como sinónimo de DCHH, excluyendo del mismo por tanto las deficiencias aisladas.
- **Panhipopituitarismo:** Término cada vez más en desuso por dar lugar a confusión, ya que es utilizado a menudo como sinónimo de DCHH, pero etimológicamente implica la deficiencia de todos los ejes hormonales hipofisarios.

• **Hipopituitarismo "congénito":** El término congénito implicaría la presencia del trastorno desde el momento del nacimiento, pero habitualmente se utiliza el término HC para describir el cuadro clínico patológico de pacientes con alteraciones genéticas causantes de la disfunción hipofisaria, aunque la deficiencia o alguna de las deficiencias de secreción hipofisaria se constate a posteriori a lo largo de la vida (incluso en la vida adulta). Por otro lado, el HC puede presentarse de manera aislada o asociado a otros signos y síntomas. Así, hay autores que hablan de HC sindrómico y no sindrómico.

- **Síndrome del tallo hipofisario interrumpido:** Concepto radiológico que hace referencia a la presencia de la "tríada clásica" de adenohipofisis hipoplásica o ausente, tallo hipofisario ausente o interrumpido y neurohipofisis ectópica. Puede presentarse de manera aislada o asociado a otras anomalías cerebrales de línea media.
- **Silla turca vacía:** De nuevo concepto en parte confuso. Por lo general y de manera intuitiva se define como la ausencia de tejido hipofisario, asociada a la herniación del espacio subaracnoideo dentro de la silla turca. Pero desde un punto de vista más técnico, muchos autores la consideran sinónimo de aracnoidocele, dando más importancia a la herniación del espacio subaracnoideo dentro de la silla turca, asociada a elongación del tallo hipofisario y aplastamiento o achatamiento de la hipofisis, considerando por tanto sillas turcas vacías "totales" y "parciales". Puede ser secundaria (más habitual) al tratamiento de un adenoma, a un síndrome de Sheehan..., o primaria (cuando no se conoce ningún proceso patológico hipofisario que lo justifique) ⁽⁸⁾.

Nuevas consideraciones al cuadro clásico causado por los genes clásicos

Si bien es cierto que los genes "clásicos" implicados en el HC causan por regla general un cuadro clínico más o menos concreto, han sido múltiples los trabajos que han sacado a relucir un espectro clínico y genético más heterogéneo de lo planteado en un primer momento.

Recientemente se han presentado algunas de las conclusiones de la red multicéntrica internacional GENHYPOPIT, con más de 1200 pacientes adultos y pediátricos con HC en los que se han estudiado los genes más clásicos (*PROP1*, *POU1F1*, *LHX3*, *LHX4* y *HESX1*) junto con otros 4 genes más (*OTX2*, *SOX2*, *SOX3* y *PROKR2*) ⁽⁷⁾. Algunas de sus conclusiones, enumeradas a continuación, se enfrentan a la concepción clásica que podríamos tener de esta patología:

- **El hipopituitarismo de causa genética puede no dar la cara durante la infancia:** Sólo un 25% de los pacientes fueron diagnosticados clínicamente al poco de nacer, un 32% se diagnosticó alrededor de la pubertad y hasta el 10% no fue diagnosticado hasta la vida adulta.
- **Los pacientes con HC pueden presentar un cuadro exclusivamente endocrino, o diversas combinaciones de deficiencias endocrinas y malformaciones viscerales:** Incluso entre los genes clásicos no es infrecuente la presencia de cuadros clínicos sindrómicos, sobre todo cuando se afectan factores de transcripción “tempranos”. El ejemplo más conocido es el de *LHX3*, cuyas mutaciones asocian con frecuencia anomalías de la rotación del cuello. Sin embargo, varios pacientes con dicha anomalía clínica cervical no presentaban alteraciones en *LHX3*. La gran variedad de alteraciones morfológicas intracraneales (hipofisarias, de los nervios ópticos, cerebrales, de línea media...) que pueden asociarse refuerzan el valor de la RMN en la evaluación inicial de estos pacientes. Se recomienda realizar evaluación oftalmológica y audiológica en todos los pacientes con HC por la elevada frecuencia de alteraciones asociadas a dichos niveles.
- **El hipopituitarismo sindrómico también puede presentarse en casos con alteración en *PROP1* o *POU1F1*:** Aunque tradicionalmente se ha considerado que el fenotipo de los pacientes con alteración en factores de transcripción “tardeos” era exclusivamente endocrino, un grupo no despreciable de casos con mutaciones patogénicas en *PROP1* o en *POU1F1* presentaban igualmente alteraciones extrahipofisarias. Si bien es cierto que la mayoría eran pacientes con antecedentes de consanguinidad y esto aumenta la sospecha de la presencia de otras alteraciones genéticas alternativas que justifiquen el resto del fenotipo patológico, al menos saca a relucir la gran dificultad existente para explicar el fenotipo patológico de muchos pacientes mediante técnicas tradicionales de secuenciación de los genes clásicos.

Repasando de manera individual los 5 genes mencionados más conocidos, podemos afirmar lo siguiente:

PROP1: De herencia autosómica recesiva, a día de hoy continúa siendo el gen que con más frecuencia se encuentra alterado entre los pacientes en los que se obtiene un diagnóstico genético (las alteraciones en el resto de genes clásicos se han demostrado muy infrecuentes). La frecuencia de alteraciones patogénicas en *PROP1* presenta una gran variabilidad interindividual, siendo especialmente elevada en Europa oriental y Rusia. El cuadro más habitual consiste en deficiencia de GH, TSH, prolactina, LH/FSH (que con

frecuencia van apareciendo o siendo diagnosticadas progresivamente, y normalmente en este orden) y una inconstante deficiencia de ACTH que, cuando aparece, con frecuencia lo hace en la vida adulta. Se debe a mutaciones con pérdida de función en homocigosis o heterocigosis compuesta, con penetrancia completa. Aun así, existe variabilidad en su expresividad clínica, de modo que la edad de instauración de cada uno de los déficits es variable, y existen algunos casos publicados que rompen la regla del orden (comenzando con un hipotiroidismo o hipogonadismo aislado, con aparición posterior de otros déficits) ^(9,10), e incluso algún caso con talla adulta normal en el que los déficits se han constatado en la vida adulta ⁽¹¹⁾. En RMN se ha descrito hipófisis hipoplásica, aplásica, hiperplásica, paso de hiperplásica a hipoplásica e incluso masas, así como la posibilidad de asociación con un síndrome del tallo interrumpido, hipófisis ectópica y otras anomalías cerebrales. Se ha sugerido la posibilidad de algún caso de penetrancia incompleta (presencia de portadores sanos) o de mutación en heterocigosis, sin que exista suficiente evidencia para confirmar estos extremos ⁽¹²⁾.

POU1F1: El cuadro clásico consiste en deficiencia de GH, TSH y prolactina debido a mutaciones de herencia autosómica recesiva. Aun así, existen ya descritas varias mutaciones con efecto dominante negativo, una de las cuales (p.P76L) es causante de deficiencia aislada de GH, con penetrancia completa. La penetrancia incompleta se ha descrito en la mitad de los casos de otra mutación dominante (p.R271W).

LHX3: El cuadro clásico incluye déficit de GH, TSH, prolactina, LH/FSH y ACTH, asociado a limitación de la rotación cervical (que como ya hemos mencionado no parece ser una condición exclusiva de las alteraciones de *LHX3*), debido a mutaciones de carácter recesivo. La variabilidad clínica en este caso implica que, si bien es constante la afectación de GH y TSH, la presencia de deficiencia de prolactina, LH/FSH y/o ACTH sea más variable. Se ha descrito la asociación con hiperplasia de adenohipófisis, hipoacusia neurosensorial, dificultad respiratoria y anomalías esqueléticas. En el estudio internacional GENHYPOPIT, el 20% de los pacientes que asociaban hipopituitarismo e hipoacusia presentaban alguna alteración en *LHX3* ⁽⁷⁾.

LHX4: El cuadro clásico consiste en una DCHH debido a mutaciones con herencia autosómica dominante. En este caso la penetrancia incompleta es frecuente. Se ha publicado algún caso de herencia recesiva, con una variante patogénica en homocigosis, con fenotipo letal en los primeros días de vida ⁽¹³⁾.

HESX1: Si bien es un gen que muchos relacionan directamente con el fenotipo de displasia septo-óptica, la realidad es que el espectro fenotípico de los pacientes publicados con mutaciones en *HESX1* resulta bastante variado. La deficiencia de GH parece constante,

pero la presencia de otras deficiencias hipofisarias asociadas sólo aparece en la mitad de los pacientes. Las anomalías de nervios ópticos aparecen sólo en el 30% de los pacientes y, a su vez, sólo se encuentran alteraciones significativas en *HESX1* en el 1% de los pacientes con criterios de displasia septo-óptica. También el tipo de herencia es variable, existiendo casos de herencia recesiva y dominante. Recientemente se ha publicado la posibilidad de que alteraciones de *HESX1* puedan relacionarse con un fenotipo de hipogonadismo hipogonadotropo aislado, pero dicha relación aún no se ha establecido con rotundidad⁽¹²⁾.

Pero además de la evolución del conocimiento sobre los factores genéticos más clásicamente implicados en la etiología del HC, gran parte de los avances actuales residen en el descubrimiento progresivo de otros muchos factores implicados en este proceso.

Desarrollo embrionario

Para avanzar en el conocimiento de la etiología genética del HC ha sido preciso profundizar en el conocimiento del proceso de desarrollo embrionario de la hipófisis. La mayoría del conocimiento sobre este aspecto deriva del estudio del desarrollo embrionario en modelos animales (principalmente ratones, aunque también otros como pez cebra, pollo o anfibios), dado el elevado grado de conservación del proceso en distintas especies de vertebrados.

La hipófisis deriva de dos estructuras ectodérmicas diferentes, el neuroectodermo del que surgirá el infundíbulo y que da lugar al lóbulo posterior (neurohipófisis), y el ectodermo oral que da lugar a la bolsa de Rathke y que formará los lóbulos anterior e intermedio (adenohipófisis y pars intermedia).

A la hora de explicar el desarrollo embrionario de la hipófisis se tiende a diferenciar por motivos didácticos dos procesos que, en realidad, tienen un claro solapamiento. El primero sería la inducción y el desarrollo inicial de la bolsa de Rathke y, el segundo, el proceso de diferenciación y especialización celular hacia las definitivas células implicadas en los distintos ejes endocrinos hipofisarios.

En el proceso de inducción de la formación de la bolsa de Rathke y su posterior desarrollo inicial participan distintas vías de señalización (BMP, FGF, WNT, SHH, NOTCH), entre las cuales se establece un delicado equilibrio⁽¹⁴⁾. El papel central en el control de este proceso parece residir inicialmente en el neuroectodermo adyacente (diencéfalo ventral), del que surge el infundíbulo mediante evaginación, el cual pasa a relacionarse estrechamente con la bolsa de Rathke y a influir en su desarrollo⁽¹⁵⁾. En dicho tejido neuroectodérmico, la diferente expresión de dichas vías de señalización principalmente según un patrón dorsal-ventral, inducirá a su vez la adquisición de un tamaño, forma

y organización adecuados de la bolsa de Rathke⁽¹⁴⁾. Resulta especialmente importante el equilibrio entre las vías BMP (con BMP4 como uno de los principales actores implicados) y FGF (con papel esencial de FGF8 y su receptor FGFR1), que a su vez influye en la adecuada expresión espaciotemporal de la vía SHH (cuyo principal efecto es GLI2)⁽¹⁶⁾. Simultáneamente se va desarrollando a partir del infundíbulo el tallo hipofisario y el lóbulo posterior, que contendrá las terminaciones neuronales de neuronas secretoras de vasopresina (procedentes de los núcleos supraóptico y supraquiasmático) y de oxitocina (procedentes del núcleo paraventricular)⁽¹⁵⁾.

El proceso de organización interna de la bolsa de Rathke, con la diferente proliferación y migración de distintos grupos celulares hasta su situación final en la glándula madura, simultáneo al inicio del proceso de diferenciación celular, resulta especialmente complejo, con múltiples lagunas por aclarar. Aun así, parecen igualmente estar implicadas las vías de señalización previamente mencionadas, con participación creciente de la expresión de las mismas dentro del propio tejido de la bolsa de Rathke, y disminuyendo progresivamente la importancia relativa del estímulo procedente del neuroectodermo. En este proceso participan factores de transcripción "tempranos", no específicos de la hipófisis, en muchos de los cuales se han publicado alteraciones clínicamente relevantes en humanos, habitualmente de manera sindrómica. A los ya mencionados LHX3, LHX4 y HESX1 se han ido añadiendo otros como OTX2, SOX2, SOX3, PITX1, PITX2, PITX3, SIX1, SIX3, SIX6 o ISL1^(14,17,18).

Las últimas etapas del proceso de diferenciación celular hacia las distintas estirpes dentro de la hipófisis son aparentemente algo más sencillas, y en ellas participan factores de transcripción algo más específicos de la hipófisis. Así, se ha ido concibiendo una visión en la que la actuación de determinados factores de manera escalonada y secuencial permite la aparición de las distintas poblaciones celulares especializadas. Especialmente elegante es la demostración de la actuación secuencial de HESX1, factor de transcripción temprano cuya disminución con el paso del tiempo permite la actividad de PROP1, que a su vez activa la función de POU1F1 en el camino hacia la diferenciación de las células somatotropas, lactotropas y tirotropas. Aun así, esta visión de una cascada sencilla asumiendo un único factor de transcripción actuando en cada escalón como único condicionante de la diferenciación hacia una estirpe celular concreta (como POU1F1 ya mencionado o TBX19 para la estirpe corticotropa) y con la única participación de factores exclusivamente hipofisarios, es excesivamente simplista y se encuentra superada. Otros factores se han ido relacionando con estos últimos escalones de diferenciación, con una implicación más compleja, actuación a varios niveles (espaciales y temporales), con posible influencia sobre varias estirpes celulares y algunos

no exclusivamente hipofisarios (GATA2, NEUROD1, NR5A1 [SF1], PITX1, ISL1) ^(14,17,18).

Otro proceso al que hasta hace poco se ha prestado una menor atención es el destinado a asegurar la supervivencia y mantenimiento a largo plazo de las poblaciones celulares ya diferenciadas. Se conoce la presencia de células madre en el tejido hipofisario maduro, y parte de la investigación actual se centra en avanzar en el conocimiento de los mecanismos que regulan su función, esencial, por ejemplo, en los fenómenos de reparación y cicatrización del tejido ante diferentes insultos, así como implicados en la génesis tumoral.

Y si importante es el desarrollo de la glándula hipofisaria, igualmente importante es el desarrollo del hipotálamo, centro regulador de la función de la primera. Del proceso de desarrollo embrionario del hipotálamo existe menor grado de conocimiento y una aún mayor dificultad en su estudio. Múltiples factores se han ido descubriendo importantes actores en el desarrollo de esta estructura en modelos murinos, pero hasta el momento sólo ARNT2 parece haberse relacionado con patología hipofisaria en humanos, dentro de un contexto sindrómico con alteraciones visuales, renales y microcefalia ^(15,19).

Todo esto lleva, en definitiva, a tener que considerar una cada vez mayor complejidad en lo que se refiere al desarrollo embrionario de la región hipotálamo-hipófisis, con la participación de multitud de factores siguiendo un delicado equilibrio de relaciones espacio-temporales muy concretas, lo cual apoya la concepción de una gran heterogeneidad en la etiología del HC.

Creciente número de genes implicados en pacientes con HC

Desde la publicación de los primeros pacientes con HC con alguna variante patogénica en *POU1F1*, han sido muchos los genes que se han relacionado con mayor o menor seguridad con fenotipos patológicos humanos con disfunción de la secreción hormonal hipofisaria. En los últimos años, el crecimiento de este grupo de genes ha sido exponencial, de la mano principalmente del avance de las técnicas de secuenciación.

Una reciente revisión en 2016 estableció en ese momento hasta 30 genes distintos relacionados con la DCHH en humanos ⁽¹²⁾, para los cuales se estableció una clasificación según la mayor o menor seguridad en su relación con la etiología del HC, la cual se muestra en la Tabla 1.

Desde entonces, en el último año y medio, diversas publicaciones permiten que al menos otros 10 genes más puedan añadirse a la lista, la mayoría de ellos

genes candidatos obtenidos mediante estudios de secuenciación de exoma completo (*FOXA2*, *ROBO1*, *SLC20A1*, *SLC15A4*, *BMP2*, *DCHS1*, *ROBO2*, *CCDC88C*, *KIF14* y *KAT6A*) ⁽²⁰⁻²⁴⁾.

Tipos de herencia

Dada la gran diversidad de genes implicados, el tipo de herencia muestra gran variabilidad. Fijándonos exclusivamente en los genes sobre los que tenemos mayor conocimiento podemos diferenciar algunos cuya herencia es en principio autosómica dominante (*LHX4*, *OTX2*, *SOX2*), autosómica recesiva (*PROP1*, *LHX3*) o ligada al cromosoma X (*SOX3*). Pero de nuevo es probable que debamos abrir la mente a la posibilidad de fenómenos no del todo explicables por una herencia mendeliana clásica.

Ya hemos mencionado que algunos de los genes más estudiados presentan un patrón de herencia variable, con casos de herencia autosómica dominante y también recesiva (*POU1F1*, *HESX1*).

Por otro lado, la penetrancia incompleta está descrita en las alteraciones de muchos genes. Este fenómeno implica la posibilidad de que un portador de una determinada mutación no exprese un fenotipo patológico. También es frecuente la expresividad variable en muchas mutaciones, es decir, que varios portadores de la misma mutación incluso dentro de una misma familia expresen un fenotipo patológico diverso (ya sea en intensidad o gravedad, y/o con signos y síntomas diversos). Cuando aparecen estos fenómenos de penetrancia incompleta y expresividad variable asumimos que deben de estar participando otros factores (ya sean ambientales o genéticos) de manera simultánea que modulen de manera diferencial el fenotipo del portador de la mutación, ya que dicho fenotipo no queda definitivamente explicado por la presencia de una única alteración genética en un solo gen.

En lo que se refiere a fenómenos ambientales, han sido publicado ya varios estudios realizados en ratones en los que se evidencia la influencia de la exposición prenatal a alcohol u otros teratógenos en la penetrancia y expresividad de las alteraciones en genes de la vía de señalización SHH (sobre todo *GLI2* y *CDON*) ⁽²⁵⁻²⁸⁾. Así, se observa que los ratones con alteraciones en heterocigosis en alguno de estos genes, sometidos a ciertos efectos teratogénicos prenatales, muestran una mayor penetrancia y un fenotipo de mayor gravedad frente a los que portan la misma alteración genética sin ser expuestos al teratógeno y frente a los que son expuestos al teratógeno sin portar la mutación. Por lo tanto, se produce una sumación de efectos genéticos y ambientales que condiciona el fenotipo final.

Desde el punto de vista de otros factores genéticos implicados en estos fenómenos de variabilidad feno-

Tabla 1. Genes relacionados hasta 2016 con el fenotipo de DCHH en humanos, clasificados según el grado de evidencia de dicha relación ⁽¹²⁾

Genes habitualmente analizados y más relevantes hasta el momento en DCHH	Genes relacionados con menor frecuencia con DCHH	Genes implicados que requieren mayor evidencia para demostrar causalidad	Genes candidatos descubiertos por secuenciación de exoma
<i>PROP1</i> <i>POU1F1</i> <i>HESX1</i> <i>LHX3</i> <i>LHX4</i> <i>OTX2</i> <i>GLI2</i> <i>SOX2</i> <i>SOX3</i>	<i>BMP4</i> <i>FGF8</i> <i>FGFR1</i> <i>GLI3</i> <i>IGSF1</i> <i>PAX6</i> <i>PROKR2</i> <i>SHH</i> <i>TCF7L1</i> <i>TGIF1</i> <i>CHD7</i>	<i>HHIP</i> <i>POLR3A</i> <i>RBM28</i> <i>WDR11</i> <i>IFT172</i>	<i>ARNT2</i> <i>ZSWIM6</i> <i>GPR161</i> <i>HNRNPU</i> <i>PNPLA6</i> <i>CDON</i>

típica tenemos que hablar de la posibilidad de una etiología digénica, oligogénica o incluso poligénica en el HC. De esta forma, la presencia de diversas variantes en distintos genes en un mismo paciente podría explicar dicha modulación del fenotipo. Este fenómeno, claramente establecido y aceptado en un porcentaje importante de pacientes con hipogonadismo hipogonadotropo ⁽²⁹⁾, aparece ya en varias publicaciones también en relación con el HC ^(24,30,31). Este mismo fenómeno lo viene observando igualmente nuestro grupo de trabajo, tal y como se ha venido presentando en las dos últimas ediciones de este congreso.

Interrelación/solapamiento con otras patologías:

Como hemos comentado al principio, en este trabajo hemos evitado centrarnos en hablar de las deficiencias aisladas de un solo eje hipofisario, pero inevitablemente debemos mencionar que, con cada vez mayor evidencia, existe relación y solapamiento de la DCHH con los fenómenos de deficiencia aislada.

La deficiencia aislada de GH (DAGH) es especialmente relevante. Así, sabemos ya que muchas DCHH inicialmente pueden expresarse de manera exclusiva en forma de una DAGH. Se ha publicado que hasta la mitad de los niños con DAGH evolucionará a una DCHH en un periodo de 5 años ⁽³²⁾, y ya hemos mencionado la posibilidad de aparición de nuevas deficiencias incluso en la edad adulta, lo que refuerza la importancia del seguimiento de por vida de estos pacientes ⁽³³⁾. En muchos de los genes mencionados implicados en la DCHH se han descrito pacientes con DAGH como único fenotipo endocrino (*POU1F1*, *HESX1*, *OTX2*, *GLI2*, *SOX3*, *PROKR2*, *FGF8*, *GPR161*) ⁽¹²⁾.

El hipogonadismo hipogonadotropo es la otra deficiencia aislada con especial relación con la DCHH.

Así, un grupo de genes que inicialmente se habían relacionado exclusivamente con la etiología del hipogonadismo hipogonadotropo con o sin anosmia, se han demostrado con posterioridad también relacionados con la DCHH (*FGF8*, *FGFR1*, *PROKR2*, *CHD7*) ^(12,34).

Sobre la interrelación entre la DCHH y el hipotiroidismo central aislado tenemos menos ejemplos. Uno de especial relevancia lo constituyen las alteraciones de *IGFS1*, de herencia ligada al cromosoma X, las cuales se han descrito relacionadas con un fenotipo de deficiencia de TSH y macroorquidismo ⁽³⁵⁾. Pero si bien se trata en principio de una forma de hipotiroidismo aislado desde el punto de vista hipofisario (salvando el aumento de FSH que también caracteriza al cuadro clínico), se ha descrito también la presencia asociada de deficiencia de prolactina y deficiencia parcial de GH en algunos pacientes, aunque esta última parece no mantenerse en la reevaluación de la mayoría de los pacientes tras alcanzar la talla adulta ⁽³⁶⁾.

El otro gran grupo de patología con el que parece existir una estrecha relación clínica y genética lo constituyen las anomalías cerebrales de línea media.

Desde hace mucho conocemos la displasia septo-óptica, patología cuyo diagnóstico es clínico (con las limitaciones intrínsecas a este hecho) y se basa en la presencia de 2 de los 3 criterios clásicos (hipoplasia/ aplasia de nervios ópticos, anomalías de línea media fundamentalmente agenesia de septum pellucidum o de cuerpo calloso, y alteración hipofisaria). Genes como *HESX1*, *SOX2*, *OTX2* y *FGF8* se han relacionado con su etiología. Pero ya vimos la escasa especificidad de las alteraciones de *HESX1*, las cuales también aparecen en pacientes con DCHH y DAGH sin anomalías oculares. Las anomalías en *SOX2* y *OTX2* suelen cursar con fenotipos oculares más graves, aunque existen excepciones.

En el extremo de mayor gravedad de las alteraciones de línea media está la holoprosencefalía. Varios genes relacionados con su etiología (*SHH, CDON, GLI2, HHIP, TGIF1, FGF8*) que participan en vías de señalización con importante implicación en la adecuada conformación de la línea media, parecen estar también relacionados con la etiología del HC^(12,17,37). En la mayoría de estos genes los pacientes con fenotipo de HC sin holoprosencefalía son escasos, pero un caso especial lo constituye *GLI2*. De hecho, aunque *GLI2* se incluyó inicialmente en el grupo de genes claramente implicados en la holoprosencefalía, cada vez hay mayor evidencia de que el fenotipo patológico sin holoprosencefalía es incluso más frecuente. Dicho fenotipo, que presenta una penetrancia incompleta y una expresividad muy variable suele incluir una combinación variable de HC, polidactilia, síndrome del tallo interrumpido y otras anomalías menores de línea media como labio leporino o fisura palatina. Es uno de los genes en los que con mayor frecuencia se encuentran variantes patogénicas o probablemente patogénicas en pacientes con hipopituitarismo, y en los que se comienza a dar un mayor papel en una posible etiología multigénica⁽²⁴⁾. Este mismo hecho también fue comunicado en base a nuestra experiencia por nuestro grupo en la pasada edición de este congreso. *FGF8*, gen clásicamente implicado en la etiología del hipogonadismo hipogonadotropo, parece estar implicado también en casos de holoprosencefalía, displasia septoóptica e hipopituitarismo. Esto, junto con todo lo anteriormente mencionado, apoya la posibilidad de que este solapamiento clínico y genético de las anomalías de línea media justifique la concepción de un espectro continuo de patología, con las formas más severas de holoprosencefalía en el extremo de mayor gravedad, pasando por la displasia septo-óptica y el síndrome del tallo interrumpido, hasta las anomalías hipofisarias aisladas en el extremo opuesto.

Forma de estudio

Durante muchos años, el estudio genético que se ha venido realizando en los casos de HC ha sido a través de una aproximación gen a gen mediante secuenciación Sanger del pequeño grupo de genes clásicamente implicados. Así, tras un estudio del fenotipo se elige el gen más probablemente implicado y éste es secuenciado (ya sea sólo las regiones con mayor frecuencia de mutaciones o el gen completo en un escalón posterior si no se encuentran hallazgos significativos). Si no se obtienen resultados, se pasa al siguiente gen con aparente mayor probabilidad de implicación. Este proceso, además de ser significativamente lento y costoso, como ya hemos visto, en la inmensísima mayoría de los casos, resulta infructuoso en hallar una etiología genética.

Esto resulta lógico de entender, a tenor de lo mostrado a lo largo de este trabajo, y conociendo ya la gran complejidad que reviste la etiología del HC.

Por ello, la aproximación de estudio más correcta en el momento actual, teniendo en cuenta la heterogeneidad en esta patología y la evolución de las técnicas de estudio genético, debería ser la secuenciación de nueva generación (NGS – Next Generation Sequencing) o secuenciación masiva. En este tipo de estudio genético podemos secuenciar de manera simultánea un gran número de genes en un solo ensayo, reduciendo costes y aumentando la tasa de diagnósticos. Por otro lado, resulta prácticamente la única forma de estudio posible en casos en los que haya varios genes implicados con alteración de manera simultánea^(24,30).

Dentro de las técnicas de secuenciación masiva, y dependiendo del objetivo, podremos recurrir a diferentes formas de estudio según la cantidad de material genético que pretendamos evaluar. Mediante los paneles de genes sólo se secuencia un listado de genes seleccionados en función de la patología de estudio. La secuenciación de exoma completo implica el estudio de la secuencia de todas las regiones exónicas o codificantes presentes en el genoma humano. Mediante el estudio del genoma completo se secuenciará todo el genoma, incluyendo las regiones codificantes y no codificantes. Si bien puede parecer tentador en principio elegir la técnica de estudio que mayor cantidad de ADN analice para aumentar la rentabilidad diagnóstica, existen razones que desmienten que, a día de hoy, ese planteamiento sea el más correcto. Por un lado, aunque la tendencia general sea hacia un abaratamiento progresivo de los costes, de momento, cuanto mayor sea la cantidad de material genético a estudiar, mayor es el coste del ensayo. Por otro lado, en los estudios de secuenciación masiva existen regiones que no se secuencian adecuadamente. Esto hace que en los estudios de exoma y genoma completo puedan existir problemas para que se secuencien correctamente algunas de las regiones que podríamos considerar más importantes según la patología, efecto que se minimiza al utilizar paneles de genes. Por otro lado, si el objetivo es investigar a un paciente bien caracterizado clínicamente al que no se le encuentra una etiología genética tras el estudio de un panel con los genes de conocida implicación en la patología, será necesario un estudio de exoma completo para buscar algún gen que no haya sido relacionado hasta el momento con dicho fenotipo patológico.

Una de las mayores dificultades en la práctica clínica con las técnicas de secuenciación masiva reside en que, invariablemente, siempre se obtendrán multitud de variantes sin implicación patológica, reflejo de la variabilidad genética interindividual. Resulta fundamental asumir esta realidad, siendo críticos con los resultados de este tipo de estudio. El hallazgo de una variante poco común en un gen no implica necesariamente que esa variante sea la causa del fenotipo pa-

tológico. Por ello sigue siendo esencial una cuidada y detallada caracterización clínica de los pacientes que ayude, junto con la adecuada ponderación de factores como la frecuencia de dicha variante en la población, la afectación de dominios fundamentales para la función de la proteína, la descripción previa de la variante en la literatura asociada al fenotipo, la segregación del fenotipo y el genotipo en los familiares, la predicción de patogenicidad mediante herramientas bioinformáticas, los estudios funcionales, etc. a concluir la patogenicidad, la probable patogenicidad, la probable benignidad o la benignidad de cada variante encontrada. Muchas variantes, las que no cumplen criterios para pertenecer a las categorías de benignidad o patogenicidad mencionadas, se considerarán variantes de significado incierto (variant of uncertain significance – VUS) ⁽³⁸⁾.

Por otro lado, la presencia de un espectro tan variable y complejo de herencia, con la posibilidad de una herencia multifactorial, variantes de significado incierto, etc. dificultará en gran medida un eventual consejo genético y obligará a realizar estudios familiares para determinar los patrones de segregación de las distintas variantes relevantes identificadas en los pacientes índices mediante la inclusión en el estudio de sus progenitores.

Debemos recordar que, si bien la tasa de diagnóstico genético se ha incrementado considerablemente gracias a las técnicas de secuenciación masiva, ésta sigue sin acercarse de manera significativa al 100% de los casos, lo cual realza la probable importancia de factores ambientales como copartícipes en el proceso de la génesis del HC y la más que probable implicación de otros genes, de momento desconocidos, como así lo sugieren los muy recientes estudios de otros autores ^(22,24).

Conclusión

El desarrollo embrionario de la región hipotálamo-hipofisaria reviste una enorme complejidad, con participación de multitud de factores siguiendo un equilibrio muy delicado. Dicha complejidad concuerda con la gran cantidad de genes que progresivamente se van publicando cuya alteración podría relacionarse con un fenotipo hipofisario patológico con deficiencia de secreción hormonal. Por otro lado y de manera paralela, el espectro fenotípico del HC resulta marcadamente heterogéneo, con casos de hiposecreción hormonal aislada, casos asociados a fenotipos sindrómicos complejos y variados, casos de disfunción progresiva de distintos ejes... Asimismo, en muchos casos se describen fenómenos de herencia no mendeliana, con portadores asintomáticos y expresividad variable de una misma alteración genética, lo que unido al resultado de algunos estudios recientes sugiere un papel probablemente relevante de una etiología multigénica.

Por todo ello, la aproximación más adecuada al estudio de la etiología genética del HC en el momento actual debería ser a través de estudios de secuenciación masiva. Las dificultades intrínsecas al análisis de los resultados de este tipo de estudios deben aumentar nuestra prudencia a la hora de concluir la posible patogenicidad de los hallazgos, así como a la hora de abordar un posible consejo genético.

Referencias Bibliográficas

1. Regal M, Páramo C, Sierra SM, García-Mayor R V. Prevalence and incidence of hypopituitarism in an adult Caucasian population in northwestern Spain. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001 Dec;155(6):735–40.
2. De Rienzo F, Mellone S, Bellone S, Babu D, Fusco I, Prodam F, et al. Frequency of genetic defects in combined pituitary hormone deficiency: a systematic review and analysis of a multicentre Italian cohort. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Dec;183(6):849–60.
3. Fritez N, Sobrier M-L, Iraqi H, Vié-Luton M-P, Netchine I, El Annas A, et al. Molecular screening of a large cohort of Moroccan patients with congenital hypopituitarism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Jun;182(6):876–84.
4. de Graaff LCG, Argente J, Veenma DCM, Drent ML, Uitterlinden AG, Hokken-Koelega ACS. PROP1, HESX1, POU1F1, LHX3 and LHX4 Mutation and Deletion Screening and GH1 P89L and IVS3+1/+2 Mutation Screening in a Dutch Nationwide Cohort of Patients with Combined Pituitary Hormone Deficiency. *Horm Res Paediatr*. 2010;73(5):363–71.
5. McLennan K, Jeske Y, Cotterill A, Cowley D, Penfold J, Jones T, et al. Combined pituitary hormone deficiency in Australian children: clinical and genetic correlates. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003 Jun;158(6):785–94.
6. Castinetti F, Reynaud R, Quentien M-H, Jullien N, Marquant E, Rochette C, et al. Combined pituitary hormone deficiency: current and future status. *J Endocrinol Invest*. 2015 Jan 9;38(1):1–12.
7. Brue T, Saveanu A, Jullien N, Fauquier T, Castinetti F, Enjalbert A, et al. Lessons from monogenic causes of growth hormone deficiency. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2017 Jun;178(2):77–9.
8. Guitelman M, García Basavilbaso N, Vitale M, Chervin A, Katz D, Miragaya K, et al. Primary empty sella (PES): a review of 175 cases. *Pituitary*. 2013 Jun 9;16(2):270–4.
9. Ziemnicka K, Budny B, Drobnik K, Baszko-Błaszyk D, Stajgis M, Katulska K, et al. Two coexisting heterozygous frameshift mutations in PROP1 are res-

- ponsible for a different phenotype of combined pituitary hormone deficiency. *J Appl Genet.* 2016 Aug 25;57(3):373–81.
10. Reynaud R, Barlier A, Vallette-Kasic S, Saveanu A, Guillet M-P, Simonin G, et al. An uncommon phenotype with familial central hypogonadism caused by a novel PROP1 gene mutant truncated in the transactivation domain. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Aug;90(8):4880–7.
 11. 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 May;67(1):58–61.
 12. Fang Q, George AS, Brinkmeier ML, Mortensen AH, Gergics P, Cheung LYM, et al. Genetics of Combined Pituitary Hormone Deficiency: Roadmap into the Genome Era. *Endocr Rev.* 2016 Dec;37(6):636–75.
 13. Gregory LC, Humayun KN, Turton JPG, McCabe MJ, Rhodes SJ, Dattani MT. Novel Lethal Form of Congenital Hypopituitarism Associated With the First Recessive LHX4 Mutation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Jun;100(6):2158–64.
 14. Davis SW, Ellsworth BS, Pérez Millan MI, Gergics P, Schade V, Foyouzi N, et al. Pituitary Gland Development and Disease: from stem cell to hormone production. In: Current topics in developmental biology. 2013. p. 1–47.
 15. McCabe MJ, Dattani MT. Genetic aspects of hypothalamic and pituitary gland development. In: Handbook of clinical neurology. 2014. p. 3–15.
 16. Kelberman D, Rizzoti K, Lovell-Badge R, Robinson ICAF, Dattani MT. Genetic Regulation of Pituitary Gland Development in Human and Mouse. *Endocr Rev.* 2009 Dec;30(7):790–829.
 17. Castinetti F, Reynaud R, Saveanu A, Jullien N, Quentien MH, Rochette C, et al. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: An update in the genetic aetiologies of combined pituitary hormone deficiency. *Eur J Endocrinol.* 2016 Jun;174(6):R239–47.
 18. Larkin S, Ansorge O. Development And Microscopic Anatomy Of The Pituitary Gland. *Endotext.* 2017.
 19. Webb EA, AlMutair A, Kelberman D, Bacchelli C, Chanudet E, Lescai F, et al. ARNT2 mutation causes hypopituitarism, post-natal microcephaly, visual and renal anomalies. *Brain.* 2013 Oct;136(10):3096–105.
 20. Giri D, Vignola ML, Gualtieri A, Scagliotti V, McNamara P, Peak M, et al. Novel FOXA2 mutation causes Hyperinsulinism, Hypopituitarism with Craniofacial and Endoderm-derived organ abnormalities. *Hum Mol Genet.* 2017 Nov 15;26(22):4315–26.
 21. Bashamboo A, Bignon-Topalovic J, Moussi N, McElreavey K, Brauner R. Mutations in the Human ROBO1 Gene in Pituitary Stalk Interruption Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017 Jul 1;102(7):2401–6.
 22. Simm F, Griesbeck A, Choukair D, Weiß B, Paramasivam N, Klammt J, et al. Identification of SLC20A1 and SLC15A4 among other genes as potential risk factors for combined pituitary hormone deficiency. *Genet Med.* 2017 Oct 26;
 23. Parsons SJH, Wright NB, Burkitt-Wright E, Skae MS, Murray PG. A heterozygous microdeletion of 20p12.2-3 encompassing PROKR2 and BMP2 in a patient with congenital hypopituitarism and growth hormone deficiency. *Am J Med Genet Part A.* 2017 Aug;173(8):2261–7.
 24. Zwaveling-Soonawala N, Alders M, Jongejan A, Kovačić L, Duijkers FA, Maas SM, et al. Clues for Polygenic Inheritance of Pituitary Stalk Interruption Syndrome From Exome Sequencing in 20 Patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Feb 1;103(2):415–28.
 25. Fish EW, Murdaugh LB, Sulik KK, Williams KP, Parnell SE. Genetic vulnerabilities to prenatal alcohol exposure: Limb defects in sonic hedgehog and GLI2 heterozygous mice. *Birth Defects Res.* 2017 Jul 3;109(11):860–5.
 26. Kahn BM, Corman TS, Lovelace K, Hong M, Krauss RS, Epstein DJ. Prenatal ethanol exposure in mice phenocopies Cdon mutation by impeding Shh function in the etiology of optic nerve hypoplasia. *Dis Model Mech.* 2017 Jan 1;10(1):29–37.
 27. Heyne GW, Everson JL, Ansen-Wilson LJ, Melberg CG, Fink DM, Parins KF, et al. Gli2 gene-environment interactions contribute to the etiological complexity of holoprosencephaly: evidence from a mouse model. *Dis Model Mech.* 2016 Nov 1;9(11):1307–15.
 28. Kietzman HW, Everson JL, Sulik KK, Lipinski RJ. The teratogenic effects of prenatal ethanol exposure are exacerbated by Sonic Hedgehog or GLI2 haploinsufficiency in the mouse. Kanellopoulos-Langevin C, editor. *PLoS One.* 2014 Feb 19;9(2):e89448.
 29. Boehm U, Bouloux P-M, Dattani MT, de Roux N, Dodé C, Dunkel L, et al. Expert consensus document: European Consensus Statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism--pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Sep 21;11(9):547–64.
 30. Guo Q-H, Wang C-Z, Wu Z-Q, Qin Y, Han B-Y, Wang A-P, et al. Multi-genic pattern found in rare type

- of hypopituitarism: a whole-exome sequencing study of Han Chinese with pituitary stalk interruption syndrome. *J Cell Mol Med.* 2017 Dec;21(12):3626–32.
31. McCormack SE, Li D, Kim YJ, Lee JY, Kim S-H, Rapaport R, et al. Digenic Inheritance of PROKR2 and WDR11 Mutations in Pituitary Stalk Interruption Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017 Jul 1;102(7):2501–7.
32. Otto AP, França MM, Correa FA, Costalonga EF, Leite CC, Mendonça BB, et al. Frequent development of combined pituitary hormone deficiency in patients initially diagnosed as isolated growth hormone deficiency: a long term follow-up of patients from a single center. *Pituitary.* 2015 Aug 15;18(4):561–7.
33. Cerbone M, Dattani MT. Progression from isolated growth hormone deficiency to combined pituitary hormone deficiency. *Growth Horm IGF Res.* 2017 Dec;37:19–25.
34. Raivio T, Avbelj M, McCabe MJ, Romero CJ, Dwyer A a, Tommiska J, et al. Genetic overlap in Kallmann syndrome, combined pituitary hormone deficiency, and septo-optic dysplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Apr;97(4):E694-9.
35. García M, Barrio R, García-Lavandeira M, García-Rendueles AR, Escudero A, Díaz-Rodríguez E, et al. The syndrome of central hypothyroidism and macroorchidism: IGSF1 controls TRHR and FSHB expression by differential modulation of pituitary TGF β and Activin pathways. *Sci Rep.* 2017 Mar 6;7:42937.
36. Joustra SD, Roelfsema F, Endert E, Ballieux BEPB, van Trotsenburg ASP, Fliers E, et al. Pituitary Hormone Secretion Profiles in IGSF1 Deficiency Syndrome. *Neuroendocrinology.* 2016;103(3–4):408–16.
37. McCabe MJ, Gaston-Massuet C, Tziaferi V, Gregory LC, Alatzoglou KS, Signore M, et al. Novel FGF8 mutations associated with recessive holoprosencephaly, craniofacial defects, and hypothalamo-pituitary dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Oct;96(10):E1709-18.
38. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015 May 5;17(5):405–23.