

Regulación de la organogénesis por la vía Hedgehog

*If a man empties his purse into his head, no man can take it away from him.
An investment in knowledge always pays the best interest.*

Benjamin Franklin

En este número de la revista, Juanes y col. comunican dos mutaciones (p.Arg231Gln y p.Arg226Leu) en el gen *GLI2* como causa en un enfermo con déficit aislado de hormona de crecimiento y, en otro, con déficit múltiple de hormonas hipofisarias. En el artículo se discute la participación de la vía afectada en los fenotipos encontrados, haciendo hincapié en las consecuencias de mutaciones en *GLI2*¹. Es de destacar que los dos afectados presentan anomalías morfológicas hipofisarias con otras malformaciones tales como alteraciones de la línea media facial y defectos en la maduración de los genitales, lo que invita a integrar estas características y proponer la participación de una organela como el cilio primario como intermediaria en la transducción de las señales intracelulares afectadas².

El desarrollo de las estructuras embrionarias está sujeto a diferentes vías de señalización que responden a un conjunto de estímulos físicos, químicos y hormonales. La vía Hedgehog es primordial en la organogénesis y el modelado de dichas estructuras, en especial del eje caudo-cefálico y tubo neural, debido a las diversas malformaciones que ocasionan alteraciones en su función^{3, 4}. El gen que codifica para Hedgehog fue identificado por estudios de mutagénesis en la mosca *Drosophila*, donde los embriones mutantes mostraban defectos en la cutícula y su nombre "erizo" deriva del patrón en puntas desorganizadas de los dentículos del exoesqueleto. En vertebrados, la vía está constituida por los ligandos Sonic (Shh), Desert e Indian Hedgehog, que cuando se unen al receptor de membrana Patched, este libera a la proteína Smoothed para que migre hacia el cilio primario (organela sensora de diferentes estímulos extracelulares que protruye sobre la membrana apical de casi todas las células somáticas, que detallaremos más adelante) y desencadene las reacciones que culminan en la activación de sus efectores Gli, familia a la que pertenece el producto del gen mutado en el artículo comentado¹. Las proteínas Gli son factores de transcripción que se desplazan desde el cilio primario hasta el núcleo para activar o reprimir la transcripción de sus genes blanco³.

La organogénesis de la hipófisis comienza con la invaginación de la placoda pituitaria anterior dentro del ectodermo oral para formar la bolsa de Rathke, la cual dará origen a la hipófisis anterior. En la quinta semana de vida embrionaria, la región dorsal de esta estructura hace contacto con una región del neuroectodermo diencefálico, el infundíbulo, que dará origen a la hipófisis posterior. La interacción ectodermo oral-neuroectodermo es necesaria para la diferenciación de los distintos tipos de células endocrinas. Estos tipos están definidos por las hormonas que producen, en hipófisis anterior se encuentran las corticotropas (secretoras de adrenocorticotrofina), somatotropas (hormona de crecimiento), lactotropas (prolactina), tirotropas (tirotrófina) y gonadotropas (hormona luteinizante y hormona estimulante del folículo). El ligando Shh se expresa en todo el diencefalo ventral y el ectodermo oral, y la caída abrupta de su expresión en el ectodermo oral inicia la invaginación de placoda pituitaria y el comienzo de la formación de la hipófisis. El receptor Patched se expresa en toda la bolsa de Rathke, lo que permite que sus células respondan a las señales de Hedgehog. Diversos experimentos en modelos animales y células en cultivo muestran que la señalización de Hedgehog se requiere para el desarrollo pituitario. El bloqueo total o parcial de esta vía en el ectodermo oral y en la bolsa de Rathke resulta en agenesia pituitaria y formación de una bolsa rudimentaria con desarrollo normal del diencefalo ventral. Los individuos con mutaciones en genes de esta vía presentan malformaciones del cráneo y la cara debidas a ausencia

del desarrollo del prosencéfalo embrionario (holoprosencefalia) con agenesia de glándula pituitaria. A la inversa, la sobreexpresión de Shh en la bolsa de Rathke, conduce a hiperplasia pituitaria y aparición prematura de expresión de la hormona luteinizante, lo que indica que Shh promueve la proliferación y la diferenciación de las células que la producen. Estas evidencias indican que Shh podría regular la diferenciación celular de la hipófisis anterior y, parcialmente, la inducción de la proliferación en el ectodermo oral que le da origen durante el desarrollo embrionario^{1, 5}. Los estudios de la hipófisis humana normal adulta sugieren que Shh se expresa casi exclusivamente en las células corticotropas pero no en adenomas secretores de corticotrofina. La estimulación por Shh en la secreción de adrenocorticotrofina se produce por la activación transcripcional de proopiomelanocortina dependiente del factor de transcripción Gli, reforzada por la co-estimulación con hormona liberadora de corticotrofina. A su vez, Shh y corticotrofina ejercen una regulación recíproca, lo que indica que la pérdida de expresión de Shh en la hipófisis adulta podría desempeñar un papel en la formación de tumores⁶. Los ratones deficientes en Shh carecen de hipotálamo y de glándula pituitaria y, en otros modelos animales, la vía de señalización Hedgehog promueve el desarrollo del hipotálamo dorsal anterior e inhibe el desarrollo del hipotálamo ventral posterior, e indica la importancia de Hedgehog en el desarrollo hipotalámico, que puede exacerbar los defectos hipofisarios y, por ende, de los órganos endocrinos bajo su control³.

El cilio primario (no móvil) contiene nueve pares de microtúbulos (9+0) en su axonema, mientras que el secundario o flagelo (móvil) contiene un par central adicional (9+2) conectados a un motor dineína para generar movimiento. En el cerebro, los cilios móviles están restringidos a las células ependimales que revisten los ventrículos y algunas células del plexo coroideo, mientras que los cilios primarios se encuentran en prácticamente todas las células incluyendo neuronas, astrocitos y las progenitoras⁷. El papel del cilio primario es bien conocido en la transducción de estímulos de las células sensoriales que intervienen en la audición, visión, el gusto y el olfato. Sin embargo, la primera evidencia del cilio primario en el sistema nervioso de los vertebrados fue una sorpresa que se interpretó como un remanente de la evolución, un vestigio de flagelos móviles necesarios para el movimiento de los organismos unicelulares primitivos. Su función en el desarrollo del sistema nervioso se considera esencial, participa en la transducción de vías de señalización como la del Hedgehog. No fue hasta que se localizó a los productos proteicos de los genes mutados en la hidrocefalia y en trastornos cerebelosos que se determinó que mutaciones en los genes flagelares alteraban la señalización de Hedgehog y se reconoció al cilio primario como la organela partícipe obligado en la formación de múltiples estructuras del sistema nervioso central. Mediante esta y otras vías, el cilio primario interviene en la homeostasis de las células progenitoras y en la regeneración en el sistema nervioso adulto, regulando el ciclo celular para decidir su destino⁷.

Las afecciones del cilio primario son llamadas ciliopatías, una nueva clase de enfermedades y síndromes que comprende variados desórdenes genéticos^{2, 7}. Se caracterizan por la heterogeneidad de sus características clínicas, con mutaciones que alteran la función ciliar y con fenotipos de desarrollo anormal, degenerativos o ambos. El estudio de las ciliopatías permite comprender las principales funciones del cilio primario. Entre las características clínicas más comunes o distintivas en estos desórdenes se encuentran mortalidad temprana (incluso intraútero), polidactilia, defectos cardíacos, riñones poliquísticos, fibrosis hepática, obesidad y defectos del sistema nervioso. Aunque la mayoría de los subtipos específicos puede mostrar afección en cualquiera de estos órganos, cada uno tiene una presentación clásica que permite su diagnóstico diferencial. En conjunto, estas condiciones implican alteraciones en casi todos los órganos y evidencian la importancia general del cilio primario en el desarrollo y la homeostasis de cada tejido^{7, 8}.

Si bien se conoce que mutaciones en más de 50 genes causan ciliopatías, poco se sabe acerca de cuáles de las vías de señalización están afectadas específicamente en cada tejido u órgano en cada una de ellas. La caracterización fenotípica de los trastornos, la identificación de esos genes y su función en cada individuo proporcionan nuevos conocimientos que enlazan la función ciliar y diferentes vías de señalización, claves en degeneración retiniana, anosmia y malformaciones del tubo neural y del cerebelo. En la hipófisis, el cilio primario parece ser protagonista en la traducción de señales que involucran

las vías dopaminérgica y somatostatinérgica, modulando diferencialmente la respuesta en los distintos lóbulos⁹. En conjunto con lo mencionado respecto a la vía Hedgehog, la integridad funcional del cilio primario pareciera ser crítica en el desarrollo y diferenciación de las diferentes partes de la hipófisis.

Otro aspecto interesante de la modulación que ejerce el cilio primario sobre la respuesta endocrina de la glándula hipofisaria es que difiere según el estatus sexual y género⁹. Esto nos lleva a considerar los defectos en la maduración de los genitales (micropene y bajo volumen testicular) que Juanes y col. hallaron en el varón con mutación en *GLI2*¹. Las anomalías congénitas del pene son defectos de nacimiento frecuentes en humanos. Se postulan como agentes causales a las alteraciones genéticas y diferentes factores ambientales (tales como químicos estrogénicos y anti-androgénicos); sin embargo, poco se sabe sobre cuándo o cómo estas actúan en las funciones específicas de los tejidos diana. El desarrollo del pene en la fase neonatal es controlado por el equilibrio entre la señalización androgénica y estrogénica, y la inhibición de la primera o estimulación de la segunda pueden inducir la formación de un micropene debido a que, en el tubérculo genital, tienen efectos opuestos sobre la división y la apoptosis celular, por ejercer acciones antagónicas sobre la regulación de vías como las de Hedgehog, factor de crecimiento de fibroblastos y Wnt. En la vía Hedgehog, se ha identificado que el ligando Indian hedgehog es un blanco de los andrógenos en los genitales externos y que su inhibición impide la masculinización del pene¹⁰. En el testículo en desarrollo el cilio primario se encuentra en las células de los cordones testiculares, que darán origen a los túbulos seminíferos, y en las células de Sertoli en el intersticio de los testículos, mas no en células germinales. El cilio primario que poseen las células de Sertoli a medida que avanza la organogénesis, va desapareciendo¹¹. El cilio primario, directa o indirectamente, es necesario para el normal desarrollo de los genitales externos y del tejido testicular.

En resumen, los resultados del trabajo de Juanes y col. refuerzan la importancia de la vía Hedgehog en el desarrollo de varios tejidos, desarrollo y función de diversos órganos, y aporta evidencia sobre la posible localización de estos procesos en el cilio primario. Asimismo, contribuye al conocimiento genético sobre la diversidad de las presentaciones clínicas de estos trastornos endocrinos y abre interrogantes que, eventualmente, podrían proponer nuevos blancos terapéuticos.

Pablo J. Azurmendi

Laboratorio de Nefrología Experimental y Bioquímica Molecular,
Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Buenos Aires, Argentina
e-mail: azurmendi.pablo@lanari.fmed.uba.ar

- Juanes M, Di Palma I, Ciaccio M, et al. Two novel heterozygous missense variations within the *GLI2* gene in two unrelated Argentine patients. *Medicina (B Aires)*; 2016; 76: 213-8.
- Martin RS, Azurmendi PJ. Todo ocurrió por un pelito. *Medicina (B Aires)* 2008; 68: 390-2.
- King PJ, Guasti L, Laufer E. Hedgehog signalling in endocrine development and disease. *J Endocrinol* 2008; 198: 439-50.
- Mazzuocolo LD, Martínez MF, Muchnik C, Azurmendi PJ, Stengel F. Síndrome de carcinoma basocelular nevoide con agenesia de cuerpo calloso, mutación en *PTCH1* y ausencia de carcinoma basocelular. *Medicina (B Aires)* 2014; 74: 307-10.
- Treier M, O'Connell S, Gleiberman A, et al. Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development* 2001; 128: 377-86.
- Vila G, Theodoropoulou M, Stalla J, et al. Expression and function of sonic hedgehog pathway components in pituitary adenomas: evidence for a direct role in hormone secretion and cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6687-94.
- Guemez-Gamboa A, Coufal NG, Gleeson JG. Primary cilia in the developing and mature brain. *Neuron* 2014; 82: 511-21.
- Goetz SC, Anderson KV. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 331-44.
- Iwanaga T, Hozumi Y, Takahashi-Iwanaga H. Immunohistochemical demonstration of dopamine receptor D2R in the primary cilia of the mouse pituitary gland. *Biomed Res* 2011; 32: 225-35.
- Zheng Z, Armfield BA, Cohn MJ. Timing of androgen receptor disruption and estrogen exposure underlies a spectrum of congenital penile anomalies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112: E7194-203.
- Ou Y, Dores C, Rodriguez-Sosa JR, van der Hoorn FA, Dobrinski I. Primary cilia in the developing pig testis. *Cell Tissue Res* 2014; 358: 597-605.