

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo do Centro

Hospitalar da Universidade de Coimbra – 6º piso



TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA A ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE  
MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DO MESTRADO INTEGRADO EM  
MEDICINA

**INÊS LENCASTRE MOURA FERRAZ**

Data de Nascimento: 02.04.1990

Naturalidade: Porto

**SÍNDROME DE KALLMANN**

Artigo de Revisão

**Área Científica de Endocrinologia**

Trabalho realizado sobre a orientação de:

Dr.<sup>a</sup> Margarida Bastos

Fevereiro/2014

## **Glossário**

SK – Kallmann Syndrome

IHH – Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism

HH – Hypogonadotropic Hypogonadism

GnRH – Gonadotropin-releasing hormone

FSH – Follicle-stimulating hormone

LH - Luteinizing hormone

FGF – Fibroblast growing factor

UPSTI – University of Pennsylvania Smell Identification Test

MPA – Medial preoptic area

OVLT – Organum vasculosum of the lamina terminalis

FGFR-1 – Fibroblast growing factor receptor 1

HSPGs - Cell surface- bound heparan sulfate proteoglycans

HS – Heparin sulfate

MAPK - Mitogen activated protein cinase

CDH7 – Chromodomain-helicase-binding protein 7

CHARGE – Eye coloboma, Heart defects, Choanal atresia, Retardation of growth and development, Genito-urinary anomalies and Ear abnormalities

NELF – Human nasal embryonic LHRH factor

Sema3A – Semaforin 3

HESX1 – Homeobox expressed in embryonic stem cells 1

HS6ST1 - Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 1

RSV – Rare sequence variant; alteração na sequência de DNA que ocorre em menos de 1% na população

GH – Growth hormone

SOD – Septo-optic dysplasia

FDA – Food and drug administracion

WS – Waardenburg syndrome

OECs - Olfactory ensheathing cells

## **Resumo**

O Síndrome de Kallmann caracteriza-se por um atraso pubertário devido a deficiência de GnRH – hipogonadismo hipogonodotrófico – com a associação de anosmia. Constitui uma doença rara genética com várias formas hereditárias, onde mutações encontradas em 11 genes, que codificam proteínas responsáveis pelo desenvolvimento neuronal, provocam a ausência de desenvolvimento do bulbo e tracto olfativo assim como migração de neurónios GnRH até ao hipotálamo. O fenótipo pode ser muito variável, dependendo dos genes implicados. O diagnóstico deve ser realizado atempadamente a fim de iniciar o tratamento de reposição hormonal e prevenir as consequências físicas e psicológicas do atraso pubertário. Este trabalho inclui uma revisão sobre a história, epidemiologia, clínica, diagnóstico, fisiopatologia e tratamento desta doença.

## **Abstract**

Kallmann syndrome is characterized by delayed puberty due to GnRH deficiency – hypogonadotropic hypogonadism – with anosmia. It constitutes a rare genetic disease with many forms of inheritance. Mutations in 11 genes responsible for the neuronal development have been found. These mutated genes codify altered proteins, which results in the absence of olfactory tract and bulb as also the growth and migration of the GnRH neurons. The phenotype is very variable and in each case it depends on mutated genes. The diagnosis should not be delayed in order to start the treatment with hormonal replacement and to prevent the physics and psychological consequents of delayed puberty. This work includes a revision about the history, epidemiology, clinics, diagnosis, pathophysiology and treatment of this disease.

## Introdução

A puberdade é considerada como um dos estágios do processo contínuo do crescimento e desenvolvimento, o qual tem início na infância e que se prolonga até ao atingimento da idade reprodutiva. Depois de um intervalo quiescente durante a infância – a pausa juvenil – o hipotálamo aumenta a sua actividade pulsátil no período peripubertário, mesmo antes do aparecimento das primeiras mudanças físicas. Isto leva a um aumento da secreção das gonodotrofinas pituitárias e, consequentemente das hormonas sexuais

produzidas nas gonadas, responsáveis pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários, pelo crescimento e pelo início da puberdade<sup>2</sup>.

Funcionalmente, o atraso pubertário pode ser dividido em distúrbios que afectam a secreção pulsátil de GnRH, a hipófise ou a gonada.<sup>3</sup> O limite superior para o início da puberdade é definido em 14 anos para o sexo masculino e 13 anos para o sexo feminino. Na tabela 1 encontram-se as causas possíveis de atraso do desenvolvimento e puberdade.

O atraso constitucional do crescimento e puberdade (ACCP) constitui uma variante do normal, sendo mais frequente no sexo masculino. A velocidade de crescimento é constante e normal, apesar de se encontrar abaixo do percentil 5. Geralmente existe uma história familiar e a altura final encontra-se abaixo do previsto.

Hipogonadismo hipogonodotrófico (HH) é definido como secreção insuficiente de GnRH, o que consequentemente resulta na deficiência de FSH e LH e que conduz a um atraso da maturação sexual.<sup>3</sup> A severidade do fenótipo é muito variável.

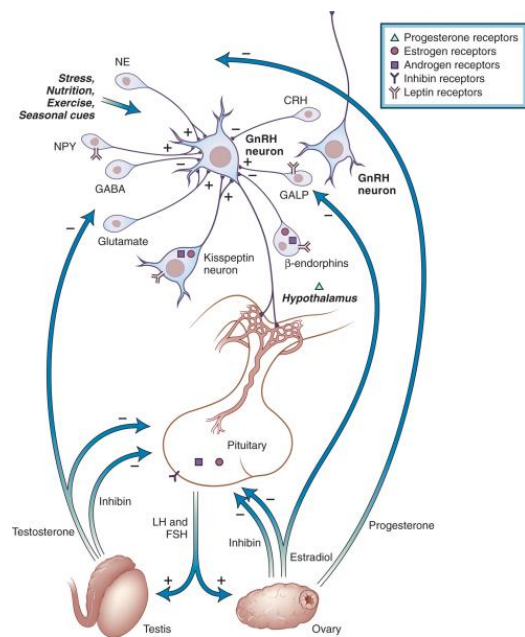


Imagem 1 – Eixo hipotalâmico hipofisário gonadal;<sup>1</sup>

Hipogonadismo Hipergonadotrófico é descrito como uma falência primária gonadal que consequentemente provoca a elevação do nível de gonadotropinas devido à ausência do *feedback* negativo das hormonas sexuais esteróides e inibina. A maioria das causas de hipogonadismo hipergonodotrófico está associada a anormalidades cromossómicas. No entanto, a deficiência gonadal isolada pode estar presente no atraso pubertário, sem outros sinais ou sintomas.<sup>2</sup>

Classificação do atraso pubertário	
<b>Atraso Constitucional do Crescimento e Puberdade</b>	
<b>Hipogonadismo Hipogonodotrófico</b>	
	Doenças do sistema nervoso central
	Doenças congénitas do hipotálamo ou hipófise
	Outras doenças adquiridas
	Infecção
	Trauma
	Tumores
	Irradiação
<b>Defeitos do eixo Hipotalâmico hipofisário</b>	
	Deficiência de gonodotrofinas isoladas
	Síndrome de Kallmann
	Deficiência de GnRH com normosmia
	Deficiência de LH isolada
	Deficiência de FSH isolada
	Deficiência hipofisária múltipla
	Desordens miscelânicas
	Síndrome de Prader-Willi
	Síndrome de Laurence-Moon e Bardet-Biedl
	Doenças crónicas
	Anorexia nervosa
	Actividade física intensa
	Hipotiroidismo

## **Hipogonadismo hipergonodotrófico**

Fenótipo Masculino

Síndrome de Klinefelter

Outras formas de deficiência testicular primária

Defeitos enzimáticos da produção de androgénios

Anorquia ou criptorquidismo

Fenótipo Feminino

Síndrome de Turner

Outras formas de deficiência ovárica primária

Síndrome pseudo-Turner ou Noonan síndrome

XX and XY digenesia gonadal

Tabela 1 – classificação do atraso pubertário;<sup>2</sup>

### **Diagnóstico diferencial**

Os doentes que não iniciam o desenvolvimento sexual por volta dos 13 anos nas raparigas ou 14 anos nos rapazes ou os doentes que não progridem normalmente durante a adolescência devem ser avaliados para a pesquisa de hipogonadismo. A quantidade de doentes diagnosticados antes daquelas idades é muito inferior, porém, alguns doentes e famílias requerem a avaliação antes dos limites de idade.

A história clínica e o exame físico são fundamentais na avaliação de um atraso pubertário. Se ainda permanecerem dúvidas ou não for óbvio, o diagnóstico diferencial começa com a verificação se o nível de gonadotropinas no plasma encontra-se alto devido a deficiência gonadal ou baixo devido a hipogonadismo secundário ou terciário ou ainda atraso constitucional do crescimento e puberdade. A prova de GnRH também pode ser útil no diagnóstico, com a mensuração dos níveis de LH 2 horas após a administração. O desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários geralmente ocorre alguns meses após a conversão de LH pubertal em resposta a GnRH. Porém, este teste pode não ser fidedigno, uma vez que alguns doentes podem apresentar uma resposta positiva à administração de GnRH exógena, sem no entanto produzirem espontaneamente um nível adequado de gonadotropinas

necessárias ao desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Em doentes do sexo feminino com amenorreia, a frequência e amplitude da secreção de gonodotrofinas pode não sofrer alterações para permitir o ciclo menstrual mensal. No sexo masculino, uma concentração de testosterona matinal acima de 20ng/dL indica a probabilidade do início do desenvolvimento pubertário em 6 a 12 meses. Deste modo, também se torna importante a mensuração dos níveis dos esteróides sexuais e de inibina.

O principal diagnóstico diferencial de hipogonadismo hipogonadotrófico é o atraso constitucional do crescimento e puberdade. A observação clínica e a avaliação laboratorial das hormonas sexuais deve ser contínua até aos 18 anos ou até o diagnóstico ser definitivo.

A presença de outros defeitos endocrinológicos ou doenças do sistema nervoso central deve ser imediatamente investigada. Nestes casos, a TAC e a RM podem ser úteis.<sup>2</sup>

## **Materiais e Métodos**

Após escolha do tema e no intuito de iniciar o trabalho dirigi-me à biblioteca do serviço de cirurgia cardio-torácica do Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra a fim de requerer uma pesquisa com o tema: Síndrome de Kallmann. De entre uma lista com inúmeros artigos escolhi aqueles cujo título achei mais adequado ao objetivo do trabalho e que datavam de 2004 a 2013.

Mais tarde, a Dr.<sup>a</sup> Margarida Bastos aconselhou-me a fazer uma pesquisa online nas páginas das várias sociedades de endocrinologia, pediatria, urologia e ginecologia. Aconselhou-me ainda a leitura sobre puberdade na literatura recomendada em endocrinologia, a qual procurei em suporte informático.

Finalmente consultei ainda algumas referências de artigos que tinha lido anteriormente.

Com a informação disponível, reuni várias informações e compilei então este artigo de revisão.



## **Contexto histórico**

A associação de hipogonadismo hipogonodotrófico com anosmia foi inicialmente descrita em 1856 por Aureliano Maestre de San Juan, médico e professor catedrático de anatomia da Faculdade de Medicina de Granada. Esta associação foi citada após a autópsia de um Homem de 40 anos que apresentava ausência de bulbos olfativos e “atrofia congénita” dos testículos e pênis.<sup>4</sup> Maestre de San Juan conseguiu ainda apurar pela irmã, que o seu irmão nunca não tinha percebido os diferentes odores e conseguia permanecer em locais mesmo que o odor fosse intolerável. Porém, e apesar da inédita descoberta desta associação, a publicação de Maestre de San Juan na revista espanhola “EL Siglo Médico” permaneceu esquecida pela literatura médica.

Aproximadamente 80 anos mais tarde, em 1944, o geneticista alemão Franz Kallmann, o qual estudava o carácter hereditário da esquizofrenia e atraso mental, descreveu 3 famílias com 12 indivíduos hipogonodotróficos, dois quais 9 eram portadores de anosmia e dois tinham atraso mental. O geneticista defendia a teoria de que os esquizofrénicos deveriam ser esterilizados, como forma de melhorar a raça humana e aprimorar a sociedade.<sup>4</sup> No entanto a sua teoria foi utilizada pelos Nazis para perseguição e extermínio de esquizofrénicos e outros portadores de distúrbios mentais em campos de concentração, tendo sido o próprio Kallmann, de descendência judaica, obrigado a emigrar para os Estados Unidos para também não ser exterminado. Apesar do desenlace trágico do geneticista, a associação atrás referida recebeu o seu nome na literatura médica, sendo reconhecida como “Síndrome de Kallmann” (SK).

Deste modo, Kallmann demonstrou o carácter genético da doença, a maior prevalência em homens e a sua variabilidade fenotípica.

Na década de 50, o anatomista suíço de Morsier descreveu a doença como ausência ou subdesenvolvimento do bulbo e do tracto olfativo em doentes com hipogonadismo. Anos mais tarde o hipogonadismo foi atribuído a uma deficiência de GnRH.<sup>5</sup>

## **Epidemiologia**

A prevalência da doença no sexo masculino foi estimada em 1:86000. No sexo feminino prevê-se que a prevalência seja 5 vezes mais baixa – 1:40000.<sup>5,6</sup> No entanto, este último número pode estar subestimado, como afirma C. Dodé e J-P Hardelin,<sup>5</sup> uma vez que as raparigas em alguns casos podem apenas apresentar hipogonadismo moderado a acrescentar ao facto de que a amenorreia primária permanece muitas vezes inexplorada. A razão entre o sexo masculino e feminino restritamente nos casos familiares é de 2,5:1 respectivamente.<sup>6</sup>

A síndrome de Kallmann está associada a casos familiares, com transmissão recessiva ligada ao X, autossómica recessiva e autossómica dominante e até mesmo a transmissão digénica ou oligogénica em indivíduos heterozigóticos. Porém, a maioria dos casos são esporádicos. Apesar dos enormes avanços da ciência e genética, os genes até agora conhecidos são responsáveis por apenas 30% dos casos, facto que encaminha para a previsão de que outros genes poderão também ser responsáveis por este distúrbio.<sup>5,7,8</sup> A incidência global das mutações genéticas está deficientemente comentada.<sup>9</sup>

Os doentes com Síndrome de Kallmann podem ter uma vida longa se não apresentarem manifestações associadas como doenças cardíacas congénitas ou neurológicas.<sup>10</sup>

## **Clínica**

Classicamente a síndrome de Kallmann caracteriza-se por hipogonadismo hipogonodotrófico e hiposmia/anosmia.<sup>4,5,7,8,11-14</sup> No entanto esta associação de sintomas pode variar significativamente não só entre indivíduos sem relação parental, como entre indivíduos da mesma família e até mesmo entre gémeos monozigóticos. Foram mesmo descritas em algumas famílias fenótipos típicos e dissociados. Deste modo, o espectro clínico pode variar desde HH a puberdade normal.

Na infância, a síndrome de Kallmann pode ser caracterizada por criptorquidia e micropenis no sexo masculino. Durante a adolescência, a ausência de virilização e ginecomastia nos homens

e a ausência de desenvolvimento mamário na mulher assim como amenorreia primária podem sugerir o diagnóstico. Apesar do atraso na maturação esquelética, a velocidade de crescimento é usualmente normal, com a exceção da ausência do surto rápido de crescimento durante a puberdade.<sup>15</sup>

Na síndrome de Kallmann podem ainda estar presentes outras anormalidades como fenda palatina, palato ogival, agenesia renal unilateral, sincinesia bimanual (movimentos em espelho), defeitos na linha média facial, hipoacusia neurossensorial, nistagmus, ptose congénita, pé cavo, agenesia do corpo caloso, hipodontia, atraso mental e anormalidades cardíacas.<sup>16</sup>

<b>Manifestações não relacionadas com o sistema reprodutor e olfativo</b>
Agenesia renal unilateral
Defeitos linha média
Hipodontia
Hipoacusia neurossensorial
Sincinesia bimanual
Nistagmus
Ptose congénita
Pé cavo
Anormalidades cardíacas

Tabela 2 – Outras manifestações da síndrome de Kallmann;<sup>4,16</sup>

Estas manifestações estão associadas às diferentes formas genéticas da Sk,<sup>4,5,17</sup> uma vez que os genes implicados nesta doença têm uma participação activa em diversos processos fisiológicos e em vários tecidos. Porém a heterogeneidade da clínica prevê que outros factores possam influenciar a mesma, incluindo factores epigenéticos e outros genes ainda não identificados.

Por outro lado, a forma de herança oligogénica ou digénica também contribui para a penetrância incompleta da doença. Deste modo, o grau de hipogonadismo pode ser muito variável entre doentes com diferentes mutações.

Verhoeven et al.<sup>8</sup> apresentaram um caso de um doente com 28 anos com puberdade atrasada onde uma ressonância magnética realizada aos 18 anos revelou hipoplasia dos bulbos olfativos e uma pequena glândula pituitária. Simultaneamente o doente foi diagnosticado com esquizofrenia paranóica com predominância de sintomas negativos, como apatia, falta de iniciativa e isolamento social. Este foi o primeiro caso de co-ocorrência de síndrome de Kallmann e esquizofrenia a ser estudado intensivamente do ponto de vista genético. Apesar disso, não foi encontrada no doente nenhuma mutação nos genes até agora conhecidos responsáveis pela síndrome de Kallmann. Anteriormente Cowen et al. teriam postulado que defeitos minor no gene *Kal1*, responsável pela transmissão recessiva ligada ao X, poderiam aumentar a vulnerabilidade de desenvolver esquizofrenia, tendo em conta a similaridade da ocorrência de síndrome de Kallmann e esquizofrenia ser mais frequente no sexo masculino. No entanto, são necessários mais estudos clínicos para elucidar a possibilidade do risco de desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos, nomeadamente sintomas psicóticos, em doentes com síndrome de Kallmann e defeitos na função olfactiva.<sup>8</sup>

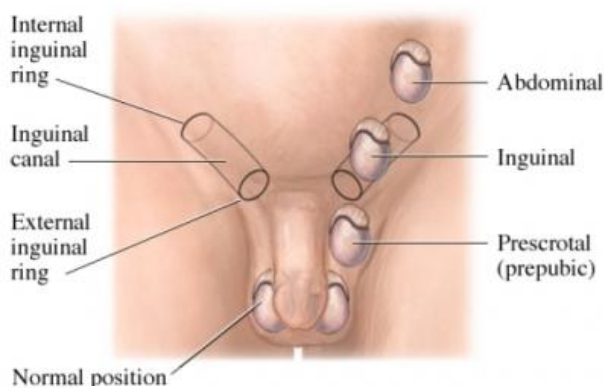


Imagem 2 – Criptorquidismo<sup>18</sup>



Imagem 3 – micropénis<sup>19</sup>

## **Diagnóstico**

A maioria dos doentes procura o médico durante a adolescência por atraso pubertário. Perante um caso de hipogonadismo, a Síndrome de Kallmann deve ser sempre considerada. Nos rapazes, a ausência de sinais de virilização e nas raparigas a falta de desenvolvimento mamário e a amenorreia primária devem levar o médico a perguntar se o doente tem a capacidade para distinguir diferentes odores.

O diagnóstico pode ser realizado durante a infância através da observação de criptorquidismo e micropénis.<sup>5</sup>

Os níveis séricos baixos das hormonas sexuais: testosterona no homem e estrogénios na mulher, assim como o nível baixo de FSH, LH e inibina B confirmam o diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico. A ausência ou redução da resposta das gonadotrofinas à prova de GnRH confirma também o diagnóstico.<sup>4</sup> Para documentar o funcionamento normal da glândula pituitária e das células de Leydig, pode recorrer-se a um teste de estimulação com HCG ou LH.

A disfunção olfactiva pode ser confirmada através de um teste olfativo qualitativo (UPSIT), desenvolvido na Universidade da Pensilvânia, ou através de uma ressonância magnética cerebral. Um estudo levado a cabo por Koenigkam-Santos et al.<sup>20</sup> demonstrou que ambos os métodos eram igualmente eficazes e coincidentes no diagnóstico de anosmia/hiposmia.

O UPSIT consiste em 4 livretos cada um com 10 diferentes odores que o doente “arranha e cheira”. Em cada diferente odor há uma escolha múltipla com 4 opções.<sup>20</sup> Posteriormente o nível olfativo do doente é escalado de 0 a 40 com base no número de identificações correctas dos diferentes odores e tendo em consideração a idade e o género daquele. A função olfactiva pode variar entre normal, disfunção ligeira, moderada, hiposmia severa ou anosmia. Apesar da facilidade e acessibilidade deste teste, é necessário ter em atenção que aquele é subjectivo e que está dependente da percepção consciente de cada doente aos diversos odores e que foi elaborado para doentes norte americanos, pelo que não atravessa fronteiras.

A ressonância magnética crânio encefálica é o teste de imagiologia utilizado, cuja ponderação em T2 foi demonstrada por Koenigkam-Santos et al. como sendo a que oferece melhor resolução de contraste entre as estruturas neuronais e o líquido cefalo raquidiano circundante, com uma sensibilidade variável entre 76 a 100%, a qual já havia sido demonstrada em estudos anteriores.<sup>20</sup> A ausência ou impossibilidade de identificação do sulco ou bulbo olfativo é classificada como aplasia, tanto bi como unilateral, tendo sido esta a alteração mais encontrada na amostra analisada por Koenigkam-Santos et al. A classificação em hipoplasia implica a redução do tamanho dois desvios padrões abaixo da normalidade do bulbo olfativo e apenas a redução do sulco olfativo, não sendo necessário o desvio de dois padrões abaixo da normalidade. A presença de aplasia ou hipoplasia dos bulbos e sulcos olfativos implica a presunção do diagnóstico de síndrome de Kallmann, o que pode ser importante em doentes prepubertais, especialmente para distinguir esta doença de hipogonadismo hipogonodotrófico idiopático. Por esta razão, diversos estudos também revelaram que os resultados da ressonância magnética comportam uma elevada especificidade. Porém, importa relevar que a presença da anatomia normal das estruturas olfativas na ressonância magnética não exclui síndrome de Kallmann e que o estudo atrás mencionado feito por Koenigkam-Santos et al. demonstrou que uma pequena amostra da população sem alterações na ressonância magnética foi diagnóstica com hiposmia através do UPSIT. As alterações heterogêneas da anatomia do rinencéfalo podem estar relacionadas com a mutação de diferentes genes, o que pode indicar uma correlação fenotípica, no entanto são necessários mais estudos para confirmação.

A ressonância magnética também é útil para excluir lesões no hipotálamo e na hipófise em doentes com hipogonadismo.<sup>17</sup>

A presença de outras manifestações atrás mencionadas que podem coincidir na síndrome de Kallmann não relacionados com hipogonadismo e anosmia encaminham também para o diagnóstico. Mais uma vez a RM mostra importância na detecção de movimentos em espelho através da alteração da morfologia e intensidade do sinal na massa cinzenta e branca

encefálica<sup>20</sup>. A patogenia deste fenótipo neurológico pode derivar de alterações no córtex motor primário e secundário, ou entre as suas conexões através do corpo caloso ou ainda em alterações no tracto corticoespinhal bilateral.<sup>21</sup>

A densitometria óssea detecta eventualmente a presença de osteopenia ou osteoporose, consequência do atraso pubertário.

Após a confirmação do diagnóstico clínico e com recurso a exames complementares de diagnóstico, seguem-se os estudos genéticos a fim de apurar quais os genes implicados. A presença de algumas manifestações podem apontar a hipótese para a mutação de um específico gene, uma vez que aquelas estão mais relacionadas com determinados genes, o que leva directamente ao estudo dos que mais provavelmente poderão estar implicados em cada caso. Costa-Barbosa et al<sup>22</sup> referem que cada médico deveria sempre considerar 3 genes em doentes masculinos - FGFR1, CHD7 e KAI-1- e dois genes no sexo feminino - FGFR1 e CDH7 – uma vez que são os mais prevalentes em doentes com síndrome de Kallmann. No entanto em dois terços dos casos os diagnósticos mantêm-se puramente clínicos uma vez que não se encontra nenhuma mutação nos genes passíveis de estudo. Porém, este problema será contornado nas próximas décadas com o mapeamento do genoma, algo que se torna cada vez mais real e com menor custo, o que substituirá a maioria dos testes hoje utilizados.<sup>16</sup>

Importa ainda relevar que torna-se importante apurar a presença de sintomas de hipogonadismo e anosmia ou mutações genéticas nos restantes membros da família a fim de estudar a hereditariedade da doença ou não. Apesar da maioria dos casos serem esporádicos, os casos familiares devem ser descobertos e analisados para que se possa acompanhar e tratar os restantes membros da família afectados.

Kal-1	8%
FGFR1	10%
CHD7	6%

Tabela 3 – prevalência de mutações em KAL-1, FGFR1 e CDH7 na SK.<sup>16</sup>

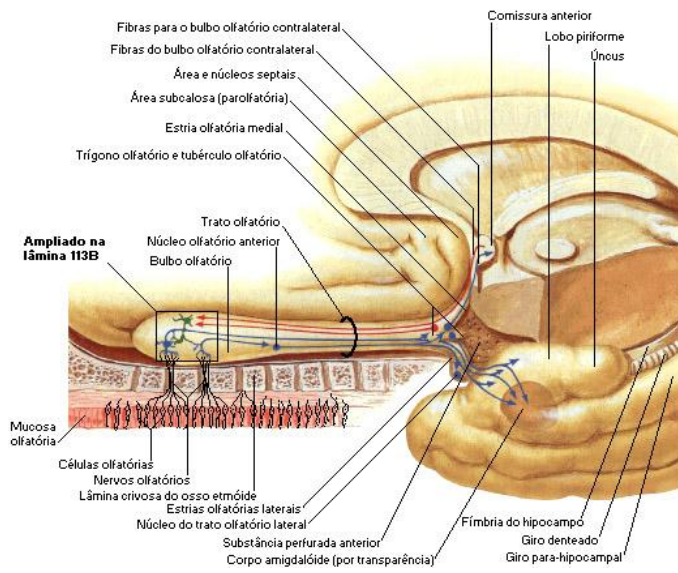


Imagem 4 – Nervo olfativo,<sup>23</sup>

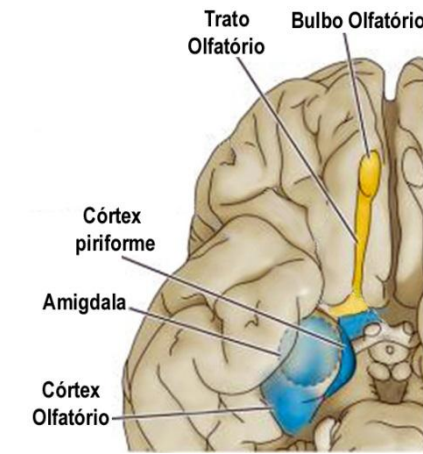


Imagem 5 – Tracto e bulbo olfativo<sup>24</sup>

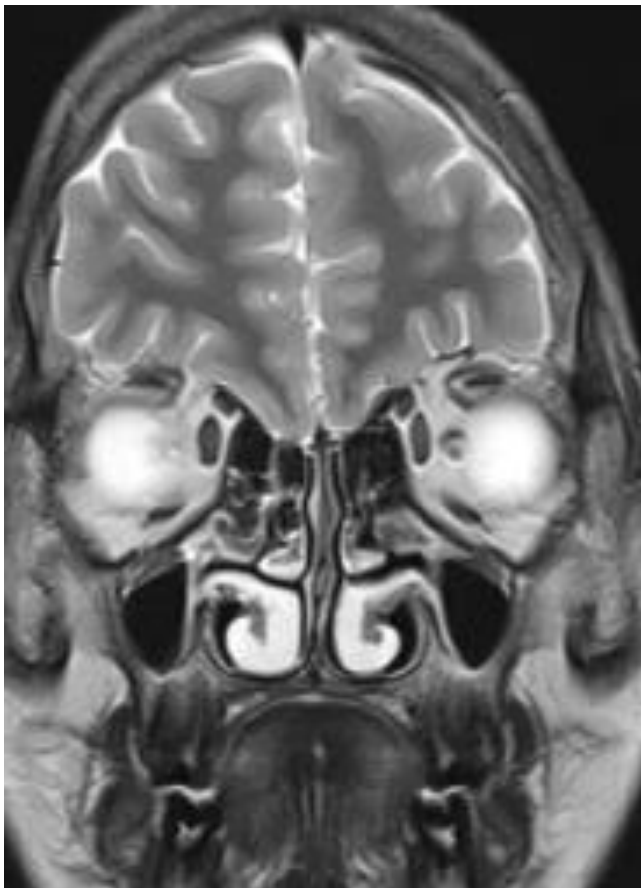


Imagem 6 - Coronal T2. RM de um rapaz com SK. Jana M et al. *Kallmann syndrome in a adolescent boy* (adaptado)<sup>25</sup>

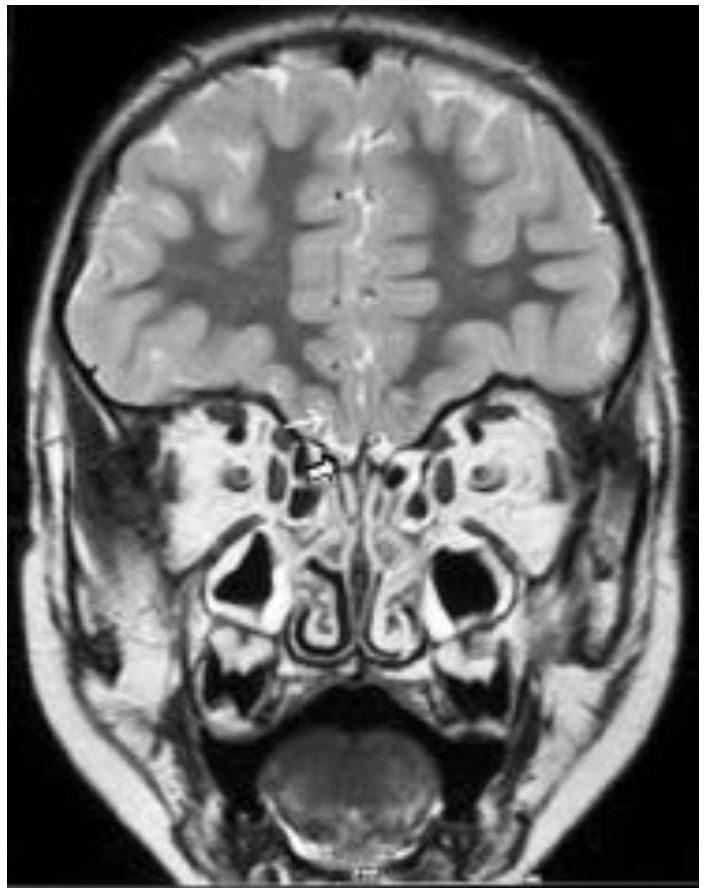


Imagem 7 - Coronal T2. Rm de um cérebro normal. Jana M et al. *Kallmann syndrome in a adolescent boy* (adaptado)<sup>25</sup>



## Fisiopatologia

A síndrome de Kallmann é caracterizada por diferentes mutações genéticas que, ao produzirem

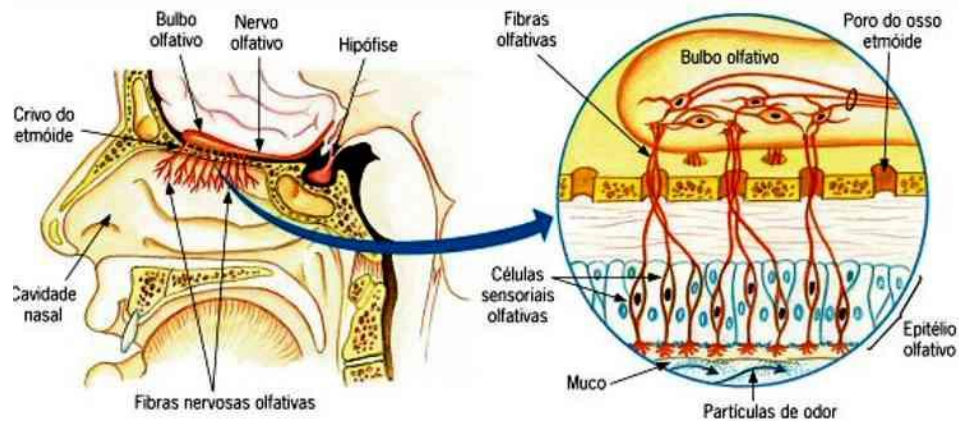
proteínas

deficientes,

impedem o

desenvolvimento

normal do bulbo



olfativo. Por sua vez este desenvolvimento anormal

Imagem 8 – Tracto e bulbo olfativo<sup>26</sup>

impede tanto a migração dos neurónios do bulbo

olfativo como dos neurónios secretores de GnRH - todos produzidos na placa nasal embrionária durante o período de organogénese entre a 4<sup>a</sup> e 10<sup>a</sup> - até ao hipotálamo, através das meninges.<sup>4,7,27</sup> Os neurónios GnRH deveriam migrar até à parte anterior do hipotálamo, mais

propriamente até à área pré-óptica média (MPA), a qual circunda o *organum vasculosum of the lamina terminalis* (OVLT). Ambas as estruturas correspondem às principais áreas onde GnRH é produzido.

Uma hipótese levantada por Perdomo AC et al.<sup>28</sup> sugere que a falta de diferenciação de MPA e OVLT impedirá a conexão dos nervos olfativos provenientes do epitélio nasal embrionário e consequentemente a migração das células GnRH até ao seu destino.<sup>28</sup>

Apesar disso, ainda permanece desconhecida a causa primária que provoca a disrupção da migração destas fibras até ao prosencéfalo. Em doentes com SK, algumas células GnRH foram encontradas na superfície dorsal da placa cribiforme do osso etmóide assim como adjacentes às fibras emaranhadas dos nervos olfativos terminais, pelo que não estabelecem contacto com o proencéfalo.<sup>29</sup>

Uma vez que a síndrome de Kallmann é muito heterogénea, a identificação dos genes causadores e a desmitificação da sua patogenia poderão ajudar na compreensão da doença.

Até à data foram identificados dois genes relacionados apenas com SK – Kal-1 e SOX10 – e 9 genes que tanto podem estar associados a SK como a IHH – FGFR1, FGF8, CDH7, HS6ST1, PROK2/PROKR2, NELF, WDR11, SEMA3A e HESX1.<sup>16</sup> Em baixo encontra-se a descrição da patogenia e manifestações fenotípicas de cada um.

#### Gene Kal – 1:

Kal-1 foi o primeiro gene a ser associado à síndrome de Kalmann, em 1991, e é responsável por aproximadamente 8% dos casos de SK.<sup>5</sup> Localiza-se em Xp22.3 e representa a transmissão recessiva ligada ao X da doença. Uma variedade de mutações e deleções foi já descrita, incluindo grandes e pequenas deleções exónicas, mutações pontuais e várias mutações nonsense que conduzem a frameshift e codões stop prematuros. A localização do gene foi determinada aquando do estudo de doentes com síndrome de genes contíguos e que também apresentavam hipogonadismo hipogonodotrófico e anosmia associados a deleções do braço curto distal do cromossoma X.

Este gene codifica uma glicoproteína ligada à matriz extracelular, a anosmia-1, expressa durante o desenvolvimento embrionário no bulbo olfativo, cerebelo, medula, rim e retina. A anosmia-1, com acção quimiotáctica, direcciona assim o crescimento dos axónios dos neurónios olfativos e secretores de GnRH.

O fenótipo da SK nos portadores de mutações no gene KAL-1 pode ser heterogéneo e até mesmo variar em gémeos monozigóticos que compartilhem a mesma mutação.

Porém, a maioria dos doentes apresenta comprometimento severo da secreção de gonadotrofinas e até 75% dos casos apresenta quadro clínico severo ao nascimento com criptorquidia. A severidade do fenótipo é menor no sexo feminino uma vez que o gene Kal-1 se encontra na região pseudo-autossômica do cromossoma X, a qual escapa à inativação. Uma vez que as mulheres possuem duas cópias deste cromossoma, a mutação é compensada pelo outro alelo normal. Dodé e Hardelin afirmam mesmo que esta possa ser a causa para a maior

prevalência de SK no sexo masculino, em vez da justificação com a transmissão recessiva ligada ao x.<sup>5</sup>

A mutação do gene Kal-1 também está associada a aplasia e hipoplasia do bulbo olfativo, uni ou bilateral, hiposmia e anosmia. Porém, alguns portadores da mutação podem apresentar bulbos normais.<sup>4</sup>

Outras manifestações também podem estar associadas a este gene, tais como, sincinesia em 75% dos casos e agenesia renal unilateral em 30% dos casos. Os doentes podem ainda apresentar surdez neurossensorial, palato em ogiva, pé cavo e anormalidades do movimento ocular.

Um estudo de 2008 realizado por Salenave S et al<sup>30</sup> e que compara os fenótipos em doentes com mutação do gene Kal-1 e FGFR1, revelou que a primeira mutação apresenta um fenótipo mais severo, apesar da heterogeneidade clínica e genética não ter sido levada em consideração. Os doentes com mutações no gene Kal-1 apresentam maior prevalência de criptorquismo, menor volume testicular – quantificável através do orquidómetro – e níveis mais baixos de inibida B. Consequentemente, torna-se mais difícil tratar a infertilidade nestes doentes além do acrescido aumento do risco de cancro do testículo. Os níveis de gonadotrofinas são também significativamente mais baixos em doentes com mutações no gene Kal-1, pelo que estes apresentam quase penetrância completa de hipogonadismo hipogonadotrófico. Apesar dos dados revelados pelo estudo, permanece ainda desconhecida a razão pela qual o fenótipo relacionado com a mutação deste gene é mais severo. No entanto, prevê-se que se deva ao facto de os homens apresentarem apenas uma cópia do cromossoma X, ao contrário do que acontece com os genes autossómicos, como é o caso do gene FGFR1.

Muito recentemente, foi postulado que a anosmia-1 contribuiria para a formação da crista neural, participando em vários processos no desenvolvimento do sistema nervoso central. Para além de orientar a migração e desenvolvimento dos neurónios olfativos e GnRH, esta proteína está também envolvida no processo de crescimento e ramificação das células de

Purkinje no cerebelo, assim como no processo de mielinização e desmielinização do tracto olfativo lateral – uma estrutura mielinizada que medeia a comunicação entre os impulsos do bulbo olfativo e as diferentes estruturas do córtex olfativo - através do complexo que forma com FGFR1 e FGF, o qual será descrito posteriormente. Deste modo, Gonzalez DG et al<sup>21</sup> afirmaram que defeitos na mielinização daquela estrutura provocariam defeitos que originariam os sintomas olfativos observados na SK. Porém, os defeitos putativos nesta área poderão ser muito pequenos para a sua detecção através de técnicas regulares de RMN, o que provavelmente contribuirá para a explicação da normal estrutura olfatória em alguns doentes com SK. No sentido de corroborar esta hipótese, os cientistas argumentaram a presença de sintomas não relacionados com o sistema reprodutor e olfativo em doentes com SK, os quais constituem uma consequência da deficiente mielinização de diversos tractos axionais: A sincinesia bimanual está maioritariamente associada a mutações em KAL-1, porém, alguns doentes com mutações neste gene não manifestam este sintoma, o que poderá ser explicado com a variação genética e epigénica de KAL-1, a qual provocará diferentes graus de defeitos de mielinização. Importa também afirmar que a heterogenicidade genética da SK pode implicar a existência de genes desconhecidos relacionados com a mielinização e desmielinização. A presença de nistagmus pode ser explicada pela presença de anosmia-1 em áreas do cerebelo e núcleos abducens, troclear e oculomotor.<sup>21</sup>

### Gene FGFR1

À semelhança do gene KAL-1, a localização deste gene ligado à forma de transmissão autossómica baseou-se em estudos de portadores de genes contíguos. Dodé e cols. identificaram mutações na região 8p11.2-12 e que abrangia o gene FGFR1 em 2003.

Várias mutações heterozigóticas foram encontradas em aproximadamente 10% dos casos de SK, incluindo mutações missense (aproximadamente 70%) e nonsense, inserções e deleções intragénicas e ainda mutações associadas ao splice. Estas descobertas permitiram associar este

gene a uma forma de hereditariedade autossômica dominante, sendo o fenótipo mais severo nos doentes homocigóticos. Foram descritos casos familiares e esporádicos. Acreditam-se que estas sejam mutações de perda de função, o que resulta na deficiente sinalização mediada de FGFR-1.

Este gene codifica o receptor tipo 1 do factor de crescimento dos fibroblastos, um membro da super família dos receptores de tirosina cinase. O FGFR1 é activado por alguns factores de crescimento dos fibroblastos (FGF).

Os factores de crescimento dos fibroblastos são uma família de proteínas ligantes de heparina que regulam diversos processos celulares, como por exemplo angiogénese, diferenciação celular e crescimento de tumores.<sup>31</sup> Os seus receptores consistem em três domínios ligantes extracelulares – D1, D2 e D3, uma transmembrana simples em hélice e um domínio citoplasmático tirosina cinase. Acredita-se que a via de sinalização do FGF seja activada por HSPGs (cell surface- bound heparan sulfate proteoglycans). Nos neuroblastos GnRH provenientes do epitélio nasal embrionário, o FGF liga-se a FGFR1 desencadenando a activação de vias MAPK (mitogen activated protein cinase). A anosmia-1, produto do gene KAL-1, modula a via de sinalização do FGF, ligando-se directamente a HSPG, FGFR e FGF. A formação deste complexo permite a reorganização do citoesqueleto e o crescimento dos neuroblastos GnRH.

Mutações no domínio D2 do FGFR, que provavelmente se liga a HSPGs e FGFs, foram associadas a famílias com fenótipo de síndrome de Kallmann.<sup>31</sup> A168S é uma das mutações mais comuns no domínio D2, com perda de função, o que resulta na inactivação do FGFR e ausência de formação do bulbo olfativo. A168, juntamente com L165 e V248 contribuem para a ligação de FGF. Thurman, R. et al provaram que a substituição de alanina por serina na posição 168 (A168S) causa uma subtil mas crucial alteração na estrutura terciária do domínio D2 do receptor, sendo este a mais importante estrutura do FGFR e que providencia a ligação

de HSPGs e FGF. A mutação A168S exibe uma afinidade 10 vezes mais baixa para ligar heparina da que A168 e causa uma perda de ligação de FGF.<sup>31</sup>

Apesar do estudo referido anteriormente, a base molecular para as mutações com perda de função associadas a SK ainda não está completamente esclarecida, porém, estas mutações possivelmente poderão causar uma disrupção na interação de anosmia-1 e FGFR ou causar uma mudança drástica na estrutura de FGFR, o que leva à perda da interação com o ligando FGF.

A semelhança dos fenótipos olfativo e reprodutor associados a mutações nos genes KAI-1 e FGFR1 pode então ser explicada com o envolvimento de ambos os genes em mecanismos comuns de migração e desenvolvimentos dos axónios dos neurónios GnRH, embora o fenótipo provocado por mutação em KAI-1 seja mais severo como já anteriormente foi elucidado.<sup>4</sup>

A clínica apresenta uma grande variedade heterógena entre os indivíduos com esta mutação. O fenótipo pode variar desde normal até hipogonadismo e anosmia. Há ainda casos reportados de doentes com hipogonadismo e anosmia isolado. 60% dos indivíduos apresenta criptorquidia e 30% micropénis. A ausência de cartilagem nasal, hipoplasia do ouvido externo, e anormalidades ósseas das mãos e pés, agenesia dental e fenda palatina foram reportados em doentes com mutação do gene FGR1.<sup>5</sup> Alguns doentes apresentam sincinesia bimanual, embora seja muito mais frequente na forma recessiva ligada ao X de síndrome de Kallmann.

Em famílias com a mesma mutação de FGR1 verificou-se que o comprometimento do sistema reprodutor era muito menos severo no sexo feminino, favorecendo a transmissão materna do gene. Este fenómeno provavelmente deriva da existência de duas cópias do gene KAI-1 no sexo feminino, o que proporciona maior produção e maior quantidade de anosmia-1 nas mulheres heterozigóticas com mutação de FGFR1, ao contrário dos homens que apenas

possuem uma cópia de KAl1, o que poderá ser insuficiente para compensar a produção deficiente de FGFR1.

#### Gene FGF8

Estudos em ratos revelaram que a emergência precoce dos neurónios GnRH do placa olfatória embrionário requerem a sinalização de FGF8, um ligante mediado através de FGFR1. Este gene foi descoberto por Flardeau et al. e encontra-se numa minoria dos doentes com SK. À semelhança de FGFR1, este gene também se encontra relacionado com uma hereditariedade autossómica dominante.<sup>3,6</sup>

#### Genes PROKR2 e PROK2

A identificação do envolvimento da procineticina e seu receptor ocorreu após a observação de atrofia dos órgãos reprodutores, agenesia do bulbo olfativo e ausência de neurónios secretores de GnRH no hipotálamo em camadongos *Knock out* para o gene PROKR2. Em 2006 foram encontradas mutações nos genes PROK2 e PROKR2 em doentes portadores da síndrome de Kallmann.

PROK2 é um gene autossómico localizado na posição 3p13 e codifica a procineticina 2. Esta proteína pode ligar-se a dois subtipos de receptores transmembrana associados à proteína G, PROKR1 e 2, tendo mais afinidade por PROKR2. O receptor tipo 2 da procineticina é codificado pelo gene PROKR2 que se localiza na posição 20p13.

No ser humano, o PROKR2 distribui-se pelas glândulas endócrinas – hipófise, testículos, glândula supra-renal e tiróide –, pelo sistema nervoso central e tracto gastrointestinal<sup>32</sup>. Estes receptores são acoplados a diferentes tipos de proteínas G, o que permite a activação de diferentes vias intracelulares. Deste modo, o PROKR2 participam em diversos eventos fisiológicos, tais como, contracção intestinal, hiperalgesia, espermatogénese, sobrevivência neuronal, ritmo circadiano, sono, angiogénese, comportamento alimentar e hematopoiese.

As mutações neste gene são reportadas em aproximadamente 9% dos casos de SK, tanto esporádicos como familiares. A maioria das mutações nestes genes são mutações missense, porém também foram encontradas mutações nonsense e frameshift. Estas mutações foram encontradas tanto em doentes homozigóticos, ou heterozigóticos compostos, assim como heterozigóticos. Curiosamente, aquelas foram também encontradas em indivíduos saudáveis, o que transporta para a questão sobre qual o papel destes genes na patogenia da doença e uma vez mais leva à suposição de uma herança digênica ou oligogênica em doentes heterozigóticos. Deste modo, estes genes parecem estar envolvidos tanto na forma monogênica recessiva, como nas formas digênicas/oligogênicas da SK.<sup>6,33</sup>

Fenotipicamente, os doentes com mutação monoalélica podem apresentar grande variedade na disfunção reprodutiva e olfativa, assim como outras manifestações não relacionados com aqueles, dependendo do envolvimento de outros genes. Por outro lado, os doentes com mutação bialélica, a qual pode ser suficiente para a manifestação de síndrome de Kallmann, apresentam menos variabilidade fenotípica.<sup>33</sup>

Um estudo realizado por Sarfati et al em 2009<sup>33</sup> teve como objetivo comparar o fenótipo entre doentes com mutações bialélicas e monoalélicas dos genes PROKR2 e PROK2. O estudo revelou que os doentes do sexo masculino com mutações bialélicas apresentavam um fenótipo mais severo, com maior prevalência de criptorquidismo e micropénis, menor volume testicular e valores de FSH basal e LH pulsátil mais baixo. Apesar da amostra de doentes do sexo feminino ser reduzida, verificou-se que as doentes com mutações bialélicas também apresentavam fenótipo mais severo visto que todas manifestavam amenorreia primária e ausência de desenvolvimento mamário. O estudo também revelou que todos os doentes bialélicos estudados apresentavam anosmia ou hiposmia e que 15% dos doentes com mutação apenas num alelo tinham função olfativa normal. As manifestações não associadas à função olfativa ou reprodutiva e que são frequentemente reportados em doentes com mutações em KAI-1 e FGFR1, têm uma prevalência muito baixa nos doentes com mutações em PROKR2 e



PROK2. Nenhum doente apresentava agenesia renal ou lábio leporino ou fenda palatina. Apenas houve um caso de sincinesia bimanual, perda auditiva e hipodontia. Sendo assim, os doentes com as mutações nestes dois genes são candidatos ideais para a reprodução medicamente assistida uma vez que raramente manifestam sintomas que potencialmente poderiam afetar a sua saúde ou qualidade de vida.

Apesar da associação da obesidade a mutações nos genes PROK2 e PROKR2 em poucos casos humanos e do conhecimento do envolvimento desta via de sinalização no comportamento alimentar dos roedores, o estudo anteriormente referido não mostrou diferenças significativas entre o IMC de doentes com estas mutações em comparação com o IMC de doentes com SK associada a outros genes.

Hoje em dia é também conhecido o efeito da prokinetina-2 na sinalização do ritmo circadiano.<sup>34</sup> Porém, nenhum doente demonstrou distúrbios na polissonografia assim como alteração nos níveis de cortisol, mesmo aqueles que referiram insónias, pelo que provavelmente o PROKR2 não terá uma contribuição major na via de sinalização glucocorticóide do ritmo circadiano.

#### PROK2/PROKR2

	Bialélico	Monoalélico
<b>Fenótipo</b>	Severo	+
<b>Criptorquidismo</b>	++	+
<b>Micropénis</b>	++	+
<b>Volume testicular</b>	--	-
<b>FSH basal</b>	--	-
<b>LH pulsátil</b>	--	-
<b>Função olfatória</b>	Anosmia/hiposmia	15% Normais
<b>Outras manifestações</b>	Ausente	Raro

Tabela 4 – Comparação do fenótipo em mutações bialélicas e monoalélicas nos genes PROKR2/PROK2.<sup>33</sup>; Legenda: +, ++ aumento da prevalência; --, - valores mais baixos em relação à população normal. Sarfati J, *A Comparative Phenotypic Study of Kallmann Syndrome Patients Carrying Monoallelic and Biallelic Mutations in the Prokineticin or Prokineticin Receptor 2 genes* (adaptado)<sup>33</sup>

	<b>Kal-1</b>	<b>FGFR1</b>	<b>CHD7</b>	<b>PROKR2/PROK2</b>	<b>HS6ST1</b>
<b>Fenótipo reprodutor</b>	Severo	+	+	+	+
<b>Unilateral renal agenesia</b>	+ (30%)	-	-	-	-
<b>Sincinésia</b>	+++ (75%)	++	+	+	-
<b>Lábio leporino/fenda palatina</b>	-	++	++	-	+
<b>Agenesia Dental</b>	-	++	+	-	-
<b>Anormalidades esqueleto</b>	+	Sindactilia Polidactilia Camptodactyly	+	+	+
<b>Perda auditiva</b>	+	+	++	+	-

Tabela 5 – Comparação dos fenótipos nos genes KAI-1, FGFR1, CHD7, PROKR2/PROK2 e HS6ST1 com variantes de sequências raras (RSVs).<sup>15,41</sup> Legenda: +, ++, +++ fenótipo presente; - fenótipo ausente. Layman LC et al. *Clinical Genetic Testing for Kallmann Syndrome* (adaptado).<sup>16</sup>

Nota: Não foi surpreendente o facto da perda auditiva ser mais frequente em doentes com mutação em CDH7, uma vez que mutações neste gene foram primeiramente identificadas na síndrome de CHARGE.<sup>16</sup>

### **Outros genes provavelmente envolvidos na Síndrome de kallmann:**

- Gene NELF

A identificação deste gene foi obtida através de um estudo da sua expressão durante a migração dos neurónios GnRH em camadongos. A expressão de NELF ocorre apenas durante a migração neuronal, cessando no final do processo.<sup>4</sup>

O gene NELF foi localizado no cromossoma 9q34.3, onde um síndrome deletério havia já sido descrito em dois homens com genitais anormais e um mulher com anosmia. Esta deleção engloba o gene NELF, o que implica a participação deste gene nos fenótipos parciais de síndrome de Kallmann. Tendo em conta vários estudos realizados, a perda de função do gene provavelmente constitui um mecanismo de SK/IHH.

No entanto, uma mutação monoalélica, não será suficiente para causar a doença. Xu et al<sup>35</sup> realizaram um estudo que tinha como objetivo o estudo do envolvimento deste gene em doentes com SK ou IHH. Para isso estudaram vários doentes assim como indivíduos normais. De entre 168 doentes, 3 tinham mutações do gene NELF. O primeiro manifestava IHH e apresentava uma mutação heterozigótica intrónica, que qualitativamente reduzia a expressão da proteína para 50%, sem no entanto alterar a expressão do mRNA. Porém, o mecanismo exacto pelo qual ocorre a discordância entre mRNA e proteínas é desconhecido. Para além de mutações do gene NELF, este doente não apresentava mutações adicionais em outros genes relacionados com hipogonadismo hipogonodotrófico idiopático ou síndrome de Kallmann.

As restantes mutações heterozigóticas deste gene ocorreram em dois doentes sem graus de parentesco com uma herança digénica. Um deles apresentava uma mutação missense no NELF, com substituição de aminoácidos – p.Ala253Thr, que provavelmente teria efeito deletério. Este doente apresentava simultaneamente uma mutação em KAL-1 e provavelmente a agenesia unilateral renal relacionava-se com esta última mutação. O outro doente manifestava fenótipo de síndrome de Kallmann com mutações heterozigóticas em NELF e TACR3. Mutações neste último gene apenas foram reportadas em doentes com IHH. A combinação com mutação em NELF criou um fenótipo mais severo com ausência de puberdade completa e critorquidismo bilateral. A mutação em NELF consistia numa deleção no exão 10, causando a disrupção do splicing e originando uma proteína truncada. Esta mutação não é suficiente para causar a manifestação de doença por si só. Deste modo, serão necessários pelo menos dois alelos mutados, o que culmina por sua vez num fenótipo mais severo.

Anteriormente já havia sido reportado outros casos com heranças digénicas de síndrome de Kallmann, como NELF/FGFR e PROKR/KAL-1, realçando a importância do papel de mutações bialélicas nestes doentes.

- CHD7

Mutações heterozigóticas em CDH7, com localização em 8q12 e que codifica uma proteína de remodelação da cromatina, foram encontradas em aproximadamente 90% dos casos de síndrome de CHARGE, uma doença autossômica dominante ou maioritariamente esporádica que consiste em coloboma, defeitos cardíacos, atresia das coanas nasais, atraso no desenvolvimento e crescimento, anomalias genito-urinárias e anomalias do ouvido. A sua prevalência é aproximadamente 1/10000. É uma doença severa e debilitante, onde dois terços das mutações são frameshift, abrangendo todo o gene.

Esta proteína pertence a uma família de 9 proteínas CHD que partilham a capacidade de hidrolisar o ATP e alterar a estrutura do nucleossoma.<sup>36,37</sup> CDH7 é expresso nos órgãos relacionados com a síndrome de CHARGE mas também nos tecidos relevantes na síndrome de Kallmann, como no bulbo e nervo olfativo, hipotálamo e hipófise<sup>36</sup> e participa no processo de remodelação e transcrição da cromatina, além de que poderá desempenhar funções na regulação da transcrição e do ciclo celular, apoptose, pluripotencialidade das células estaminais embrionárias e ainda na ligação de CDH8<sup>37</sup>. No entanto, são necessários mais estudos para confirmar o envolvimento deste gene no desenvolvimento e migração das células GnRH até ao hipotálamo.

A maioria dos doentes com síndrome de CHARGE possui HH e anosmia, concluindo que a síndrome de Kallmann faz parte do espectro fenotípico da síndrome de CHARGE. No entanto, também foram encontradas mutações do gene CDH7 em doentes com IHH ou SK isolado, embora não seja a causa mais frequente de SK, com uma prevalência de 6%, o que levou à suposição da síndrome de Kallmann constituir uma variante alélica mais suave da síndrome de CHARGE<sup>15,37</sup>. Ao contrário da síndrome de CHARGE, doentes com SK têm um fenótipo muito menos severo, que consiste com a identificação de menos mutações. As mutações reportadas por Kim et al<sup>36</sup> estavam apenas confinadas às regiões dos exões 2,6,8 e

38 e ocorriam tanto nos doentes com SK como com IHH, tendo estes ou não manifestações da síndrome de CHARGE.

Jorieke et al. realizaram um estudo cujo objetivo era averiguar a presença de mutações no gene CDH7 em doentes com síndrome de Kallmann sem manifestações adicionais da síndrome de CHARGE. Dos três doentes identificados com mutações neste gene, entre 36 com SK, todos apresentavam manifestações adicionais da síndrome de CHARGE quando estudados posteriormente com mais pormenor. A perda auditiva foi a manifestação mais frequentemente encontrada, embora também seja uma manifestação encontrada em doentes com síndrome de Kallmann, nomeadamente com mutações nos genes KAL-1, FGFR1 e FGF8. Os autores sugeriram então que mutações em CDH7 não são uma causa frequente de síndrome de Kallmann isolado. Com base nos resultados, os autores recomendam a pesquisa de manifestações de síndrome de CHARGE em doentes com HH e anosmia. Aqueles recomendam sobretudo a análise de CDH7 em doentes com SK que apresentem pelo menos duas das manifestações de CHARGE: coloboma, atresia das coanas nasais, anomalias características do ouvido externo, disfunção de pares cranianos (I, VII, VIII, IX-XI) ou distúrbios de equilíbrio. A análise de CDH7 é também recomendada em doentes que apresentam anomalias dos canais semicirculares, independentemente das outras manifestações.

A identificação de mutações em CDH7 deve ter em consideração que é importante a pesquisa de manifestações da síndrome de CHARGE, sobretudo as que permanecem indetectáveis, para poder iniciar um tratamento atempadamente, assim como para o aconselhamento genético, uma vez que um doente tem 50% de probabilidade de transmitir a doença à descendência. Não obstante do que foi já referido, Kim e Layman<sup>37</sup> colocam a questão do limite ético da investigação, dando o exemplo de exames que possam ser feitos aos ouvidos ou coração mesmo sem a manifestação de sintomas, afectando a qualidade de vida do doente.

- Gene WDR11

No sentido de encontrar arranjos cromossômicos nos doentes com síndrome de Kallmann foram cariotipados 76 doentes, entre os quais um apresentou uma translocação reportada como: 46,XY, t(10;12)(q26.12;q13.11). Anteriormente, o cromossoma 10q26 já havia sido associado a distúrbios do desenvolvimento dos genitais masculinos. De relevar também que já tinha sido reportado uma trissomia envolvendo o cromossoma 10q26 com uma translocação instável, sugerindo a presença de um novo gene implicado na patogenia da síndrome de Kallmann. Posteriormente foi postulado que um único gene desregulado pelo efeito da translocação estaria localizado próximo do local de quebra do cromossoma 10q26 – sendo este o cromossoma candidato a possuir o gene mutado por estudos anteriores. De entre quatro genes candidatos na vizinhança do local de quebra (FGFR2, PPAPDC1A, SEC23IP e WDR11), foram encontradas cinco mutações heterozigóticas missense no gene WDR11, o que vai de encontro a uma herança autossômica dominante.<sup>10</sup>

Inicialmente, o gene WDR11 estava descrito como um potencial gene supressor tumoral e a translocação adquirida t(10;19) originava uma deleção intragénica nas células do glioblastoma<sup>38</sup>. Curiosamente, outros genes associados à puberdade nos mamíferos são conhecidos também pelo seu papel na tumorigénese<sup>39</sup>.

A função deste gene é desconhecida. Porém, sabe-se que contém doze domínios de WD (tryptophan/aspartic acid), das quais 9 formam duas hélices-β – a primeira formada pelos domínios WD 2 a 6 e a segunda pelos domínios WD 7-10, e que provavelmente está envolvido nas interações entre proteínas.



Imagem 9; Modelo estrutural do gene WDR11;<sup>10</sup>

Inicialmente este gene era conhecido por BRWD2

mas o seu nome foi mudado para WDR11, uma vez que não processa bromodominas.

Três das cinco mutações missense encontradas por Kim et al<sup>10</sup> estão localizadas directamente nas hélices: A435T, R448Q, e H690Q. Estas mutações alteram os domínios de ligação das proteínas, pelo que afectam a normal função das mesmas.

Tendo em conta a importância da função deste gene na ligação e interacção de proteínas, descobriu-se posteriormente EMX1, um factor de transcrição que interage com WDR11 envolvido no desenvolvimento do sistema nervoso central, particularmente o desenvolvimento dos neurónios olfativos e hipotálamo.

A análise das deleções revelou que WDR11 interage com EMX1 no local onde quatro das alterações missense – R395W, A435T, R448Q e H690Q - foram encontradas. As mutações A435T, R448Q e H690Q impedem a ligação destes dois ligandos e R395W impede a interacção entre WDR11 e EMX1, apesar de permitir a ligação entre aqueles.

Concluindo, a deficiente ligação deste complexo, provavelmente inactiva a função de EMX1, o que impede o desenvolvimento dos neurónios olfativos, dando origem à síndrome de Kallmann.<sup>10</sup>

- Gene SEMA3A

O crescimento e a navegação dos axónios na vida embrionária dependem de importantes “guias de orientação”. Nesta lista estão incluídas as semaforinas, uma família grande e diversa de proteínas secretoras e de membrana associadas. No grupo destas proteínas, destaca-se a semaforina-3 (Sema3A), que se liga a um domínio de membrana do coreceptor neurofilina-1. A expressão da neurofilina-1 delinea a migração das células GnRH embrionárias. No entanto, ainda permanece desconhecido qual o papel das semaforinas na migração dos axónios e fibras nervosas.

Um estudo realizado em 2012 por Hanchate et al<sup>7</sup> em embriões de ratos e extrapolado posteriormente para um embrião humano com 9 semanas, confirmou que a sinalização da

semaforina através da neurofilina-1 transmite informações para a migração dos neurónios olfativos e das células GnRH. Também de relevar que este grupo de trabalho verificou que nos ratos homozigóticos mutados a migração de muitas células GnRH se fez no sentido dorsal e medial em direcção ao córtex e ao tálamo, em vez do normal sentido ventral em direcção ao prosencéfalo. Por último, o grupo também verificou que nos roedores que apenas tinham falta de sinalização da semaforina 3A nas células GnRH, estas apresentavam uma distribuição normal entre o nariz e o cérebro, confirmando que o defeito migratório encontrado nos roedores homozigóticos mutados não se resume a um defeito autonómico da célula.

O estudo de Hanchate et al também procurou mutações em humanos com fenótipo de síndrome de síndrome de Kallmann e concluiu que todas as mutações, à excepção de p.R730Q, eram mutações frameshift e missense, com perda de função, que afectavam a secreção ou sinalização da actividade de Sema3A, o que argumenta a favor do seu efeito patogénico nos doentes com síndrome de Kallmann.

A mutação neste gene não só foi identificada em 6% dos doentes com síndrome de Kallmann mas também em pessoas saudáveis, o que indica a necessidade de outros defeitos genéticos para a manifestação da doença. No estudo já referido anteriormente, alguns doentes também apresentavam mutações em outros genes já conhecidos e responsáveis também pelo fenótipo da síndrome de Kallmann. Os doentes que não apresentavam nenhuma mutação para além da perda de função da semaforina-3A, muito provavelmente carregam uma mutação patogénica em outro gene ainda desconhecido. Os cientistas acreditam que algumas mutações adicionais possam estar também relacionadas com a via de sinalização da semaforina-3A, como por exemplo a família dos receptores de transmembrana ou da neurofilina-2.



- HS6ST1

O processo de migração neuronal envolve a interacção de vários factores, incluindo a secreção de proteínas transmembranares que medeiam a comunicação entre células. Heparano sulfatos (HS), uma classe de diversos glicosaminoglicanos extracelulares, desempenha um papel fundamental na migração neuronal através da modificação dos seus resíduos de açúcar, regulando as interacções entre ligando e receptor.

O genoma dos vertebrados contém três genes que codificam enzimas com actividade HS 6-O-sulfatotransferase: HS6ST1, HS6ST2 e HS6ST3. Os três genes são expressos dinamicamente durante o desenvolvimento embrionário do rato, sendo HS6ST1 activamente expresso no sistema nervoso, particularmente no prosencéfalo e estruturas sensoriais. Também estudos imunohistoquímicos em galinhas documentaram elevados níveis de HS tanto no epitélio como nos nervos olfativos.

Tomberg et al<sup>27</sup> investigaram a presença de mutações em HS6ST1 e sua patogenia em IHH/SK. Os investigadores descobriram que todas as variantes encontradas afectavam os resíduos de aminoácidos que estavam altamente conservadas em HS6ST1. Estas mutações diminuía a actividade das enzimas, responsáveis pela modificação dos resíduos de açúcar. Os resíduos R372 e M394, onde foram encontradas mutações – R372W e M394V, são sugestivos de ser cruciais para a formação do macrocomplexo das HS sulfotransferases.

Como já foi referido anteriormente, HS forma um complexo com anosmia -1, FGFR1 e FGF na via de sinalização celular no processo de migração neuronal. As diferentes mutações de HS6ST1 podem contribuir para a patogenia de IHH/SK numa via de sinalização dependente de Kal-1 ou independente do mesmo, pois diferentes mutações contribuem para diferentes níveis de perda de função de KAL-1. Uma vez que as estruturas de HS regulam diversas interacções entre ligando e receptor, é plausível que variantes deste gene possam contribuir

para a deficiência de GnRH ao comprometer uma das vias de sinalização. As várias mutações encontradas podem contribuir por diferentes mecanismos.

O fenótipo associado pode ser muito variável à semelhança de mutações em outros genes relacionados com IHH/SK, e pode mesmo variar entre indivíduos com a mesma mutação.

HS6ST1 é um gene autossómico mas o padrão de hereditariedade não obedece às leis mendelianas, pelo que não pode ser catalogado em transmissão autossómica recessiva ou dominante. Por outro lado pode-se afirmar que mutações associadas a IHH/SK exibem um padrão de penetrância incompleta. Há ainda alguns doentes que manifestam apenas atraso pubertário sem associação de deficiência em GnRH, o que leva à suposição de que estas mutações podem contribuir mas não serão suficientes para causar IHH/SK. Provavelmente mecanismos genéticos e/ou epigenéticos adicionais, alguns ainda por descobrir, poderão contribuir para a apresentação clínica dos doentes. Tornberg et al encontraram mutações adicionais em FGFR1 e NELF em doentes com variantes de HS6ST1. Uma vez que FGFR1 necessita de HS 6-0-sulfato para interagir com FGF8, ambas as mutações – FGFR1 e HS6ST1 - podem formar um sigernismo e comprometer a via de sinalização de FGF.

A identificação de outros factores ainda não conhecidos será um importante passo para a compreensão da interacção entre as modificações de HS e as vias de sinalização celulares. Adicionalmente, genes envolvendo a modificação de açúcar que não 6-0-sulfato poderão ser candidatos para IHH/SK<sup>27</sup>. De facto, Tecle et al.<sup>40</sup> levantaram a hipótese de HS 3-0-sulfatotransferase como um gene candidato para a patogenia de SK ao interagir com Kal-1 através do subgrupo hst-3.2 aquando de um estudo realizado em *c. elegans*.

- HESX1

Este gene tem localização no cromossoma 3p14.3 e tem uma homologia extensa com o rato, onde foi identificado inicialmente. HESX1 codifica um repressor de transcrição embriológico

com um papel importante na diferenciação e proliferação celular. HESX1 faz parte de uma classe de proteínas com homeodomínios, um conjunto de factores de transcrição caracterizados por um domínio em hélice tripartido e que se liga especificamente a uma sequência de DNA palindrómica como um dímero.

HEX1 desempenha um importante papel no desenvolvimento temporal e sequencial do prosencéfalo, hipotálamo, nervo óptico e hipófise anterior e posterior.

A primeira mutação encontrada neste gene em humanos estava presente num doente com displasia do séptico óptico, uma doença caracterizada pela tríade: agenesia das estruturas da linha média do cérebro, hipoplasia do nervo óptico e hipopituitarismo. Esta mutação – p.R160C – resultava na perda de ligação de HESX1 à sequência de DNA. Hoje em dia sabe-se que 16 diferentes mutações neste gene em humanos são responsáveis por causar distúrbios na hipófise, tanto em homozigotia como heterozigotia. As mutações homozigóticas resultam num fenótipo mais severo, como displasia séptico óptico (SOD), condições com rico de vida neonatal e panhipopituitarismo, ao contrário das mutações heterozigóticas que apenas que estão associadas a fenótipos mais leves, como por exemplo, deficiência de hormona pituitária combinada, que consiste na deficiência de GH juntamente com outra deficiência pituitária. Apenas 1% dos doentes com deficiências hipofisárias apresentam mutações neste gene, sendo classificadas como mutações raras.<sup>41</sup>

Newber, K. et al<sup>41</sup> identificaram duas novas mutações missense heterozigóticas – p.H42Y e p.V75L – e uma mutação missense heterozigótica reportada anteriormente em 3 de 217 doentes com SK/IHH. Estes pertenciam todos ao sexo masculino e manifestavam um fenótipo de síndrome de Kallmann. Ambas as mutações p.Q6H e p.H42Y são previsíveis de ser deletéricas, ao contrário de p.V75L que está conservada em oito de nove espécies. Estes doentes eram os únicos da família afectados, não manifestavam anomalias adicionais tanto relacionadas com SOD como anomalias associadas a síndrome de Kallmann e não apresentavam mutações nos outros genes relacionadas com SK/IHH. Deste modo, foi

proposto que o síndrome de Kallmann resultante de mutações em *HEXS1* representasse uma variante alélica mais suave de SOD.

O modo de herança é difícil de discriminar uma vez que os outros membros da família não estavam disponíveis para a análise do seu DNA. Porém, estão descritas na literatura mutações heterozigóticas em *HESX1* em pelo menos um membro da família não afectado, o que consiste com uma forma de herança autossómica dominante com penetrância incompleta.

Se dados estaticamente significativos suportarem os dados do estudo referido anteriormente, *HESX1* poderá ser um dos genes mais comuns responsáveis pela SK.<sup>41</sup>

- SOX10

Recentemente este gene foi também implicado na patogenia da SK associada a distúrbios auditivos<sup>42</sup>. Como enunciado anteriormente, a surdez pode ser uma manifestação não relacionada com o sistema reprodutor ou olfativos da SK, cuja prevalência foi estimada em 5%. Aquela foi reportada anteriormente em doentes com mutações em *KAL-1*, *FGFR1*, *FGF8* ou *CDH7*. No entanto estes casos mantêm-se relativamente raros. Importa ainda afirmar que a presença simultânea de SK e surdez pode ser coincidência, dada a elevada prevalência de surdez na população. Por outro lado, a alta prevalência de surdez em doentes com SK que carregam mutações em *SOX10* parece ser muito significativa, ao contrário da incidência de mutações *SOX10* em doentes com SK sem outras associações, nomeadamente distúrbios auditivos, a qual permanece rara.

*SOX10* pertence à família dos factores de transcrição *SOX*, os quais estão envolvidos em múltiplos processos celulares. *SOX10* participa no desenvolvimento da crista neural, particularmente na manutenção da multipotência, especificação e diferenciação de numerosos tipos de células através da regulação da transcrição de determinados alvos. Deste modo, este gene foi associado há 15 anos atrás à síndrome de Waardenburg (SW), uma doença clínica e

geneticamente heterogénea que se manifesta por surdez neurossensorial congénita e pigmentação anormal do cabelo, pele e iris. Quatro subtipos e uma variante neurológica foram descritos até ao momento.

Interessantemente, aquando de um estudo para classificação das anormalidades do osso temporal através de TAC ou RMN ao ouvido interno, Pingualt et al<sup>42</sup> incidentalmente verificaram uma incidência alta de agenesia do bulbo olfativo em 15 doentes com SW.

Mais tarde, para corroborar o envolvimento de mutações em SOX10 na SK, os cientistas estudaram 17 doentes - 9 masculinos e 8 femininos - que tinham sido anteriormente diagnosticados com SK e que apresentavam simultaneamente uma ou várias manifestações de SW, assim como 86 doentes - 67 masculinos e 19 femininos - cujo objetivo consistia na exploração genética da SK. De relevar que não foi encontrada nenhuma mutação nos principais genes envolvidos na SK nestes doentes.

Foram caracterizadas sete diferentes mutações heterozigóticas em SOX10 em doentes afectados pela SK, correspondendo a um modo de herança autossómica dominante. A incidência sexual necessita de ser confirmada em estudos posteriores. Sete das 8 variações sequenciais encontradas - mutações missense, frameshift, associadas ao splice e no codão de iniciação - provavelmente resultam na alteração da produção ou função de SOX10. A oitava mutação não foi previsível de provocar um efeito patogénico.

Interessantemente, nenhum dos doentes com SK à excepção de um manifestavam defeitos na pigmentação. Até ao momento não existe nenhuma evidência sobre a causalidade de SK ou WS em mutações de SOX10. Porém, importa relevar que as mutações encontradas neste estudo não são tipicamente diferentes das encontradas em doentes com SW, à excepção da sua frequência relativa, uma vez que foram encontradas maioritariamente mutações missense com alteração de proteína em doentes com SK, ao contrário dos doentes com SW.

A baixa incidência de anosmia e HH em doentes com SW reportada anteriormente, juntamente com a recente evidência de que 88% dos doentes com esta doença associada a mutação em SOX10 apresentam simultaneamente defeitos morfológicos do ouvido interno e agenesia do bulbo olfativo, transportam para o argumento de que a prevalência de anosmia e HH na SW tem sido subestimada, provavelmente devido ao facto de que os doentes não se queixam espontaneamente de anosmia e de que a doença é muitas vezes diagnosticada durante a infância.

Estudos em ratos mostraram que provavelmente o defeito relacionado com as mutações deste gene ocorrem entre a emergência das células da crista neural provenientes do tubo neural e a sua chegada na placa nasal embrionária. Em homozigotia, os ratos mutados mostraram uma ausência quase completa de *olfactory ensheathing cells*

(OECs) ao longo dos nervos olfativos e terminais, o que resultou na fasciculação anormal e disrupção dos neurónios olfativos, diminuição da migração de células GnRH e ainda desorganização da camada do nervo olfativo nos bulbos olfativos<sup>46</sup>. Várias explicações podem ser propostas para a persistência de algumas OECs nestes ratos: Nem todas as OECs estão dependentes de SOX10 ou outra proteína da família SOX poderá estar envolvida no processo. Tendo em consideração que os ratos e humanos são comparáveis, ainda fica por esclarecer se a deficiência da migração neuronal de GnRH nesta particular forma genética de SK se deve à ausência de OECs na trajectória até ao prosencéfalo ou a defeitos estruturais destes nervos, como previamente sugerido em outras formas genéticas.<sup>42</sup>

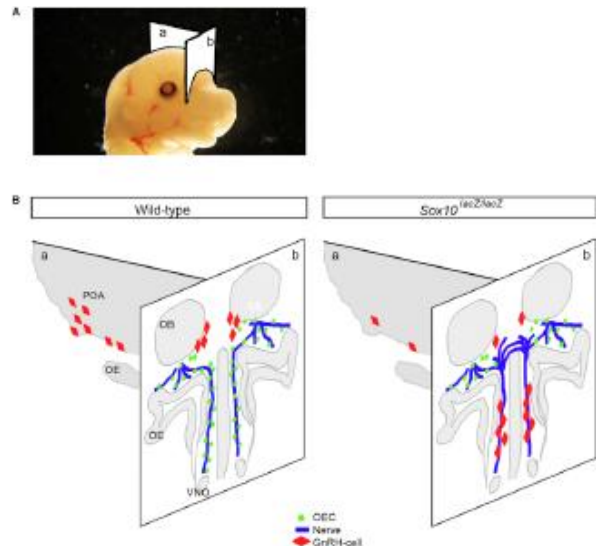


Imagem 10; Defeitos encontrados em embriões de rato SOX10 mutantes; A- esquematização dos planos de corte da cabeça de um rato, B- Comparação de defeitos encontrados em SOX10 com o tipo selvagem<sup>43</sup>

O papel preponderante de SOX10 no desenvolvimento do ouvido interno sugere a alta prevalência de surdez em doentes com mutações naquele gene. Os doentes podem apresentar alargamento do vestíbulo, agenesia ou hipoplasia dos canais semicirculares e anormalidades na forma da cóclea. Interessantemente, a associação entre defeitos no ouvido interno e HH pode também ser encontrada na síndrome de CHARGE, já descrita anteriormente. Em doentes com formas modestas desta última síndrome, sem os típicos sinais cardinais da doença, pode ser difícil distingui-los daqueles com mutações em SOX10. Os cientistas propõem a análise molecular de ambos os genes CDH7 e SOX10 em doentes com SK e defeitos no ouvido interno. Porém, o alargamento vestibular ou áreas despigmentadas devem sugerir mutação em SOX10.

Concluindo, de agora em diante, o gene SOX10 deverá ser o primeiro a ser estudado em doentes com manifestações de SK e defeitos auditivos. Considerando o rato como modelo, a patogenia deste gene envolvido na SK provavelmente resulta da sua afecção na diferenciação das OECs, as quais são requeridas na migração dos neurónios GnRH até ao prosencéfalo durante um estágio precoce de desenvolvimento.<sup>43</sup>

Gene	Trasmissão	Cromossoma	Interações	Outras características
<b>NELF</b>	Digénica/oligogénica	9q34.3		Expressão durante migração neuronal
<b>CDH7</b>		8q12		CHARGE; Remodelação e transcrição cromatina
<b>WDR11</b>	Autossómica Dominante	t(10;12) (q26.12;q13.11)	EMX1	Função desconhecida
<b>SEMA3A</b>	Digénica/oligogénica		Neurofilina-1	Papel desconhecido
<b>HS6ST1</b>	Digénica/oligogénica; Penetrancia incompleta	3p14.3		Complexo com anosmia-1, FGFR1 e FGF
<b>HESX1</b>				Variante alélica de SOD?
<b>SOX10</b>	Autossómico Dominante			Desenvolvimento da crista neural; Síndrome de Waardenburg

Tabela 6 – Principais características de alguns genes possivelmente implicados na SK

## Herança digénica/oligogénica

A Síndrome de Kallmann parece também seguir o padrão de outras doenças genéticas que inicialmente eram pensadas como monogénicas e que posteriormente foi provado que eram causadas por defeitos em mais de um gene.<sup>11</sup> Alguns doentes carregam mutações missense monoalélicas em PROKR2 e PROK2, FGFR1/FGF8 ou KAL1. Claro que neste caso a proteína modificada do gene KAL1 ainda teria alguma actividade biológica, ao contrário da maioria das mutações que criam alelos nulos e que por si só são capazes de causar a doença em doentes do sexo masculino. Mais recentemente foram também encontradas formas de hereditariedade digénica em mutações do gene NELF, Sem3A e HS6ST1.<sup>7,27</sup>

Outros pacientes que carregam mutações em PROKR2, PROK2, Sem3A, HS6ST1 ou mutações hipomórficas em KAL1 possivelmente também possuem mutações em outros genes até agora desconhecidos e relacionados com SK, até porque as mutações em genes até agora descobertos cobrem apenas 30% dos casos de síndrome de Kallmann. Acredita-se ainda que os genes desconhecidos possam estar envolvidos na sinalização do factor de crescimento dos fibroblastos ou na sinalização das procinetacina.<sup>5,33</sup> Outros estudos referiram que os genes ainda desconhecidos possam estar relacionados com a via de sinalização da semaforina 3 ou ainda com genes envolvendo a modificação de açúcares extracelulares.<sup>7,27</sup>

Também nas formas oligogénicas, genes relacionados com hipogonadismo hipogonotrófico isolado sem anosmia – GnRH, GnRHR, DAX1, GPR54, LEPR - podem contribuir para a expressão fenotípica da síndrome de Kallmann desde que também haja mutação nos genes envolvidos na formação do sistema olfativo.

## Síndrome de Kallmann reversível

Interessantemente, foi reportada que uma percentagem pequena de doentes com SK melhorou a sua função gonadal, incluindo a fertilidade, após interrupção do tratamento de reposição hormonal, uma variante chamada síndrome de Kallmann reversível.



Deste modo a reversibilidade inclui todos os doentes com síndrome de Kallmann que se tornaram férteis sem tratamento com GnRH e/ou aumentaram a sua secreção de testosterona após a descontinuação do tratamento com hCG, GnRH ou testosterona.

À semelhança dos outros casos de SK estes doentes também apresentam HH associado a anosmia e podem ter ainda as outras manifestações não associadas com o sistema reprodutor ou olfativo já referidas. Alguns doentes têm ainda familiares com SK.

A reversibilidade da SK pode ser suspeitada aquando de gravidez, aumento do volume testicular durante a reposição com testosterona e manutenção da função sexual após descontinuação da mesma.

Mutações em Kal-1 e FGFR-1 foram encontradas na síndrome de Kallmann reversível. Os produtos proteicos destes genes formam um complexo juntamente com HS e FGF2 de forma a activar especificamente a via de sinalização de FGFR1 através das MAPK, o que contribui para o desenvolvimento e migração neuronal. A ausência de anosmia-1 ou a diminuição da sinalização intracelular de FGFR1 não provocam a abolição deste complexo, pelo que apenas diminuem a sua actividade. A reversibilidade da SK indica que uma população de neurónios GnRH possa ter migrado com sucesso até ao hipotálamo e estabelecido conexões com os outros neurónios. Teoricamente a variabilidade fenotípica que caracteriza esta doença pode ser explicada com o facto de alguns neurónios atingirem efectivamente o hipotálamo e estabelecerem as adequadas conexões.<sup>44</sup>

Foram também encontradas mutações em PROKR2 e HS6ST1 em doentes que reverteram o fenótipo, no entanto a sua patogenia ainda não é conhecida. A migração dos neurónios GnRH poderá ser estimulada após o período organogénico por hormonas sexuais esteróides endógenas e exógenas, contribuindo para a reversão da função pituitária-gonadal.<sup>27,45</sup>

De relevar ainda que deveria ser dada especial atenção ao volume testicular dos doentes tanto no diagnóstico como no follow-up, uma vez que o aumento daquele indica aumento da secreção de gonadotropinas. O tratamento de substituição hormonal também deveria ser

interrompido a fim de reavaliar a função gonadal para evitar a reposição desnecessária de hormonas e o prognóstico reprodutor inadequado.<sup>44</sup>

Concluindo, o HH não pode ser assumido como um estado irreversível em todos os doentes. Esta variante pode até ser considerada como um extremo dentro do espectro de doenças relacionadas com a alteração da regulação da secreção pulsátil de GnRH, incluindo o atraso constitucional do crescimento e puberdade.

### **Tratamento**

A terapia com reposição hormonal inicia-se no princípio da puberdade, na maioria dos casos em que o diagnóstico foi feito na infância.

O tratamento de reposição hormonal com testosterona ou estrogénios e progesterona tem como primeiro objetivo iniciar a virilização no homem, e o desenvolvimento mamário na mulher, respectivamente.<sup>5</sup> Há vários métodos de reposição hormonal, os quais devem ser adequados caso a caso.<sup>46</sup>

A recomendação clássica no sexo feminino tem sido etinil estradiol oral com aumento da dose de 5µg para 10 ou 20µg, dependendo dos resultados obtidos, ou estrogénios conjugados (0,3 ou 0,625mg/dL). Inicialmente a administração é feita diariamente com eventual conversão posterior do tratamento entre o 1º e 21º dia do mês após vários meses de administração diária. 5 a 10 mg de medroxiprogesterona pode ser administrado entre os dias 12º e 21º do mês após 6 meses do uso de estrogénios e aparecimento dos primeiros sinais de desenvolvimento sexual secundário. Nenhuma hormona é administrada durante os últimos dias do mês para mimetizar o ciclo menstrual fisiológico. Posteriormente, este tratamento pode ser comutado por contraceptivos orais. Os estrogénios tópicos poderão provocar menos efeitos secundários, tais como hipertensão, aumento da massa gorda, diminuição da sensibilidade à insulina e aumento dos triglicéridos. Porém, o uso de estrogénios tópicos não foi aprovado pela Food and Drug

Administration (FDA).<sup>2</sup> O exame ginecológico deve ser precocemente realizado em doentes que iniciam terapia de reposição hormonal.

A clássica recomendação no sexo masculino consiste na administração de testosterona intramuscular mensalmente. A dose de testosterona deve ser aumentada gradualmente até aos níveis normais de adulto durante meses ou anos a fim de mimetizar a normal progressão da puberdade e evitar a exposição abrupta a elevadas doses de androgénios, assim como erecções e priapismo frequentes. O uso tópico de testosterona não está aprovado pela FDA. A administração de testosterona halogenada ou metilada oralmente nunca está recomendada pelo risco de carcinoma hepatocelular e icterícia colestática. O tratamento com esta hormona em homens com HH demonstrou evidências de causar efeitos positivos na massa e força muscular, na densidade óssea, na distribuição de gordura, nos parâmetros metabólicos, no risco cardiovascular e no desenvolvimento e manutenção da erecção e libido.<sup>47</sup> Por vezes, opta-se pela administração de hCG para estimular o crescimento e maturação das gónadas, em vez da administração de testosterona.

Durante o tratamento torna-se fundamental monitorizar e vigiar a idade óssea uma vez que pode ser necessário interromper o tratamento se ocorrer um avanço excessivo da idade óssea em relação à cronológica.

Posteriormente, para os doentes que desejam a fertilidade, o tratamento com gonadotrofinas ou GnRH pulsátil é utilizado para provocar o crescimento testicular e a produção de espermatozoides no homem, assim como a ovulação na mulher. Ambos os tratamentos desenvolvem a fertilidade na maioria dos doentes.<sup>5</sup>

É fundamental iniciar o tratamento atempadamente uma vez que o seu atraso pode trazer consequências que muitas vezes tornam-se irreversíveis. O atraso pubertário provocado pela deficiência das hormonas sexuais dificulta a formação do pico de massa óssea pelo que os doentes podem desenvolver osteopenia e mais tarde osteoporose não tanto por perda óssea mas mais por formação insuficiente de massa óssea. O uso de testosterona ou estrogénios e

progesterona na SK contribui para o aumento de massa óssea mas não foi demonstrado o atingimento de pico de massa óssea normal na idade adulta. Deste modo, recomenda-se a ingestão diária de laticínios, suplementos de cálcio e vitamina D.

O início tardio do tratamento, fora do período sensível, pode provocar o subdesenvolvimento dos testículos e pênis, o que por si constitui uma frustração para o doente.

Deste modo também se torna importante relevar que o atraso pubertário traz consequências importantes a nível psicológico nos doentes, principalmente no sexo masculino quando estes se comparam a adolescentes da sua idade. Um artigo publicado pelo British Medical Journal em Dezembro de 2012<sup>46</sup> relata a experiência própria de um doente que revela que as consequências a nível psicológico foram as que tiveram mais impacto para si. O atraso físico pubertário em relação aos adolescentes da mesma idade leva ao isolamento social e emocional destes doentes durante a adolescência. O autor realça ainda que o atraso físico e emocional pubertário associado ao isolamento social tornam difícil o estabelecimento de relações amorosas e que quanto mais tarde o diagnóstico, mais difícil se torna recuperar a auto-estima e a autoconfiança para estabelecer relações com outras pessoas. O fraco desenvolvimento da libido pode também contribuir para o isolamento social e falta de auto-estima. Deste modo, o autor do artigo no BMJ conclui que o tratamento mais importante é o diagnóstico por si mesmo.

A depressão profunda pelo qual passa uma minoria dos doentes deve ser tratada adequadamente, principalmente aqueles com comportamentos suicidas.<sup>2</sup>

O diagnóstico atempado permite iniciar o tratamento na altura da puberdade, evitando as consequências da puberdade retardada já enunciadas atrás e permite ainda a associação dos doentes em grupos de apoio onde estes possam ser capazes de falar da sua condição, como por exemplo no Yahoo ou no Facebook.<sup>46</sup>

DCI / Nome Genérico	Nome do Medicamento	Forma Farmacêutica	Dosagem	Estado de Autorização
Testosterona	Andriol - T	Cápsula mole	40 mg	Autorizado
Testosterona	Androgel	Gel	25 mg/2.5 g	Autorizado
Testosterona	Androgel	Gel	50 mg/5 g	Autorizado
Testosterona	Nebido	Solução injectável	1000 mg/4 ml	Autorizado
Testosterona	Sustenon	Solução injectável	250 mg/1 ml	Autorizado
Testosterona	Testim	Gel	50 mg/5 g	Autorizado
Testosterona	Testogel	Gel	25 mg/2.5 g	Autorizado
Testosterona	Testogel	Gel	50 mg/5 g	Autorizado
Testosterona	Testopatch	Sistema transdérmico	1.2 mg/24 h	Autorizado
Testosterona	Testopatch	Sistema transdérmico	1.8 mg/24 h	Autorizado
Testosterona	Testopatch	Sistema transdérmico	2.4 mg/24 h	Autorizado
Testosterona	Testoviron Depot	Solução injectável	250 mg/1 ml	Autorizado
Testosterona	Tostran	Gel	20 mg/g	Autorizado
Testosterona	Intrinsa	Sistema transdérmico	300 µg/24 h	Revogado
Testosterona	Livensa	Sistema transdérmico	300 µg/24 h	Revogado
Testosterona	Striant SR	Comprimido bucal mucoadesivo	30 mg	Revogado
Testosterona	Testoderm TTS	Sistema transdérmico	5 mg/24 h	Revogado
Testosterona	Testormon	Solução injectável	10 mg/1 ml	Revogado
Testosterona	Testormon	Solução injectável	25 mg/1 ml	Revogado
Testosterona	Testormon	Solução injectável	50 mg/1 ml	Revogado
Testosterona	Testotop	Sistema transdérmico	10 mg	Revogado
Testosterona	Testotop	Sistema transdérmico	15 mg	Revogado

Tabela 7 – Testosterona disponível em Portugal.<sup>48</sup>

DCI / Nome Genérico	Nome do Medicamento	Forma Farmacêutica	Dosagem	Estado de Autorização
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle	Comprimido revestido	0.625 mg + 2.5 mg	Caducado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle	Comprimido revestido	0.625 mg + 5 mg	Caducado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle Cycle	Comprimido revestido	(0.625 mg) + (0.625 mg + 5 mg)	Caducado
Estrogénios conjugados	Premarin	Comprimido revestido	0.625 mg	Revogado
Estrogénios conjugados	Premarin	Comprimido revestido	1.25 mg	Revogado
Estrogénios conjugados	Premarin	Creme vaginal	0.625 mg	Revogado
Estrogénios conjugados	Premarin	Pó e solvente para solução injectável	25 mg	Revogado
Estrogénios conjugados + Medrogestona	Premarin Plus	Comprimido revestido + Comprimido	(0.625 mg) + (5 mg)	Revogado
Estrogénios conjugados + Medrogestona	Premarin Plus	Comprimido revestido + Comprimido	(1.25 mg) + (5 mg)	Revogado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle Cycle	Comprimido revestido + Comprimido	(0.625 mg) + (10 mg)	Revogado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle LD 0,3/1,5	Comprimido revestido	0.3 mg + 1.5 mg	Revogado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle LD 0,45/1,5	Comprimido revestido	0.45 mg + 1.5 mg	Revogado

Tabela 8 – Estrogénios disponíveis em Portugal.<sup>48</sup>

DCI / Nome Genérico	Nome do Medicamento	Forma Farmacêutica	Dosagem	Estado de Autorização
Medroxiprogesterona	Depo-Provera 1000	Suspensão injectável	150 mg/ml	Autorizado
Medroxiprogesterona	Depo-Provera 150	Suspensão injectável	150 mg/ml	Autorizado
Medroxiprogesterona	Depo-Provera 500	Suspensão injectável	150 mg/ml	Autorizado
Medroxiprogesterona	Provera	Comprimido	250 mg	Autorizado
Medroxiprogesterona	Provera	Comprimido	5 mg	Autorizado
Medroxiprogesterona + Valerato de estradiol	Dilena	Comprimido	(2 mg) + (10 mg + 2 mg)	Autorizado
Progesterona	Crinone gele vaginal a 8%	Gel vaginal	80 mg/g	Autorizado
Progesterona	Luferti	Comprimido vaginal	100 mg	Autorizado
Progesterona	Progeffik	Cápsula mole	100 mg	Autorizado
Progesterona	Progeffik	Cápsula mole	200 mg	Autorizado
Progesterona	Prolutex	Pó para solução injectável	25 mg	Autorizado
Progesterona	Prolutex	Solução injectável	25 mg	Autorizado
Progesterona	Utrogestan	Cápsula mole	100 mg	Autorizado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle	Comprimido revestido	0.625 mg + 2.5 mg	Caducado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle	Comprimido revestido	0.625 mg + 5 mg	Caducado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle Cycle	Comprimido revestido	(0.625 mg) + (0.625 mg + 5 mg)	Caducado

Medroxiprogesterona	Cicloretas	Suspensão injectável	50 mg/ml	Caducado
Progesterona	Crinone gele vaginal a 4%	Gel vaginal	40 mg/g	Caducado
Progesterona	Progenar	Gel	10 mg/g	Caducado
Benzoato de estradiol + Progesterona	Emmenovis	Suspensão injectável	5 mg/4 ml + 50 mg/4 ml	Revogado
Cloranfenicol + Medroxiprogesterona + Tetrizolina	Colircusi Medrivás Antibiótico	Colírio, suspensão	Associação	Revogado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle Cycle	Comprimido revestido + Comprimido	(0.625 mg) + (10 mg)	Revogado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle LD 0,3/1,5	Comprimido revestido	0.3 mg + 1.5 mg	Revogado
Estrogénios conjugados + Medroxiprogesterona	Premelle LD 0,45/1,5	Comprimido revestido	0.45 mg + 1.5 mg	Revogado
Hidroxiprogesterona	Proluton Depot	Solução injectável	250 mg/1 ml	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal	Comprimido	100 mg	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal	Comprimido	200 mg	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal	Comprimido	250 mg	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal	Comprimido	500 mg	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal	Suspensão oral	1000 mg/5 ml	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal	Suspensão oral	500 mg/2.5 ml	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal Depot	Suspensão injectável	1000 mg/5 ml	Revogado
Medroxiprogesterona	Farlutal Depot	Suspensão injectável	500 mg/2.5 ml	Revogado
Medroxiprogesterona	Provera	Comprimido	10 mg	Revogado
Medroxiprogesterona	Provera	Comprimido	200 mg	Revogado
Medroxiprogesterona + Valerato de estradiol	Diviseq	Comprimido	2 mg + (10 mg + 2 mg) + 1 mg	Revogado
Medroxiprogesterona + Valerato de estradiol	Indivina	Comprimido	1 mg + 5 mg	Revogado
Medroxiprogesterona + Valerato de estradiol	Indivina	Comprimido	2 mg + 5 mg	Revogado
Medroxiprogesterona + Valerato de estradiol	Indivina	Comprimido	2.5 mg + 1 mg	Revogado
Progesterona	Esolut	Creme vaginal	25 mg/g	Revogado
Progesterona	Gestacne	Solução cutânea	5 mg/ml	Revogado
Progesterona	Progestogel	Gel	10 mg/g	Revogado

Tabela 9 – Progesterona disponível em Portugal.<sup>48</sup>

## Conclusão

A Síndrome de Kallmann constitui a forma mais comum de HH e deve ser sempre considerada em doentes que recorram ao médico por aquelas manifestações.<sup>8</sup> O diagnóstico muitas vezes é tardio e por vezes torna-se difícil a distinção com atraso constitucional de crescimento e puberdade.<sup>2</sup> A prevalência no sexo masculino é aproximadamente 4 a 5 vezes superior à do sexo feminino, embora neste último a prevalência possa estar subestimada devido à grande variabilidade fenotípica e fisiopatológica da síndrome de Kallmann.

Esta doença pode estar associada a formas de transmissão hereditárias: transmissão recessiva ligada ao x, autossómica dominante com penetrância incompleta, autossómica recessiva e ainda transmissão digénica/oligogénica. Porém é mais comumente esporádica.

Os genes descobertos até ao momento são responsáveis apenas por 30% dos casos de síndrome de Kallmann, o que leva obrigatoriamente à suposição de que outros genes poderão estar envolvidos na patogénia da doença. No entanto, e devido ao rápido desenvolvimento da genética molecular, prevê-se um aumento do número de mutações patogénicas conhecidas. A causalidade desta doença reside na participação dos diferentes genes no desenvolvimento e migração neuronal dos neurónios olfativos e GnRH até ao hipotálamo, apesar de ainda permanecer desconhecida a causa primária que provoca a disrupção da migração destas fibras. Apesar da clássica associação de HH e anosmia, a clínica pode ser muito variável e relacionar-se com os diferentes genes envolvidos. A associação com sintomas psiquiátricos necessita de investigações adicionais e maior nível de evidência

Mutações em Kal-1 provocam um fenótipo severo de SK, o que torna mais difícil o tratamento. Os doentes com mutações em PROKR2/PROK2 são candidatos ideais para a reprodução medicamente assistida uma vez que não têm manifestações associadas.

O tratamento da SK tem como objetivos iniciar a virilização no homem, o desenvolvimento mamário na mulher, e alcançar a fertilidade. De realçar que o atraso no diagnóstico e tratamento pode trazer importantes consequências a nível físico e psicológico.



## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer à Dr.<sup>a</sup> Margarida Bastos, a qual disponibilizou o seu tempo para apoiar a realização deste trabalho, tanto no esclarecimento de dúvidas como no fornecimento de importantes guias condutoras a fim de aprimorar, enriquecer e, ao mesmo tempo, simplificar o trabalho.

## Referências

1. Imagem1:<http://health7.com/textbook%20of%20endocrinology/hypophyseotropic%20hormones%20and%20neuroendocrine%20axes/13>
2. Gardner DG, Shoback D. Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology. 9<sup>th</sup> edition. Mc-Graw-Hill; Chapter 15
3. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM. Williams Text of Endocrinology. 12<sup>th</sup> edition. Elsevier Saunders. Section VI, Chapter 25
4. Ribeiro RS, Abucham J. Síndrome de Kallmann: Uma revisão Histórica, Clínica e Molecular. Unidade de Neuroendocrinologia, Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabolismo. 2008
5. Dodé C, Hardelin JP. Kallmann syndrome. European Journal of Human Genetics. 2009. 17:139-146
6. Tritos NA, Kallmann Syndrome and Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism. Medscape. 2013
7. Hanchate NK, Giacobini P, Lhuillier P, Parkash J, Espy C, Fouveaut C et al. SEMA3A, a Gene Involved in Axonal Pathfinding, Is Mutated in Patients with Kallmann Syndrome. PLOS Genetics. August 2012. Vol. 8
8. Verhoeven WMA, Egger JIM, Hovens JE, Hoefsloot. Kallmann syndrome and paranoid schizophrenia: a rare combination. BMJ Case Reports. 2013
9. Sarfati J, Fouveaut C, Leroy C, Jeanpierre M, Hardelin JP, Dodé C. Greater prevalence of PROKR2 mutations in Kallmann syndrome patients from the Maghreb than in European patients. Eur. J. Endocrinol. 2013. 169(6):805-9
10. Kim HG, Ahn JW, Kurth I, Ullmann R, Kim HT, Kulharya A et al. WDR11, a WD Protein that Interacts with Transcription Factor EMX1, Is Mutated in Idiopathic

- Hypogonadotropic Hypogonadism and Kallmann Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. October 2010. 87:465-479
11. Canto P, Munguia P, Soderlund D, Castro JJ, Méndez JP. Genetic Analysis in Patients With Kallmann Syndrome: Coexistence of Mutations in Prokineticin Receptor 2 and KAL1. *Journal of Andrology*. January/February 2009. Vol 30, No 1
  12. Bergman JEH, Ronde W, Jongmans MCJ, Wolffenbuttel BHR, Drop SLS, Hermus A et al. The Results of CDH7 Analysis in Clinically Well-Characterized Patients with Kallmann Syndrome. *JCEM*. 2012. 97(5):E858-E862
  13. Leroy C, Fouveaut C, Leclercq S, Jacquemont S, Boullay HD, Lespinasse J et al. Biallelic mutations in the prokineticin-2 gene in two sporadic cases of Kallmann Syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 2008. 16:865-868
  14. Miura K, Miura S, Yoshiura K, Seminara S, Hamaguchi D, Niikawa et al. A case of Kallmann Syndrome carrying a missense mutation in alternatively spliced exon 8A encoding the immunoglobulin-like domain IIIb of fibroblast growth factor receptor I. *Human Reproduction*. 2010. Vol. 25, No. 4 pp.1076-1080
  15. Cassandra Buck, Balasubramanian R, Crowley F. Isolated Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) deficiency. *GeneReviews*<sup>TM</sup>. 1993-2013
  16. Layman LC. Clinical Genetic Testing for Kallmann Syndrome. *JCEM*. May 2013. 98(5):1860-1862
  17. Kulkarni ML, Balaji MD, Kulkarni AM, Sushanth S, Kulkarni B. Kallmann's Syndrome. *Indian Journal of Pediatrics*. 2007. Vol. 74
  18. Imagem2:<http://padre-familia.com/wp-content/uploads/2010/11/criptorquidia.jpg>
  19. Imagem 3: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:5\\_Micropenis.jpg](http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:5_Micropenis.jpg)
  20. Santos MK, Santos AC, Vrsiani BR, Diniz PRB, Junior JE, Castro M. Quantitative Magnetic Resonance Imaging Evaluation of the Olfactory System in Kallmann

- Syndrome: Correlation with a Clinical Smell Test. *Neuroendocrinology*. 2011. 94:209-217
21. Gonzalez DG, Belmonte VM, Clemente D, Castro F. Olfactory System and Demyelination. *The Anatomical Record*. 2013. 296:1424-1434
  22. Costa Barbosa-F, Balasubramanian R, Keefe KW et al. Prioritizing genetic testing in patients with Kallmann syndrome using clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013. 98:E943-953
  23. Imagem 4: Netter FH, MD. *Atlas de Anatomia humana*. 4<sup>th</sup> edition
  24. Imagem5:[http://www2.ibb.unesp.br/nadi/Museu2\\_qualidade/Museu2\\_corpo\\_humano/Museu2\\_como\\_funciona/Museu\\_homem\\_nervoso/museu2\\_homem\\_nervoso\\_olfacao/Museu2\\_homem\\_nervoso\\_olfacao.htm](http://www2.ibb.unesp.br/nadi/Museu2_qualidade/Museu2_corpo_humano/Museu2_como_funciona/Museu_homem_nervoso/museu2_homem_nervoso_olfacao/Museu2_homem_nervoso_olfacao.htm)
  25. Jana M, Kumar A. Kallmann Syndrome in a adolescent boy. *Pediatric Radiology*. 2010. 40 (Suppl 1): S164
  26. Imagem 8: <http://accbarroso60.wordpress.com/2011/02/page/2/>
  27. Tornberg J, Sykiots GP, Keefe K, Plummer L, Hoang X, Hall JE. Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 1, a gene involved in extracellular sugar modifications, is mutated in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *PNAS*. 2011
  28. Perdomo AC, Ruiz LC, Marrero IG, Ruiz AC, Toledo JMG, Carmona HP et al. What is relationship between the medial preoptic area, the organum vasculosum of the lamina terminalis and Kallmann syndrome? *Medical hypotheses*. 2013. 81: 219-221
  29. Perdomo AC, Ruiz LC, Marrero IG, Ruiz AC, Toledo JG, Ruiz MC et al. Early treatment of Kallmann syndrome may prevent eunuchoid appearance and behavior. *Med Hypotheses*. 2013
  30. Salenave S, Chanson P, Bry H, Pugeat M, Cabrol S, Carel JC et al. Kallmann's Syndrome: A Comparison of the Reproductive Phenotypes in Men Carrying KAL1 and FGFR1/KAL2 Mutations. *JCEM*. March 2008, 93(3):758-763

31. Thurman RD, Kathir KM, Rajalingam, Thallapuram K, Kumar S. Molecular basis for the Kallmann Syndrome-linked fibroblast growth factor receptor mutation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2012. 425: 673-678
32. Lin DC, Bullock CM, Ehlert FJ, Chen JL, Tian H, Zhou QY et al. Identification and molecular characterization of two closely related G protein-coupled receptors activated by prokineticins/endocrine gland vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem*. 2002; 277(22):19276-80
33. Sarfati J, Mantel AG, Rondard P, Arnulf I, Piñero, Wolczynski S et al. A Comparative Phenotypic Study of Kallmann Syndrome Patients Carrying Monoallelic and Biallelic Mutations in the Prokineticin or Prokineticin Receptor 2 genes. *JCEM*. 2010. 95(2): 659-669
34. Zhou QY, Cheng MY. Prokineticin 2 and circadian clock output. *FEBS J*. 2005. 272: 5703-5709
35. Xu N, Kim HG, Bhagavath, B, Cho SG, Lee JH, Há K et al. Nasal embryonic LHRH factor (NELF) mutations in patients with normosmi hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann Syndrome. *Fertility and Sterility*. 2011. Vol. 95, No. 5
36. Kim HG, Kurth I, Lan F, Meliciani I, Wenzel W, Eom SH et al. Mutations in CHD7, Encoding a Chromatin-Remodeling Protein, Cause Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism and Kallmann Syndrome. *The American Journal of human Genetics*. 2008. 83:511-519
37. Kim HG, Layman LC. The role of CDH7 and the newly identified WDR11 gene in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011. 346:74-83
38. Chernova OB, Hunyadi A, Malaj E, Pan H, Crooks C, Roe et al. A novel member of the WD-repeat gene family, WDR11, maps to the 10q26 region and is disrupted by a

- chromosome translocation in human glioblastoma cells. *Oncogene*. 2001. 20:5378-5392
39. Ojeda SR, Dubay C, Lomniczi A, Kaidar G, Matagne V, Sandau US et al. Gene networks and the neuroendocrine regulation of puberty. *Mol Cell Endocrinol*. 324:3-11
  40. Teclé E, Diaz-Balzac CA, Bulow HE. Distinct 3-O-Sulfated Heparan Sulfate Modification Patterns are required for Kal-1 – Dependent Neurite Branching in a Context-Dependent Manner in *Caenorhabditis elegans*. *G3 (Bethesda)*. 2013. 3:541-52
  41. Newbern K, Natrajan N, Kim HG, Chorich LP, Halvorson LM, Cameron RS et al. Identification of HESX1 mutations in Kallmann Syndrome. *Fertility and Sterility*. June 2013. Vol 99, No 7
  42. Pingault V, Bodereau V, Baral V, Marcos S, Watanabe Y, Chaoui A. Loss-of-Function Mutations in SOX10 Cause Kallmann Syndrome with Deafness. *The American Journal of Human Genetics*. 2013. 92:707-724
  43. Barraud P, St John JA, Stolt CC, Wegner M, Baker CVH. Olfactory ensheathing glia are required for embryonic olfactory axon targeting and the migration of gonadotropin-releasing hormone neurons. *Biology open*. 2013. 2:750-759
  44. Ribeiro RS, Vieira TC, Abucham J. Reversible Kallmann Syndrome: Report of the first case with a KAL1 mutation and literature review. *European Journal of Endocrinology*. 2007. 156: 285-290
  45. Sinisi AA, Asci Roberta, Bellastella G, Maione L, Esposito D, Elefante A. Homozygous mutation in the prokineticin receptor 2 gene (Val274Asp) presenting as reversible Kallmann syndrome and persistent oligozoospermia: Case report. *Human Reproduction*. 2008. Vol.23, No. 10 pp. 2380-2384
  46. Smith N, Quinton R. Kallmann Syndrome. *BMJ*. 2012

47. Scarano V, De Santis D, Supressa P, Lastella P, Lenato GM, Triggiani V et al. Hypogonadotropic Hypogonadism Associated with Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. *Cases Reports in Endocrinology*. 2013
48. Infomed: <http://www.infarmed.pt/infomed/inicio.php>